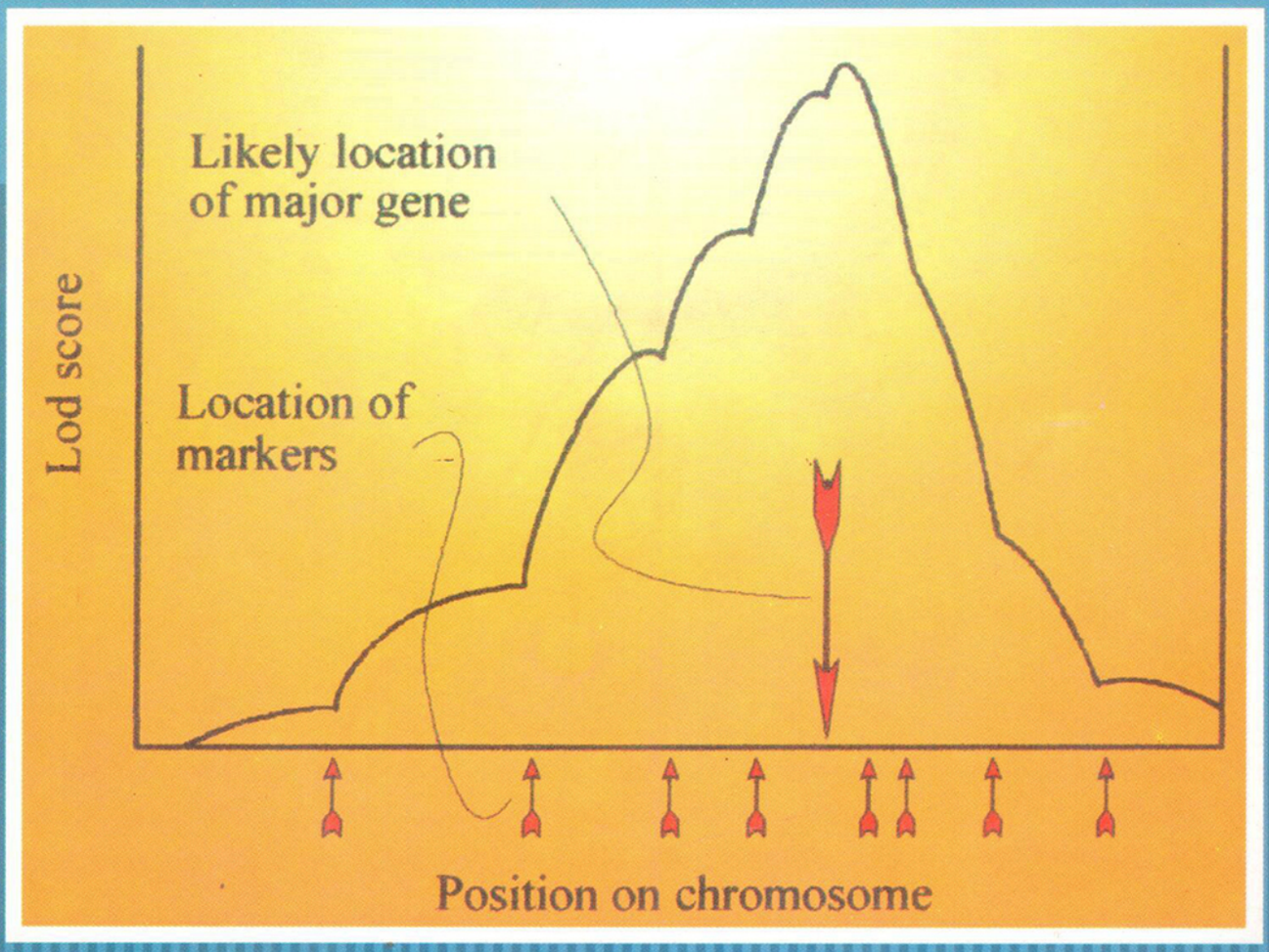
الأستاذ الدكتور أحمد كمال أحمد على

الماركر الوراثى

بين النظرية والتطبيق

فى تربية الحيوان



مكتبة الأنجلو المصرية

الماركر الوراثى
بين النظرية والتطبيق فى تربيـة الحيـوان

تأليف
دكتور/ أحمد كمال أحمد على
أستاذ تربية الحيوان كلية الزراعة - جامعة القاهرة

مكتبـة الأنجلـو المصريـة

بطاقة فهرسة

فهرسة أثناء النشر إعداد الهيئة المصرية العامة لدار الكتب والوثائق القومية ، إدارة الشئون الفنية .

على ، احمد كمال احمد .

الماركر الوراثى بين النظرية والتطبيق فى تربية الحيوان

تاليف : احمد كمال احمد على . – ط١ . –

القاهرة : مكتبة الانجلو المصرية ،٢٠٠٩ .

١٨٣ ص ، ١٧× ٢٤ سم

١- الوراثة (حيوان) أ- العنوان

٢ - الحيوانات - تربية

رقم الإيداع : ١٦١١٣

ردمك :٣-٢٥٦٩-٠٥-٩٧٧ تصنيف ديوى : ٥٩١,٣٥

المطبعة : محمد عبد الكريم حسان

تصميم غلاف : ماستر جرافيك

الناشر: مكتبة الانجلو المصرية

١٦٥ شارع محمد فريد

القاهرة – جمهورية مصر العربية

ت : ٢٣٩١٤٣٣٧ (٢٠٢) ؛ ف : ٢٣٩٥٧٦٤٣ (٢٠٢)

E-mail : angloebs@anglo-egyptian.com
Website : www.anglo-egyptian.com

بسم الـلـه الرحمن الرحيم

" لا تَحْسَـبَنَّ الَـذِينَ يَفْرَحُـونَ بِمَـا أَتَـوْا ويُحِبُّـونَ أَن يُحْمَدُوا بِمَا لَـمْ يَفْعَلُـوا فَـلا تَحْسَـبَنَّهُمْ بِمَفَـازَةٍ مِّـنَ العَذَابِ ولَهُمْ عَذَابٌ أَلِيمٌ "

آل عمران - آية 188

الإهداء

إلى والدي - رحمه الـلـه - الذي عودني أن أطمع في ثراء الفكر والعطاء

إلى والدتي التي جادت على بالدعاء تلو الدعاء

إلى زوجتي التي كافحت معي بصمت العقلاء

إلى ابني محمد ومهيمن اللذين اجزلا مشاعرهما نحوي بسخاء

إلى كل أستاذ زرع في نبتة من علم تربية الحيوان

إلى كل طالب يسعى في طلب العلم

إليكم أهدي ثمرة جهدي

المحتــويات

الإهداء	3
المقدمة	7
الباب الأول	
التحسين الوراثى والوراثة الجزئية	
الجينات والصفات الكمية	18
أولا : الاتجاه الجينى	18
ثانيا: الاتجاه المسح الوراثى	20
الماركر	20
الباب الثاني	
نظم تحليل الارتباط الوراثى	
أولا: نظام البنت	25
النموذج الإحصائي لنظام البنت	26
معوقات نظام البنت	26
ثانيا: نظام الحفيدة	27
النموذج الإحصائي لنظام الحفيدة	27
عقبات للتحليل الوراثي باستخدام الماركر الفردى	29
الباب الثالث	
الاحتمال الشرطى للكيوتى إل جينوتيب	
حساب الاحتمال الشرطى فى الماركر الفردى	33
حساب تأثير الكيوتي ال	34
تحليل الماركرز المتعددة	35
بناء جاميطات الطلوقة	35
حساب الاحتمال الشرطى الماركر المتعدد	36
حساب الحدبة العظمى	36
الباب الرابع	
الماركر وخرائط المسافات	
معادلة المسافات في الخريطة الوراثية	41
تحديد مواقع الكيوتي إل بإستخدام خـرائط المسـافات للماركـرز الانحـدار الخطى	42

الباب الخامس

خرائط المسافات لموقع الكيوتي إل فى الخرائط غير المكثفة

خطوات تحديد موقع الكيوتي إل 49
1- معرفة عدد الطلائق وعدد الأبناء الذكور لكل طلوقة 49
2- النموذج الإحصائى 50
3- حساب الاحتمال الشرطى 51
4- حساب الحدبة العظمى للثوابت 51
5- استخدام إى إم الجوريثم لتقدير ثوابت الكيوتي إل 52
6- تقدير قيمة اللود 53
7- تحديد القيمة الحدية 53

الباب السادس

تحليل الإرتباط الوراثى

أنواع التصميمات المستخدمة لمعرفة الماركرز فى تحليل الارتباط الوراثى 58
أنواع الإرتباط الوراثى 58
أولا: الإرتباط المتزن 58
ثانيا: الإرتباط غير المتزن 59
تقدير الارتباط غير المتزن بين الماركر والكيوتي إل 60
إستخدام الإرتباط الوراثي غير المتزن في تحديد الكيوتي إل علي الخريطة الوراثية 61
دمج الإرتباط الوراثي المتزن LE والإرتباط الوراثي غير المتزن LD 61
خرائط الارتباط الوراثية 62
1- خرائط ارتباط وراثية مكثفة 62
2- خرائط ارتباط وراثية غير مكثفة 63

الباب السابع

إستراتيجيات استخدام الماركرز

الارتباط المتزن والارتباط غير المتزن 67
أنواع الماركز 68
1- الماركز المباشر 69
2- ماركز الارتباط غير المتزن 69
3- ماركز الارتباط المتزن 70
تحديد الكيوتي إل مستخدما LD ماركرز داخل الخليط 71
تحديد الكيوتي إل بإستخدام ماركر الارتباط المتزان LE فى العشائر المتباعدة 71

تحديد الكيوتي إل باستخدام ماركر الارتباط غير المتزن فى العشائر المتباعدة 72
تقدير تأثير الكيوتي إل فى التقييم الوراثى 73
التقييم الوراثى باستخدام الماركر المباشر 74
التقييم الوراثى باستخدام ماركرز الارتباط المتزن 74
التقييم الوراثى باستخدام ماركر الارتباط غير متزن 75
إستراتيجيات الانتخاب داخل النوع بمعلومية الكيوتي إل والبولوجينات 76

الباب الثامن
الانتخاب بناءا على ثلاثة أنواع من الماركرز
صفات الجينات الفردية والصفات الكمية 81
الانتفاع بالاختبارات الوراثية 82
برنامج الماركر المساعد لادخال الجينات 84
برنامج الماركر المساعد للانتخاب 85

الباب التاسع
إستخدام القيمة الدلالية Indicator variable
لحساب تكرار الاليلات وتباينها
حساب التباين 91
الحدبة العظمى 92

الباب العاشر
إستخدام النماذج الخليطة لتقدير تأثير الكيوتي إل
خطوات استخدام النموذج الخليطة 101
عيوب طريقة النموذج الخليطة 103
مصفوفة التطابق بالنسب المصفوفة G 104
الاستفادة من الانتخاب بمساعدة الماركر 107
حساب معامل التربية الداخلية 108
تأثير عدد المواقع على BLUP 108
تأثير طول الجينوم على BLUP 109
تأثير عدد الماركرز على BLUP 110
طريقة بسيطة لحساب مصفوفة التطابق بالنسب باستخدام الماركرز المتعددة 110
بروتوكول استخدام الطريقة البسيطة لحساب مصفوفة التطابق بالنسب 113

الباب الحادى عشر

النموذج المختلط للكيوتي إل

أهمية النموذج المختلط للكيوتى إل 117
التوزيع المختلط للنموذج الخليط 121
خطوات استخدام النموذج المختلط 125
مزايا النموذج المختلط 130

الباب الثانى عشر

الماركرز و التنوع الوراثي

التماثلية فى التنوع الوراثي 135
الماركر المعلوماتى 139
أنواع التزاوج للماركر المعلوماتى 140
مقاييس المعلوماتية 140
الماركر والمسافات الوراثية بين العشائر 141
خرائط المقارنة 142

الباب الثالث عشر

ألإنتخاب الوراثى للمقاومة للمرض

أولا: العقبات التى تواجه الانتخاب للمقاومة للمرض 147
ثانيا: متى يمكن إدخال المقاومة للمرض فى برامج التربية 147
ثالثا: الموانع الدفاعية للمرض فى الجسم 149
رابعا: الإنتخاب الوراثى للمقاومة للمرض 150
الانتخاب المباشر للمقاومة للمرض 151
الانتخاب غير المباشر للمقاومة للمرض 152
الخريطة الوراثية 152
تحديد النوع الأكثر مقاومة للمرض والاستفادة منه فى برامج التربية 154
دور الماركر فى دراسة المقاومة المرضية وتحسين الإنتاج 155
الانتخاب للمقاومة المرضية 157
إستراتيجيات الانتخاب باستخدام الكيوتي إل 157
النموذج الاحصائى 162

الباب الرابع عشر

برامج الماركر المساعدة للانتخاب م ا س

أنواع الماركرز المستخدمة فى برامج الماركر المساعدة للانتخاب 165
نتائج هامة للاستجابة للانتخاب باستخدام الماركر 167
أسباب الاختلافات فى نتائج أبحاث م/ س 170
معوقات فى استخدام برامج الماركز المساعدة للانتخاب 170

المراجع 175

مقدمة الكتاب

مع ظهور الألفية الجديدة, ألفية التقدم العلمى وظهور أفرع مختلفة للعلـوم البيولوجية ومن بينها:

التقدم الهائل فى علم الوراثة الجزئية والذى أدى إلي معرفة الخريطـة الوراثيـة وتحديد التركيب الجينومى للإنسان والـذى لازمـه أيضـا تقـدم فى معرفـة التركيـب الجينومى لكل من الحيوان والنبات. وبتقدم علم الجينوم, يسـعى العلـماء لمعرفـة وتحديـد وظيفـة الـدنا DNA لـيس فقـط للأفـراد ولكـن أيضـا تحديـد وتطـور الجينوتيب بين الأجناس، الأنواع، العائلات؛ والمجموعات الوراثية المختلفة.

وتساهم أفرع العلوم الأخرى فى هذا التقدم، فوراثة العشـائر لهـا أهميتهـا فى تحديد اليلات الجينات وتأثير عوامل الطفرة؛ الهجرة؛ الصدفة؛ والانتخاب على تغير التكرار الاليلى، وأيضا معرفة اثر الإرتباط المتزن، والارتباط غير المتـزن عـلى التكـرار الجينى فى العشيرة.

وتساهم الوراثة الكميـة فى تحديـد نسـبة التـأثير التجمعـى، وغـير التجمعـى، والبيئـى، وكـذلك التـداخل بينهـا فى تقيـيم الحيـوان، وتحديـد كفاءتـه للصـفات الإنتاجية، والفسيولوجية، والمقاومة المرضية.

وللإحصاء الوراثى دورا أساسيا فى علم الجينـوم لان العينـة العشـوائية والخطـأ التجريبى موجودا دائما فى أبحاث الجينوتيـب ويعتمـد التقيـيم الـوراثى للحيوانـات على تحليل البيانات التى تتوافر فى مظهر الصفة، إى معلومات فى سجلات الحيـوان الروتينيـة، وكـذلك معلومـات عـن الجينـات فى مواقـع الصـفات الكميـة عـلى الكروموسومات.

وكـان التقـدم فى علـم البرمجـة واكتشـاف حسـابات آليـة ذات ذاكـرة كبـيرة وسرعات فائقة اثـر كبـير فى التقـدم فى تحديـد الجينوتيـب، وذلـك بإيجـاد بيانـات محاكاة لكثير من نظم التزواج، ونظم تربية الحيوان.

وتحديد الجينات فى مواقع الصفات الكميـة غـير معروفـا لكثـير مـن الصـفات والتى تهم مربى الحيوان، لذلك كان من الضرورى البحث عن جينات مرتبطة معها، وقريبة منها على نفس الكروموسوم والتى منها يمكن الاستدلال على تلك المواقع.

ويتناول هذا الكتاب دور الماركر الوراثى كأحد فروع التحليل الجينومي والـذى ساعد فى تحديد مواقع الصفات الكمية، والـذى تـلاه مبـاشرة معرفـة افضـل طـرق الانتخاب للحيوانات الممتازة فى بـرامج تربيـة الحيـوان. كـما يتنـاول الكتـاب أيضـا كيفية عمل المزيج من افرع العلوم السابق ذكرها فى طرق استخدام الماركر الوراثى، وطرق تحديد مواقع الصفات الكمية، ومعرفة تأثيرها، وتحديد كمية هذا التأثير فى برامج التحسين الوراثى للحيوان.

1

الباب الأول
التحسين الوراثي والوراثة الجزئية

الباب الأول
التحسين الوراثى والوراثة الجزئية

أعتمد التقدم فى التحسين الوراثى للصفات الكمية فى الحيوانات المزرعية سابقًا على الانتخاب بناءًا على الصفات المظهرية أو القيمة التربوية المقدرة من القيمة المظهرية دون معرفة لعدد الجينات وتأثيرها؛ أو موقعها على الكروموسوم والتى تؤثر على الصفات الكمية.

ومع التقدم التكنوحيوى للوراثة الجزئية Molecular Genetics تم معرفة التركيب الوراثى للحيوان على مستوى الـ DNA، وبالتالي يمكن الانتخاب مباشرة بناءًا على الجينات التى تؤثر على الصفة مثل:

الجين الرئيسي Major Gene مواقع الصفات الكمية الكيوتي ال – QTL Quantitative Trait Loci؛ ماركرز Markers مرتبطة ارتباطًا وثيقًا بمواقع الكيوتي ال. وبالتالي يمكن الحصول على تحسين وراثى أكبر منه عند استخدام القيمة المظهرية ويرجع ذلك للعوامل التالية :

1- بفرض عدم حدوث خطأ وراثى، نجد أن الوراثة الجزئية لا تتأثر بالظروف البيئية ولذلك لها معامل وراثى Heritability يساوى الواحد صحيح.
2- تتوافر الوراثة الجزئية فى الأعمار المبكرة أى فى عمر الأجنة وبالتالى يمكن الحصول على المعلومات اللازمة للانتخاب فى عمر مبكر مما يمكن معها تقليل مدى الجيل Generation Interval.
3- يمكن الحصول على معلومات الوراثة الجزئية من جميع الأفراد تحت الانتخاب، وهذا له أهمية خاصة للصفات المرتبطة بالجنس، والصفات مرتفعة القيمة الاقتصادية، والتى يصعب قياسها الإ بذبح الحيوانات كصفات الذبيحة.

ويعتمد التطبيق الفعلى للوراثة الجزئية فى مجال تربية الحيوان خمس قواعد أساسية:

1- رسم الخريطة الوراثية Genetic Map.
2- تحديد التعددية الأليلية Allelic Polymorphism.
3- تحديد المواقع الوراثية للصفات الكمية QTL وتقدير الإرتباط بين البيانات الوراثية الماركرز والصفات الكمية ذات القيمة الاقتصادية.

4- التقييم الوراثى والذى يعتمد على التكامل بين البيانات المظهرية وبيانات الوراثة الجزئية واستخدام افضل الطرق الإحصائية لتقدير القيمة التربوية فى برامج التحسين الوراثي.
5- استخدام برامج الانتخاب بمساعدة الماركر أو ما يسمى برامج الماركر المساعدة للإنتخاب م ا س Marker Assisted Selection MAS حتى يمكن تطوير استراتيجيات التربية وبرامج استخدام معلومات الوراثة الجزئية فى الإنتخاب ونظم التزاوج المختلفة.

الجينات والصفات الكمية :

هناك اتجاهان لتحديد الجينات التى تؤثر على الصفات المهمة:

أولاً: الاتجاه الجينى :

وفى هذا الاتجاه يمكن تحديد الجينات التى تؤثر على صفة معينة، من خلال معرفة الأساس الفسيولوجى للصفة، وعليه يمكن تحديد كل من: الجينات؛ التعديدية الجينية Polymorphism، المصاحبة بين التعديدية الجينية؛ والصفة الكمية. وتتم هذه التحديدات بالتحليل الإحصائي للسجلات المظهرية للأفراد التى تحمل الصفة فى العشيرة تحت الدراسة. وباستخدام هذه الطريقة أمكن تحديد تأثير عدد من الجينات الرئيسة Major Genes. ومن أهم الأمثلة على ذلك:

1- الجين المسمى ب إى إس أر - ESR Estrogen Receptor. وهو المسؤول عن عدد الأفراد فى البطن الواحدة Litter Size فى الخنازير.
2- الجين المسمى مايوستاتين Myostatin وهو المسؤل عن مضاعفة وزيادة العضلات فى الفئران وماشية اللحم. وقد تم تحديد هذا الجين على الكروموسوم رقم 2 قرب النهاية السنترومرية فى الأبقار وهو يسبب مضاعفة العضلات Double Muscling وحيث يؤثر وجود الجين على محصول اللحم وسمك الدهن. وقد وجد أن الحيونات ذات النسخة من الجين غير الفعال Inactivated Myostatin تعطى محصولاً أكثر من اللحم وأقل فى الدهن.
3- الجين المسمى البورولا إف جين Booroola sheep F gene وهو يؤثر على معدل التبويض ويسبب زيادة فى معدل التبويض وزيادة عدد الحملان فى البطن الواحدة ويؤثر الجين تأثيرًا تجميعيا حيث أن وجود واحد اليل يسبب زيادة واحد إلى واحد ونصف بويضة. وهو جين موجود فى أغنام المرنيو

الأسترالية Cisro Booroola Flock. والجدير بالذكر أن هذا الجين لا يظهر أى تأثير للنفاذية Pleiotropic effect على الصفات الإنتاجية الأخرى. بينما يظهر تأثير هذا الجين. ويظهر تأثير هذا الجين على خلايا الجرانيولوزا granulose cells لحويصلة جراف وتقليل تأثير هرمون الإنهبين Inhibin وزيادة مستوى الجونادوتروبين FSH والجدول التالي يوضح ذلك.

	++	F+	FF
معدل التبويض	1.4	2.9	4.7
عدد الأفراد فى البطن	1.5	2.4	2.7

* حيث FF يمثل التركيب الأصيل للبرولا.

4- التعددية الاليلية للنيكلوتيدة الفردية Single Nucleotide Polymorphism SNP

ومنها الجين DGAT1. أو ما يسمى Diacylglycerol O-acyltransferase 1 والذي يلعب دورًا مهمًا فى تشفير الأنزيم والذى بدوره يؤثر فى تخليق التراى جليسريدز Triglycerides وذلك عن طريق هدم التفاعل من الداى اسيل جليسرول Diacylglycerol وال Fatty acyl-CoA عند تكوين الترايجليسريدز والنيكلوتيدة DGAT1 تقرب من منطقة الكيوتي ال QTL لإنتاج الحليب فى منطقة السنترومير للكروموسوم 14 وقد وجد ان هناك استبدال غير منتظم لليسين Lysine بالألانين Alanine للنيكلوتيدة K232A . والأليلين فى هذا الموقع هما A, K يعملان كشفرة لليسين والألانين وبالتالى هناك ثلاثة تراكيب وراثية هى KK, KA, AA فالتركيبان KK, AA يمثل الحيوانات المتطابقة Homozygous. الأليل المسؤول عن الاختلافات فى الليسين مسؤول عن الزيادة فى محصول الدهن ونقص كل من محصول البروتين ومحصول اللبن، بينما الأليل المسؤول عن الاختلافات فى الألانين يقلل نسبة الدهن ويزيد كل من محصول البروتين ومحصول اللبن.

5- الجين CAPN1 له تعددية اليلية ومسؤول كما ذكرنا سابقا عن تشفير الأنزيم u-Caplain Protease كما أنه واحد من أهم الأنزيمات التى تعمل على طراوة اللحم، كما أنه يعمل على تحليل الأنسجة العضلية بعد الذبح أثناء التيبس الرمى Postmortem ويوجد جين CAPN1 على الكروموسوم 29 إذ يحتوى على نيكلوتيدات ذات علاقة بطراوة اللحم، ووجد هذا التأثير فى كل من

الهيرفورد والبراهما وكذلك الخليط بينهما. وتم تحديد أربعة نيكلوتيدات فردية SNP باستخدام أربعة ماركرز هى:

أ – الماركر CAPN316 له الاليلين C/G Cytidine/guanosine polymorphism حيث أن C يشفر الالانين وG يشفر الجليسين والماركر له تركيبين هما CG, GG.

ب- الماركر CAPN 530 adenosine/guanosine polymorphism A/G الاليل A يشفر الايزولسين وال G اليل يشفر الفالين.

ج- الماركر CAPN 4753 Adenosine/Cytidine PolymorphismA/C وله ثلاثة تراكيب AA,AC,CC.

د- الماركر CAPN 5331 Adenosine/Thymidine PolymorphismA/T له ثلاثة تراكيب AA,AT,TT.

ثانيًا: الاتجاه المسح الوراثى Genome Scan :

يستخدم هذا الإتجاة لتحديد الكيوتي إل باستخدام الجينات المعلمة الماركرز والتى تتواجد على طول التركيب الوراثى. ويجب ان يكون كثافة الماركرز عالية اى علي بعد قريب من الكيوتي إل. وان يكون هناك اتزان غير عشوائى بينه وبين الكيوتي إل كما هو الحال في الخلط بين الأنواع أو الخطوط الوراثية كتربية الأباعد Out breeding.

والدقة فى تحديد الكيوتي إل تعتمد علي توافر الماركرز وتوافر عشائر ذات حجم كبير.

