

חדירת אלל נושא גן PRDM9 של בקר זבו מובילה להשפעות מנוגדות על פוריות זכרית ונקבית בבקר הולשטיין



איל סרוסי, אנדרי שיראק, מורן גרשוני
המכון לחקר בע"ח,



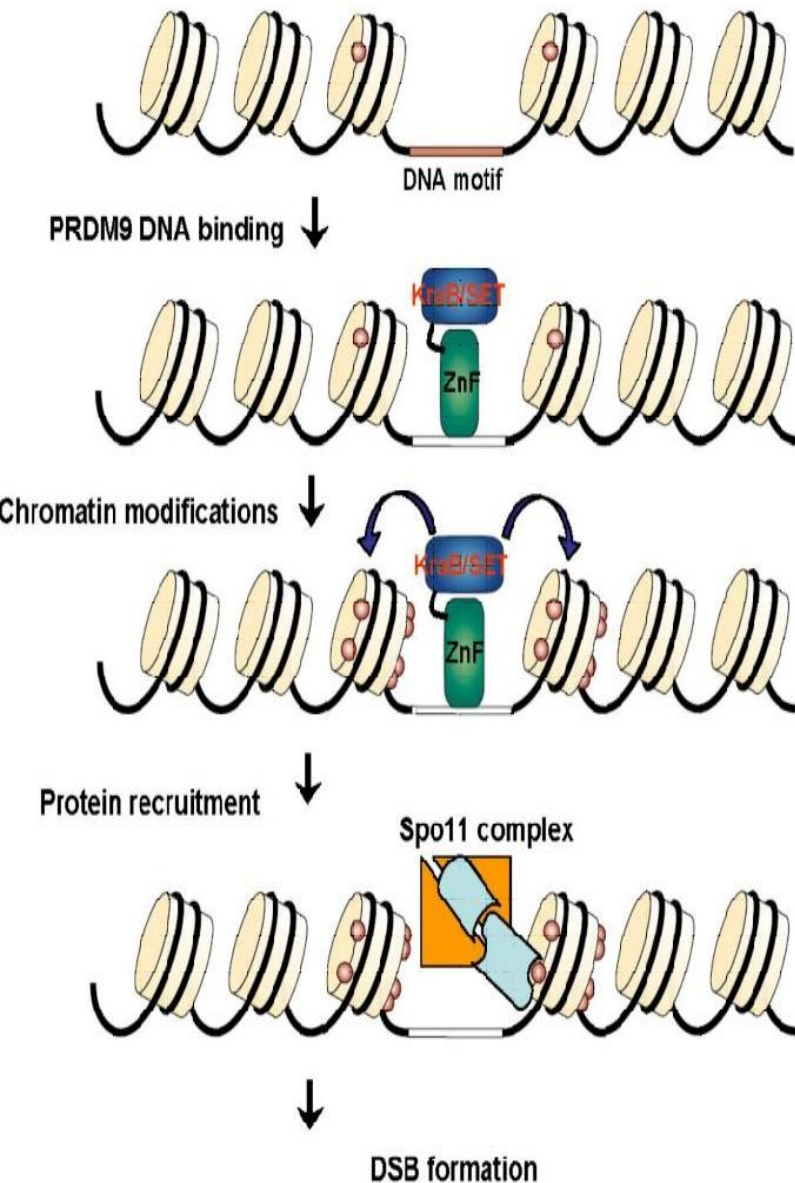
אפרים עזרא
התאחדות מגדלי בקר



דניאל ג'ורדן דה אברו סנטוס, לי מא
University of Maryland, MD.



ג'ורג' לו
USDA, MD.