والعشائر الملائمة لدراسة وراثة الكيوتي إل هى:

1- عائلات أنصاف الأشقة لعشائر متباعدة Half sib families.
2- الجيل الثانى F2 الناتج عن خلط عشائر متباعدة Outbreeding.
3- عشائر مرباة تربية داخلية Inbred Population.
4- عشائر الخلط الرجعى Backcrossing.

الماركر Marker :

الماركر هو جين يستخدم لتحديد مواقع جينات أخرى علي الكروموسوم ومنها الكيوتي إل وقد يكون موقع الماركر هو نفسه موقع الكيوتي إل سيأتي ذكر ذلك لاحقًا.

ويمكن تقسيم الماركرز الي:

1- الماركرز المباشرة وهى جينات لمواقع علي الكروموسوم لها قدرة التشفير لوظيفة معينة. بمعنى أخر هى جينات وظيفية، ويعتبر هذا النوع من الماركرز من أهم الماركرز المطلوبة فى برامج التربية، لان لها علاقة مباشرة مع ظاهرة بيولوجية معينة، أو صفة معينة لها تعبيرا مظهريا. وتعتبر الماركرز المباشرة من اصعب الماركرز تحديدا Difficult to Detect فمن الصعوبة بمكان تحديد سبب علاقتها مع الصفات الكمية والتي لها علاقة وراثية تجمعية.

ومن أهم الماركرز المباشرة علي سبيل المثال الجين المسمى DGAT1 CoA-Diacylglycerol Acyltransfereace وجين مستقبلات هرمون النمو Growth Hormone Receptor وهذان الجينان لهما تأثيرهما على صفة إنتاج الحليب ومكوناته. كما أن هناك الماركرز ذات التأثير المباشر للصفات العضوية المرضية Congential Defects والتى لها علاقة بالتمثيل الغذائى، وعموما يمكن تحديد هذا النوع من الماركرز ذات التاثير المباشر للصفات العضوية المرضية عنها فى الصفات الكمية. ومن امثلة هذا النوع من الماركرز Bovine Leukocyte Adesion Deficiency أو نقص تخليق اليوريدين مونوفوسفات Uridine Monophosphate Synthesis. ومن الأمثلة الأخرى، الجين المسؤول عن تخليق ال K-Casine والجين المسؤول عن تكوين ال B-Lactoglobulin فى الحليب.

وتستخدم الماركرز المباشرة أو تسمي أحيانا Casutive Genes فى برامج التلقيح الصناعى لمنع عيوب خلقية معروفة وذات تأثير ملموس، مما يتطلب استخدام الطلائق الصغيرة بعد فحصها وراثيا لكشف الاليلات المتنحية. ويحظر إدخال الطلائق الخليطة Heterozygous Bulls فى برامج الاختبار بالنسل. ويستخدم نسل الطلائق الأصيلة للاليلات الطبيعية والتى لا تتأثر بلاليلات المتنحية المميتة كما ان تكرار الاليلات المعيوبة Defective Alleles فى عشائر الأبقار يتناقص بمعدل النصف مع التقدم جيلا بعد جيل.

2- ماركرز أخرى اسهل تحديدا وأقل أهمية كالماركرز التى فى حالة ارتباط غير متزن Linkage Disequilibrium وتتواجد على بعد عدة وحدات CMS من الماركرز الوظيفية وهى مثل الماركرز المباشرة تسمح بالانتخاب باستخدام

الجينوتيب عبر العائلات Across Families ومثال على ذلك ماركر قريبا من جين البرولاكتين والذى له تأثيرا على إنتاج الحليب وتركيبه.

3- الماركرز السهل اكتشافها كالماركرز التى فى حالة ارتباط متزن Linkage equilibrium. وتعتمد أكثر برامج تحسين الماشية على هذا النوع من الماركرز حيث يسهل التعرف على هذا النوع من الماركرز باستخدام عائلات أنصاف الاشقة الكبيرة الحجم. وهى عموما تتواجد على مسافات ابعد من الجينات الوظيفية على الكروموسوم، لذلك يؤدى بعد المسافات إلى حدوث العبور وتكوين توافيق وراثية genetic recombination، مما يؤدى الي حدوث عكس لطور الارتباط reverse the linkage phase بين الماركرز والجينات الوظيفية من جيل الى جيل مقللا اهميتها للانتخاب حتى داخل العائلات Within family selection. وتبدو أهمية الماركرز في الانتخاب للصفات ذات المعامل الوراثى Heritability المنخفض، وفى الحالات التى تبدو فيها صعوبة فى إجراء الإختبار بالنسل لصعوبة الحصول على بيانات مظهرية.

2

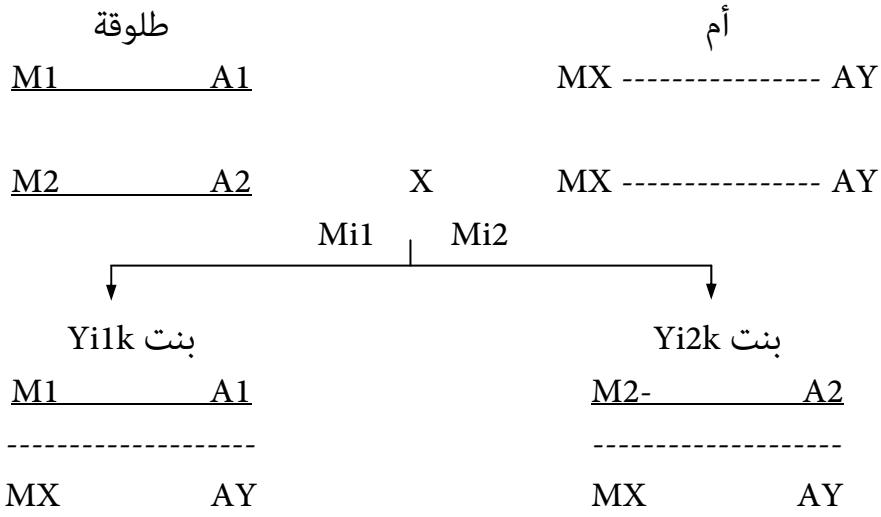
الباب الثانى
نظم تحليل الارتباط الوراثى

الباب الثانى
نظم تحليل الارتباط الوراثى
Single Marker Analysis

تحليل الإرتباط بين الماركرالفردي والكيوتي إل باستخدام نظام البنت ونظام الحفيدة.

أولا: نظام البنت :

في هذا النظام يتم تتبع أليلات الكيوتي إل لجيلين، أو أكثر من الطلوقة التى تم اختيارها قبل أن تستخدم في الانتخاب. وفي هذا النظام تستخدم عائلات أنصاف الاشقة لتحليل الارتباط بين الماركر المنفرد والكيوتي إل والرسم التالي يوضح ذلك:



ماركر من الاب M1, M2
ماركرمن الام MX
جينات QTL من الاب A1, A2
جينات QTL من الام Ay
القيمة المظهرية للصفة للبنت k والطلوقة i واليل الماركر j هي Yijk
ـــ كروموسوم الأب
----- كروموسوم الأم

يلاحظ أن لو كان الفرد الطلوقة مثلا خليط للماركر M1,M2 ومرتبط بجين الكيوتي إل A1, A2 . عندئذ يمكن أن نتوقع وجود تراكيب وراثية جديدة

حيث يستقبل النسل بنات الطلوقة جين ماركر من الأب مرتبط مع أليل للكيـوتي إل A1, A2 . وهنا يمكن تقسيم النسل إلي مجموعات طبقا لاليل الماركر الـذي ينتقـل من الأب الخليط للماركر، وبذلك يمكن إيجاد فـروق بـين متوسـط القيمـة الكميـة لمجموعتي النسل التي إنتقل إليها إليلى الماركر وإيجاد فروق معنوية للماركر داخـل الطلوقة باستخدام اختبار t يكون دليلاعلي وجود جين الكيـوتي إل بجانـب المـاركر ويشرح الإحصائي ذلك.

النموذج الإحصائي لنظام البنت :

هذا النموذج يمثل النظام الهرمي لمجموعة الماركر داخل الطلوقة.

$$Yijk = Si + Mij + eijk$$

حيث نجد

القيمة المظهرية للصفة للبنت	Yijk =
تأثير الطلوقة	Si =
تأثير الاليل j للطلوقةi	Mij =
الخطأ	Eijk =

معوقات نظام البنت :

1- يتطلب نظام البنت دراسة الجينوتيبنج Genotyping لعدد كبير مـن البنـات ولعدد كبير من المـاركرز، إى أن نظـام البنـت يتطلـب عينـة ذات حجـم كبـير Large sample size، مما يؤدي إلي زيادة تكاليف الدراسة.
2- أحيانا يكون هناك عدد محدود من البنات لكل طلوقة، لذلك يستخدم بيانات البنات لعدد من الطلائق مجتمعة حتي يمكن زيـادة قـوة الاختبـار الإحصـائي المستخدم.
3- أحيانـا يكـون الطلوقـة خلـيط لجـين المـاركر Heterozygous، ولكـن أصـيلا Homozygous لجين الكيوتي إل.عند ئذ إنعزال المـاركر والكيـوتي إل لايعطـي فروق إلا في جزء بسيط بين مجموعتي البنات بالنسبة لمتوسط القيمة الكميـة لهذا الطلوقة.
4- في حالة وجـود عـدد مـن عـائلات أنصـاف الاشـقة قـد تختلـف علاقـة الإرتبـاط بـين المـاركر والكيـوتي إل في الأفـراد المختلفـة، بمعنـي أن بعـض الأفـراد يكـون المـاركر في كروموسـوم معـين مـرتبط بكيـوتي إل، تزيـد مـن متوسـط الصـفة

الكمية، بينما يكون في كروموسوم أخر الماركر نفسه مرتبط بكيوتي إل، تقلل من متوسط الصفة الكمية، لذلك يكون إختبار t غير كاف لاظهار الفروق بين مجموعات البنات.

5- عند استخدام الطلوقة الخليط لماركر معلوماتي له أكثر من أليل، وعند توارث نسل الطلوقة لأليلات الماركر الخليط يجري إختبار F كنسبة بين متوسط المربعات للماركر أليل داخل الطلوقة إلي متوسط المربعات الراجع للخطأ. وهذا الإختبار يختلف من ماركر عن أخر وحتي بالنسبة للماركرز والتي لها المحتوي نفسه البلومورفزمى PIC Content Information Polymorphism. نجد أن الاختلافات التي ترجع للصدفة تتسبب فى اختلاف درجات الحرية من ماركر إلي أخر مما يعطى قيما مختلفة لاختباF .

ثانيا: نظام الحفيدة :

وفي هذا النظام يكون هناك جد Grandsire يحمل أليلات الماركر M1,M2 ومرتبطة بأليلات الكيوتي إل ويتتبع إنتقال أليلات الماركر والمرتبطة بأليلات الكيوتي إل A1,A2 من الجد الي الحفيدة عبر أبناء Sons من الجد. ويتم تسجيل توريث Genotyping للأبناء Sons والطلائق الجد الخليطة للماركر وكذلك تقدير قيمة الصفة الكمية كمية الحليب مثلا في بنات الأبناء الحفيدات Granddaughters.

النموذج الإحصائي لنظام الحفيدة:

هذا النموذج يمثل النظام الهرمي وفيه الأبناء داخل اليل الماركر داخل الطلوقة الجد.

وأن وجود تأثير معنوي للماركر داخل الجد دليل علي إنعزال الكيوتي إل المرتبطة بالماركر.

$$Yigkl = Gi + Mij + Soijk + eigkl$$

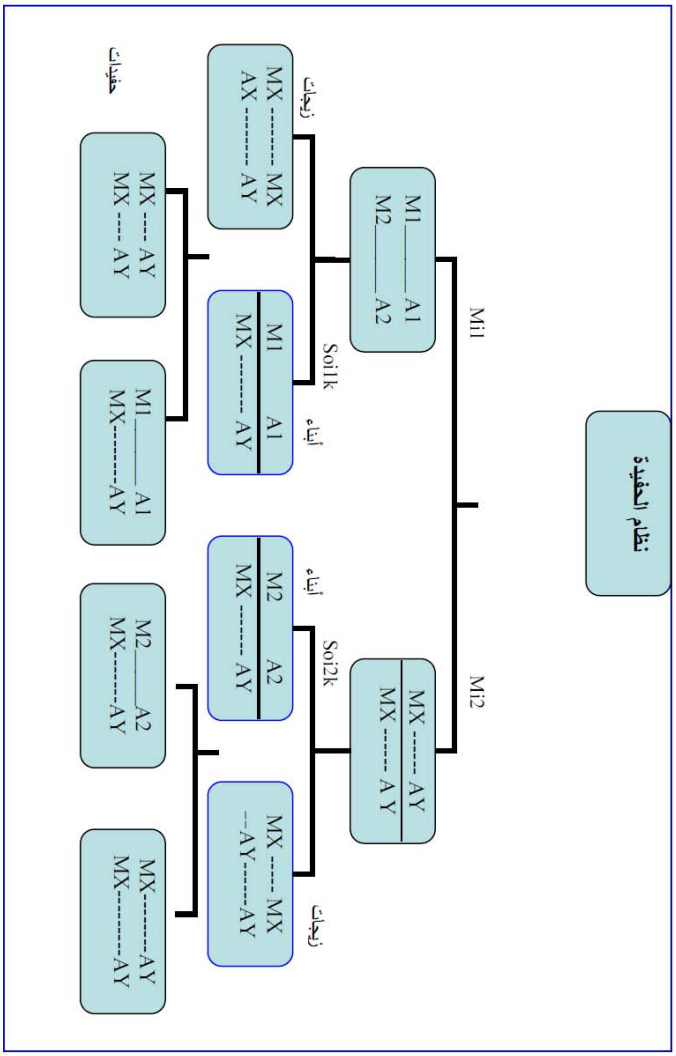
Yijkl = القيمة المظهرية للصفة للحفيدة l بنت الابن k أبن الجد i ولها اليل الماركر j لذلك يتكون مجموعتين من الأبناء لكل جد

Gi = تأثير الجد i

Mij = تأثير أليل الماركر j للجد i

Soijk = تأثير الابن k للجد i والاليل j

Eijk = الخطأ



M1, M2 أليلات الماركر من الجد ، Mx أليلات الماركر من الجدة والأم

A1, A2 أليلات الكيوتي إل من الجد ، Ay أليلات الكيوتي إل من الجدة والأم

----- كروموسوم من الجد

----- كروموسوم من الجدة

كما سبق توضيح توارث الماركر الفردي باستخدام نظام البنت ونظام الحفيدة وهناك عقبات للتحليل الوراثى باستخدام الماركر الفردى يجب ذكرها.

عقبات للتحليل الوراثي باستخدام الماركر الفردي:

من المعروف أن معرفة التوريث Genotyping لعدد كبير من الماركرز يتطلب بيانات كثيرة، وكذلك تحليل معملي مكثف للميكروساتليت Microsatellite ولكن هناك عوائق هامة لتحليل الماركر الفردي الوحيد أهمها:

1- لا يوجد ماركر تام الخلط لـه درجـة خلـط 100% . واسـتعمال المـاركر العـالي المعلوماتية Highly Informative Markers مثل الماركر المتعدد الاليليـة لـه متوسط درجة خلط 50-70%. وانه لأي مـاركر, يكـون هنـاك بعـض الطلأئـق تكون خليطة Heterozygous، وبعض الطلأئق أصيلة Homozygous، وغـير معلوماتية NonInformative.

2- تحليل الماركر الوحيد ينتج عنه كثير من المعلومات، ويكون هناك تحيز واضـح فى الموضع المقدر للكيوتي إل.

3- لو كان هناك عدد من الماركرز,والتي لها معدل مختلف للمحتـوي المعلومـاتي, مرتبطة للكيوتي إل, نجد أن الماركر الذي يعطي أكبر دليل علي وجـود الكيـوتي إل هو المـاركر الـذي لـه أكـبر قـدر معلومـاتي Informative Marker ولـيس الماركر الأكثر قربا Closest Marker للكيوتي إل.

4- عند تقدير موضع، وتقدير تأثير الكيـوتي إل يكـون متوسـط تـأثير الكيـوتي إل وموضعها ممزوجين Confounded. وهذا المزج يؤدي إلي تقدير متحيز لتأثير الكيـوتي إل وتقـدير مـنخفض لقـوة الاختبـار الإحصـائى Statistical power خصوصا عندما يكون هناك خريطة وراثية منخفضـة الكثافـة Low Density Map.

5- لا يمكن تحديد موضع الكيوتي إل بدقة وذلك لعدم الإستقلا لية بين إختبـارات النظرية الفرضية للماركرز المرتبطة، والممزوجة مع تأثير وموضع الكيوتي إل.

3

الباب الثالث
الاحتمال الشرطي للكيوتى إل جينوتيب

الباب الثالث
الاحتمال الشرطى للكيوتى إل جينوتيب
Conditional Probability

الاحتمال الشرطى للكيوتى إل جينوتيب هو العنصر الاساسى الذى بنى عليه نظرية خريطة الكيوتي إل. حيث انه لو كان الجينوتيب للكيوتي إل هو Q_k ومعطا جينوتيب الماركر الملاحظ M_j يكون الاحتمال الشرطى هو:

$$\Pr Q_k / M_j = \Pr Q_k, M_j \;/\; \Pr M_j$$

وتصبح المعادلة العامة لمتوسط جينوتيب الماركر M_j هى:

$$\mu_{M_j} = \sum_{k=1}^{N} \mu_{Q_k} \Pr(Q_k / M_j)$$

اي انه يوجد عدد N كيوتى إل QTL $Q_1, Q_2, \ldots, Q_N$ حيث أن متوسط k^{th} كيوتى إل هو μ_{Q_k} وأن تأثير الكيوتي إل يكون من خلال μ_{Q_k} بينما يكون موضع الكيوتي إل من خلال الاحتمال الشرطى Conditional Probability. $\Pr Q_k / M_j$

حساب الاحتمال الشرطى فى الماركر الفردى:

يمكن حساب الاحتمال الشرطى بمثال:

فى نظام F2 الناتج من خلط خطين اصيلين MMQQ* mmqq ماركر أحادى وكيوتى إل أحادية مرتبطة مع الماركر، وكان معدل التوافيق الوراثية هو بينهما هو c, تصبح القيمة المتوقعة لتكرار الجاميطات هو:

$$\Pr MQ = \Pr mq = 1\text{-}c /2 \quad , \quad \Pr Mq = \Pr mQ = c/2$$

وان احتمال فرد من F2 تركيبه

$$\Pr MMQQ = \Pr MQ \,.\, \Pr MQ = \{1\text{-}c /2\}^2$$

$$\Pr MmQQ = 2\Pr MQ \,.\, \Pr mQ = 2\, c/2 \;[1\text{-}c /2]$$

ويصبح الاحتمال الشرطى للكيوتى إل معطا الماركر كالاتى:

$$\Pr QQ/MM = 1\text{-}c^{2},\ \Pr qq/MM = c^2,\ \Pr Qq/MM = 2c\ 1\text{-}c\ ,$$

$$\Pr QQ/Mm = c\ 1\text{-}c\ ,\ \Pr Qq/Mm = 1\text{-}c^{2} + c^2,\ \Pr qq/Mm = c1\text{-}c\ ,$$

$\Pr QQ/mm = c^2,\ \Pr Qq/mm = 2c\ 1\text{-}c,\ \Pr qq/mm = 1\text{-}c^2$

حساب تأثير الكيوتي إل :

كما يمكن حساب تأثير الكيوتي إل بمثال:

فى نظام F2, ماركر أحادى وكيوتى إل احادية مرتبطة مع المـاركر وكـان معـدل التوافيق الوراثية هو بينهما هو c

لو رمزنا لقيمة الجينوتيب للكيوتى إل

$\mu_{QQ} = \mu + 2a,\ \mu_{Qq} = \mu + a\ 1+k$ and $\mu_{qq} = \mu$

حيث أن a هى مقياس للقيمة التجمعية وقيمة k هى مقياس لدرجة السيادة وبتطبيق الاحتمال الشرطى تصبح قيمة

$\mu_{MM} = \mu + 2a\ 1\text{-}c^2 + 2c\ 1\text{-}c\ \ 1+k\ \ a$

$\mu_{Mm} = \mu + 2a\ c\ 1\text{-}c\ + [1\text{-}2c1\text{-}c\ ] + 1+k\ \ a$

$\mu_{mm} = \mu + 2a\ c^2 + 2c\ 1\text{-}c\ + 1\text{-}c\ \ 1+k\ \ a$

ولو كان الماركر والكيوتي إل غير متشابهين c = ½ وأن كل الماركر لها المتوسط نفسه $\mu + a\{1+k/2\}$ وبترتيب المعادلات نجد أن

$a^* = \mu_{MM} - \mu_{mm}\ /2 = a1\text{-}2c$

$K^* = \{\mu_{Mm} - \mu_{MM} + \mu_{mm}\ /2\}/\ \{\mu_{MM} - \mu_{mm}\ /2\} = k\ 1\text{-}k$

وان قيمة a^*, K^* هى تقدير لقيمة a, k.

لو كان هناك N كيوتى إل مرتبطة للماركر, تكون ال i^{th} كيـوتى إل والتـى لهـا معدل توافيق c من الماركر، ويكون لها تاثير تجمعى وتاثير سيادى a_i, k_i

$\mu_{MM} - \mu_{mm}\ /2 = = \sum_{i=1}^{N} a_i^*$

$\{\mu_{Mm} - \mu_{MM} + \mu_{mm}\ /2\}/\ \{\mu_{MM} - \mu_{mm}\ /2\} = \sum_{i=1}^{N} a_i^* k_i^* / \sum_{i=1}^{N} a_i^*$

$a^* = a_i\ 1\text{-}\ 2c_i\ ,\ k_i^* = k_i\ 1\text{-}2c_i$

تحليل الماركرز المتعددةMultiple Marker Analysis :

عند تحليل الماركرز المتعددة يتم تحديد أزواج من الماركرز القريبة من بعضها والتي كل زوج منها يحيط بالكيوتي إل Putative Markers، ويعتمد هـذا النظـام على أنـه لموقـع معـين مسـافة 1cm في الخريطـة الوراثيـة يـتم حسـاب الإحـتمال الشرطي Conditional Probability أن يتوارث النسـل إحـدي الجاميطـات لهـذا الموقع مشروطا علي الماركرز Marker Genotype، ثم يتم إدمـاج هـذا الاحـتمال الشرطي في إحدي الطرق ألأحصائية مثل الحدبة العظمي، أو أقل فرق للمربعـات. طبقا للخطوات التالية:

1- بناء جاميطات الطلوقة:

بعد تحديـد الطلوقـة الخلـيط للماركـرز، وإسـتبعاد المـاركرز غـير المعلوماتيـة الاصيلة والمثال التالي يوضح ذلك:

طلوقة لها التركيب الوراثي Aa BB Cc dd EE Ff

الطلوقة له 100 بنت نصف شقيقة وأن

عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل	A and C or a and C = 6
عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل	A and C or a and C = 17
عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل	C and F or C and F = 15
عدد أفراد النسل التي توارثت الاليل	C and F or C and F = 10

وتصبح إعادة بناء جاميطات الطلوقة هي:

Gamete 1	A	C	F	
Gamete 2	A	C	F	
HS1	AA	cc	ff	تركيب النصف شقيق الأول
HS2	AA	cc	ff	تركيب النصف لشقيق الثانى

المطلوب حساب إحتمال توارث الاليل من الطلوقة للجاميطة 1 للكيوتي إل Q علي بعد 30 cM من الماركر A وأن المسافة بين كل أثنين من المـاركرز هـي cM 20:

معدل التوافيق الوراثية كدالة في المسافة بين الماركرز $r = 0.5\ 1\text{-}e^{-2m}$. حيـث m تمثل المسافة بين الماركرز وتمثل r معدل التوافيق الوراثية.

2- حساب الاحتمال الشرطى Conditional probability فى الماركرز المتعددة:

ويمثل الجدول التالي إلاحتمال الشرطي، إذا كان لكل ماركر أليلين والتي تنعـزل بتكرار متساوى

النسل Offspring	الاحتمال الشرطى Conditional Probability	قيمة الاحتمال Probability
HS1	1-rAQ 1-rQC /l-rAC	0.97
HS2	RAQ l-r QF /rAF	0.50

ويصبح الاحتمال الشرطي للجاميطتين لكل المواقع في المجموعة المرتبطة وراثيا هو 5. كما الحال فيHs2.

3- حساب الحدبة العظمى Maximum Likelihood :

$$L=\prod_{i=1}^{s}\left\{ p\prod_{j=1}^{ni}\frac{1}{(2\pi\sigma_w^2)^{1/2}}\exp(\frac{-z_{ij}^2}{2\sigma_w^2})+\frac{(1-p)}{2}\prod_{j=1}^{ni}\frac{1}{(2\pi\sigma_w^2)^{1/2}}\right. *$$

$$\left[m_{ij}\exp(\frac{-(Z_{ij}-\frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2}\right]+(1-m_{ij})\exp(\frac{-(Z_{ij}+\frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2})+$$

$$\left.\frac{(1-p)}{2}\prod_{j=1}^{ni}\frac{1}{(2\pi\sigma_w^2)^{1/2}}\left[m_{ij}\exp(\frac{-(Z_{ij}+\frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2}+(1-m_{ij})\exp(\frac{-(Z_{ij}-\frac{\alpha}{2})^2}{2\sigma_w^2})\right]\right\}$$

حيث أن Z_{ij} تمثل القيمة المظهرية للسجل محسوبة كانحراف من متوسط مجموعة أنصاف الاشقة للطلوقة i وللنسل j بينما تمثل m_{ij} الاحتمال الشرطى Conditional Probability بان النسل j يورث الجاميطة 1 من الطلوقة i عند موقع الدراسة وان الطلوقة i له ni من النسل.

هنا نجد أن الحدبة العظمى للكيوتى إل لمكان معين يتطلب ثلاث ثوابت هي:

1- معدل تكرار الطلائق الأصيلة عند موقع الكيوتي إل P .
2- تأثير استبدال جين الكيوتي إل Subsitutian Effect of QR.

3- تباين الخطأ σ^2_w. وان المعادلة السابقة تعطى تقدير تقريبى للثوابت، وإن التقدير الادق يحتاج الى استخدام إى أم الجورثيم EM algorithm وسوف يأتي شرحه لأحقا.

4

الباب الرابع

الماركز وخرائط المسافات

الباب الرابع

الماركز وخرائط المسافات
Marker and Interval Mapping

يعتمد هذا التحليل علي معرفة تكرار زوج مـن المـاركرز القريبـة مـن بعضـها والتي تحصر بينها كيوتي إل فمثلا لوكان هناك أثنين من الماركرز A, B تقـع بيـنهما كيوتي إل وكانت المسافة بين الماركر A والكيوتي إل q هي r_1 والمسافة بين الماركر B والكيوتي إل q هـى r_2 وان وضع الكيـوتي إل بـين المـاركرز يمكـن تمثيلـه بالوضـع النسـبى بـين المـاركرز A,B حيـث أن $P_1= r_1/r$ وأن $1-P_2=r_2/r$. وأن $r = r_1+ r_2 - 2r_1r_2$ أو أن $r = r_1 + r_2$ عند عدم حـدوث عبـورمزدوج Double Crossing Over ولو كان هناك ثلاثة مواقع A, B, C مرتبطة وراثيا وتصبح قـيم التوافيـق الوراثيـة هى r_{AB}, r_{AC}, r_{CB} نتيجة للعبور وتصـبح قيمـة $r_{AC} = r_{AB} + r_{CB} - 2 r_{AB} r_{CB}$ حيـث أن $r_{AB}\ r_{CB}$ هي القيمة المتوقعة للعبور المزدوج أي العبور بين A,B وكذلك العبـور بين B,C معا. وتنحرف القيمة الملحوظة عن القيمـة المتوقعـة حيـث يمكـن قيـاس هذا الانحراف بمعرفة قيمة التداخل Interference حيث تصبح قيمة $AC = r_{AB} + r_{CB} - 2C\ r_{AB}\ r_{CB}$ حيث ان C هـي معامـل المصـادفة Coincidence وأن C-1 هي معامل التداخل Interference وعند عدم وجود التداخل تصبح قيمة صفر = C-1 وتصبح قيمة C=1 وتصبح قيمة $2C\ r_{AB}\ r_{CB} = r_{AB}\ r_{CB}$. والتداخل يرجـع إلي التداخل بين A, B من ناحية وبين B ,C من ناحية أخرى.

معادلة المسافات في الخريطة الوراثية Distance of Genetic Map:

لو رمزنا لمعدل حدوث العبور بالرمز λ عندئـذ يصـبح أحـتمال عـدم حـدوث العبور بالرمز $e^{-\lambda}$

P non Crossover $= e^{-\lambda}$, واحـتمال حـدوث العبـور هـو $e^{-\lambda}$ PCrossover = 1-

ويصبح عدد التوافيق الوراثية المتوقعة $r =.5\ 1-e^{-2m}$

وتصبح قيمـة Haldane Distance m $m = -.5\ln 1-2r$ حيـث أن r معـدل التوافيق الوراثية.

والضرب في 5. يرجع الى انه عند حدوث عبور واحد في حالة وجود زوج من الكروموسومات المتشابهة، ينتج عن ذلك نصف العدد من الجاميطات ذات التوافيق الوراثية ويمكن باستخدام طريقة هالدين Haldane معرفة المسافة بين الجينات علي الخريطة الوراثية.

تحديد مواقع الكيوتي إل بإستخدام خرائط المسافات للماركرز :

الإنحدار الخطى:

يستخدم الإنحدار الخطى للقيم المظهرية Phenotype للأفراد على القيم الوراثية Genotype وهى إحدى الطرق التي تعطى ثوابت لها خصائص الثوابت المحسوبة من الحدبة العظمى Maximum Likelihood

ويمكن أن تستخدم المعادلة الخطية $_i = a + b\, g_i + e$

حيث أن قيمة gi هي قيمة دلالية Indicator تأخذ قيم 1 ,0 لوجود أو عدم وجود الماركر وقيمة b ترمز الى تقدير التأثير المظهري لاستبدال الاليل الفردى لقيم الكيوتي إل ويكون الحل لنموذج الانحدار السابق هو تقدير الثوابت

$(\hat{a},\hat{b},\hat{\sigma}^2)$ وهى تقديرات لقيم الحدبة العظمى $L\,(a,b,\sigma^2)$

حيث أن $L\,(a,b,\sigma^2) = \Pi^i\ Z\,((\text{Ø}_i - (a + b\, g_i)),\ \sigma^2)$

$$z(x,\sigma^2) = 1\Big/\left(\sqrt{(2\Pi\sigma^2)}\exp\left(-x^2\Big/2\sigma^2\right)\right)$$

وان قيمة LOD تستخدم لتحديد وجود الكيوتي إل من عدمه فمثلا في الخلط الرجعي Backcrossing وتصبح قيمة

$$LOD = LOG_{10}(L(\hat{a},\hat{b},\hat{\sigma}^2)/L(\hat{\mu}_A,0,\hat{\sigma}^2_{B1})$$

حيث إن σ^2، تباين e، σ^2_{B1} تباين النسل الناتج من الخلط الرجعي للسلالتين A,B مع أحد الأباء A*(A*B) أو B* (A*B)

ولو أن قيمة LOD > T حيث أن قيمة T هي قيمة حدية Threshold value محددة مسبقا. وتتوزع قيمة $LOD \sim \chi^2$ بدرجة حرية واحدة ويمكن اختيار القيمة الحدية Threshold T من المعادلة :

$T = 1/2(\log_{10} e)(Z_\alpha)^2$ حيث أن قيمة $\alpha = .5$.

LOD=logarithm of ODD وهو تقدير إحصائى يستخدم للاستدلال علي وجود الكيوتي إل من عدمه. المكان الذى له LOD عالى وموجب يكون الاكثر احتمالية لوجود الكيوتي إل. وهنا يجب أنه يتم تحديد إرتباط إحصائي بين الماركر والكيوتي إل، ولم نجد الجين نفسه وهناك مصادر ممكن أن تؤدي لحدوث الخطأ في تحديد الاستدلال الإحصائي لوجود الكيوتي إل:

1- من الممكن أن يتواجد أثنين أو أكثر من الكيوتي إل ولهم إشارة التأثير نفسها positive or negative effects أى كيوتى إل فى حالة Coupling. وهنا لا يمكن للتحليل الإحصائى أن يكشف عن وجود كيوتي إل واحدة فى وسط أثنين من الكيوتي ال الحقيقية. وهذا ما يعرف بالكيوتي إل الشبح Ghost QTL وهو ما ينتج عنه خطأ من النوع الأول Error of Type I. والخطأ من النوع الأول يحدث نتيجة للاستدلال علي وجود موقع للكيوتي إل حيث لا توجود كيوتي إل حقيقة وهو ما يعرف بالموجب المزيف False Positive. وعند حدوث خطأ في عدد الكيوتي إل ينتج ما يسمى بالخطأ من النوع الثاني TypeII.

2- الكيوتي إل الرئيسة غير المرتبطة تضخم قيمة التقدير الاحصائى. وقد يحدث إرتباط عفوي نتيجة للإنحراف من القيمة المتوقعة لنسبة الإنعزال الوراثى لاى زوج من المواقع على الجينوم. وهذا يحدث نتيجة وجود عشائر صغيرة أو وجود اى خلل غير متوقع قى الانعزال الوراثي. ويؤدى هذا أيضا إلي ظهور الكيوتي إل الشبح Ghost QTL.

3- لو كان هناك اثنين من الكيوتي إل ولهما عكس الإشارة QTL in Repulsion Phase عندها يصبح التأثير لهما معا قريبا من الصفر.

4- تحديد مواقع الكيوتي ال في خرائط المسافات هو تحديد متوسط تاثير كل الكيوتي إل الموجودة في المنطقة من الكروموسوم تحت الدراسة وليس هناك طرقة لفصل تأثير كل كيوتي ال علي حدة والتأثير الملاحظ هو مجموع تاثير كل الكيوتي ال الصغيرة التاثير معا ولو أمكن إجراء التجربة عدة مرات لنجد قمم قصوي لقيم LOD في موقع مختلف عن الموقع السابق.

5- لوان المحتوى المعلوماتي Information Content منخفضا فى المنطقة التى تحتوى علي الكيوتي إل نجد أن القمة تتجه الى المنطقة الأكثر معلوماتية.

تحديد عدد الكيوتي إل المرتبطة وراثيا مستخدما الإنحدار القياسى لماركر-الصفة:-

$Z_j = \mu + \sum_{k=1}^{n} b_k x_{kj} + e_j$ حيث j ترمز لعدد الأفراد, b_k هو معامل الإنحدار والذى منه يمكن معرفة إذا كان الماركرز تحصر كيوتى إل. أيضا b_k يمكن ان تظهر التقدير المباشر لتأثير الكيوتي إل وموقعها.

مثال :

فى تجربة محاكاة Simulation ل 2000 فرد من F_2 لثلاثة كروموسومات على مسافات متساوية 25 CM

c≈.02 CM لمعادلة هالدين . الكيوتي إل وضعت على مسافات بين الماركرز 2, 15, 14 , 13, 14 , 7, 8 , 4, 5 , 1 . وكان تقدير معاملات الإنحدار المتعدد ل 15 ماركرز هى كالآتى:

marker	1	2	3	4	5
bi	-0.2996	-0.1422	-0.0221	0.2209	0.1956
marker	6	7	8	9	10
bi	-0.00189	-0.1922	-0.2404	0.01	-0.0108
marker	11	12	13		14
bi	-0.0254	0.0371	0.3019	0.2644	0.337

لو نظرنا لكل زوج من معاملات الانحدار القريبة والتى لها الإشارة نفسها وكان كلاهما معنويا ويختلافا عن الصفر

مما يعنى وجود كيوتى إل فى المسافات 15, 14 , 13, 14 , 7, 8 , 4, 5 , 1, 2 .

والانحدار باستخدام التسعة ماركرز يعطى SSE نفسه للانحدار الكامل مستخدما 15 ماركرز مما يشير الى انه ليس من الماركرز التى إستبعدت قريبة من الكيوتي إل. أو قريبا من الكيوتى إل المتعددة المرتبطة والتى تأثيرها أزال بعضها البعض

لكن إستبعاد اى من التسعة ماركرز ينتج عنه معاملات إنحدارلها SSE معنويا اى وجود مجموع مربعات للخطا معنويا مما يؤيد النظرية الفرضية بان

كل هـذه المـاركرز قريبـة مـن الكيـوتي إل وبإسـتخدم هـذه التسـعة ماركرزتصـبح معاملات إنحدار هى:

marker	1	2	4	5
bi	-0.2975	-0.1323	0.2296	0.1962
marker	7	8		
bi	-0.2407	-0.2377		
marker	13	14	15	
bi	0.3145	0.264	0.3355	

ولوجود كيـوتى إل معزولـة فى المسـافات 2, 1 , 5, 4 , 8, 7 معزولـة لا يوجـد دليل للكيوتى إل فى المسافات القريبة يمكن تقدير تاثير وموقع هذه الكيوتي إل مـن المعادلة الآتية:

عند وجود كيوتى إل لهـا تـأثيرا تجمعيـا ووجـود معـاملات الإنحـدار للماركـرز المحـاصرة للكيـوتى إل regression coefficients for the flanking markers والتى يمكن أن تستخدم مباشرة لتقدير تاثير وموقع الكيوتي إل كالآتى:

لو فرضنا أن الماركرز i, i + 1 تحصر كيوتى إل معزولة فى عشـيرة ال F2, تكـون المسافة من الماركر i إلى الكيوتي إل هو :

حيث :

$$c_i = .5\left[1 - \sqrt{1 - \frac{4b_{i+1}\theta_i(1-\theta_i)}{b_{i+1} + b_i(1-2\theta_i)}}\right]$$

حيث أن $\theta_i = c_{i,i+1}$ هى المسافة بين الماركرز.

وتقدير التأثير التجمعى للكيوتي إل a مستقلا من تأثير السيادة عنـد الكيـوتي إل هو

$$a^2 = \frac{[bi + (1-2\theta_i)b_{i+1}][b_{i+1} + (1-2\theta_i)b_i]}{1-2\theta_i}$$

حيث أن كلا من b_i , b_{i+1} لها الإشارة نفسها مثل إشارة a.

وبتطبيق المعادلات السابقة نجد أن:

$$c_1 = .5\left[1 - \sqrt{1 - \frac{4(-.1323).2(1-.2)}{(-.1323)+(-.2975)(1-2.02)}}\right] = .74$$

$$a_1^2 = \frac{[(-.2975)+(1-2.02)(-.1323)][(-.1323)+(1-2.02)(-.2975)]}{1-2.02}$$

$$= (.442)^2$$

اى a_1 = -.442

$b_1, b_2 < 0$ كذلك الكيوتي إل فى المسافة للماركرز 4, 5 نجد ان قيم

a_4 = .446 & C_4 = .105 وان الكيـوتي إل فى المسافــة 7, 8 نجــد ان a_7= -.494 & C_7= .112

ويلاحظ ان القـيم المقـدرة تقـترب مـن القـيم الحقيقيـة التـى إسـتخدمت فى تجربة المحاكاة Simulation حيث كانت القيم هى:

C1 = .07 & C4 = .11 & C7 = .11 , & $a7=-a_4=-a_1$

5

الباب الخامس

خرائط المسافات لموقع الكيوتي إل

فى الخرائط غير المكثفة

الباب الخامس

خرائط المسافات

لموقع الكيوتي إل فى الخرائط غير المكثفة

وهنا يتم تحديد الحدبة العظمي لكلكيوتي إل المحصورة بين أثنين من الماركرز في كل موقع من الجينوم بينما الكيوتي إل التي تتواجد في موقع أخر علي الجينوم يكون لها تاثير تداخلى مما يؤدى لحدوث تحيزا في موقع وتأثير الكيوتي إل. وتستخدم هذه الطريقة عندما تكون الخريطة ليست مكثفة Sparse or Not Dense Map حيث نقدر الحدبة العظمى للكيوتي إل عند مواقع متعددة داخل المسافة المحصورة بين الماركرز للحصول على ما يسمى البروفيل Profile للحدبة العظمى للكيوتي إل QTL Likelihood Profile ويوضح المثال التالي:

خطوات تحديد موقع الكيوتي إل :

إستخدام خرائط المسافات وحساب الحدبة العظمى لتحديد موقع الكيوتي إل وتأثيرها فى عشائر القطعان لماشية الحليب، وذلك باستخدام عائلات أنصاف الاشقة باستخدام نظام الحفيدة وهنا نحتاج إلى الخطوات التالية:

1- معرفة عدد الطلائق وعدد الأبناء الذكور لكل طلوقة:

ونسبة تباين الكيوتي إل إلى التباين المظهرى وأخيرا يجب معرفة المسافات بين الماركرز والكيوتي إل ومن هذه المسافات يمكن معرفة معدل التوافيق الوراثية r1,r2,r ومنها يمكن حساب الاحتمال الشرطى للاليلات Conditional Probability معطيا نوع الجاميطات للماركز التى تحصر الكيوتي إل. الطلائق ليست بينها علاقات نسب Unrelated و أنها خليطة لكل مواقع الماركرز.

مثال فى إحدى التجارب تم استخدام 6 طلائق هولستين وكل طلوقة لها ما بين 74-71 n=433 ابنا. لذلك توافر 6 عائلات، وبالتالى 6 تأثير استبدالى للكيوتى إل QTL Substitution Effects. وحدد الجينوتيب Genotyping للطلائق الاباء Sires وللابناء Sons لعدد 69 مايكروستاليت ماركرز موزعة على 12 كروموسوم هى على الترتيب 1, 3, 5, 6, 9, 10, 13, 15, 17, 20, 26, 23 ومسحت الماركرز مسافة 867.4 cM من الجينوم وكان هناك 9-2 ماركرز للكروموسوم.

عدد الاليلات الملاحظة لكل ماركرز تراوح بين 15-2 اليل وتم مسح الجينوم لكل 1 cM مسافة بين الماركرز.

كان المتوسط والانحراف المعياري للقيم المظهرية للصفات تحت الدراسة. خمسة صفات متوسطهم 0.06 ± 3.19 , 16 ± 3.7 , 11.9 ± 9.6 , 15.2 ± 9.8 , 408 ± 275 وهى صفات كمية الحليب ومحصول الدهن ومحصول البروتين ونسبة الدهن ونسبة البروتين مثلا. ويتوافر الآن نوعين من البيانات هما:

1- الملاحظات المظهرية عن الصفات الكمية.
2- معلومات عن الماركرز التى تم تحديدها عن طريق المايكروستاليت. تم استخدام النموذج التالي:

2- النموذج الإحصائي والافتراضات:

لو كانت قيمة الملاحظة Y_{ij} للابن j = 1,…..,ni للطلوقة i = 1,….,k

يمكن التعبير عنها بالنموذج الاحصائى التالي:

$$\underset{ij}{Y} = X'_{ij} B + \varepsilon_{ij} Z'_{ij} a + e_{ij} \qquad 1$$

متجه العوامل المحددة vector of fixed effects ويمكن أن يشمل المتوسط العام ومتوسط عائلات انصاف الاشقة = B

صف row vector للمصفوفةْ X المناظر ل $X'_{ij} = \underset{ij}{Y}$

متجه لعمود column vector لتأثير الكيوتي إل α = a1,a2,…..ak

صف row vector للمصفوفة Z المناظر ل $z'_{ij} = \underset{ij}{Y}$

ε_{ij} = دليل لمتغير وهذا الدليل =1 لو تورث الأبن الأليل Q_i^1 من الطلوقة i والدليل = صفرا لو تورث الأبن الأليل Q_i^2 من الطلوقة i.

$$E_{ij} \sim N\ 0,\ R\sigma^2$$

DYD = Yij أو تمثل القيمة التربوية.

Daughter Yield Deviation = DYD وهى تمثل مظهر البنات مصححًا لقيمة العوامل المحددة والتأثيرات العشوائية غير الوراثية للبنات والتأثيرات الوراثية للأمهات.

قيمة الاعتماد = r_{ij} أو هى reliability

وقيمة σ^2_{ij} هي r_{ij} /σ^2 =σ^2_{ij} . & وقيمـة $R=diag1/r_{ij\ n*n}$ & $N = \sum_{i=1}^{k} n_i$

وقيمـة m_{ij}/ $r_{ij} = 1+.25\ m-1\ /h^2$ وقيمـة m_{ij} تمثـل عـدد البنـات المسـتخدمة في حساب قيمة DYD للابن ij. الطلائق غير مرتبطة وتزاوجت عشوائيا مع الأمهات.

3- حساب الاحتمال الشرطى لاليلات الكيوتي إل معطا نـوع الجاميطـة للماركـرز التى تحصر الكيوتي إل:

MarkerM	PrM	Pij=PrQ1/M	1- Pij=PrQ2/M
M_1N_1	1-r /2	$1-r_1\ 1-r_2\ /1-r$	$r_1r_2/1-r$
M_1N_2	r/2	$1-r_1\ r_2/r$	$r_1 1-r_2\ /r$
M_2N_1	r/2	r11-r2 /r	$1-r_1\ r_2\ /r$
M_2N_2	1-r /2	$r_1r_2/1-r$	$1-r_1\ 1-r_2\ /1-r$

معدل التوافيـق للكيـوتي إل مـع المـاركرز1&2 هـو r_1,r_2 بيـنماr هـى معـدل التوافيق بين الماركرز التى تحصر الكيوتي إل

4- حساب الحدبة العظمى للثوابت :

عند وجود بيانات الماركرز والملاحظات المظهريـة كـما هـو موضـح فى الخطـوة 1 تصبح قيم الحدبة العظمـى للثوابـت Likelihood of the Parameters $\beta, \alpha\ , \sigma^2$ كما هى فى المعادلة 2 :

$$L(\beta,\alpha,\sigma^2/y,M) = \prod_{i=1}^{k}\prod_{j=1}^{ni}(2\pi\sigma^2_{ij})^{-1/2}\{P_{ij}\exp\left[-\frac{1}{2\sigma^2_{ij}}(Y_{ij}-X'_{ij}\beta-\alpha_i)^2\right] \quad 2$$
$$+(1-P_{ij})\exp\left[-\frac{1}{2\sigma^2_{ij}}(Y_{ij}-X'_{ij}\beta)^2\right]\}$$

حيـث أن $P_{i\ j}$ هـو الاحـتمال الشرطـى للابـن ij انـه تـورث الاليـل الأول مـن الطلوقة مستدلا عليه من معلومات المـاركرز. وانـه لكـل مكـان كيـوتي إل اختـبرت نجــد ان $P_{i\ j}$ حسبت مـن اقــرب زوج مـن المـاركرز المعلوماتيـة Informative

Markers للابن j للطلوقة i وتستخدم معادلة هالدين لتحويل المسافات الوراثية الى معدل توافيق وراثية.

5- استخدام إى إم الجوريثم EM algorithm لتقدير ثوابت الكيوتي إل:

وهنا يعامل الكيوتي إل جينوتيب كبيانات غائبة Missing Data ويستخدم الالجوريثم EM لحساب الحدبة العظمى للاحتمال الشرطى المتوقع للوغارتيم الحدبة العظمى للبينات الكاملة مع أخذ البينات الغائبة فى الاعتبار فى المعادلة : 4

The Conditional Expectation of the Log-likelihood for the Complete Data with Respect to Missing Data

$$Q(\theta/\overset{|t|}{\theta}) = \sum_{i=1}^{k}\sum_{j=1}^{ni}\{\left(\log\left[\phi\left(Y_{ij}/\beta,\alpha,\sigma^2\right)P_{ij}\right]\pi_{ij}^{|t|}\right)$$

$$+\log\left[\left[\phi\left(Y_{ij}/\beta,\sigma^2\right)(1-P_{ij})\right](1-\pi_{ij}^{|t|})\right]\} \qquad 3$$

Where

$$\pi_{ij}^{|t|} = P_{\text{ij}}\,\phi\left(Y_{ij}/\overset{|t|}{\beta},\overset{|t|}{\alpha},\overset{2|t|}{\sigma}\right)/P_{\text{ij}}\phi\left(Y_{ij}/\overset{|t|}{\beta},\overset{|t|}{\alpha},\overset{2|t|}{\sigma}\right)$$

$$+\ 1\text{-}P_{\text{ij}}\,\phi\left(Y_{ij}/\overset{|t|}{\beta},\overset{2|t|}{\sigma}\right) \qquad 4$$

وبتفاضل قيمة $Q\theta/\theta^{|t|}$ يمكن الحصول علي أعلي قيمة Maximization والتى تؤدى الى حساب الثوابت من المعادلات التالية

$$\begin{bmatrix} X'R^{-1}X & X'R^{-1}U' \\ U'R^{-1}X & Z'R^{-1}U \end{bmatrix}^t \begin{bmatrix} \beta^{|t+1|} \\ \alpha^{|t+1|} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'R^{-1}y \\ U'R^{-1}y \end{bmatrix} \qquad 5$$

$$\sigma^{2|t+1|} = 1/N(Y-X\beta^{|t+1|})'R^{-1}(Y-X\beta^{|t+1|}) +$$
$$\alpha^{|t+1|}Z'R^{-1}U^{|t|}\alpha^{|t+1|} - 2(Y-X\beta^{|t+1|})'R^{-1}U^{|t|}\alpha^{|t+1|} \qquad 6$$
$$U^{|t|} = \left\{\pi_{ij}^{[t]}Z_{ij}'\right\}_{N*K}$$

المصفوفة U = المصفوفة Z مع استبدال العناصر 1 فى الصف z_{ij} بالعناصر π_{ij}.
ويلاحظ ان الاحتمال الشرطى المتقدم π_j Posterior Probability يـتم حسـابه فى الخطوة E بينما يتم حساب الثوابت β, α, σ^2 فى الخطوة M من الالجوريثم من المعادلة 5, 6. وقيمة | t | ترمز إلى رقم الدورة الحسابية Iteration Cycle.

$\o Y_{ij}/\ \beta\ _{,\alpha,}\sigma^2$ هى معادلة الكثافـة Density Function للبيانـات Y_{ij} معطـا الثوابت $\beta,\alpha,\ \sigma^2$.