Positive Regulatory Domain zinc finger protein 9 (PRDM9) □

הוא מתיל טרנספראז של היסטונים. □
 אחראי למיקום נקודות חמות של

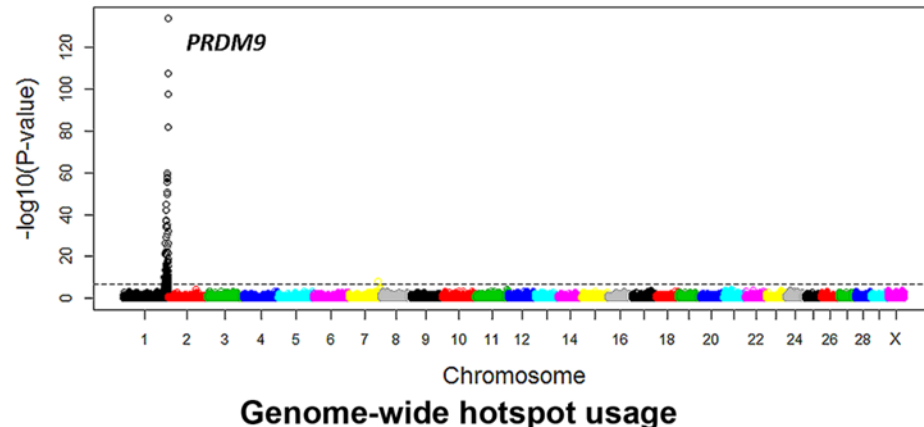
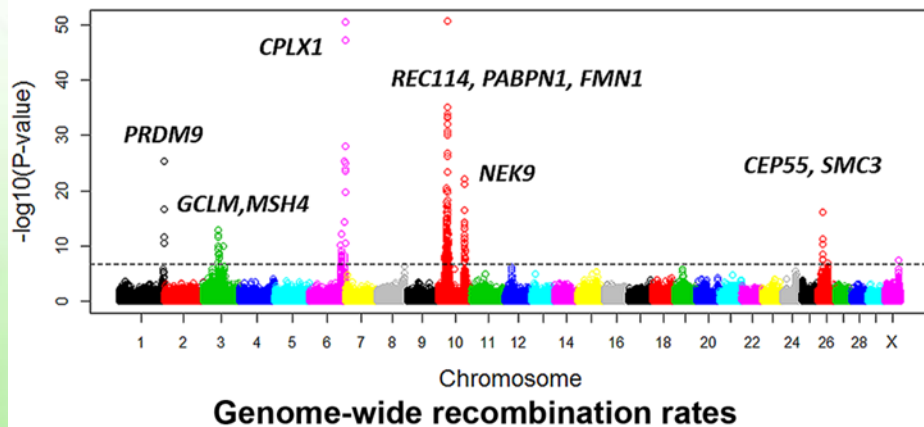
רקומבינציה במהלך המיוזה על ידי קשירת הדנ"א באצבע האבץ. □