6- تقدير قيمة اللود LOD :

يستخدم LOD كما سبق ذكره لتحديـد وجـود الكيـوتي إل فى المكـان تحـت الإختبار حيث قيمة LOD المرتفعـة فـوق القيمـة الحديـة Thresholdهـو دليـل وجـود الكيـوتي إل. ويسـتخدم LOD لاختبـار وجـود الكيـوتي إل تحـت النظريـة الفرضـية Null Hypothesis H_0 أن $\alpha\ i = 0$ حيـث $i=1,2,\ldots,k$ يعنـى لا وجـود للكيوتي إل التى تنعزل عند مكان الإختبار. بينما النظريـة البديلـة هـو عـلي الاقـل وجود واحدة من تأثير كيوتى إل لطلوقة معنوية وتنعزل عند مكان الاختبار. ويمكن كتابة LOD Score :

$$LOD = LOG_{10}L(L(\hat{\beta},\hat{\alpha},\hat{\sigma}^2) - LOG_{10}(\hat{\beta}_0,\hat{\sigma}_0)$$

حيــث أن الحدبــة العظمــى للثوابت تحت النظرية الفرضية هى:

$$\hat{\beta}_0 = (X'R^{-1}X)^{-1}X'R^{-1}Y$$

$$\hat{\sigma}^2_0 = 1/N(Y - X'\hat{\beta}_0)'R^{-1}(Y - X\hat{\beta}_0)$$

7- تحديد القيمة الحدية:

القيمة الحدية المعنوية تحدد تجريبيا باستخدام إختبار التباديل Permutation Test حيث يكـون هنـاك نوعـان مـن البيانـات البيانـات المظهريـة DYD or BV ، وبيانـات الجينوتيـب Genotype. وتبقـى بيانـات الجينوتيـب بـدون تغيـر، بيـنما يجرى إعادة تفنيط Shuffling القيم المظهرية للصفة داخل عائلات انصـاف الأشـقة وبالتالى نضمن عدم وجـود مصـاحبة coupling أو إرتـبط بـين المـاركرز للمجموعـة

المرتبطة وراثيا وبين القيمة المظهرية للصفة . يتم إعادة التفنيط مرات ومرات N=10000 وكل مرة يتم حساب قيم LOD وبالتالى يمكن عمل توزيع تجريبى للاحصاء المحسوب فى وجود النظرية الفرضية بعدم وجود كيوتي إل. يتم حساب القيمة الحدية للكروموسوم chromosomewise critical value α = 1% 5% 10% باخذ قيمة الكونتيلquantile 90, 95, 99 من التوزيع التجريبى للاختبار الاحصائ المناظرة لقيم α Test Statistics وللوصول للجينوم الكامل له عدد n من الكروموسومات يستخدم تصحيح بنفرونى Benferroni Correction حيث Pgenomewise = 1 - 1- Pchromosomewise ^{n}.

وأظهرت بعض النتائج للتحليل السابق انه على الكروموسوم رقم 1 توجد كيوتى إل لمحصول البروتين تقع بين الماركر BM4307 والماركر INRA003، وكانت هناك كيوتى إل على الكروموسوم رقم 3 لنسبة البروتين تقع بين الماركر FCGR والماركر INRA023 . ووجد أيضا كيوتى إل على الكروموسوم رقم 3 لمحصول الحليب حول الماركر INRA003. كيوتى إل لمحصول الحليب وجدت على الكروموسوم 6 حول الماركر BM415 . وكان هناك كيوتى إل لمحصول البروتين على الكروموسوم رقم 20 عند الموقع 19 cM وتقع بين الماركر TGLA126,BM1225. وكان موقع محصول الحليب على الكروموسوم 20 فى مسافة الماركر نفسها التى تؤثر على محصول البروتين مما يعزى الى تاثير النفاذية على الكيوتي إل الفردية او تاثير مشترك لاثنين من الكيوتي إل القريبة والمرتبطة مع بعضها. وعلى الكروموسوم 26.

وأظهر LOD Profile انه وصل لأعلى قيمة له على الموقع الأخير للماركر لمحصول الدهن P=.010 .

6

الباب السادس
تحليل الإرتباط الوراثى

الباب السادس
تحليل الإرتباط الوراثى Linkage Analysis

لرسم الخريطة الوراثية لتحديد موقع الكيوتي إل يتم مسح وراثي للجينوم باستخدام تحليل الإرتباط الوراثي Linkage Analysis ويتم تحديد موقع الماركرز علي الكروموسومات وذلك لكل من جيل الأباء والأبناء ثم يتتبع انتقال اليلات الجين المعلم الماركر من الأباء إلي الأبناء . ووجود فروق معنوية في القيمة المظهرية للصفة بين مجموعات النسل التى توارثت الأليلات المتقابلة للماركر من الأب المشترك يدل علي وجودارتباط وراثي Linkage بين الجين الماركر والكيوتي إل التي تؤثر في الصفة. وعموما احتمال تحديد الماركرز والكيوتي إل بهذه الطريقة يكون منخفضا وذلك لوجود مسافات متباعدة بين الماركرز نفسها. وتحديد عدد اكبر من الماركرز نفسها علي الكروموسومات لايزيد من دقة تحديد الكيوتي إل إذا كانت المسافات بين الماركرزمتباعدة وذلك لوجود عدد قليل من التوافيق الوراثية لبعد المسافات بين الماركرز المرتبطة بالكيوتي ال والتي يجب أن تكون بين 1-2 cM.

وتحليل الإرتباط الوراثي هو تحليل الإعتمادية Analysis of dependence أو تحليل عدم الإستقلالية فى وراثة الجينات على المواقع الوراثية المختلفة بناءً علي التحليل المظهرى للأفراد التى تعرف بينها علاقات نسب Pedigree Relationship. والإعتمادية بين الجينات على المواقع الوراثية المختلفة تعكس Synteny للمواقع المختلفة وتعتبر درجة الإعتمادية او عدم الإستقلالية مقياسا للمسافات بين المواقع الوراثية المختلفة.

وعند توافر الماركرز فى خريطة وراثية معينة وفى حالة إعتماد توارث صفة معينة على مجموعة من الماركرز يمكن تحديد المواقع الوراثية للصفة او الإستدلال عليها Inferred . ويعتمد التحليل الوراثى اساسا علي نظرية الإحتمال Probability Theory والإحصاء الإستدلالي Statistical Inference. بمعنى أخر تحليل الإرتباط الوراثى هو التحليل الإحصائى للبيانات الوراثية ومن اهم خطوات هذا النوع من التحليل هو معرفة معدل التوافيق الوراثية Recombination Rate الناتج عن حدوث العبور بين المواقع الوراثية المختلفة والتى يزداد معدله كلما بعدت المسافة بين تلك المواقع الجينية. ويكون معدل العبور أقل من النصف 5. > r عند وجود درجة من الارتباط Linkage بين اى موقعيين على الكروموسوم. وفى المواقع القريبة جدا من

بعضها يكون معدل التوافيق صفرا r= . وفى المواقع البعيدة تماما عن بعضها يكون معدل العبور r = 0.5 . ويتم حساب معدل التوافيق الوراثية حتى يتم ترتيب المواقع الوراثية للصفة تحت الدراسة حيث فى النهاية يتم تحديد المواقع الوراثية فى ترتيبها الصحيح فى الخريطة الوراثية.

أنواع التصميمات المستخدمة لمعرفة الماركرز فى تحليل الارتباط الوراثى:

1- إستخدام عشائر F2 من خلط عشيرتين من F1 أو إستخدام الخلط الرجعى وذلك بخلط احد الابوين مع F1 وتتيح هذه الطريقة تحديد الكيوتي إل التى ثبتت فى أحد الانواع.
2- إستخدام نظام عائلات أنصاف الاشقة حيث ان الطلائق الخليطة للماركرز تتزاوج مع عينة عشوائية من الإناث ويجرى الجينوتينبج على النسل كله AI progeny genotyped.
3- إستخدام نظام الحفيدة حيث أن أباء الطلائق وأبنائهم تُقيم باستخدام الاختبار بالنسل. ويجرى لها الجينوتيبنج، والتصميم الاول مهم فى تحديد الكيوتي إل الثابتة والمحددة في أحد الانواع. بينما التصميمان 2 و3 مهمان فى تحديد التنبأ الكيوتي إل والتنبأ بها داخل العشائر.
4- استخدام الخلط بين الأفراد التى تكون لها مظهر الصفة اوتوليفة الصفات فى الافراد المتباعدة جدا عن بعضها اى من الافراد التى هى من خطوط منتخبة متنوعة تماما أو الخلط بين العشائر التى لها تباين واسع للصفات الهامة.

وفى العشائر المتباعدة تستخدم فقط الطلائق الخليطة أو الجدود التى لها القوة المعلوماتية فى عزل الماركر أو عزل الماركر والكيوتي إل. وفى العائلات التى يكون فيها الماركر والكيوتي إل فى طور تزاوج اوتجاذب Coupling, نجد ان التاثير الملاحظ لاستبدال الاليل A1 بالاليل A2 يمكن أن ينقص انتاج الحليب بمقدار 500 كجم مثلا، بينما أخرى لو كان الماركر والكيوتي إل فى طور إنفار repulsion يمكن أن يؤدى هذا الاستبدال الى زيادة الحليب ب 500 كجم.

انواع الإرتباط الوراثى :

أولا: الإرتباط المتزن Linkage Equilibrium LE :

وهو الذى ينتج عنه ثبات تكرار الجينات عبر الاجيال وذلك فى غياب الإنتخاب فى العشائر كبيرة الحجم ويستخدم الإرتباط الوراثى لمعرفة مكان الكيوتي إل على

الخريطة الوراثية Mapping QTL وذلك بتحديد توارث منطقة من الكروموسوم في البيانات الوراثية واتى يمكن تتبعها باستخدام المـاركرز.وحيـث وجـد ان المنطقـة التى تورث يعزى اليها أغلب التبـاين فى البيانـات المظهريـة مـما يشـير الى أن أكـثر المناطق إرتباطـا بـالكيوتي إل ,أي انـه في وجـود الارتبـاط المتـزن LE تكـون بـرامج الماركرز_المساعدة للانتخاب م أ س داخـل العـائلات وهـذا يتطلـب بيانـات كثـيرة لتحديد طور الارتباط Linkage phase داخل العائلة Within Families. وكـذلك قى حالة وجود كيوتى ال بعيدة المسـافة عـن المـاركرز، أو في فقـد تعقـب المـاركرز المرتبطـة بـالكيوتي ال عـلي مـر الأجيـال. ويلاحـظ أنـه فى ال LE عنـدما يتسـبب الإنتخاب الطبيعي في تغير تكرار أليل عند موقع معين لايتسبب هذا فى تغير تكـرار الاليل فى المواقع الاخري. لذلك فإن الإرتباط المتـزن يكـون فيـه التفسـير والتحليـل للتباين الوراثي سهلا وممكنا.

ثانيا: الإرتباط غير المتزن Linkage Disequlibrium LD :

لتوضيح معنى الإرتباط غير المتزن نبدأ أولاً بتوضـيح معنـى الهابلوتيـب وهـو فرد يحمل عددا مـن الاليلات لمواقـع متجـاورة فمـثلا لوكـان هنـاك ثلاثـة مواقـع A,B,C وكـان للموقـع A الألـيلات ..... A_1, A_2, وللموقـع B الألـيلات ... B_1,B_2, وللموقع الأليلات C ..... C_1,C_2 فمثلا الفرد الـذى لـه الالـيلات A_3,B_5,C_2 هـو $A_3B_5C_2$ يسـمى هابلوتيـب Haplotype ويكـون تكـرار الهبلوتيـب $A_iB_jC_k$في العشـيرة هـو P_{ijk} ويكـون تكـرار الاليـل A_i هـو $P_{i..} = \Sigma_{j.k} P_{igk}$ والاليـل B_j هـو $P_{.j.}$ والاليـل C_k هـو $P_{..k}$ عـلي التـوالي وتصـبح قيمـة $P_{ijk} = P_{i..}P_{.j.}P_{..k}$ ؛ عندئـذ يكـون التباين لهذه المواقـع الثلاثـة في حالـة إتـزان عشـوائي وعنـدما تكـون قيمـة $P_{ijk} \neq P_{i..}P_{.j.}P_{..k}$ يكون التباين في هذه المواقع الثلاثة فى حالة إتزان غير عشـوائي ويسـمي هذا الإرتباط غير المتزن أو الطور الجاميطي غير المتـزن، أو المصـاحبة الأليليـة. وفي كثير من العشائرالوراثية نجد أن الإرتباط غير المتـزن يعتمـد عـلي معـدل التوافيـق الوراثيـة Recombination Rate.أي أن الإرتبـاط غـير المتـزن هـو المصـاحبة غـير العشوائية للجينات عنـد تكـوين الجاميطـات فى العشـيرة، أو ميـول اليـل معـين في موقع ما أن يجتمع مع اليلات أخري في مواقع أخري بمعدل تكراري أكبر من معدل الحدوث نتيجة الصدفة.

ووجود عدد من الماركرز مبعثرة حول الكيوتي ال معا يكونا ماركر هابلوتيب ويمكن تكوين الماركر هابلوتيب بوجود كيوتي ال محصورة بين أثنين من الماركرز.

ويلاحظ أنه في حالة الإتزان العشوائى LE يمكن تحديد التباين عند كل موقع تماما وذلك بمعرفة تكرار الاليلات عند هذا الموقع حيث ان تكرار الهابلوتيب يمكن تقديره من ضرب تكرار الاليلات لهذا الهبلوتيب . ولو كان هناك اليلان لكل موقع من المواقع الثلاثة، يكون هناك ثلاثة ثوابت فقط لوصف العشيرة في حالة الإتزان العشوائى، أو الإرتباط المتزن LE، بينما في حالة الإرتباط غير المتزن LD يجب ان يكون وصف كامل لكل تكرارات الهابلوتيب، وكذلك يجب معرفة تكرار الاليلات وكذلك معدلات عدم الإتزان Disequilibrium Coefficient. لذلك بالنسبة للثلاثة مواقع A,B,C لوكان هناك اليلان لكل موقع يجب تحديد سبعة من الهابلوتيب لوصف العشيرة ويكون تكرار الهبلوتيب هو واحد صحيحا مطروحا منه مجموع تكرار السبعة هابلوتيب الاخري. وفي الإرتباط غير المتزن عندما يؤثر الإنتخاب على موقع معين يتسبب ذلك في تأثير قوي علي التكرار الأليلي فى المواقع الأخرى.

تقدير الارتباط غير المتزن بين الماركر والكيوتي إل:

لو رمزنا لاليلى الماركر بالرمز M1,M2 ولاليلى الكيوتي إل بالرمز Q1,Q2 يمكن تحديد الارتباط غير المتزن بين الكيوتي إل والماركر بحساب المصاحبة المعنوية و القيمة المعنوية χ^2 فمثلا المحسوبة من جدول 2 × 2 للحالة المرضية فى وجود اليلى الماركر.

Marker status	Normal	Disease	Total
Allele A1	n_{N1}	n_{D1}	n_1
Allele A2	n_{N2}	n_{D2}	n_2
Total	n_N	n_D	N

$$^2\chi = Nn_{N1}n_{D2-} n_{N2} n_{D1}{}^2 / n_1 n_2 n_N n_D$$

وتصبح قيمة الارتباط غير الوراثي Linkage Disequilibrium $\hat{D}$

$$\hat{D} = \frac{n_{N1}}{n} - \frac{n_N}{n} \times \frac{n_1}{n}$$

إستخدام الإرتباط الوراثي غير المتزن في تحديد ال كيوتي ال علي الخريطة الوراثية:

يسمح الإرتباط الوراثي غير المتزن بإستخدام كل التوافيق الوراثية والتي حدثت عبر الأجيال قبل بدء التحديد الوراثي للماركر Marker Genotyping. ويمكن تحديد الإرتباط غير المتزن بتقدير تأثير الماركرهابلوتيب علي الصفة الكمية، حيث أن الهابلوتيبس الذي يحتوي أليلات ماركر متطابقة. يتوقع أن يكون لها التأثير نفسه علي الصفة الكمية. لأن وجود أليلات متطابقة للماركرز يعنى أن المنطقة على الكروموسوم التى تحتوي على الماركرهابلوتيب QTL بين الماركرز تورث وتنتقل بالطريقة نفسها التي تنتقل بها الأليلات المتطابقة في الأب المشترك في حالة التربية الداخيلية Identical by Descent - وبذلك يمكن - للهبلوتيب أن تحمل أليلات الكيوتي إل. ويسمح الإرتباط غير المتزن - كما سبق ذكره - بإستخدام التوافيق الوراثية، ولكن يجب مراعاة أن الإرتباط غير المتزن يتأثر تأثرا بالغا بعوامل أخري مثل مدي الخلط، والطفرة، والإنتخاب، والد فع الوراثي Genetic Drift والتي تتسبب في مسافات واسعة بين الجينات وارتباط غير متزن وواسعًا. ويمكن توضيح حدوث الإرتباط الوراثي غير المتزن بفرض وجود عشيرة قاعدية، وفي حالة إرتباط متزن Linkage Equilibrium LE وحدوث إحدي الطفرات في أليلات الكيوتي ال نفسها مما يخلق كيوتي إل مغروسة Embeded في ماركر هابلوتيب معين، ثم حدثت توافيق وراثية عبر الأجيال المتلاحقة لذلك سيبقى الهابلوتيب الأصلى لجينات الماركرز القريبة من الكيوتي إل، وبالتالي في الجيل الحالي ستكون أليلات الماركرز فى حالة إرتباط غير متزن مع اليلات الكيوتي إل.

دمج الإرتباط الوراثي المتزن LE والإرتباط الوراثي غير المتزن LD :

وفي هذه الحالة يسمح بالإنتفاع بالتوافيق الوراثية والتى حدثت داخل وخارج الأجيال المنسبة Pedigreed and Genotyped Generation وأي توافيق من تحليل الإرتباط الوراثي Linkage Analysis and Linkage Disequlibrium والأرتباط غير المتزن. وساعد هذا فى تحديد دقيق لوضع الكيوتي إل لصفة إنتاج الحليب علي الكروموسوم رقم 6 BTA6 قريبة من الماركرز BM143. والمثال التالي يوضح هذا النظام:

1- تستخدم الحيوانات فى نظام الجدة والحفيدة Granddaughter Design وتستخدم الطلائق Elite Sire والتي لها عدد كبير من الأبناء Sons، والتى تم لها إجراء الإختبار بالنسل Progeny Tested Sons ولكل طلوقة أبن عدد كبير من البنات Daughter ومسجل لها البيانات للصفة الكمية إنتاج الحليب مثلاً .

2- تتبع نسب كل حيوان في الدراسة. حيث يتم حساب مصفوفة إحتمال تطابق الأليلات بالنسب Identical by Descent IBD بين كل زوج من الهابلوتيب عند موقع الكيوتي ال.

3- تستخدم القيمة التربوية أو قيمة ال PTA Predicted Transmitting Ability المحسوبة من BLUP للأبناء كقيمة مظهرية.

4- يجري الأختبار الوراثي Genotyping للماركرزلكل الطلائق، وكل الأبناء في المناطق علي الكروموسوم التى حول الكيوتي ال باستخدام البريمرز Primers وال ب س أر PCR.

5- يحدد عدد الأليلات، ودرجة الخلط للطلائق الكبيرة Elite Sire .

6- تسجل كل التوافيق الوراثية بين كل الماركرز.

7- ترتب الماركرز، وتحدد المسافات بين الماركرز، باستخدام معادلة هالدين Haldane Function مثلاً هناك معادلات أخري .

8- فرض النموذج الإحصائى Statistical Model وحساب الحدبة العظمى Maximum Likelihood للبيانات في وجود الكيوتي إل، أو في عدم وجود ال الكيوتي إل.

9- تحسب لكل الهابلوتيب without QTL LOD =2 log Likelihood with QTL /Likelihood أو مايسمى Log of Odd Ratio أو Log Likelihood Ratio Test والتي تتوزع χ^2 بدرجة حرية واحدة. حيث أن وجود قيمة معنوية يعنى وجود كيوتي إل في هذا المكان .

خرائط الارتباط الوراثية :

يمكن تقسيم خرائط الارتباط الوراثية إلى:

1- خرائط ارتباط وراثية مكثفة Dense Linkage MAP:

هي خرائط تحدد مدي قرب الجينات المختلفة من بعضها، وارتباط الجينات بعضها بعضًا ارتباطا وثيقا. بمعنى آخر ان هناك بعض الماركرز تكون قريبة جدا

من اليلات الكيوتي ال، ومن المحتمل ان تكون في حال عدم اتـزان LD، وبالتـالي لا توجد حاجة لايجاد طور ارتباط Linkage phase لكـل عائلـة مـن عـائلات التربيـة خصوصا تربية الاباعد وتكـون هـذه الجينـات، أو المـاركرز مرتبطـة ارتباطـا موجبـا وعليه يمكن انتخاب كل العائلات بدون الحاجة الي طور الارتبـاط، ويمكـن تجميـع المـاركرز في هابلوتيـب عـلي الكروموسـوم فـيما يعـرف بقطـع الهابلوتيـب عـلي الكروموسوم Haplotype chromosome Segment. وبالتالي نجد الهبلوتيب علي هذه القطع من الكروموسـوم تكـون مرتبطـة بالنسـب IBD حيـث تحتـوي عـلي الماركرز هابلوتيب نفسه ويمكن ان تحمل اليلات كيوتي إل.

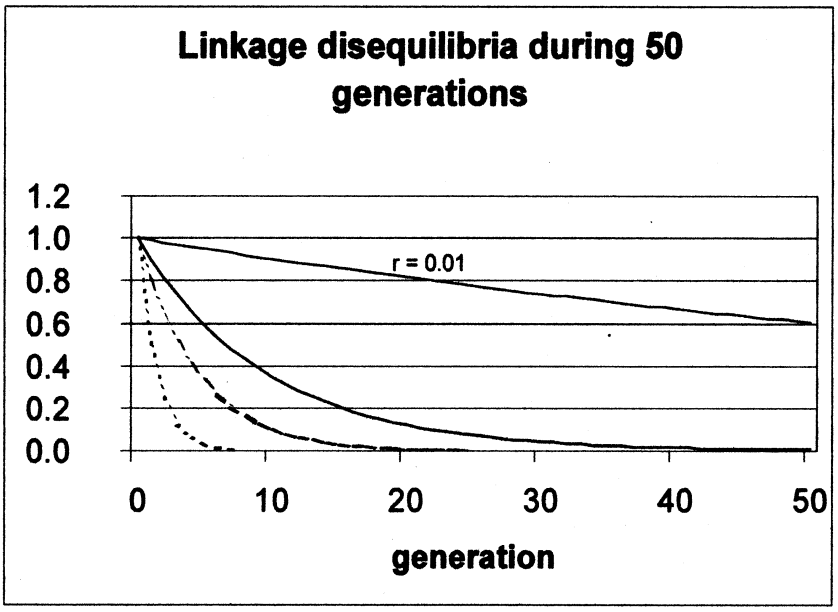
ويلاحظ ان الخرائط المكثفة تحـدد عـدد كبـير مـن القطـع الكروموسـومية وبالتالي يكون هناك عدد كبير من تاثيرات هذه القطـع يجـب تقـديرها ويكـون عددها اكثر من عدد البيانات المظهرية للنقط المراد معرفة تأثيرهـا. ومـن ثـم لا يكـون هنـاك عـدد كـاف مـن درجـات الحريـة لتقـدير تـأثير الالـيلات بواسـطة الارتباط غير المتزن.

2- خرائط ارتباط وراثية غير مكثفة Sparse Linkage Map:

تكون اليلات الماركرز والـيلات ال كيـوتي ال متباعـدة عـن بعضـها، أو متنـاثرة وعليـه يجـب معرفـة طـور الارتبـاط Linkage phase لكـل عائلـة والتـي سـوف تستخدم الماركرز فيها للانتخاب.

عشائر الابقار لها حجم فعال قليل فى العشـيرة Lower Effective population sizes ولكن لها حجم عائلي كبير بنات كل طلوقة والتى بدورها مسؤولة عن الارتباط غير المتزن ومركز علي مستوي الجينوم كلـه Extensive Genome Wide Linkage Disequilibrium والتي تسهل رسم خريطة وراثية دقيقـة وذلـك في وجـود خريطـة للماركرز قليلة الكثافة Low Density Marker Map.

ويوضح الرسم التالى العلاقة بين عدد الأجيال ودرجة الارتباط غير المتزن



7

الباب السابع
إستراتيجيات استخدام الماركرز

الباب السابع
إستراتيجيات استخدام الماركرز

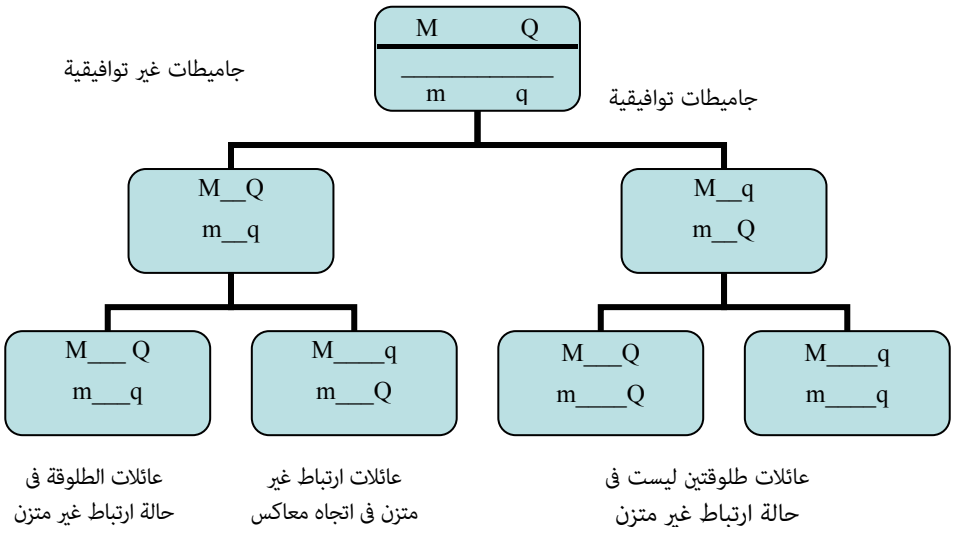
من العوامل الهامة لتحديد الكيوتي إل وبرامج الماركرز المساعدة للإنتخاب MAS هو مدى حدوث الإرتباط غير المتزن Linkage DisequilibriumLD في العشيرة مع مواقع لها أثرها في التباين الوراثي للصفة.