זהו הגן היחיד של היונקים שמוביל להתמיינות למינים שנמצא עד כה. □

אזור הרצף המקודד בגן נחשב לבעל קצב ההתפתחות המהיר בגנום. □

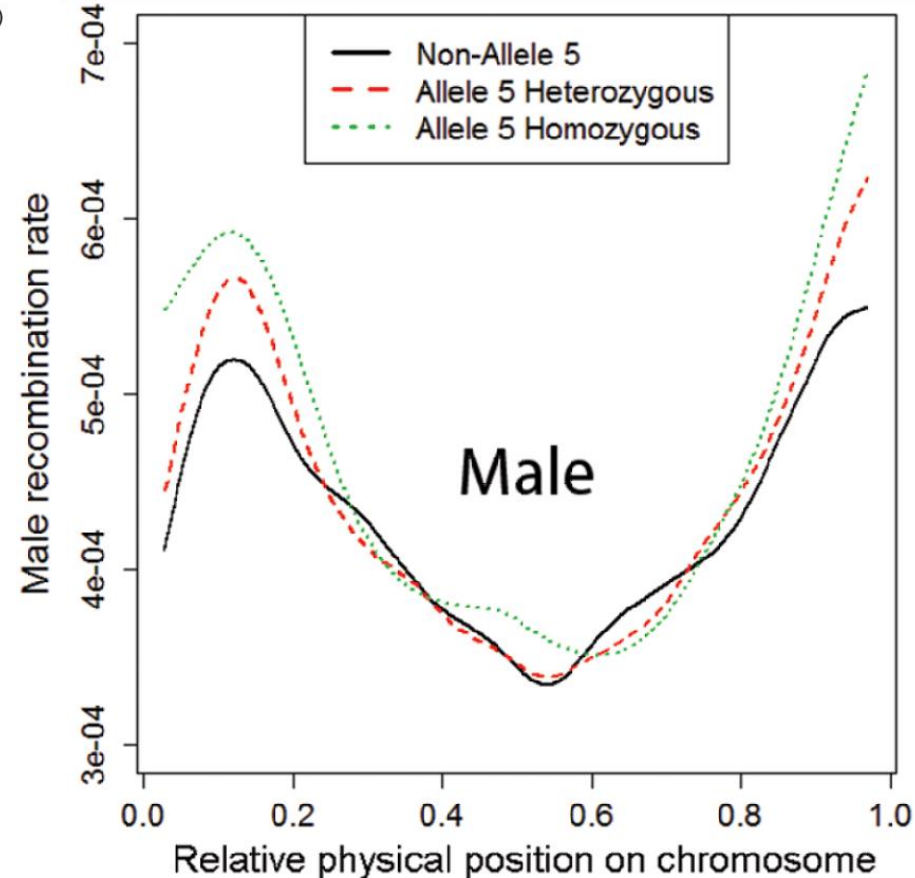
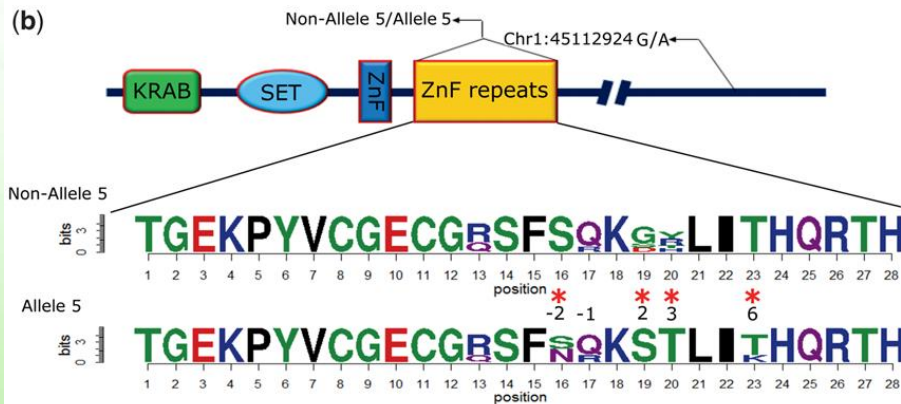
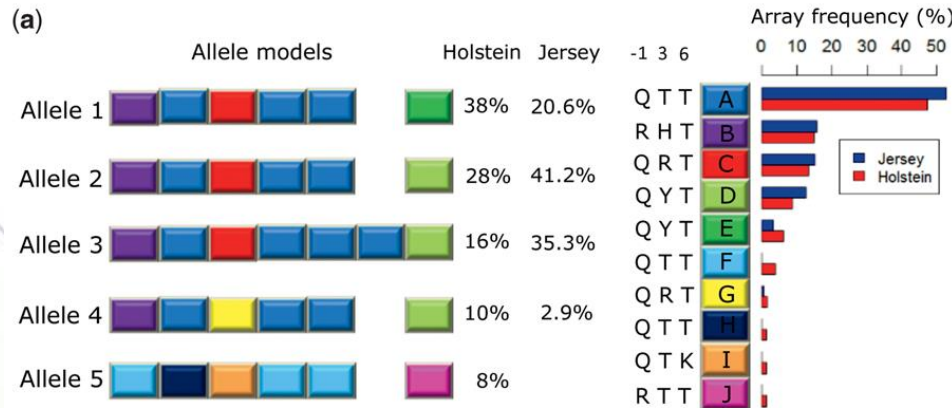
שיעור הרקומבינציה הוא תכונה חיונית להשבחה