الارتباط المتزن والارتباط غير المتزن :

ولو إعتبرنا ان اليلات الماركر هى M,m واليلات الكيوتي إل هى Q, q وعلى الكروموسوم نفسه مرتبطة مع الماركر والفرد الخليط لكلا من الموقعين هو MmQq, والاليلات عند الموقعين يمكن ترتيبها فى هابلوتيبس Haplotypes على الكروموسمين لزوجين متماثلين يحملهما فرد معين, فالفرد الذى له التركيب MmQq يكون له الهابلوتيبس أكثر من هابلوتيب MQ/mq، أو يكون له الهبلوتيبس Mq/mQ. وهذا الترتيب يسمى طور الماركر- كيوتى إل marker-QTL Linkage phase. وترتيب اليلات الهبلوتيبس مهم لأن النسل يتورث واحد من الهابلوتيبس التى يحملها الاب. وفى العشائر التى هى فى ارتباط متزن LE تتوزع الاليلات فى موقعين عشوائيا إلى الهابلوتيبس, بمعنى أخر أن الكروموسوم أو الهابلوتيبس الذى يحمل الاليل M ليس من المحتمل أن يحمل الاليل Q بتكرار مختلف للكروموسومات التى تحمل اليل الماركر m, وتكرار الهابلوتيب MQ، يساوى حاصل ضرب تكرار الاليل M، وتكرار الاليل Q. لذلك لو كان الماركر والكيوتي إل فى حالة إرتباط متزن، لايكون هناك قيمة فى معرفة الماركر جينوتيب للأفراد لأنه لا يعطى معلومات عن جينوتيب الكيوتي إل. ولو كان الماركر والكيوتي إل فى حالة إرتباط غير متزن، لايكون هناك فرق فى إحتمال وجود الاليل Q على الكروموسومات، التى تحمل اليلات الماركر M, أو تحمل الماركر m. لذلك يمكن توقع فروق بين متوسط القيمة المظهرية للماركر جينوتيبس. وقد سبق أن ذكرنا أن أهم العوامل التى تتسبب فى عدم الاتزان هى: الطفرة، والصدفة، والانتخاب، والتربية الداخلية، والخلط، والهجرة. واهم العوامل المسؤولة والتى تتسبب فى تقليل ارتباط عدم الاتزان LD هو حدوث التوافيق الوراثية Recombination والتى تعمل على ترتيب الهابلوتيبس فى كل جيل. ومعدل نقص الارتباط غير المتزن يعتمد على معدل التوافيق بين المواقع الوارثة وفى المواقع

المرتبطة ارتباطًا وراثيًا شديدًا نجد أن الارتباط غير المتزن يستمر مقاومًا للنقص Persist Decay لعدة أجيال.

بالرغم من ان الماركر والكيوتي إل المرتبطة ممكن أن تكون فى إرتباط متزن عبر العشائر، نجد ان ماركر الارتباط غير المتزن، دائما يتواجد داخل العائلات حتى بين المواقع البعيدة عن بعضها. لو كان هناك طلوقة خليط له الهابلوتيبس MQ/mq وهذا الجينوتيب لهذا الطلوقة هو متطابقا للجيل F1 الخليط بين خطى مرباة تربية داخلية . والطلوقة سوف ينتج أربعة أنواع من الجاميطات: اثنان منهم غير توافيقيين non-recombinants وهما MQ ,mq وأثنين توافقيين recombinants وهما Mq, mQ. وكجاميطات غير توافيقيية سوف يكون لهما تكرار أكثر ويتوقف ذلك على معدل التوافيق الوراثية recombination rate بين الماركر والكيوتي إل, وهذا الطلوقة سوف تنتج جاميطات فى حالة إرتباط غير متزن LD ويمتد هذا الإرتباط غير المتزن لمسافات طويلة عند جيل واحد من التوافيق الوراثيية. والشكل التالى يوضح ذلك ماركر- كيوتى إل لإرتباط غير متزن داخل العائلات



ويتواجد هذا النوع من الارتباط غير المتزن فقط داخل العائلة. والنسل من طلوقة أخر Mq/mQ سيظهر إرتباط غير متزن أخر. ولكن الإرتباط غير المتزن سيكون فى إتجاه أخرLD in opposite direction لوجود طور إرتباط ماركر-

كيوتى إل مختلفMarker-QTL Linkage Phase فى الطلوقة. من ناحية أخرى عائلات الطلوقة MQ/mQ والطلوقة Mq/mq سوف لا تكون فى حالة إرتباط غير متزن LD لعدم إنعزال الكيوتي إل فى هذه العائلات. وعند تجميع كل هذا عبر العائلات هذه الأربعة أنواع من الارتباط غير المتزن LD سوف تزيل بعضها بعضا Cancel each other out مما يؤدي الى حدوث إرتباط متزن عبر العشيرة ومع ذلك الارتباط غير المتزن داخل العائلة يمكن ان يستخدم لتحديد كيوتى إل وإستخدام م ا س MAS مع الأخذ فى الاعتبار الفروق فى طور الارتباط.

وتطبيق الوراثة الجزئية لغرض التحسين الوراثي يعتمد على معرفة الجينوتيب للأفراد لمواقع وراثية محددة وهناك ثلاثة أنواع مواقع جينية يمكن تمييزها وهى:

1- الماركرز المباشرة Direct Markers وهى المواقع التى تشفر Code طفرة وظيفية بلومورفوزمية ومن الصعب تحديدها لصعوبة إثبات السببية وتحديدها، وقلة الأمثلة عليها, فيما عدا الجينات الفردية التى تؤثر فى الصفات Single- Gene Traits. وبمعنى آخر، أن الماركر يحدد تماما الجين أو عندما يكون اليل الماركرM واليل الكيوتي إل Q دائما مع بعضهما. وهذا يحدث دائما عندما يقيس الماركر البلومورفيزم داخل الجين الذى يسبب التأثير. ويدلنا دائما الماركر المباشر على جينوتيب الكيوتي إل. ويفضل استخدام الماركر المباشر الماركر المرتبط Linked Marker بالكيوتي إل لو كانت حقيقة هى ماركرز لجينات ذات تأثير رئيسى Major Gene Effects. وبمفهوم آخر لو كان الماركر الوراثى داخل الجين نفسه عندئذ يكون هناك أدلة قوية على استخدام الجين لأنه يمكن فى معظم الحالات معرفة و بدرجة ثقة 100% أي من الحيوانات يمتلك الاليل الجيد للجين. وقبل الاتجاه إلى إدخالها برامج التربية يجب تحديد تأثير هذه الجينات على الصفات المختلفة وذلك فى كل بيئة إنتاجية، وكذلك فى كل نوع، وبعدها يمكن الاتجاه نحو إدخال معلومات الماركر لتحديد اى من الحيوانات يمكن إنتخابها للتربية. ومن أهم مزايا الماركر المباشر هو استخدامها بدون معرفة سجلات النسب أو قياسات للصفة بالرغم من أهمية هذه المعلومات فى تحديد وضبط تأثير الجين الرئيسى فى الأنواع المختلفة، و الخطوط الوراثية المختلفة، أو النظم الإنتاجية المختلفة واستغلالها بعد ذلك.

2- ماركرز الإرتباط غير المتزن LD Markers. وتشمل المواقع والتى فيها العشيرة فى حالة غير متزنة عشوائيا لطفرة وظيفية Functional Mutation. ويتطلب هذا الماركر مسح وراثى مكثف حيث تكون المسافة الوراثية بين

الماركر والكيوتي إل هو 1-5 cM بناءاً على إمتداد ماركر غير متزن عشوائيا والذى يعتمد على تركيب العشيرة وتاريخها ولتحديد الماركر يتطلب إرتباط وراثى قوى بينه وبين الطفرة المسببة Causative Mutation والتى تحدد كجين مرشح بولومورفيزمى Targeted candidate gene polymorphisms أو بواسطة خريطة الماركرز المكثفة High Density Marker Maps.

3- ماركرز الإرتباط المتزن LE Markers. وتشمل المواقع والتى فيها العشيرة فى اتزان عشوائى لطفرة وظيفية وذلك فى العشائر المرباة تربية متباعدة. ويمكن تحديد Detected هذا الماركرز على طول الكروموسوم باستخدام الخلط بين الأنواع، أو تحليل بيانات عائلات كبيرة من أنصاف الأشقة داخل النوع ويتطلب هذا المسح الوراثى خرائط للماركرزغير مكثفة Sparse Maps على مسافات 15-50 cM وذلك بناءً على معلومية الماركر وتكاليف المسح الوراثي . و باستخدام ماركر الإرتباط المتزن أمكن تحديد معظم الكيوتي إل الكبيرة والمتوسطة التأثير.

والجدول التالى يلخص إستراتيجيات لتحديد الكيوتي إل فى قطعان الحيوانات

نوع العشيرة	داخل الخليط			العشائر المتباعدة	
	الخلط الرجعى F2	داخل الخلط المتقدم	عائلات1/2 الاشقة	امتداد النسب	عينة من عشيرة غير منسبة
نوع الماركر	LD	LD	LE	LE	LD
طول الجينوم	متسع الجينوم	متسع الجينوم	متسع الجينوم	منطقة الجينوم المرشح	متسع الجينوم
كثافة الماركر	غير مكثفة	مكثف	غير مكثف	أكثر كثافة	قليل من المواقع
نوع LD	متسع العشيرة	LD	داخل العائلة	LD	متسع العشيرة
عدد الأجيال لمعدل التوافيق المستخدمة فالخرائط	1	1 <	1	1 <	1 <<
إمتداد LD حولQTL	طول	أصغر	طول	أصغر	صغير
وضوح الخرطة	ضعيف	أحسن	ضعيف	أحسن	عال

= LD ماركر الإرتباط غير المتزن

= LE ماركر الإرتباط المتزن

تحديد الكيوتي إل مستخدما LD ماركرز داخل الخليط :

الخلط بين الأنواع و التى تختلف فى اليل وكلذلك تكرار الهابلوتيب يخلق إرتباط غير متزن مكثف فى العشيرة الخليطة. هذا الإرتباط غير المتزن يمتد لمسافة كبيرة، لان هذا يتطلب جيل واحد فقط من التوافيق الوراثية فى F2. لذلك وبالرغم من أن هذه الماركرز ممكن يكون فى إرتباط متزن LE مع كيوتى إل داخل الأنواع الأبوية سوف يكون جزئيا فى حالة إرتباط غير متزن LD مع الكيوتي إل فى العشيرة الخليطة لو كان هناك اختلاف فى تكرار الماركر والكيوتي إل بين الأنواع. وهذا ماركر الإرتباط غير المتزن على متسع العشيرة gename wide يمكن يؤدى إلى تحديد الكيوتي إل التى تختلف بين الأنواع الأبوية بناءً على المسح الوراثى بعدد محدود من الماركرز على طول جينوم كل cM 20-15 . وهذا الإتجاه هو الأساس للإستخدام المكثف لل F2 أو الخلط الرجعى بين الأنواع أو بين الخطوط لتحديد الكيوتي إل فى الخنازير والدواجن وماشية اللحم. والإستخدام المكثف لماركر الارتباط غير المتزن LD يمكن فيه تحديد الكيوتي إل والتى على مسافة من الماركرز ولكن يحدد أيضا الدقة الوضوحMap Resolution التى فيها يحدد موضع الكيوتي إل. ومن المتوقع إستخدام مكثف أيضا لماركر الإرتباط غير المتزن للعشيرة Population-Wide LD قى الخطوط المخلقة Synthetic lines اي الخطوط التى نتجت من الخلط حديثا. وبناءاً على عدد الأجيال منذ بدء الخلط، إمتداد ماركر الارتباط غير المتزن ينتهى بتقدم الأجيال وسوف يمتد إلى مسافة قصيرة عنها فى عشيرة ال F2. وسوف يتطلب هذا خريطة ماركر اكثر كثافة لإجراء المسح الوراثى وبقوة إختبار مساوية كما فى F2 ولكنه يحدد أكثر دقة مكان لكيوتى إل.

تحديد الكيوتي إل بإستخدام ماركر الارتباط المتزان LE فى العشائر المتباعدة :

حيث أن أطوار الارتباط بين الماركر والكيوتي إل يمكن أن تختلف من عائلة لعائلة, لذلك نجد ان إستخدام ماركر الارتباط غير المتزن LD لتحديد الكيوتي إل يتطلب معرفة وتحليل تأثير الكيوتي إل داخل العائلة وليس عبر العشائر كما فى F2 والخلط الرجعى Backcrosses. ومدى إستخدام LD داخل العائلة يكون كثيفا لذلك يكون تغطية الجينوم كله من خلال عدد محدود من الماركرز ولكن الماركرز المهمة ممكن تكون على مسافة من الكيوتي إل، مما يؤدى إلى وضوح ضعيف للخريطة. ويمكن تحديد ماركز الارتباط المتزن LE Markers على مستوى الجينوم كاملا مستخدما عائلات أنصاف الاشقة فى وجود خريطة ماركر غير مكثفة مسافات تتراوح cM 20-15 وأهم الأمثلة لذلك هو إلانتفاع بماركر

الارتباط المتزن مع عائلات أنصاف اشقة ابوية كبيرة العدد والتى تنتج من استخدام التلقيح الصناعى.

تحديد الكيوتي إل باستخدام ماركر الارتباط غير المتزن فى العشائر المتباعدة :

هنـاك إسـتراتيجيتان لإيجـاد مـاركرز إرتبـاط غيرمتـزن متسـع للعشـيرة Population Wide LD مع الكيوتي إل وهما:

1- تقدير للماركرز والتى فى أو قريبة مـن الجينـات التـى يعتقـد إنهـا لهـا علاقـة بالصفة المرغوبة Candidate Genes.
2- مسح وراثى Genome Scan بإستخدام خريطة ماركر مكثفة High Density بوجود ما ركر لكل .5-2 cM.

ونجاح اى من الاتجاهين يعتمد على مدى إمتداد ماركر الارتبـاط غـير المتـزن فى العشيرة. فمثلا الدراسات فى عشائر الإنسان وجدت ان LD ماركر الارتباط غير المتزن يمتد لمدى اقل من cM 1. لذلك يجب توافر عدد من الماركرز للحصول عـلى تغطيـة كافية من الماركر فى عشائر الإنسان حتى نتمكن مـن تحديـد للكيـوتي إل مبنيـا عـلى متسع للعشيرة لماركر الارتباط غير المتزن Population –Wide LD. ورغم أن وجود LD ماركر الارتباط غير المتزن فى قطعان الحيوانـات لـه ميـزة فى تحديـد الكيـوتي إل ولكن يعتبر عيبا لتحديد الطفرات المسببة لهذه الكيوتي إل. ومع وجود إمتـداد كبـير لماركر إرتباط غير متزن والذى يكون على مسافة من الطفرة المسببة يمكـن أن يظهـر مصاحبة مع القيمة المظهرية.

وفى وجود اتجاه الجين المرشـح Candidate gene approach يمكـن الانتفـاع مـن المعلومـات للأجنـاس الأخـرى والغنيـة بالمعلومـات الجينوميـة مثـل الإنسـان والفئران وكذلك تأثير الطفرات فى الأجناس الأخرى والتى سبق ان حدد لها منـاطق الكيـوتي إل واو المعرفـة للأسـاس الفسـيولوجى للصـفات لتحديـد الجينـات والتـى يعتقـد أنهـا تلعـب دورا فى فسـيولوجيا الصـفة. وبعـد تحديـد الخريطـة الوراثيـة وتحديد البلومورفيزم داخل الجين نجد ان المصاحبة بين الجينوتيب للجـين المرشـح Candidate gene والمظهر يمكن تقديرها. والتقـدم فى تكنولوجيـا الجينـوم سـاعد على عمل التتابع Sequencing القاعدى للجينوم بأكمله كما فى الدواجن والماشـية وساعد التتابع أيضا على تحديد عدد كبـير مـن المواقـع فى الجينـوم والتـى تحتـوى عـلى نيكلوتيـدات فرديـة SNPs اى تحديـد مواقـع قواعـد ال DNA التـى تظهـر اختلافات, فمثلا فى الدواجن أمكن تحديد اكـثر مـن 2.8 مليـون نيكلوتيـدة فرديـة

بمقارنة التتابع فى دجاج الغابة الأحمر مع ثلاثة انواع محلية وبالتالى أمكن تقليل تكاليف الجينوتيبنج وتحديد الكيوتي إل مستخدما ماركر إرتباط غير متزن مع خريطة ماركر مكثفة.

عدد من الاتجاهات تم وصفها للانتفاع بمعلومات الماركرز والتى يمكن تميزها إلى تأثير الكيوتي إل وتأثير الماركر الوراثى. الكيوتي إل يمكن وضعها فى النموذج الإحصائي كعامل محدد Fixed او كعامل عشوائى Random, بينما المعلومات تأتى من نوع الماركر هى: الماركرز المباشرة Direct Markers, ماركرز الارتباط المتزن LE Markers, ماركرز الارتباط غير المتزن LD Markers.

تقدير تاثير الكيوتي إل فى التقييم الوراثى :

فى حالة اعتبار الكيوتي إل كعامل محدد نجد ان طريقة الانحدار على احتمالات الجينوتيب تستخدم فى التقييم الوراثى للأخذ فى الاعتبار تأثير بلومورفيزم الكيوتي إل. واعتبار الكيوتي إل كعامل محدد فى النموذج الإحصائي يكون حساسا خصوصًا لو كان هناك عدد قليل من الاليلات معروف انها تنعزل وحيث تبدو أهمية السيادة والتفوق. ويقترض أن التأثير متساوي عبر العشيرة. وفى حالة وجود عدد من الكيوتي إل يمكن تحليل الجينوتيب المختلفة منفردة مع اعتبار السيادة والتفوق. ولأغراض الانتخاب وفى حالة استعمال كيوتى إل محددة ومع اعتبارها تجمعية يمكن إضافتها للتأثير البولوجينى عند حساب القيمة التربوية كما هو الحال لتأثير النوع فى التقييم الوراثى عبر الأجيال. وتبدو ميزة اعتبار الكيوتي إل المحددة هو قلة عدد التأثيرات المحددة المطلوب حسابها.

واعتبار كيوتى إل كعامل عشوائي مع إعتبار أن كل فرد له كيوتى إل مختلفة التأثير. والتباين المشترك يبنى هنا على التطابق بالنسب Identical by Descent بدلا من إستخدام مصفوفة العلاقات الفردية Numerator Relationships. وبمعرفة كاملة للإنعزال الوراثى يمكن حساب كل الاليلات المؤسسة Founder Allelesكعوامل مختلفة عن بعضها. ولا يفترض النموذج الإحصائي اى إفتراضات حول عد الاليلات للكيوتي إل وبالتالي تأخذ فى اعتبارها اتوماتيكيا Accomdate لتداخل للكيوتي إل مع الأساس الوراثى Genetic Background كما فى حالة العائلات او الخطوط لذلك لا يكون اعتبار لفرض التجانس لتأثير للكيوتي إل Homogenity of QTL effects. ويحسب النموذج الخليط Mixed Model تأثير للكيوتي إل وأخر للتأثير البولوجينى والقيمة التربوية هى مجموع التأثيرين.

التقييم الوراثى باستخدام الماركر المباشر :

عند توافر الجينوتيب للوظيفة الحقيقية للطفرة لا حاجة عندئذ لاستخدام معلومات النسب للتنبا تأثير الجينوتيب كما هو الحال عند قياس جينوتيب الكيوتي إل مباشرة. وعند وجود عدد قليل من الاليلات يكون عدد الجينوتيب محدودا، لذلك نجد أن فى التقييم الوراثى من الأمثل اعتبار تأثير الجينوتيب كعامل محدد fixed effect مع فرض الفروق الجينوتيب هى نفسها فى العائلات المختلفة وكذلك القطعان المختلفة. وهذا الفرض ممكن ان يكون معقولا فى حالة نموذج الكيوتي إل ذات الاليلين فى وجود عشيرة متجانسة نسبيا. والبديل لذلك هو إستخدام نموذج يشتمل على كيوتى إل عشوائية بتأثيرات مختلفة لكل أساس اليلى مختلف Different Founder Alleles أو حتى وجود تداخلات بين الكيوتي إل والبيئة QTL by Environment Interactions وفى كل من النموذجين يمكن حساب الاحتمال للجينوتيب Genotype Probabilities للأفراد الذين ليس لهم جينوتيب Individual with missing genotype.

التقييم الوراثى باستخدام ماركرز الارتباط المتزن LE markers :

عندما يكون الاختبار الوراثى ليس للجين نفسه ولكن للماركر المرتبط, عندئذ تصبح الإحتمالات للكيوتي إل المحسوبة من الماركر جينوتيبس Marker genotypes والتى سوف تتأثر بمعدل حدوث التوافيق الوراثية بين الماركر والكيوتي إل وبمدى امتداد ماركر الارتباط غير المتزن LD بين الكيوتي إل والماركر عبر العشيرة. لو تواجد ماركر الارتباط غير المتزن بين الكيوتي إل وماركر مرتبط معها داخل العائلة يجب تحديد تأثير الماركر أو على الأقل تحديد طور الارتباط Marker-QTL Linkage Phase للعائلات كل على حدة. ويتطلب هذا تحديد جينوتيب الماركر وسجلات المظهر لكل فرد من العائلة. وإذا كان الارتباط Linkage بين الماركر والكيوتي إل واسعًا Loose, يجب ان تكون سجلات المظهر من أقارب قريبة للأفراد المرشحة للإنتخاب، لان المصاحبة سوف تنتهى بسرعة من خلال التوافيق الوراثية. وبالنسبة لبيانات النسل يكون تحديد تأثيرات الماركر- الكيوتي إل أو أطوار الارتباط بناءً على اختبارات إحصائية بسيطة، لتقارن بين متوسط مظهر النسل التى تتوارث اليل مختلف للماركر من أب مشترك.

التقييم الوراثى باستخدام ماركر الارتباط غير متزن LD markers :

توجهت معظم المشاريع إلى إستخدام الخريطة الدقيقــة Fine Map وتعنـى الخريطة الدقيقة توافر ماركر او ماركر هابلوتيب فى حالة إتـزان غـير عشـوائى مـع الكيوتي إل لو لم تكن طفرة مباشرة, وغالبـا مـا تكـون الهابلوتيـب لالـيلات المـاركر القريبة للكيوتي إل فى إرتباط غير متزن مع اليلات الكيوتي إل، وتعطـى وإختبـارات الماركر معلومات عـن جينوتيـب الكيـوتي إل عـبر العـائلات. وإسـتعمال معلومـات الجينوتيب من هابلوتيبس الماركر فى التقيم الوراثى يكون من خـلال وضـع الكيـوتي إل كعامل عشوائى فى النموذج الإحصـائي. ومهمـة مـاركر الارتبـاط غـير المتـزن هـو المساعدة فى حساب مصفوفة التباين والتباين المشترك بحساب إحـتمالات التطـابق بالنسب IBD Probabilities اى يمكنها إستخدام معلومات بناءً على وجود مـاركر الارتباط غير المتزن. وهناك أحد الاقتراحات بإستعمال الارتباط المتزن والارتباط غـير المتزن معا لحساب LDL analysis IBD-Based co-variances وبذلك نجد انـه مع وجـود مـاركرز مكثفـة, نجـد أن المعلومـات عـن الارتبـاط، وكـذلك معلومـات النسب تصبح اقل قيمة. وعنـدما يصـبح موقـع الكيـوتي إل محـددا تمامـا نجـد ان معلومات الماركرز القريبة تسـتخدم بدرجـة اكـثر لحسـاب احـتمالات LD-based IBD وهنا يمكن تحديد مصفوفة التباين والتباين المشترك بـين تـاثيرات الكيـوتي إل العشوائية بدون الحاجة إلى معرفة تركيب العائلة أو معلومات النسب.ولذلك نجد ان معلومـات مـاركر الارتبـاط غـير المتـزن أدت إلى مصـفوفة مكثفـة لعلاقـات الجاميطات Dense GRM.

ويمكن للنموذج الاحصائى ان يشتمل على مايسمى متسع العشيرة وإرتباط غير متزن Population-Wide LD وذلك باسـتخدام المـاركر جينوتيـب أو الهابلوتيـب كعامـل ذو تـأثير محـدد Fixed effect فى النمـوذج الحيـوانى Animal Model وبالتالى يكون هناك إفتراضات اقل عن تاريخ العشيرة. ولكن هنـاك عيـب وهـو ان التقديرات المحسوبة تكون ليست BLUP اى ليست افضل تقدير متنبأ غير متحيز إى أن انحدارها فى إتجاه المتوسط يعتمد عـلى كميـة المعلومـات المتـوافرة لتقـدير التأثيرات المطلوبة, وهذا مهـم لـو أن بعـض الجينوتيـب أو تـأثيرات الهابلوتيـب لا يمكن تقديرها لقلة عدد الأفراد التى لها الجينوتيب أو الهابلوتيب.