- במהלך המיוזה, רקומבינציה גנטית מכליאה את הכרומוזומים ההומולוגיים (האימהי והאבהי) כדי לייצר צאצאים עם שילובים חדשים של תכונות.
- לפיכך, שיעור רקומבינציה מוגבר נחשב חיוני להשגת השבחה יעילה במהלך הרבייה.
- בבקר, רבע מהרקומבינציות מתרחש בנקודות החמות למרות שהן כוללות רק 3% מהגנום.
- מבין הגנים שמשפעים על קצב הרקומבינציה, PRDM9 הוא היחיד שנקשר לשימוש בנקודות החמות.



אלל יוצא דופן של PRDM9

□ ג'ו ואחרים (Zhou et al. 2018) תיארו את "אלל מס 5", השונה הן במבנה החלבון והן במתווה הרקומבינציות.



שברים א-סימטריים בדנ"א גורמים לעקרות

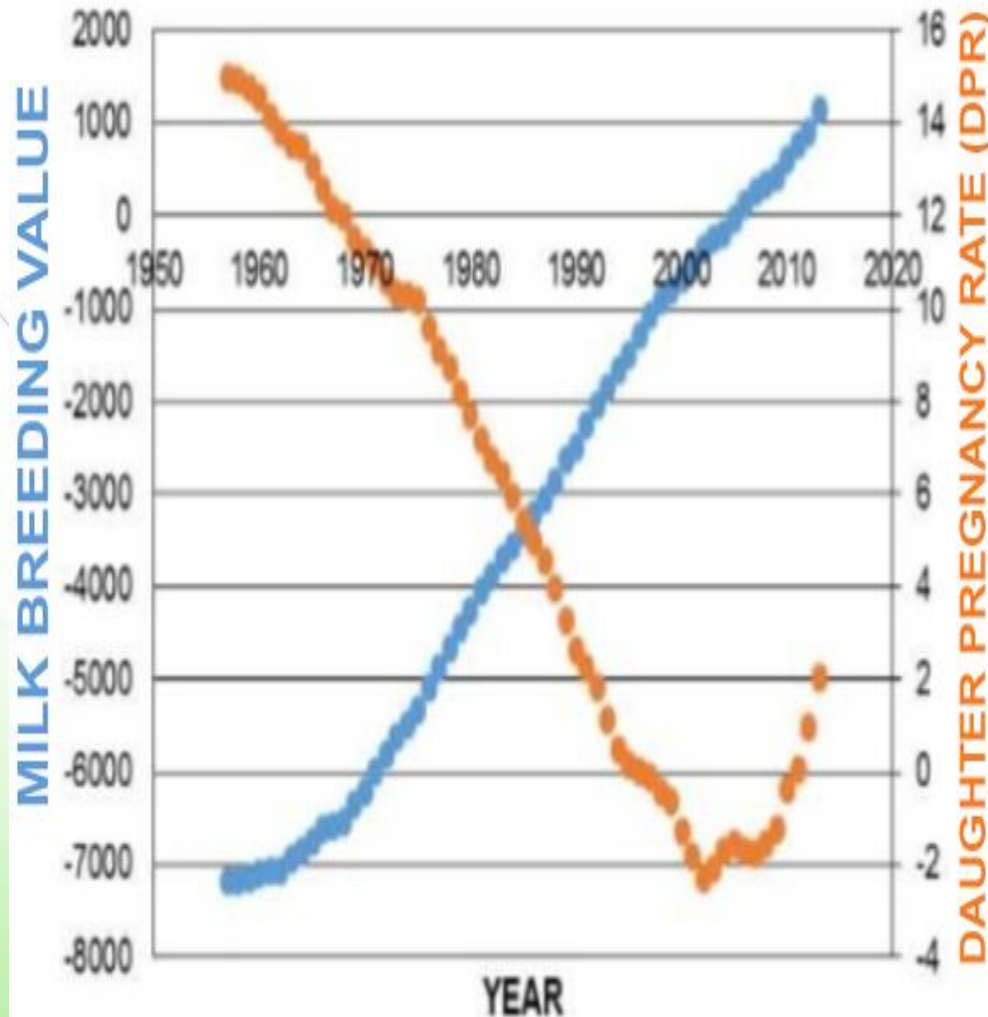
- ❑ צאצאי זכריים של הכלאה בין תת המין של עכבר הבית $Mus musculus musculus \times Mus musculus domesticus$ הם עקרים.
- ❑ הינדוס מחדש של אצבעות האבץ של PRDM9 מבטלת את העקרות ההיברידית בעכברים.
- ❑ צאצאי הכלאות של הולשטיין וזבו מצביעים על תת-פוריות ועקרות גברית.



Taurine \times Indicine Cattle (*Bos taurus* \times *indicus*)

הירידה בביצועי הרבייה מאתגרת את תעשיית החלב

□ לפני ששילבו תכונות פוריות באינדקס ההשבחה, גידול בקר-חלב התרכז בתכונות ייצור.



□ ערכי רבייה מוערכים (EBVs) לייצור חלב מראים מתאם שלילי עם אלה של פוריות.

□ פעולה אנדוקרינית בזמן ההנקה עשויה לעכב את חידוש מחזורי השחלה הרגילים.

□ עם זאת, לאחרונה, שינוי אינדקס ההשבחה הפך את מגמת הירידה, ומראה את היעילות של השבחה הגנומית.

- האם יש שונות גנטית משמעותית ברצף המקודד של PRDM9, בהולשטיין?
- האם היא משפיעה על הפוריות וכיצד?
- האם היא משפיעה על שיעורי רקומבינציה?

ג'יי ג'יי, הפר הישראלי הראשון עם ריצוף גנומי

Table 1 Genomic organization of the *Bos taurus PRDM9* gene (Holstein breed)