إتجاه الجينوم الكامل للتقييم الوراثى بإستخدام ماركر إرتباط غير متزن ذو كثافة عالية:

Whole Genome Approach for Genetic Evaluation using High Density LD-Markers

كلما تم إكتشاف كيوتى إل، يتم أحلال تأثير البولوجينك بتأثير متعدد للكيوتي إل وتوارث كل واحدة يكون متبوعا بأقواس من الماركرز Marker Brackets أو معلومات من الهابلوتيبس. وهناك مفهوم يسمى العلاقة الاليلية الكلية Total allelic relationship حيث يتم حساب التباين المشترك بين أى فردين من إليلى التطابق بالنسب، وبالتالى يكون الاستجابة للانتخاب أعلى عنه فى الانتخاب المبنى على معلومات النسب لأنها تأخذ فى اعتبارها التباين الذى يعزى إلى العلاقات الوراثية التجمعية بين الأفراد. ويأخذ هذا الاتجاه فى الاعتبار التداخل بين وداخل المواقع الوراثية، وكذلك طبيعة التوارث لكل كيوتى إل فى الجينوم مما يؤدى إلى تقدير أدق للتقييم الوراثى. وكلما اصبح الجينوتيبنج متوافرا وبسعر قليل، كلما تم تحديد الكيوتي إل على طول الجينوم. وهنا يمكن إعتبال ماركر الهابلوتيبس كعامل مستقل عشوائى على مسافة 1 cM من الجينوم. والتباين المصاحب لكل هابلوتيب يمكن إفتراضه متساوى لكل منطقة كروموسومية او تقديره من البيانات باستخدام طريقة البزيان Bayesian Procedure وتصبح القيمة التربوية المقدرة للأفراد هى مجموع القيمة التربوية المقدرة لكل الهابلوتيبس التى تحتويها.

إستراتيجيات الانتخاب داخل النوع بمعلومية الكيوتي إل والبولوجينات:

1- الانتخاب بناءً على معلومية الكيوتي إل فقط.

والانتخاب بناءً على الكيوتي إل او معلومات الماركر فقط يتجاهل المعلومات المتاحة عن الجينات الأخرى البولوجينات والتى تؤثر فى الصفة ويتوقع ان يعطى اقل استجابة للانتخاب إلا إذا إشتملت الكيوتي إل- القيمة التربوية - الجينات التى تؤثر فى الصفة. وهذه الاستراتيجية لا تتطلب معلومات مظهرية لازمة لتقدير تأثير الماركرز. وهى مهمة عندما يكون تقدير القيمة المظهرية من الصعوبة تسجيلها أو مكلفا صفات الأمراض وصفات اللحم .

2- الانتخاب باستخدام الانتخاب الترادفى Tandem Selection ويتبع الانتخاب بناءً على الكيوتي إل الانتخاب بناءً على القيمة التربوية المحسوبة من تأثير البولوجينات.

3- الانتخاب بناءً على مجموع الكيوتي إل والقيمة التربوية البولوجينية.

ومن المتوقع أن الانتخاب بناءً على مجموع الكيوتي إل والقيمة التربوية البولوجينية يؤدى إلى اقصى استجابة إنتخابية Response to Selection على المدى الصغير، ولكن يمكن ان لا يؤدى الى اقصى إستجابة على المدى البعيد للنقص فى الاستجابة البولوجينية, والأدلة الانتخابية للكيوتي إل والقيمة التربوية البولوجينية يمكن حسابها لتصل الى أقصى استجابة للانتخاب على المدى البعيد.

8

الباب الثامن
الانتخاب بناءً على ثلاثة أنواع من الماركرز

الباب الثامن
الانتخاب بناءً على ثلاثة أنواع من الماركرز
Selection on three types of Markers

تطبيق الوراثة الجزئية لغرض التحسين الوراثي يعتمد عـلى معرفـة الجينوتيـب للأفراد لمواقع وراثية محددة وهناك ثلاثة أنواع لمواقع بلومورفوزمية يمكن تمييزهـا كما سبق ذكره وهى:

1- مواقع الماركرز المباشرة Single- Gene. Traits.
2- مواقع ماركرز الإرتباط غير المتزن LD Markers.
3- مواقع ماركرز الإرتباط المتزن LE Markers.

صفات الجينات الفردية والصفات الكمية :

إستخدمت الماركرز لتحديد مواقع، أو مناطق كروموسومية، والتـى تـؤثر عـلى صفات الجين الواحد، والصفات الكمية، وصفات الجين الواحد Single gene traits وتشمل العيوب الوراثية والصفات الشكلية.

ولغرض تحديد الكيوتي إل وتطبيقاتها يمكن تقسيم الصفات الكمية الى:

أ - صفات تسجل روتينيا Routinely recorded traits مثل صفة إنتاج الحليـب وإنتاج البيض.
ب- صفات يصعب تسجيلها وتشمل الماكول الغذائى Feed Intake, صفات المنـتج Product Quality.
ج- صفات غير مسجلة Unrecorded Traits ومنها صفات المقاومة المرضية.

ويمكن تقسيم الصفات السابقة إلى:

1- صفات تظهر فى الجنسن.
2- وصفات تظهر فى جنس واحد.
3- وصفات تسجل متأخرة فى حياة الحيوان.

والمقدرة على تحديد الكيوتي إل يعتمد على توافر معلومات مظهرية وتتناقص هذه المقدرة فى الترتيب ا, ب, ج وداخل كل قسم تتناقص فى الترتيب من 1, 2, 3.

وحيث أن المسح الوراثى يتطلب بيانات مظهرية أكثر من التحليل الجينى المرشح Candidate gene analysis وهو الجين الذى يعرف أن تأثيره له علاقة بالنظام البيولوجى والذى يمكن أن يؤثر فى الصفة تحت الدراسة وهذه المعلومات يمكن أن تاتى من الأجناس الأخرى مثل الإنسان والفئران . ويستخدم المسح الوراثى Genome Scan لتحديد الكيوتي إل للصفات فى القسم ا بينما يستخدم التحليل الجينى لتحديد كيوتى إل للصفات غير المسجلة روتينيا فى القسمين ب,ج.

وتختلف الماركرز الثلاثة عن بعضها ليس فقط فى طريقة تحديدها ولكن تختلف أيضا فى تطبيقاتها فى برامج الانتخاب، حيث أن الماركرز المباشرة وماركرز الإرتباط غير المتزن تسمح بالانتخاب للجينوتيب عبر العشيرة لوجود مصاحبة بين الجينوتيب والقيمة المظهرية. بينما ماركرز الارتباط المتزن يسمح بأطوار إرتباط بين الماركرز والكيوتي إل مختلفة من عائلة لعائلة. أي أن ماركر الارتباط المتزن LE هو ماركر خاص بالعائلة Family Specific ومعلومات العائلة يجب معرفتها.

والإنتخاب بناءً على الثلاثة أنواع من الماركرز يمكن تسميته:

1- الجين المساعد للإنتخاب Gene Assisted -Selection GAS .
2- ماركر الإرتباط غير المتزن المساعدة للإنتخاب Linkage Disequilibrium Marker- Assisted Selection LDMAS
3- ماركر الارتباط المتزن المساعدة للإنتخاب Linkage Equilibrium Marker-Assisted Selection LEMAS

الانتفاع بالاختبارات الوراثية :

أول الاكتشافات للماركرز وجد فى عام 1960م فى إختبار الهالوثين وهو إختبار طبيعى للجين المسمى RYR حيث ان الطفرة المتنحية عند موقع الجين تتسبب في الحساسية لمرض Malignant Hyperthermia، والذى يظهره التعرض للغاز المخدر هالوثين، أو التعرض للإجهاد Stress والطفرة هى مصاحبة لمحتوى اللحم الطرى فى الخنازير والذى زاد فى التكرار نتيجة الانتخاب المستمر للصفة والجين الذى يظهر الصفة يسمى RYR1، وحدد الجين كجين موضعى Positional Candidate Gene، والذى يعمل على تشفير Encodes مستقبلات الرايونودين Ryanodine receptor والذى يعمل بدوره على تنظيم إفراز أيونات الكالسيوم Ca فى هيكل العضلات، وبالتتابع Sequencing ل RYR1 cDNA من الأصيل

الطبيعى Homozygous normal والأصيل المتنحى Homozygous Mutant أظهرت طفرة فردية Single missense mutation R614C فى المتنحى الأصيل. هناك أنواع من ماشية اللحم، ومنها ماشية البلجيان الزرقاء Belgian Blue والشارولیه Charolasis and Pieddmontese، والبيدمونتيس تظهر نوعا من التضخم فى العضلات يسمى العضلات المزدوجة Double Muscling وهذا يرجع لوجود طفرة متنحية عند الموقع mh على الكروموسوم رقم Myostatin 2. علما بأن جين الميوستاتين هو الجين المرشح Candidate Gene لمظهر الصفة، وان الماشية التى لها هذا التضخم العضلى لها التركيب الأصيل mh/mh. وكذلك إستخدام إختبارات الأليزا لمجموعات الدم كماركر فسيولوجى لارتباط غير متزن Physiological LD Marker للإنتخاب للمقاومة المرضية فى الدواجن. وبالرغم من وجود عدد كبير من التقارير لتحديد الماركرز، وجد ان معظم التجارب استخدمت الخلط بين الأنواع أو الخلط بين الخطوط. وان هذه الدراسات حددت كيوتى إل والتى تختلف فى التكرار بين الأنواع لا يمكن بعد ذلك إستخدامها مباشرة للإنتخاب داخل الأنواع، ولكن يمكن أن تؤدى الى تحديد ماركرز إرتباط غير متزن LD Markers - لكيوتي إل والتى تنعزل داخل الأنواع مستخدما الجينات المرشحة موضعيا Positional Candidate Gene Approach. وهو الجين المرشح والذى فى منطقة من الجينوم والتى حددت بواسطة المسح الوراثى والتى يبدو انها تحتوى كيوتى إل . على سبيل المثال تحديد طفرات للجين RN والتى تعرف بإسم PRAKAG3 والتى وجد أنها تنعزل فى الخطوط التجارية فى الخنازير باستخدام الجين المرشح موضعيا Positional Candidate Gene Approach لمنطقة كيوتى إل وتم تحديدها بواسطة الخلط بين خطين تجاريين. وإستخدام تجارب الخلط يشرح الاستخدام الوفير لكل من الماركر المباشر أو ماركر الإرتباط غير المتزن فى الخنازير والدواجن وماشية اللحم. والإتجاه البديل هو إستخدام تحليل الكيوتي إل من خلط الأنواع Breed-Cross QTL Analysis مع إستخدام تحليل الكيوتي إل جين الإرتباط المتزن LE QTL داخل الخطوط التجارية فى تحديد المنطقة وبالتالى يمكن تحديد ماركر الإتزان العشوائى المستخدم فى الإنتخاب. أما فى ماشية اللبن فيستخدم اتجاه أخر حيث يجرى مسح وراثى على طول الجينوم باستخدام عائلات كبيرة من أنصاف الاشقة المتاحة فى الصناعة من التلقيح الصناعى باستخدام نظام الجدة او نظام الحفيدة وهذا ادى إلى توافر واستعمال ماركر الإرتباط المتزن لعديد من مناطق الكيوتي إل.

برنامج الماركر المساعد لإدخال الجينات Marker Assisted Introgression MAI :

إدخال الاليل المرغوب للجين المستهدف Target gene من النوع المانح Donorالى النوع المستقبلRecipient يمكن تحقيقه بواسطة التلقيح الرجعى المتكررللاب المستقبل يتبعه جيل أو أكثر من التلقيح الداخلى Intercrossing والغرض من التلقيح الرجعى لعدة أجيال هو إنتاج أفراد تحمل نسخة واحدة من اليل الكيوتي إل للنوع المانح، ولكن تكون متشابهة للنوع المستقبل لباقى مواقع الجينوم. والغرض من مرحلة التلقيح الداخلى هو تثبيت الاليل الكيوتي إل من فرد النوع المانح . وتساعد معلومات الماركر فى تفعيل Effectiveness مرحلة التلقيح الرجعى لإدخال الجين وذلك: بتحديد الأفراد التى تحمل الجين المستهدف Target gene أو ما يسمى بالانتخاب البعدى Foreground selection الإنتخاب بعد معرفة الجينوتيب . ويمكن تفعيل Effectiveness مرحلة التلقيح الداخلى من خلال الانتخاب البعدى Foreground Selection على الجين المستهدف.وإذا لا يمكن تحديد الجينوتيب مباشرة للجين المستهدف يمكن تحديد الافراد التى تحمله بناءً على الماركرز التى تحتوى الكيوتي إل Flank QTL على مسافات 10cM> لوجود ماركر الارتباط غير المتزن فى الأفراد الخليطة. والماركر لابد ان يشتمل على اليلات خاصة بالنوع Breed- specific alleles حتى يمكن تحديد اصل الخطوط الوراثية. ولإدخال عدد من الجينات المستهدفة يستخدم النظام الهرمى اثناء طور التلقيح الرجعى لتقليل عدد الأفراد المطلوبة. وللانتخاب البعدى تستخدم الماركرز المنتشرة على طول الجينوم وعلى مسافات cM 20> وبذلك تكون معظم الجينات التى تؤثر على الصفة على بعد 10cM> من الماركر.

ويمكن الجمع بين الانتخاب البعدى Foreground Selection والإنتخاب القبلى الانتخاب بناءا على معلومات النسب والنسل مثلا Background Selection. ويمكن الإنتخاب بناءً على قطعة حول الجين المستهدف فى النوع المانح ولكن تكون فى النوع المستقبل لباقى الجينوم. وسوف يؤدى الانتخاب البعدى الالإنتخاب لكلا من الموقع المستهدف والمواقع المرتبطة لهذا الموقع والتى بعضها يمكن ان يكون له تأثير غير مفضل على مظهر الصفة. ويجب تقليل هذا التأثير غير المرغوب أو ما يسمى Linkage drag around target locus . وقد وجد انه يجب توافر عشيرة كبيرة الحجم للحصول على أفراد خليطة لكل الكيوتي إل فى التلقيح الرجعى.

وحيث أن قطعان الحيوانات تتميز بطول مدى الجيل Generation Interval ومعدل تناسلي منخفض وتكلفة رعاية مرتفعة، لذلك نجد أن هذا البرنامج يصلح للجينات ذات التأثير الكبير فمثلا تم إدخال جين البرولا GeneFecB Booroola لأنواع أغنام اللبن باستخدام ماركرالإرتباط غير المتزن LD Marker لقطعان الانتخاب. وإدخال اليل الهالوثين الطبيعىHalothane إلى خط البيتران Pietrain line والذى له تكرار مرتفع من اليل الهالوثين الموجب وتم الإنتخاب بإستخدام ماركر غير متزنLD ومرتبط بالموقع RYR وتم إستخدام الانتخاب أيضا لجينوم دجاج اللحم Broiler عند إدخال جين الرقبة العارية Naked-Neck Gene من القطعان المحلية المنخفضة فى وزن الجسم إلى خطوط دجاج اللحم التجارية.

برنامج الماركر المساعد للانتخاب Marker Assisted Selection :

إن الغرض الأساسي من إستخدام الماركرز هو زيادة معدل التحسين الوراثى بالإنتخاب داخل النوع وهذا يتطلب تتبع الماركر داخل النوع - كما ذكر سابقا - أن الماركر المباشر وماركر الارتباط غير المتزن يسمح بالإنتخاب عبر العشائر. وسياتى شرح مفصل لهذا النوع من الماركر فى الباب الثالث عشر.

والجدول الآتي يبين أنواع الماركرز المختلفة المستخدمة فى التربية التجارية

الماركرز المستخدمة فى التربية التجارية للأجناس المختلفة حيث D = ماشية اللبن, B = ماشية اللحم, C = الدواجن, P= الخنازير, S = الأغنام.

قسم الصفة	الماركر المباشر	ماركر الإرتباط غير المتزن	الماركر الارتباط المتزن
العيوب الخلقية	BLAD D		
	DUMPSD		
	CVMD		
	MAPLE SYURP URINED,B		
	RYR P	RYRP	
المظهر	CKITP		POOLEDB
	MCIR/MSHR P, B, D		
	MGFB		

قسم الصفة	الماركر المباشر	ماركر الإرتباط غير المتزن	الماركر الارتباط المتزن
صفات الحليب	k- Casein D		
	β- LactoglobulinD		
	PMO3 D		
صفات اللحم	RYRP	RYRp	
	RN/PRKAG3P	RN/PRKAG3p	
		A-FABP/FABP3P	
		A-FABP/FABP3P	
		CASTP,B	
	>15 PICmarqP		
		THYRB	
		LeptinB	
الطعام المأكول	MC4RP		
الامراض	PrpS	B blood group C	
	F18 P	K88P	
التناسل	BooroolaS	BooroolaS	
	InverdaleS	ESRP	
	Hanna S	PRLRP	
		RBP4P	
النمو	MC4RP	CASTP	QTL P
	IGF-2P	IGF-2P	
	MyostatinB		QTLB
	CallipygeS	CarwellS	
محصول الحليب	DGATD	RHLD	QTLD
	GRHD		
	k- CaseinD		

والمتطلبات لإدخال بيانات الماركر فى برامج التحسين الوراثى تكون أكثر فى ماركر الإرتباط المتزن LE Marker عنها فى كل من ماركر الإرتباط غير المتزن

LD Marker والماركر المباشر حيث أن إستخدام ماركر الارتباط المتزن فى العشائر المتباعدة Outbred population يتطلب مظهر وجينوتيب الأفراد المرشحة للإنتخاب مع أقاربها لان تقدير التأثير يكون داخل العائلات وزيادة أفراد العائلة يعتمد على معدل التوافيق الوراثية بين الماركرز والكيوتي إل. ومن الممكن أن تكون البيانات اللازمة أقل وأن تكون من أقارب أكثر بعدا لو كان معدل التوافيق الوراثية أكبر. والماركر المباشر والماركر غير المتزن يتطلب جينوتيب الأفراد المرشحة للإنتخاب فقط، لان تقدير تأثير الجينوتيب يمكن أن يعرف من معلومات سابقة أو يعرف من عينة من الأفراد المعروف لها الجينوتيب والقيمة المظهرية. ويمكن إستخدام البيانات من الماركر المتزن فى تقدير قيم BLUP وذلك بإعتبار كل كيوتى إل عامل عشوائى وإعتبار عدد من الكيوتي إل داخل العائلات. وعند إستخدام بيانات الماركر غير المتزن والماركر المباشر يمكن إستخدام طريقة الهابلوتيب إذا لم يتم معرفة الجينوتيب لكل الحيوانات وعموما المتطلبات الحسابية Computational requirements أقل فى ماركر الإرتباط غير المتزن والماركر المباشر عنها فى ماركر الإرتباط المتزن. ويتطلب ماركر الإرتباط غير المتزن معرفة وتحليل الماركرز هابلوتيب ومعرفة طور الإرتباط الوراثى بين الماركرز والكيوتي إل. ويمكن إستخدام بيانات ماركر الإرتباط غير المتزن او الماركر المباشر كعوامل محددة Fixed genotype أو تأثير الهابلوتيب. ومع أنه لم يتم حتى الآن إجراء جينوتيب لكل الحيوانات وهذا الوضع العملى يجب إستخدام بيانات الماركر مع مصفوفة إحتمالات الجينوتيب Genotype probabilities والتى يمكن حسابها من سجلات النسب وبيانات الماركرز كذلك. وعلى كل الاحوال متطلبات التقييم الوراثى للماركر غير المتزن تتطلب تحديد الماركر هابلوتيب، وتحليله ووجود طور إرتباط بين الماركر والكيوتي إل.

ويمكن تقدير القيمة التربوية بدرجة دقة عالية بإستخدام طريقة البزيان للنموذج الخليط Bayesian Mixed Model analysis للماركر هابلوتيب بدرجة كثافة عالية من معلومات الجينوتيب والقيم المظهرية لعدد محدود من الأفراد. وتكاليف الجينوتيبنج هى العامل المحدد حاليا لتطبيق كثافة عالية من الجينوتيبنج ولكن هذه التكلفة يتوقع انخفاضها فى المستقبل.

9

الباب التاسع
إستخدام القيمة الدلالية
لحساب تكرار الاليلات وتباينها

الباب التاسع

إستخدام القيمة الدلالية Indicator variable

لحساب تكرار الاليلات وتباينها

لو كان هنــاك اليلـين لموقـع لفـرد حيـث ترمـز $j = 1,2$ لـرقم الاليــل ويرمـز $I = 1,2,3 \ldots\ldots n$ لرقم الفرد

وتصبح القيمة الدلالية X_{ij}

$X_{ij} = 1$ لو ان الاليل j فى الفرد i من النوع A

$X_{ij} = 0$ لو ان الاليل j فى الفرد i من نوع اخر

ويكون تكرار الاليل A فى العينة هو

$$\tilde{P}_{A} = 1/2n \sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{2} x_{ij}$$

القيمة المتوقعة Expected value

$$E(X_{ij}) = 1 * pr(X_{ij} = 1) + 0 * pr(X_{ij} = 0)$$
$$= 1 * P_A + 0 * (1 - P_A) = P_A$$
$$\tilde{P}_A = P_A$$

حساب التباين :

من المفترض ان حاصل ضرب $X_{ij}\, X_{ij'}$ $j \neq j$ سوف لا تكـون صـفرا فقـط عنـدما تكون كلا من الاليلات $j \neq j$ فى الفرد i من النوع A حيث X^2_{ij} مثل X_{ij} نفسها.

$$E(X^2_{ij}) = P_A$$

$$E(X_{ij}\, X_{ij}') = P_{AA}$$

$$E(X_{ij}\, X_{ij}') = E(X_{ij})E(Xi'j') = P^2_A$$

$$E(\tilde{P}^2_A) = (1/4n^2)$$

$$\left(E\sum_i\sum_j x^2_{ij} + E\sum_i\sum_j\sum_{j\neq j'} x_{ij}x_{ij'} + \sum_i\sum_{i\neq i'}\sum_j\sum_{j'} x_{ij}x_{i'j'}\right)$$

$$E(\tilde{P}^2_A) = (1/4n^2)(2n\, P_A + 2n\, P_{AA} + 4n(n-1)\, P^2_A)$$

$$E(\tilde{P}^2_A) = P^2_A + 1/2n\, (P_A + P_{AA} - 2\, P^2_A)$$

$$Var(\tilde{P}_A) = (1/2n)\, ((P_A + P_{AA} - 2\, P^2_A)$$

In Hardy Weinberg Equilibrium

$P_{AA} = P^2_A$

$P_{Aa} = 2P_AP_a$

$P_{aa} = P^2_a$

وعموما نجد ان :

$P_{AA} = P^2_A + P_AP_a\ F$

$P_{Aa} = 2P_AP_a\ 1- F$

$P_{aa} = P^2_a + P_AP_a\ F$

$Var\ P^2_A = 1/2n\ P_A\ 1-P_A\ 1+ F$

حيث F هى معامل التربيـة الداخليـة - لـو كانـت F=0 تطبـق معـادلات هـاردى واينبرج

مثال:

فى اختبار للدم كان عدد الجينوتيب لمجموعة الدم بين الأب والأم هو

Genotype	father	mother	Total
MM	26	27	53
MN	44	51	95
NN	23	15	38
total	93	93	186

ويصبح تكرار التراكيب الوراثية $\tilde{P}_{MM} = 53/186 = .2849$ و $\tilde{P}_M = 20/372 = .5403$

والتباين $Var\ \tilde{P}_M = [.5403 + .2849 - 2\ .5403^2] / 372 = .0006488$

الحدبة العظمى Maximum Likelihood ML

لو فرضنا ان هناك التراكيب الوراثية التالية:

A_1A_1 A_1A_2 A_2A_2 A_1A_3 A_2A_3 A_3A_3 ولهم التكرارات الاتية

n_1 n_2 n_3 n_4 n_5 n_6

حيث :

$$n = n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5 + n_6$$

وان هناك اثنين من الثوابت المستقلة, P_1 و P_2 والمطلوب تقديرهم بإستخدام طريقة الحدبة العظمى وذلك فى الخطوات التالية:

1- تحديد التوزيع الذى ستحسب منه معادلة الحدبة العظمى وهو فى المثال التالى: التوزيع متعدد الأوجه Multinomial Distribution.