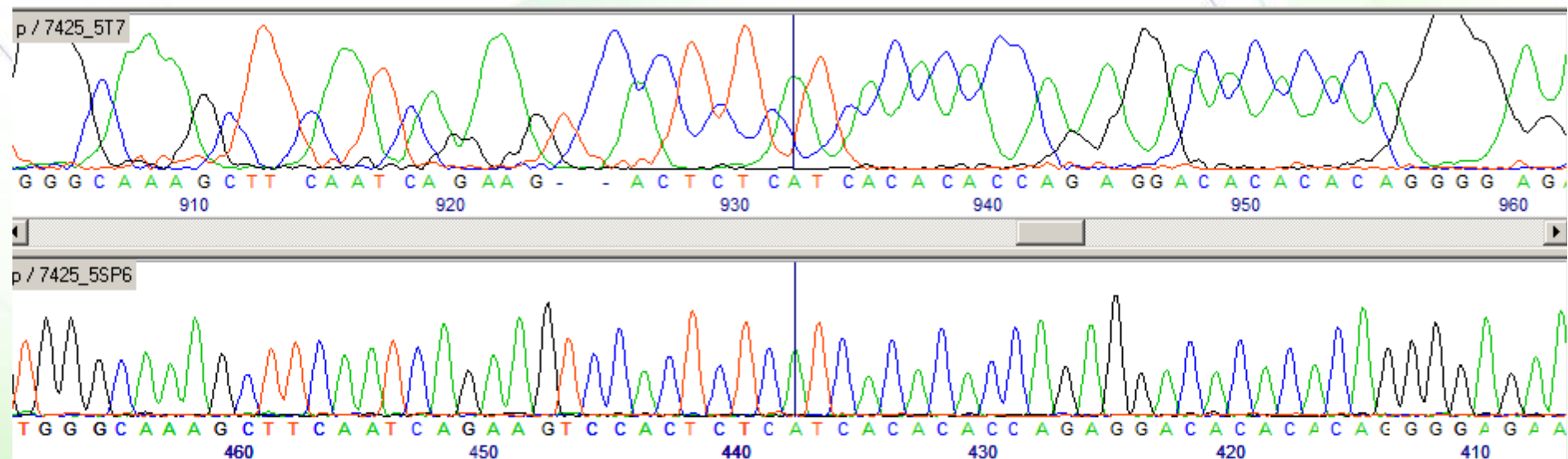
Intron ^a	Exon		Intron	size
	no.	size		
			CCCACGgtgagaggca	406
TGAGCACTCCAATGGCC	1	75	CTATAGgtaacaggaa	307
attttccttagGCCAAA	2	124	AGCAAGgtgaggggcc	4190
cttctttccagGTTTCA	3	108	CAGAATgtgagtattt	1784
tcattttttagGTA AAC	4	50	AAGTCGgt aagagaaa	842
tcatgtggaagACAATG	5	157	ACCTCTgtgagtgcc	216
ctccatcttagAACTCA	6	102	TGGCTGgtgagaaaca	576
ctcacctccagATTGTG	7	272	GATGAGgtgagtgcag	1145
ctgacactcagATCACC	8	68	CCAGAGgtgagcgcca	1677
ctcgaccccagGTATGT	9	194	GAATCA TAGCCAACAACATACATTTAGTCACAGGAGAATTACTGCAG	
tcctctttcagCAGAAT	10	1294	CCACCCCATGCCTCAGCTCTAAGGGGGCCTCAGAGGAGGTCTGTGACCTGT	
			TACAGTCAACAAGAGTGTGAGGAGAGACTCCAGGTGGTCCAGGGGCCAA	
			GACTCCAATTAGGGACCCATGTTCAATACCTGATTGGGGAAGTCTCCC	
			ACATGCTGCAACTAAGACACAGTGCAGCTG- <u>44T444</u> TAAATACGTAAATA	
			AATATTTTAAA...+poly-A+tail?	

קביעת רצף משני הקצוות
 בטכנולוגית Illumina בשני
 נתיבים הניב כיסוי של פי 32.
 עם אורך קטע ממוצע של 580
 נוקלאוטידים, ניתן היה להפריד
 בין שני האללים.