2- كتابة معادلة الحدبة العظمى هى:

$$L(p_1 p_2) \propto (p_1^2)^{n1}(2p_1p_2)^{n2}(p_2^2)^{n3}[2p_1(1-p_1-p_2)]^{n4} \times$$
$$[2p_2(1-p_1-p_2)]^{n5}[(1-p_1-p_2)^2]^{n6}$$

3- حساب التقديرين two scores S1, S2 بأخذ اللوغارتم لمعادلة الحدبة العظمى ثم تفاضلهما بالنسبة للثابت الاول والثابت الثانى:

$$S_1 = \frac{\partial \ln L}{\partial p_1} = \frac{2n_1 + n_2 + n_4}{p_1} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{1 - p_1 - p_2}$$
$$S2 = \frac{\partial \ln L}{\partial p2} = \frac{2n_3 + n_2 + n_5}{p_1} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{1 - p_1 - p_2}$$

1- مساواة المعادلتين S2 , S1 بالصفر حتى يمكن حساب الثابتين:

$$\hat{p}_1 = \tilde{p}_1 = \frac{2n_1 + n_2 + n_4}{2n}$$
$$\hat{p}_2 = \tilde{p}_2 = \frac{2n_3 + n_2 + n_5}{2n}$$

2- حساب تفاضل التقديرين S2 , S1

$$\frac{\partial s_1}{\partial p_1} = \frac{\partial^2 \ln L}{\partial p_1^2} = -\frac{2n_1 + n_2 + n_4}{p_1^2} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{(1 - p_1 - p_2)^2}$$
$$\frac{\partial s_2}{\partial p_2} = \frac{\partial^2 \ln L}{\partial p_2^2} = -\frac{2n_3 + n_2 + n_5}{p_2^2} - \frac{2n_6 + n_4 + n_5}{(1 - p_1 - p_2)^2}$$
$$\frac{\partial s_1}{\partial p_2} = \frac{\partial s_2}{\partial p_1} = \frac{\partial^2 \ln L}{\partial p_1 \partial p_2} = -\frac{2n_6 + n_4 + n_5}{(1 - p_1 - p_2)^2}$$

6- تقدير مصفوفة المعلومات المتوقعة Expected Information matrix وذلك بتقدير القيمة المتوقعة للتقديرات Expected values of Scores.

$$E(I) = 2n\begin{pmatrix} \frac{1}{p_1} + \frac{1}{(1-p_1-p_2)} & \frac{1}{(1-p_1-p_2)} \\ \frac{1}{(1-p_1-p_2)} & \frac{1}{p_2} + \frac{1}{(1-p_1-p_2)} \end{pmatrix}$$

ومقلوب هذه المصفوفة=

$$E[(I)]^{-1} = \begin{pmatrix} \frac{p_1(1-p_1)}{2n} & -\frac{p_1 p_2}{2n} \\ -\frac{p_1 p_2}{2n} & \frac{p_2(1-p_2)}{2n} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \text{var}(\hat{p}_1) & \text{cov}(p_1^{\wedge}, p_2^{\wedge}) \\ \text{cov}(p_1^{\wedge}, p_2^{\wedge}) & \text{var}(\hat{p}_2) \end{pmatrix}$$

عناصر مقلوب مصفوفة المعلومات المتوقعة هو التباين والتباين المشترك لتوزيع الأوجه المتعددة Multinomial variances and covariances وبالنسبة للعينات الكبيرة الحجم تعطى الحدبة العظمى تقديرا غير متحيز للثوابت المقدرة ويعطى مقلوب مصفوفة المعلومات تقديرا للتباين والتباين المشترك وتتوزع تقديرات الحدبة العظمى للثابت الواحد

$$\text{MLE } \hat{\phi} \sim \text{Approximately N } 0, \{E(I(\phi)\}^{-1}$$

وفى العينات الكبيرة , ولعديد من الثوابت تتوزع تقديرات الحدبة العظمى توزيعا طبيعيا نهائيا للمتغيرات المتعددة asymptotically multivariate normal.

7- لو كان $P = \begin{pmatrix} p_1 \\ p_2 \end{pmatrix}$

وتصبح قيمة $p' =$ اى قيمة الثوابت بعد الدورة الاولى من التدوير iteration حيث p هى قيمة الثوابت الاولية initial values.

ويستمر التدوير حتى تستقر الثوابت المقدرة iteration $p' = p + I^{-1}S$ continue until convergence.

لو طبقنا ذلك على اليلات الدم نجد ان معادلة الحدبة العظمى هى:

$$L \propto [p_A(2-p_A-2p_B)]^{nA}[p_B(2-2p_A-p_B)]^{nB}[2p_A p_B]^{n\,AB} \times$$
$$[(1-p_A-p_B)^2]^{n_O}$$

وان التقديرين هما:

$$S_A = \frac{n_A + nA_B}{p_A} - \frac{n_A}{2 - p_A - 2p_B} - \frac{2n_B}{2 - 2p_A - p_B} - \frac{2n_O}{1 - p_A - p_B}$$
$$S_B = \frac{n_B + n_{AB}}{p_B} - \frac{2n_A}{2 - p_A - 2p_B} - \frac{n_B}{2 - 2p_A - p_B} - \frac{2n_O}{1 - p_A - p_B}$$

ويصبح التفاضل بالنسبة للثابتين هو :

$$-\frac{\partial S_A}{\partial p_A} = \frac{n_A + n_{AB}}{p_A^2} + \frac{n_A}{(2 - p_A - 2p_B)^2} + \frac{4n_B}{(2 - 2p_A - p_B)^2} + \frac{2n_O}{(1 - pA - pB)^2}$$
$$-\frac{\partial S_B}{\partial p_B} = \frac{n_B + n_{AB}}{p_B^2} + \frac{4n_A}{(2 - p_A - 2p_B)^2} + \frac{n_B}{(2 - 2p_A - p_B)^2} + \frac{2n_O}{(1 - pA - pB)^2}$$
$$-\frac{\partial S_A}{\partial p_B} = -\frac{\partial S_B}{\partial p_A} = +\frac{2n_A}{(2 - p_A - 2p_B)^2} + \frac{2n_B}{(2 - 2p_A - p_B)^2} + \frac{2n_O}{(1 - pA - pB)^2}$$

وهكذا تكون مصفوفة المعلومات المتوقعة وقيم P_B, P_A

$$p = \begin{pmatrix} p_A \\ p_B \end{pmatrix}, I = \begin{pmatrix} -\frac{\partial s_A}{\partial p_A} & -\frac{\partial s_A}{\partial p_B} \\ -\frac{\partial s_B}{\partial p_A} & -\frac{\partial s_B}{\partial p_B} \end{pmatrix}$$

وتكون قيمة الاليلين فى الدورة الاولى من التدوير هى $P' = P + I^{-1} S$
ويستمر التدوير حتى يحدث ثباتًا لقيم الثوابت.

مثال: مجموعات الدم

عشيرة والتى فيها جينات مجموعات الدم O,A and B بنسب .6, .3 and .1
ولو حدث التزاوج عشوائيا عندئذ يصبح تكرار الأفراد لمجموعات الدم الأربعة هو:

Group O: $.6^2$		=.36
Group AB		2*.3*.1=.06
Group A:	Homozygous	AA .3*.3=.09
	Heterozygous	AO 2*.3*.6=.36

	Total Group A		=.45
Group B	Homozygous	BB	.1 *.1=.01
	Heterozygous	OB	2*.1*.6=.12
	Total Group A		=.13
	Total		= 1.00

وفى عينة من الأفراد لمجموعات الدم كان عددهم هو

n_A=95, n_B=21, n_{AB} and nO=70 نجد ان قيم

1- P_A-P_B = .6 و 2-2P_A-P_B = 13 و 2-P_A-2P_B=1.5

وتصبح قيمة P'=P+I^{-1}S

$$p' = \begin{pmatrix} .3 \\ .1 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 783.591 & 498.184 \\ 498.184 & 3903.514 \end{pmatrix}^{-1} \begin{pmatrix} 34.4 \\ 26.153 \end{pmatrix}$$

ويمكن استخدام الحدبة العظمى فى تقدير الثوابت لموضع الكيوتي إل وتأثيرها فى المنحنى الطبيعي. لـو فرضـنا ان القيمــة المظهريـة للفــرد الـذى لـه كيـوتى إل جينوتيب بمتوسط μ_Q. وتباين σ^2 تصبح الحدبة العظمى للقيمة المظهرية Z معطا الجينوتيب للماركر هو Mj :

$$L(z/M_j) = \sum_{k=1}^{N} Q(Z, \mu_Q, \sigma^2)\, pr(Q_k / M_j)$$

حيث ان $Q(Z, \mu_Q, \sigma^2)$ هى الكثافة للمنحنى الطبيعى و N عدد الجينوتيبن المفترض.

σ ,μ^2_Q متوسط وتباين الجينوتيب, $pr\,(Q_k / M_j)$ هـى دالـة فى الخريطـة الوراثية موضع الكيوتي إل بالنسبة للماركرز الملاحظة وتأثير الكيوتي إل يكـون مـن خلال المتوسط μ_Q, وتباين المنحنى الطبيعى.

مثال:

فى نظام ال F_2 وماركر أحادى و كيوتى إل أحادية مرتبطة بالماركر. وان القيم المظهريـة تتـوزع طبيعيـا حـول جينوتيـب الكيـوتي إل. وتصـبح الحدبـة العظمـى كالآتي:

$$l(z/MM) = (1-c^2)\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2) + 2c(1-c)\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$
$$+ c^2\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$
$$l(z/Mm) = c(1-c)\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2) + [(1-c)^2 + c^2]\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$
$$+ c(1-c)\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$
$$l(z/mm) = c^2\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2) + 2c(1-c)\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$
$$+ (1-c)^2\varphi(z,\mu_{QQ},\sigma^2)$$

ويصبح الحدبة العظمى الكلية لعدد من F_2 n الأفراد هو حاصل ضرب الثلاث قيم للحدبة العظمى $l(z) = \prod_{i=1}^{n} l(z_i / M_i)$ وبالتالي نجد ان معادلة الحدبة العظمى هى دالة فى خمسة ثوابت , موضع الكيوتي إل c ، والثلاث متوسطات للكيوتي إل $(\mu_{QQ}, \mu_{Qq}, \mu_{qq})$, وتباين σ^2.

10

الباب العاشر
إستخدام النماذج الخليطة لتقدير تأثير الكيوتي إل

الباب العاشر

إستخدام النماذج الخليطة لتقدير تأثير الكيوتي إل

خطوات استخدام النماذج الخليطة لتقدير تأثير الكيوتي إل:

وهـى طريقـة أفضـل تنبـأ خطـى غـير متحيـز Best Linear Unbiased Prediction BLUP بمعنى أنها تعطى أفضل تنبأ خطى لتأثير العوامل العشـوائية Random Effects وافضل قيم غير متحيزة للعوامل المحددةFixed Effects كـما هو موضح فى النموذج التالي:

بفـرض أن هنـاك متجـه Vector Y للقـيم المظهريـة Phenotypic Values لصفة ما فإن النموذج الخليط Mixed Model هو:

$$Y = XB + ZU + ZQq + e$$

حيث أن :

متجه التأثيرات المحددة = B

ومتجه التأثيرات البولوجينية العشوائية = U، وتباينها $varu = A V_u$

ومتجه تاثيرات الكيوتي ال العشوائية = q, وتباينها $varq = V_q G$

ومتجه التأثيرات العشوائية البيئيـة = e, وتباينها $vare = V_e$

Z,Q مصـفوفات المصـاحبة لقـيم B, U, q والتـي تـربط التـأثيرات المحـددة والبولوجينية والبيئية بالسجلات المظهرية Phenotypic Records للصفة وبفرض معرفة التباين V_u, V_e, V_q ربما من تجربة سابقة لمعرفة موقع QTL علي الخريطة الوراثية. لذلك يحتوي كل صف من المصفوفة Q على رقمين 11 بينما بـاقى أرقـام الصف أو عناصره هي:

والحقيقة أنه لا يمكن ملاحظة أليلات الكيوتي إل مباشرة ولكـن يسـتدل عليهـا إحصائيا Inferred من معلومات الماركر. وبفرض تمييـز الـيلات الأفـراد الأساسـية Founding Individuals، لذلك عدد الألـيلات في العشـيرة القاعديـة هـو ضـعف عـدد الأفـراد القاعديـة Base Animals، وبالتـالي ففـى الأجيـال اللاحقـة يكـون الاستدلال Inference على الماركر هابلوتيب Haplotype لتتبع إنتقال أليلات الكيوتي ال حيث أن المصفوفة Q تحدد إنتقال الاليلات الكيوتي إل للنسل ولكـن لا تحـدد أى أليلات الكيـوتي إل التـى انتقلـت لهـذا ا لنسـل. ويرجـع ذلـك إلى وجـود التوافيـق

الوراثية بين اليلات الماركرز التى تحيط بـالكيوتي إل أو أن المـاركر هـابلوتيبس غـير معلوماتية Uninformative. وتكوين أليلات جديدة للكيـوتي إل وهـذه الالـيلات مرتبطة بالنسل من خلال المصفوفة Q وتـأثير الالـيلات الجديـدة مرتبطـة بـأليلات الآباء بفرض أن القيمة المتوقعة لتأثير الاليلات الجديدة للكيـوتي إل هـى متوسـط تأثير اليلات الآباء للكيوتي إل والمثال التالي يوضح ذلك:

مثال بفرض وجود فردين فى العشيرة القاعدية، وكان تـأثير الـيلات الكيـوتي ال هو q_1,q_2 ، q_3,q_4 . بفرض تزاوج الفردين وانتجا الفـرد الثالـث وهـذا الفـرد يحمـل الاليل q_1 من أحد الاباء ولكن حدوث العبور بين الماركرز التـي تحـيط بـالكيوتي أل وتكوين التوافيق يجعل انتقال الاليل الثاني من الأب الآخر غير مؤكد، وعليه يتكون اليل آخر جديد يسمى q_5 عنده تصبح معادلات النموذج الخليط كالآتى:

$\text{Var}q_5 = Vq$, $Eq_5 = .5\ q_3+q_4$

$\text{Cov}\ q_5, q_4 = \text{Cov}\ .5q_4, q_4 = .5V_q$, $\text{Cov}\ q_5, q_3 = \text{Cov}\ .5q_3, q_3 = .5V_q$

$$Qq = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} q1 \\ q2 \\ q3 \\ q4 \\ q5 \end{bmatrix}$$

$$G = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & .5 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & .5 \\ 0 & 0 & .5 & .5 & 1 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z & X'ZQ \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\alpha & Z'ZQ \\ Q'Z'X & Q'Z'Z & Q'Z'ZQ + G^{-1}\lambda \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\beta} \\ \hat{U} \\ \hat{q} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'Y \\ X'Y \\ Q'Z'Y \end{bmatrix}$$

فى هذا المثال وبفرض أن μ تمثل التأثيرات المحدودة وأن المصفوفة G مصفوفة التطابق بالنسب لها تركيب المصفوفة A مصفوفة العلاقات الفردية وأنه بمعرفة قيمة كلا من $\alpha=V_e/V_u$ $\lambda= V_e/V_q$ يمكن إيجاد حل لكل من التأثيرات المحددة B والتأثيرات العشوائية البولوجينية U وتأثيرات الكيوتي إل العشوائية q

$$\begin{bmatrix} 2+\lambda & 1 & 0 & 0 & 1 \\ 1 & 1+\lambda & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1+3/2\lambda & 1+1/2\lambda & -\lambda \\ 0 & 0 & 1+1/2\lambda & 1+3/2\lambda & -\lambda \\ 1 & 0 & -1 & -\lambda & 1+2\lambda \end{bmatrix} \begin{bmatrix} q1 \\ q2 \\ q3 \\ q4 \\ q5 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} y1+y5 \\ y2 \\ y3 \\ y4 \\ y5 \end{bmatrix}$$

ومزايا طريقة النماذج الخليطة Mixed Model advantages هى:

1- تأخذ فى اعتبارها العوامل المحددة Fixed effects والعوامل العشوائية Random effects. وأنها تعامل تأثير الكيوتي ال المرتبطة بالماركرز كعامل عشوائى.
2- تمتاز بالمرونة ولا تؤدى إلى تقدير غير متحيز للقيمة التربوية نتيجة معاملة العوامل العشوائية كعوامل محددة كما هو الحال فى طريقة أقل المربعات Least Squares.
3- يمكن أن تتعامل مع عدد كبير من القطعان وهى طريقة مفيدة أيضا في حالات وجود تركيب فرضى للنسب Arbitrary Pedigree Structure ويمكن ان تاخذ فى أعتبارها وجود التزاوج غير العشوائى أو وجود قرابات أو وجود أنتخاب وكذلك وجود كميات مختلفة من المعلومات للاليلات المختلفة للكيوتى إل.
4- النماذج الخليطة لا تؤدى الى تضخم القيمة التقويمية لافضل الحيوانات التي تحدث فى طريقة الانحدار المتعدد وحيث أن قيمة G^{-1} ليست نسبة من المصفوفة Z'Z مما يؤدى الى أن BLUP لا تؤدى الى ان عوامل الانحدار تنحدر بطريقة متساوية وبالتالي يكون ترتيب الحيوانات مختلفا فى النماذج الخليطة عنه فى طريقة الانحدار.

عيوب طريقة النموذج الخليطة Mixed Model Drawback:

1- لا تأخذ في اعتباره معلومات عن موضع الكيوتي إل.

2- إهمال حدوث العبور المزدوج بين الماركرز، ولو أنها لن تتأثر برامج الماركر المساعدة للانتخاب خصوصا لو كانت الماركرز قريبة من بعضها.

3- يتطلب حسابات كثيرة خصوصا كلما زاد عدد الكيوتي ال وكذلك زيادة عدد الأفراد حيث أن لكل حيوان يحتوى النموذج علي معادلة لتأثير البولوجنيك ومعادلتين لكل كيوتي إل معلمة Marked QTL.

4- هناك فرض أن التباين متساوي لكل مواقع الكيوتي إل وهذا غير واقعي.

5- أن مصفوفة العلاقات الفردية Numerator Relationship Matrix المستخدمة تفترض ضمنيا أن التركيب الوراثي والذي يؤثر علي الصفة معروفا وهذا غير حقيقي.

مصفوفة التطابق بالنسب المصفوفة G :

مصفوفة تطابق الجاميطات بالنسب Identical by Descent IBD هى مصفوفة تحتوى على إحتمالات بين اثنين من الجاميطات الأبوية والامومية للاليلات المتوارثة للأفراد فيما بينهم وكذلك بين جاميطات الأفراد الآخرين. بمعنى انه عند موقع معين على الكروموسوم تكون الأفراد لها نسخة من نفس الاليل لجد مشترك وفى هذه الحالة تسمى الاليلات فى الأفراد Identical by Descent IBDويسمى هذا الاحتمال... إحتمال التطابق بالنسب Probability of Identical by Descent وكذلك عندما يكون اليلين فى الفرد نفسه مشتقة من اليل نفسه الجد يقال لهما انهما متطابقين بالنسب ويكون إحتمال هذا التطابق بالنسب هو معامل التربية الداخلية للفرد.

والمثال التالي يوضح طريقة حساب مصفوفة التطابق بالنسب IBD

الحيوان	الطلوقة	الام	G &A جينوتيب M	بناء المصفوفة بناء المصفوفة	حساب وبناء المصفوفة G &A ومقلوبهما القيمة المظهرية
1	-	-	12		80
2	-	-	34		120
3	1	2	13		90
4	1	2	23		110
5	3	4	33		115

عند غياب أى من الأبوين يرمز له –
الجينوتيب عند موقع الماركر هو توليفة من الاليلات 1 الى 4
الماركر الأول في الحيوان 2 & 1 مرتبط بالاليل الأبوي للكيوتي إل.
الحيوان رقم 4 & 3 اخوة أشقة كاملة.

لبناء مصفوفة الجاميطات G. بفرض أن حدوث توافيق وراثية r = .1 عدم حدوث توافيق 1-r = .9 عندئذ لو كان هناك كيوتى ال واحدة وباستخدام معلومات عن الماركر M المرتبط مع الكيوتي ال يمكن حسابها كالاتى:

1- العلاقة بين جاميطات الفرد ونفسه هى واحد صحيح أى أن العلاقة بين الجاميطة الأبوية ونفسها هى 1 وكذلك العلاقة بين الجاميطة الأموية ونفسها اى الأم هى 1. العلاقة بين جاميطة الأب وجاميطة الأم = صفرا في الفرد 1 & 2

إى ان :

$$P(\nu_1^p \equiv \nu_1^p) = P(\nu_1^p) = P(\nu_1^p) = 1 \&$$
$$P(\nu_1^p \neq \nu_1^m) or (\nu_1^p) \neq P(\nu_1^p) = 0$$

2- للفرد رقم 3

$$P(\nu_3^p \equiv \nu_1^p) = 1 - r = 1 - .1 = .9$$
$$P(\nu_3^p \equiv \nu_1^m) = r = .1$$

3- حيث أن الحيوان رقم 3 والحيوان رقم 4 اشقة كاملة وتوارثو ماركر أليل نفسه من الأم ولكنهم توارثوا اليلات الماركر المختلفة من الأب. لذلك لتوارث نفس اليل الأب للكيوتي ال, تحدث توافيق وراثية لتكوين الجاميطات المنتقلة لأحد الأبناء بمعدل r، وعدم حدوث توافيق وراثية المنتقلة للابن الآخر بمعدل r-1. ويصبح الاحتمال الكلي هو 2 1-18. = r * r اليل الكيوتي ال المنتقلة عن طريق الام للحيوان 3 & 4 تكون متطابقة عند... عدم حدوث توافيق.. أو حدوث توافيق في الجاميطان المنتجة. وقد يحدث ذلك كله باحتمال 1- r-1* r *r*r =.82 . ويلاحظ ان العلاقة بين جاميطات الاشقة الكاملة =.5 في حالة عدم وجود معلومات عن موقع ماركر مرتبط.

4- الحيوان رقم 5 ابنًا للاشقة الكاملة 3 & 4 وفى حالة عدم توافر معلومات عن الماركر, يكون احتمال التطابق بالنسب للاليلات الأبوية والاموية عند موقع

الكيوتي ال = 4/1 بينما الحيوان رقم 5 توارث الماركر اليل 3 من كلا من الابويين والذي يؤدي الي علاقة 6666. ويمكن حسابه كالاتي:

$$P\left(\nu_5^P \equiv \nu_5^m\right) = .6561 + .0081 + .0009 + .0009 = .6666$$

حيث

أ - $P(\nu_5^P \equiv \nu_2^P \, and \, \nu_5^m \equiv \nu_2^P) = (.9)^4 = .6561$

وان الآباء ورثت الاليل 3 من الام 2 عندئذ نجد ان $\nu_5^P \,\&\, \nu_5^m \, IBD \Longrightarrow \nu_2^P$ وذلك عند عدم حدوث توافيق وراثية وعند انتقال الجينات من الأب 2 الى 3 والى 4 ثم الانتقال من 4 & 3 الى 5.

ب- تصبح الاليلات IBD متطابقة بالنسب عند حدوث توافيق وراثية للجاميطات المنتقلة بواسطة الافراد 2 الى 3 وكذلك 4. ولكن عدم حدوث توافيق وراثية بعد ذلك اي. $P(\nu_5^P \equiv \nu_2^m \, and \, \nu_5^m \equiv \nu_2^m) = .1^2 * .9^2 = .0018$

ج- ويصبح ν_5^P متطابقا بالنسب IBD مع ν_5^m وذلك لانتقال الاليلات بواسطة الطلوقة 1 ولكن هذ الاحتمال صغير لان اليلات الماركر انتقلت للحيوان 3 & 4 اى يمكن حسابه كالآتى:

$$P\left(\nu_5^P \equiv \nu_1^P \, and \, \nu_5^m \equiv \nu_1^P\right) = .9 * .1 * .1 * .1 = .0009$$

$$P(\nu_5^P \equiv \nu_1^m \, and \, \nu_5^m \equiv \nu_1^m) = .1 * .9 * .1 * .1 = .0009$$

وفى هذا الحالة التوافيق الوراثية مطلوبة لإحدى الجاميطات التى تنتقل بواسطة الطلوقة 1 وكلا من الجاميطتين المنتقلة بواسطة الحيوان 3 والحيوان 4. وتؤدى الاحتمالات الأربعة إلى:

$$P(\nu_5^P \equiv \nu_5^m) = .6561 + .0081 + .0009 + .0009 = .6666$$

الجدول التالي هو مصفوفة التطابق بالنسب لواحدة من الكيوتي ال فى حالة ارتبطها بماركر واحد عناصر المصفوفة فوق الوتر وفى حالة عدم ارتباطها باى ماركر عناصر المصفوفة اسفل الوتر وذلك باستخدام بيانات النسب وبمعرفة معدل التوافيق الوراثية r = .1 .

الفرد	1		2		3		4		5	
نوع الجاميطة	P	m	P	m	P	m	P	m	P	m
P	1	0	0	0	0.9	0	0.1	0	0.09	0.01
m	0	1	0	0	0.1	0	0.9	0	0.01	0.09
P	0	0	1	0	0	0.9	0	0.9	0.81	0.81
m	0	0	0	1	0	0.1	0	0.1	0.09	0.09
P	0.5	0.5	0	0	1	0	0.18	0	0.1	0.02
m	0	0	0.5	0.5	0	1	0	0.28	0.9	0.74
P	0.5	0.5	0	0	0.5	0	1	0	0.02	0.1
m	0	0	0.5	0.5	0	0.5	0	1	0.74	0.9
P	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	0.25	1	0.67
m	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	1

5- العلاقة بين الجاميطة m للفرد 3 والجاميطة m للفرد4 هى: 3 * 1- = r + r
.3 * .09 + .01 = .28

6- العلاقة بين الجاميطة m للفرد 3 والجاميطة P للفـرد 5 هـى $.9^{3}$ + .01= .74
$.r^{3} + r^{2}-1 =$

الاستفادة من الانتخاب بمساعدة الماركر باستخدام النموذج الوراثى متعدد الجينوم
Benifits from Marker-Assisted Selection Under Additive Polygenic Model

اعتمد التقييم الوراثي سابقا على المعلومات المظهرية ومعلومات النسب وتقـدير القيمة التربوية باستخدام مصفوفة العلاقات بـين الأفـراد A_p Relationship Matrix مستخدما معلومات النسب فقط وايجاد A_p واستخدام ما يسمى أفضـل تنبـأ خطـى غير متحيز قياسى Standard BLUP_s. بينما تستخدم في وجود معلومات عن الماركرز, معلومات النسب ومعلومات الماركرز. ويتم حساب القيمة التربوية باسـتخدام افضـل تنبأ خطى غير متحيز فى وجود الماركرز $BLUP_m$. كما تم استخدام معلومـات النسـب ومعلومات الماركرز وتقدير مصـفوفة A_{pm} . وهـى مصـفوفة التطـابق بالنسـب IBD. وعناصر هذه المصفوفة هو العدد المتوقع من الالـيلات التـى يحملهـا الفـرد j والـذى يتطـابق بالنسـب مـع عينـة عشـوائية مـن الالـيلات مـن الفـرد i, مشروطـا عـلى معلومات المـاركرز ومعلومـات النسـب، وتحسـب مصـفوفة التطـابق Conditional

بالنسب على مواقع مختلفة متساوية من بعضعها على كل كروموسوم ثم يحسب متوسطها لكل المواقع وكل الكروموسومات لتقدير المصفوفة A_{pm}.