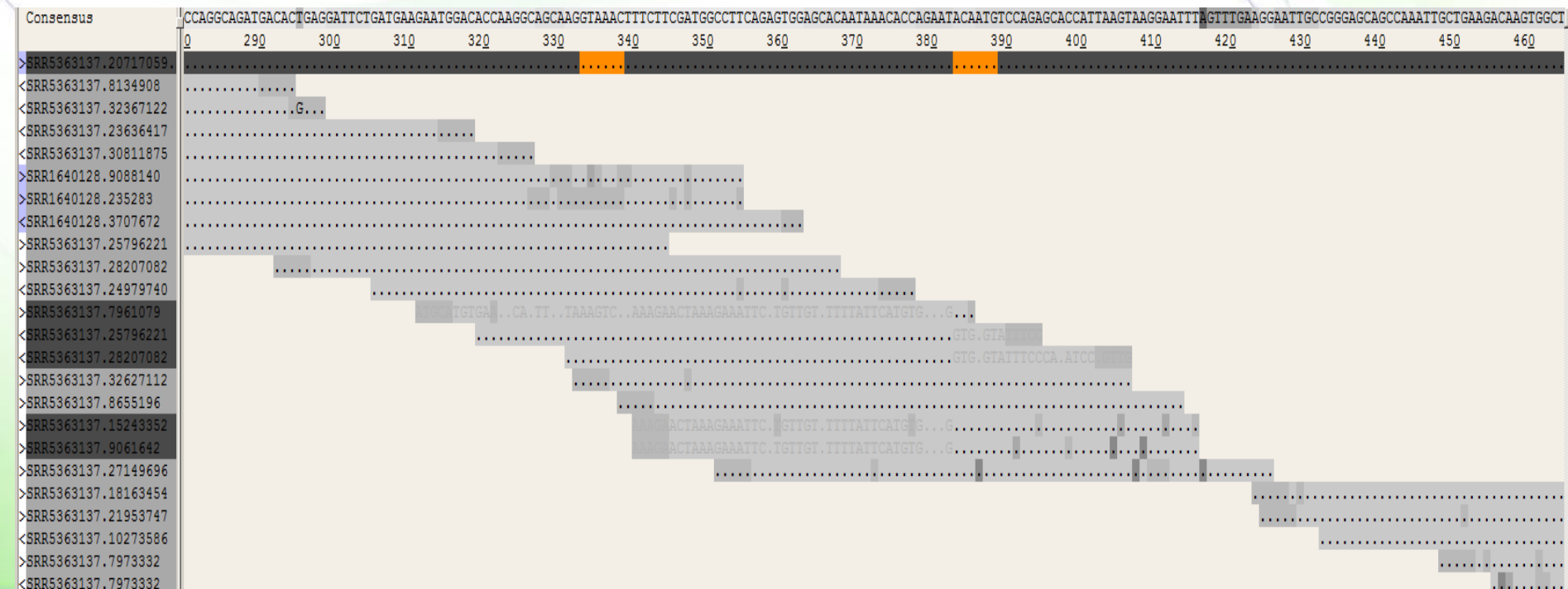


רצף Sanger דרש שיבוט בפלסמיד

- ❑ שירות שיבוט מותאם אישית במעבדות חי.
- ❑ שימוש בפולימראז של אמינות גבוהה היה הכרחי.



- חיפוש ב-SRA BLAST מצא 414 מקטעי רצף בשלוש הגשות של RNA-Seq של פר הרפורד סופרבוד 99375 (דומינו).
- ה-cDNA השלם (2,586 נוקלאוטידים) הצביע על כך שרצף הקיים בבנק הגנים אינו מדויק.



- הרכבה דה-נובו של כל מקטעי-רצף של הולשטיין ב-SRA שהופקדו על ידי ה-USDA (12 פרים) ואותרו על בסיס הדמיון לרצף האקסון האחרון של הגן בחיפוש SRA BLAST.
- השתמשנו במידע זה כדי לתכנן פריימרים של PCR שיאפשרו הגברה ספציפית של גן המטרה.



הקשר בין סמני SNP של BTA1 ופוריות זכרית

BTA1 telomeric SNPs

SNP marker ^a	BTA1 position	A1 (minor)	A2	MAF ^b	β^c
<i>ARS-BFGL-NGS-73542</i>	157,229,645	A	G	0.4020	-0.01
<i>ARS-BFGL-NGS-19721</i>	157,253,652	G	A	0.4090	0.04
<i>ARS-BFGL-NGS-101788</i>	157,307,208	A	G	0.3740	-0.02
<i>BTA-105868-no-rs</i>	157,328,448	A	G	0.2400	0.10
<i>BTB-01585499</i>	157,367,221	G	A	0.2910	-0.08
ARS-BFGL-NGS-113905	157,405,441	A	G	0.0373	-0.50
<i>ARS-BFGL-NGS-90894</i>	157,431,081	A	G	0.1570	0.04
ARS-BFGL-NGS-83544	157,458,860	A	G	0.0913	-0.30
<i>Hapmap26498-BTA-33060</i>	157,503,718	A	G	0.3490	-0.05
<i>ARS-BFGL-NGS-76717</i>	157,542,408	G	A	0.2350	-0.16

^a Boldfaced names indicate SNP alleles with exceptionally low frequency and β values.

^b Frequency of the minor allele was calculated based on 1,750 BeadChips.

^c Marker effects on male fertility were estimated using PLINK Fisher's exact test.

הקשר של בין הפלוטיפים של BTA1 ופוריות

Association analysis of BTA1 telomeric SNP haplotypes with male fertility

Haplotype ^a	#	Freq ^b	β^c	STAT	<i>p</i>	EMP1 ^d
GAGGAGGGGA	1	0.2760	0.0749	0.517	0.472	0.4718
AGAGGGGGAG	2	0.1190	-0.1120	0.670	0.413	0.4133
AGAAAGGGGA	3	0.0981	0.1570	0.969	0.325	0.3266
AAGGGGAGGA	4	0.0802	0.2560	2.100	0.148	0.1493
GGAAAGAGGA	5	0.0533	-0.0120	0.004	0.952	0.9518
GAGGAGGGAG	6	0.0530	-0.2140	1.050	0.306	0.3071
GGAAAGGGAA	7	0.0504	0.3230	2.070	0.151	0.1498
GAGGAGGGAA	8	0.0458	0.0161	0.005	0.945	0.9438
GAGGAAGAGA	9	0.0370	-0.5800	4.560	0.033	0.0325
GAGGGGGAGA	10	0.0257	0.1530	0.263	0.608	0.6043
GGGGAGGGAG	11	0.0184	0.5370	2.590	0.108	0.1073
AAGGAGGGAG	12	0.0154	-0.0296	0.006	0.937	0.9361
AAGGAGGGGA	13	0.0152	0.0878	0.037	0.847	0.8467
AGGGAGGGGA	14	0.0148	-0.2660	0.481	0.488	0.4859
AGGAAGGGAG	15	0.0124	-0.1210	0.090	0.764	0.7601
AGAAGGGAGA	16	0.0103	0.1830	0.131	0.717	0.7139

^a Boldfaced haplotype has a significantly low β value.

^b Haplotype frequency was used to sort this table.

^c Haplotype effects on male fertility were estimated using PLINK linear regression test.

^d Empirical *p* value was the number of times the permuted haplotype-statistic exceeded *p* in 100,000 permutations.

הקשר בין סמני SNP של BTA1 ופוריות בארה"ב

Substitution effects on fertility traits in US Holstein cattle of BTA1 telomeric SNPs

SNP marker ^a	MAF ^b	β HCR ^c	P _{HCR}	β SCR ^c	P _{SCR}
<i>ARS-BFGL-NGS-73542</i>	0.4158	-0.226	0	0.015	0
<i>ARS-BFGL-NGS-19721</i>	0.3315	-0.280	0	0.025	0
<i>ARS-BFGL-NGS-101788</i>	0.3295	-0.250	0	0.023	0
<i>BTA-105868-no-rs</i>	0.2140	-0.126	1.4E-205	0.004	5.39E-21
<i>BTB-01585499</i>	0.2289	-0.315	0	0.044	0
ARS-BFGL-NGS-113905	0.0833	0.064	4.93E-26	-0.011	4.35E-56
<i>ARS-BFGL-NGS-90894</i>	0.1095	-0.208	0	0.034	0
ARS-BFGL-NGS-83544	0.0953	0.046	2.63E-15	-0.001	0.05
<i>Hapmap26498-BTA-33060</i>	0.2591	-0.259	0	0.042	0
Correlation with IL values^d	0.95	-0.78		0.60	

^a Boldfaced names indicate SNP alleles with exceptional frequency and β values.

^b Minor alleles were the same as in Table 2 and their frequencies were calculated based on 4,508,642 BeadChips.

^c Marker effects on heifer and sire conception rates (HCR and SCR, with numbers of observations of 922,893 and 903,690, respectively) were estimated using PLINK Fisher's exact test.

^d Correlations (R) are with Table 2 β values. R was -0.89 within the β values of Table 4.

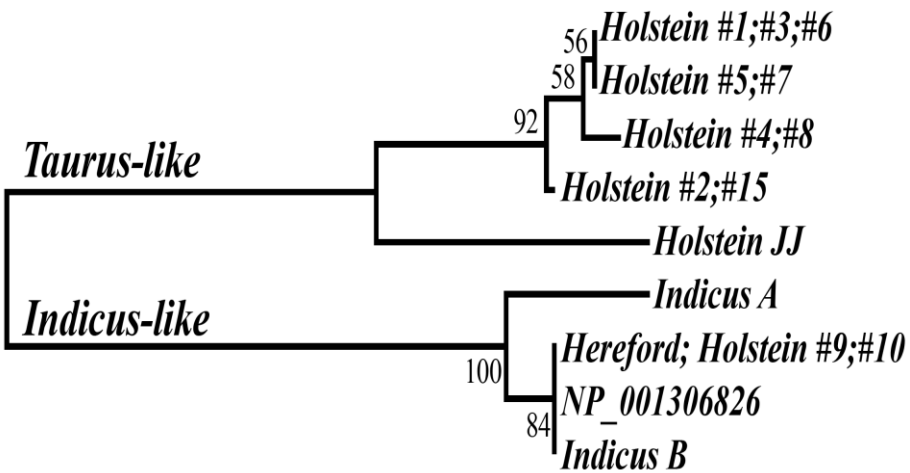
מתאם שלילי כללי בין פוריות זכרית ונקבית בארה"ב

Genetic correlations between DPR and SCR, HCR and CCR
in the US Holstein population^a

	DPR	HCR	CCR
SCR	-0.280	-0.247	-0.368
DPR		0.452	0.880
HCR			0.614

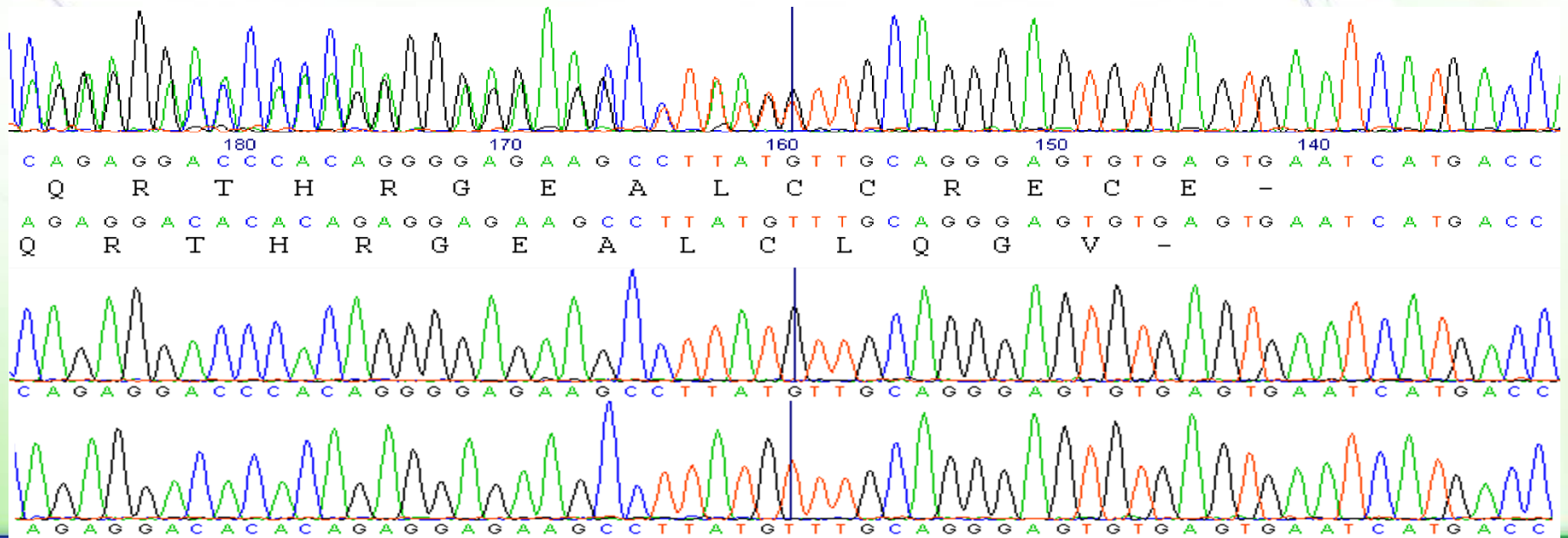
^aDPR, rate of daughter pregnancy; SCR, HCR, CCR, rates of sire, heifer and cow conception, respectively.

עץ פילוגנטי: אללים של PRDM9 עם מערכי ZnF שונים



□ נוקלאוטיד A (האלל הנדיר) של
 ARS-BFGL-NGS-83544 מקושר
 בצורה מושלמת עם האלל 5 של
 PRDM9.

□ כרומטוזומות דו-משמעיות
 קשורות להטרוזיגוטיות לצורות
 החלב והבקר של PRDM9.



מסקנות

□ "שום דבר בגנטיקה לא הגיוני אלא לאור קונפליקט גנומי".

Rice WR (2013) *Annu Rev Ecol Evol Syst*, 44:217-237

□ שיבטנו את הגן PRDM9 של תת-מין בקר הבית (taurine), שהוא הצורה הנפוצה שנשאה על ידי ההפלוטיפים של הולשטיין של באזור גן זה, הדגמנו את חדירתו של הפלוטיפ נדיר מבקר הזבו (indicine) לאוכלוסיית הולשטיין.

□ במהלך מיוזה, אצל זכרים הטרוזיגוטים, הדבר עלול לגרום לאי התאמה במקום של הנקודות החמות לרקומבינציה, לערער את היציבות בשלמות הגנום ולגרום לירידה בפוריות הזכרית כתוצאה מפגמים בתאי הזרע.


□ עם זאת, לגן מהזבו השפעה חיובית על פוריות הנקבית, מה שמסביר את הישרדותו בעדר ואת המתאם השלילי הכללי של $(R=-0.3)$ שנצפה בין תכונות הפוריות של הזכר והנקבה בבקר הולשטיין בארה"ב.

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Bos taurus–*indicus* hybridization correlates with intralocus sexual-conflict effects of *PRDM9* on male and female fertility in Holstein cattle



Eyal Seroussi^{1*} , Andrey Shirak¹, Moran Gershoni¹, Ephraim Ezra², Daniel Jordan de Abreu Santos³, Li Ma³ and George E. Liu⁴

Abstract

Background: Crossover localization during meiotic recombination is mediated by the fast-evolving zinc-finger (ZnF)

Acknowledgements

We thank Dr. Joel I. Weller for useful discussion.