حساب معامل التربية الداخلية :

يتم حساب متوسط معامل التربية الداخلية من معلومات النسب F_p وذلك من عناصر مصفوفة العلاقات بين الأفراد من A_p بينما معامل التربية الداخلية عند الكيوتي ال F_q عند كل جيل يمكن حسابه من معرفة تكرار التراكيب الوراثية الاصيلة مصححة للتراكيب الأصيلة فى العشيرة القاعدية ويمكن حساب ذلك من المعادلة

$$F_q(t) = \left[\sum_{i=1}^{q} Ho_i(t) - \sum_{i=1}^{q} \sum_{j=1}^{n} p_{ij}^2 \right] / \left[q - \sum_{i=1}^{q} \sum_{j=1}^{n} p_{ij}^2 \right]$$

حيث q = عدد الكيوتي ال, n = عدد الاليلات لكل كيوتى إل , P_{ij} التكرار الاولى للاليل j للكيوتى ال i. Ho_i هو تكرار التركيب الأصيل للكيوتى ال i. ومعامل التربية الداخلية الحقيقي والذى يتم حسابه عند مواقع الكيوتي ال F_q يتناقص كلما زاد طول الجينوم. ويعطى استخدام النسب تقديرا جيدا لمعامل التربية الداخلية ولكن فقط للمواقع غير المرتبطة وراثيا ويعطى معامل التربية الداخلية المقدر من معلومات النسب F_p تقديرا متحيزا لاسفل لقيمة التربية الداخلية الحقيقية F_q، وهذا التحيز مهم عند استخدام $BLUP_m$ لكل أحجام الجينوم المختلفة خصوصا الجينوم الصغير الحجم.

ومعاملات التربية الداخلية التى حسبت من معلومات النسب لاستخدامها فى حساب احسن تنبأ خطى غير متحيز القياس $BLUP_S$ كانت اعلى من مثيلاتها التى حسبت لاحسن تنبا خطى غير متحيز فى وجود الماركرز $BLUP_m$. الإضافة مع $BLUP_m$ تتبع معامل التربية الداخلية F_p فى اتجاه محدد. لكل جينوم مختلف الحجم وان هذا الاتجاه عكس الذى يتبع معامل التربية الداخلية فى وجود الماركرز F_q. وكلما صغر حجم الجينوم صغر قيمة F_q، وكلما كبر حجم الجينوم اقتربت قيمة A_{pm} من قيمة A_p.

تأثير عدد المواقع على افضل تنبأ خطى غير متحيز فى وجود الماركر $BLUP_m$:

عند حساب مصفوفة التطابق بالنسب A_{pm} يجب التوفيق بين عدد المواقع حيث يتم حساب مصفوفة التطابق بالنسب والوقت اللازم لحساب المصفوفة, وكلما

زاد عدد المواقع، كلما زادت الدقة فى تقدير العلاقات الوراثية. ولكن زيادة عدد المواقع بدرجة كبيرة ليس عمليا لذلك يجب ان يكون هناك توفيق بين زيادة عدد المواقع والوقت اللازم لحساب مصفوفة التطابق بالنسب. وعند استخدام افضل تنبأ خطى غير متحيز، وحساب مصفوفة التطابق بالنسب لعدد مختلف من المواقع للكروموسوم X نجد ان زيادة عدد المواقع من 10 الى 20 للكروموسوم اعطى زيادة بسيطة فى معدل التحسين الوراثى وزيادة عدد المواقع من 20 الى 40 اعطى زيادة بسيطة جدا لذلك نجد ان حساب مصفوفة التطابق باستخدام 10 مواقع على الكرموسوم مع استخدام افضل تنبأ خطى غير متحيز باستخدام الماركرز $BLUP_m$ اعطت زيادة جيدة فى معدل التحسين الوراثى.

تأثير طول الجينوم على الفائدة فى افضل تنبأ خطى غير متحيز فى وجود الماركر $BLUP_m$:

لتقدير مصفوفة التطابق بالنسب IBD بدرجة دقة عالية لابد وأن يكون عدد الماركرز المستخدمة فى تقدير $BLUP_m$ كبيرا 40 ماركرز لكل كروموسوم . وكلما صغر حجم الجينوم كلما زادت الفائدة من استخدام الماركرز.

والاستفادة من استخدام معلومات الماركرز كانت معدومة فى الأجيال الأولى من الانتخاب. ولكن تزداد الاستفادة بتقدم الأجيال. وزاد معدل الاستجابة للانتخاب عند تقدير $BLUP_m$ باستخدام المصفوفة A_{pm} بمعدل 11 ,9 ,7 ,5% أكثر منه باستخدام $BLUP_S$، وذلك للجينوم بعدد من الكروموسومات 30 ,20 ,10 ,5 كروموسوما على الترتيب. وتزداد الدقة فى تقدير القيمة التربوية باستخدام الماركرز $BLUP_m$ عنه باستخدام الطريقة القياسية $BLUP_S$ عبر الاجيال. وكلما زاد حجم الجينوم زيادة عدد الكروموسومات كلما اقتربت الدقة فى تقدير القيمة التربوية عند استخدام $BLUP_m$ من الدقة نفسها باستخدام $BLUP_S$.

الزيادة فى دقة تقدير القيمة التربوية, وكذلك الزيادة فى دقة تقدير معدل الاستجابة للانتخاب, التى لوحظت فى جينوم معين عدد معين من الكروموسومات مع $BLUP_m$ مقارنة بما لوحظ مع $BLUP_S$ كان مصحوبا بزيادة بسيطة فى معامل التربية الداخلية المحسوب عند موقع الكيوتي ال F_q. وكان معامل التربية الداخلية المحسوب عند مواقع الماركرزF_p كان مشابها لمعامل التربية الداخلية المحسوب عند موقع الكيوتي ال F_q.

تأثير عدد الماركرز على الاستفادة من افضل تنبا خطى غير متحيز $BLUP_m$:

كلما زاد عدد الماركرز كلما زاد معدل الاستفادة من استخدام المصفوفة A_{pm} عنه فى استخدام المصفوفة A_p، خصوصا كلما كان ذلك قى الأجيال المتأخرة من الانتخاب.وكانت الزيادة باستخدام $BLUP_m$ 4 ,2% عندما كان عدد الماركرز 2 ,1 ماركر ولكن وصلت الزيادة الى 11% عندما كان عدد الماركرز 10 أو أكثر وكان هناك زيادة قليلة عندما كان عدد الماركرز اكثر من 10 اى ماركر واحد لكل 10cM. وهذا يعنى ان الخريطة الوراثية التي لها مسافات وراثية 10cM تكون ذات كثافة عالية Dense لتحقيق اكثر فائدة، والماركرز التى لها أيضا معلوماتية عالية 10 اليل لكل ماركر . وفى حالة نقص المعلوماتية عن ذلك يجب زيادة كثافة الماركرز لتحقيق الزيادة نفسها فى التحسين الوراثى المتوقع.

طريقة بسيطة لحساب مصفوفة التطابق بالنسب باستخدام الماركرز المتعددة:

مصفوفة إحتمال التطابق بالنسب بين جاميطات الفرد i والتى تورثت من الأب X A_i^X والجاميطات من السلف J والتى تورث من الأب Y A_j^y مشروطا Conditional on linked Marker Genotype على الماركر المرتبط ذو الجينوتيب M هو

$$P(A_i^X \equiv A_j^y) = P(A_j^y = A_x^P / M) * PDQ(A_i^X \Leftarrow A_X^P / M)$$
$$+ P(A_j^y \equiv A_X^m / M) * PDQ(A_i^X \Leftarrow A_X^m / M)$$

ويلاحظ أن الاحتمالين:

$$P(A_j^Y \equiv A_X^P / M)$$
$$P(A_j^Y \equiv A_X^m / M)$$

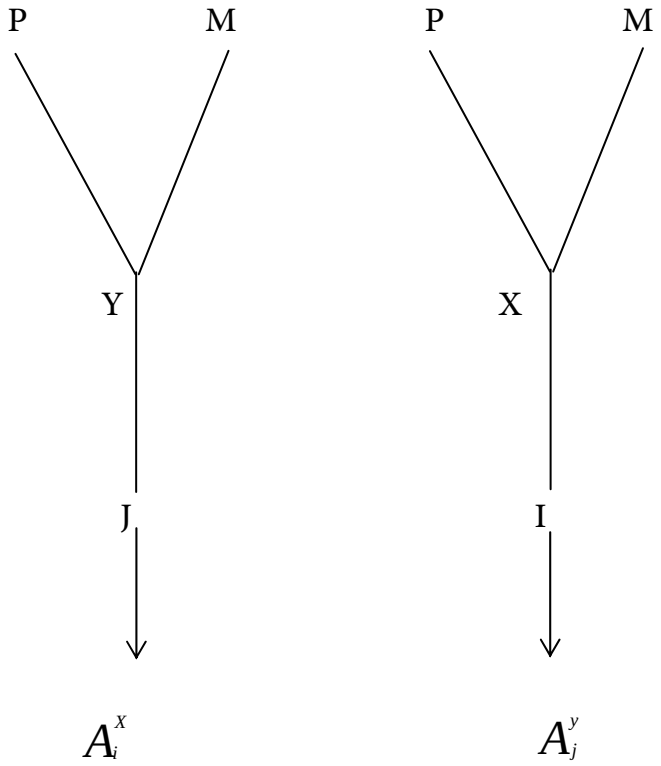
يمثلان إحتمال التطابق بالنسب بين الجاميطة A_j^Y وكلا من الجاميطة الابوية A_X^P والجاميطة الامومية A_X^m للابْ X . بينما :

الاحتمالين :

$$PDQ(A_i^X \Leftarrow A_X^P / M)$$
$$PDQ(A_i^X \Leftarrow A_X^m / M)$$

يمثلان إحتمال الجاميطة A_i^X للفرد i بشرط أن تكون مثل الجاميطاتان A_X^P أو A_X^m للأبX. وجاميطتا كل فرد يمثلان الاليلات الأبوية، والأمومية المورثة. ولقد عرفنا أن إحتمال الجاميطات المتطابقة بالنسب PDQ هو إحتمال أن الجاميطة ولتكن A_i^X للفرد والتى ورثت من أحد الآباء وليكن X هى إما جاميطة أبوية Paternal A_X^P أو الجاميطة الامومية A_X^M.

وعندما يكون الاب غير مربى تربية داخلية Not Inbred نجد أن PDQ هى نفس IBD بين جاميطات الفرد وجاميطات أبويه. ويكون حساب مصفوفة احتمال التطابق بالنسب مشروطا على Conditional أقرب ماركر يتوارث من الأب تحت التساؤل.



الجدول 1 : إحتمال الجاميطة A_i^X من النسل

I تكون نفسها كجاميطة أبوية A_X^P أوجاميطة أمومية A_X^M معطا أقرب ماركر معلوماتى تورث من الأب X

اصل الماركر M1	M2	$PDQ \quad (A_i^X \Leftarrow A_X^P)$	$PDQ(A_i^X \Leftarrow A_X^m lM)$
P	P	(1-r1)(1-r2)/(1-r)	r1r2/(1-r)
P	M	(1-r1)r2/r	r1(1-r2)/r
M	P	r1(1-r2)/r	(1-r1)r2/r
M	M	r1r2/(1-r)	(1-r1)(1-r2)/(1-r)
P	-	(1-r1)	r1
M	-	r1	(1-r1)
-	P	(1-r2)	r2

الجدول 2 : احتمال التطابق بالنسب بين جاميطات الاشقة والتى تورثت من أب مشترك غير المربى تربية داخلية.

[عند الماركرز IBD	حالة IBD	IBD
1	1	1-r1)2+r12)+r22)/((1-r)2 +r2)
1	0	)2 +r12)(1-r2)r2)/((1-r)r)
0	1	(1-r2)2 +r122 +r22)/((1-r)r)
0	0	l-r2)r2)/(1-r)2 +r2
1	-	(1-r1)2+r12)
0	-	2((1-r1)r1)

- = Uniformative Marker Untyred Individ

P = الفرد تورث الأليل من الأب

M = الفرد تورث الأليل من الأم

والمعادلات هى احتمال التطابق بالنسب IBD مفترضا أن الأب الشائع غير مربى داخليا IBD_n . ولو كان الاب مربى داخليا الجاميطاتان لهذا الأب لهما إحتمال تطابق بالنسب لا يساوي الصفر . وان احتمال التطابق بالنسب الكلى لجاميطات الاشقة هو $F+1-F * IBD_n$ حيث F هي التطابق بالنسب بين جاميطات الأب. بينما IBD_n هى المعادلات فى الجدول السابق. حيث r,r_2,r_1 هى معدل

التوافيق بين الماركر الأول والكيوتي إل، ومعدل التوافيق بين الماركر الثانى والكيوتي إل وكذلك معدل التوافيق بين الماركرز الأول والثانى علي التوالى.

بروتوكول استخدام الطريقة البسيطة لحساب مصفوفة التطابق بالنسب:

1- إيجاد طور الماركر هابلوتيب لكل الماركرز المحتملة عند وجود جينوتيب ماركر الفرد واباءه.
2- حساب الـ IBD تتابعيًا recursively مبتدئًا من الجدود القديمة ويتهيأ بأصغر النسل.
3- عناصر الوتر لمصفوفة الـ IBD هى 1 دائمًا اى أن الجاميطة متطابقة مع نفسها دائمًا 100%.
4- لو كان الفرد من العشيرة القاعدية base population يكون احتمال التطابق بالنسب بين جاميطاته والأفراد السابقة له الجدود صفرا.
5- لو كان الفرد ليس من العشيرة القاعدية Not from base Population يحسب احتمال التطابق بالنسب لكل جاميطة أبوية أو أمومية معطًا أقرب معلومات للماركر مع معرفة طور الهابلوتيب.
6- تستخدم المعادلات السابقة لحساب احتمال التطابق بالنسب بين الجاميطات الأبوية وجاميطات الجدود السابقة حيث أن احتمال التطابق بالنسب مع أب الفرد تم حسبها فعلاً. تكرر الحسابات نفسها مع جاميطات الأم.
7- لو كان الفرد هو حساب احتمال التطابق بالنسب بين أى جاميطات مشتقتان من أب مشترك أى أن الأفراد هى أشقة نستخدم المعادلة F+1-F *IBD هى معادلة Knott Haley 1997 مع الأخذ فى الاعتبار لنسل الحيوانات القاعدية والتى لا يمكن فيها تقدير قيمة PDQ.

11

الباب الحادى عشر
النموذج المختلط للكيوتي إل

الباب الحادى عشر
النموذج المختلط للكيوتي إل
Mixture Model for QTL

عند وجود كيوتى إل لكل موقع ولكل فرد نجد ان عدد المعادلات فى النموذج الخليط Mixed Model والتى يشملها برنامج ال م ا س MAS هو 2m+1 حيث m هى عدد المواقع الوراثية Loci. مما يجعل من الصعوبة تطبيق النموذج الخليط للبيانات الكبيرة الحجم large data Set ومن المعروف ان التقييم فى برامج ال م ا س MAS يشمل تاثير الكيوتي إل وتاثير البولجينات وان تأثير الكيوتي إل يمكن الاستدلال عليه من الماركرز المرتبطة معها وان هذا الاستدلال Inference يكون نتيجة معرفة توزيع جينوتيب الكيوتي إل QTL Genotyping Distribution بدلا من معرفة تاثير محدد للكيوتى إل Fixed QTL Effect. لذلك نجد ان برنامج ال م ا س MAS وتقدير تأثير الكيوتي إل هو تطبيق للنماذج الخطية Linear Models لبيانات لها توزيعات مختلطة ,ومن المعروف ان الاليلات التى يحملها الفرد من الممكن ان تكون متطابقة او مختلفة خصوصا فى قطعان الحيوانات وللصفات ذات الأهمية الاقتصادية. وعند إعتبار الكيوتي إل للجدود والأبناء وللأفراد المؤسسة والأبناء وللأفراد المؤسسة Founder يصبح الأمر هو تقدير نموذج مختلط محدد finite mixture model ويلاحظ ان معادلات هندرسون والتى إستخدمت فى تربية الحيوان على نطاق واسع مصممة للنماذج الخليطة وليست للنماذج المختلطة والتى هى لبيانات خليطة من التوزيعات المختلفة وإمتداد النماذج الخليطة للنماذج المختلطة اصبح ضروريا لتحليل بيانات الكيوتي إل فى العشائر المركبة Complex Population لاستخدامها فى برامج ال م ا س MAS.

أهمية النموذج المختلط :

تحدد أهمية النموذج المختلط للكيوتى إل عند:

1- عدم معرفة عدد الاليلات وتكراراتها فى العشائر القاعدية وهذا بالنسبة للكيوتى إل وكذلك الماركرز.
2- عند وجود أب أصيل لموقع الماركر يصبح من الصعب تتبع اثر الاليل من زوجى كروموسومات الأب الأب الأصيل والتى تنتقل إلى النسل.

3- ان يكون الأبويين خليطين لموقع الماركر نفسه اى يحملا الاليلات نفسها وبالتالى من الصعب تتبع اصل الاليلات الأبوية فى النسل الخليط.
4- لا يمكن معرفة جينوتيب الكيوتي إل وبالتالي لا يمكن معرفة أي الأبويين خليط لصفة الكيوتي إل.
5- عدم تحديد طور الارتباط بين الماركر والكيوتي إل.
6- غياب بعض معلومات عن جينوتيب الماركر او يكون جينوتيب الماركر لعينة بسيطة من العشيرة.
7- عند وجود اكثر من كيوتى إل نجد ان كل واحدة لها عدد مختلف من الاليلات ولهم تباين مختلف Hetergenious Variance، وقد يكون لهم توزيعات مختلفة كذلك.

مثال :

بفرض وجود كيوتى إل واحدة لها اليلات تجمعية التأثير وخطا يتوزع طبيعيا فى الجيل الثانى F2 وبفرض ان y_i القيمة المظهرية للصفة ولا نعرف بالضبط جينوتيب الكيوتي إل. وان هناك ثلاثة إحتمالات لماركر الجينوتيب وإحتمال حدوثها. و معادلة الكثافة للمنحنى الطبيعى Probability Density Function, PDF كالآتي:

Individual	Phenotype	Genotype	P	PDF
1	yi	A	.25	Ø $y_i;\mu_A,\sigma^2$
2	yi	B	.50	Ø $y_i;\mu_H,\sigma^2$
3	yi	B	.25	Ø $y_i;\mu_B,\sigma^2$

$\phi(y;\mu,\sigma^2) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}}\exp(-(y-\mu)^2/2\sigma^2$ هى معادلة الكثافة للمنحنى الطبيعى Probability Density Function, PDF للمنحنى الطبيعى بمتوسط μ وتباين σ^2 ونجد ان

$$\mu_H = 1/2\ \mu_A + \mu_B$$

اى ان متوسط الجينوتيب H هو 1/2 مجموع متوسطى الجينوتيب A.B حيث نفترض التأثير التجمعى للاليلات وبأخذ المجموع الموزون للمكونات الثلاثة يمكننا إيجاد معادلة الكثافة المختلطة كالآتي:

$$f_{mix}(y_i) = \frac{1}{4}\phi(y_i;\mu_A,\sigma^2) + \frac{1}{2}\phi(y_i;\frac{\mu_A+\mu_B}{2},\sigma^2) + \frac{1}{4}\phi(y_i;\mu_B,\sigma^2)$$

وتصبح الحدبة العظمى المختلطة للملاحظات $Y_1,Y_2,\ldots\ldots,Y_n$ معا هو حاصل ضرب الحدبة العظمى للملاحظات الفردية اى:

$$L = \prod_{i=1}^{n} f_{mix}(y_i)$$

ويمكن الرمز للتوزيع الطبيعى للتراكيب الثلاثة A, H, B هى . $Ø_A$ ، . $Ø_H$ ، . $Ø_B$ على التوالى.

كيف يمكن تقدير ثوابت النموذج الخليط ؟

يمكن تقدير ثوابت باستخدام طريقة الحدبة العظمى التى تعظم لوغاريثم الحدبة العظمى كالاتى:

1- إيجاد معادلة الحدبة العظمى للنموذج المختلط .

2- إيجاد اللوغاريثم للحدبة العظمى للنموذج المختلط.

3- تفاضل اللوغارثم بالنسبة لثوابت النموذج المختلط ثم مساواتها بالصفر لحل هذه الثوابت.

$$0 = \frac{\partial}{\partial\theta} l = \frac{\partial}{\partial\theta}\log\left(\prod_{i=1}^{n} f_{mix}(y_i)\right) = \sum_{i=1}^{n}\frac{\partial}{\partial\theta}\log f_{mix}(y_i)$$

وتصبح قيمة

$$\frac{\partial}{\partial\theta}\log f_{mix}(y_i) = \frac{1}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\left[.25\phi_A(y_i) + .5\phi_H(y_i) + .25\phi_B(y_i)\right]$$

$$= \frac{.25}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\phi_A(y_i) + \frac{.5}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\phi_H(y_i) + \frac{.25}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\phi_B(y_i)$$

$$= \frac{.25\phi_A(y_i)}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\log\phi_A(y_i) + \frac{.5\phi_H(y_i)}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\log\phi_H(y_i) + \frac{.25\phi_B(y_i)}{f_{mix}(y_i)}\frac{\partial}{\partial\theta}\phi_B(y_i)$$

$$P(A/y_i)\frac{\partial}{\partial\theta}\log\phi_A(y_i) + P(H/y_i)\frac{\partial}{\partial\theta}\log\phi_H(y_i) + P(B/y_i)\frac{\partial}{\partial\theta}\log\phi_B(y_i)$$

ويمكن التعرف عليها كمجموع الوزن للحدبة العظمى للتوزيع الطبيعى حيث أن الأوزان هى الاحتمالات الشرطية للجينوتيب معطا القيمة المظهرية الملاحظة PA/y , PH/y , PB/y والتى تعتمد على قيم θ غير المعروفة.

ولا يمكن حل معادلة الحدبة العظمى تحليليا analyticaly ولكن يمكن إستخدام Expectation-maximization EM algorithm. والحقيقة يمكن إعتبار mixture problem مشكلة النموذج المختلط احد الامثلة للبيانات غير الكاملة حيث معلومات الكيوتي إل جينوتيب معلومات غائبة بالمكونات الثلاثة A,H,B .

والفكرة الأساسية للالجوريثم EM algorithm هو إحلال المعلومات غير الكاملة y_i بمكوناتها الثلاثة الكاملة yi,B ، yi,H ، yi,A مع وزن المعلومات الكاملة الثلاث بالاحتمال الشرطى الخاص أو الحديث Specified or Updated probabilities ويتم التدوير Iteration فى خطوتين:

الأولى: تسمى خطوة التقديرEstimation E step أو خطوة تحديد الأوزان pA/ y_i , pH/ y_i , pB/ y_i اى يتم حساب الإحتمال الشرطى بإستخدام تقدير الثوابت الحالية current parameter estimates.

الثانية: تسمى خطوة التعظيم Maximization M step حيث يتم تحديث التقديرات للقيم $\mu A, \mu B, \sigma 2$ اى يتم إستخدام مثلا: تحليل الانحدار الموزون Weighted Regression Analysis. ويكون حل تلك الثوابت

$$\hat{\mu}_A = \frac{\sum_{i=1}^{n}\left[P(A/y_i)y_i + P(H/y_i)\frac{1}{2}y_i\right]}{\sum_{i=1}^{n}\left[P(A/y_i) + P(H/y_i)\frac{1}{2}\right]}$$

$$\hat{\mu}_B = \frac{\sum_{i=1}^{n}\left[P(B/y_i)y_i + P(H/y_i)\frac{1}{2}y_i\right]}{\sum_{i=1}^{n}\left[P(B/y_i) + P(H/y_i)\frac{1}{2}\right]}$$

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{n}\begin{bmatrix} P(A/y_i)(y_i - \hat{\mu}_A)^2 + P(H/y_i)(y_i - \frac{1}{2} \\ (\hat{\mu}_A + \hat{\mu}_B))^2 + p(\hat{B}/y_i)(y_i - \hat{\mu}_B)^2 \end{bmatrix}$$

لو اخترنا قيم أولية لهذه الثوابت يمكن بذلك بدء الالجوريثم, بفرض إن y^c متجه 3n *1 أى ' y1,y1,y1,y2,y2,y2,……,yn,yn,yn و الرمز c يرمز إلى complete وان β هى متجه 1*p لعوامل الانحدار المراد تقديرها وان X^c هى

مصفوفة 3n*p , e^c متجه للخطا اما المصفوفة W^c فهى مصـفوفة وتريـة للاحـتمالات الشرطية conditional probabilities>

P A/y1 , P H/y1 , P B/y1 , P A,y2 , p H/y2 , P B/y2 ……. P A/yn , P H/yn , P B/yn '

للفرد i مثلا نجد أن النموذج الإحصائي

$$\begin{pmatrix} yi \\ yi \\ yi \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & .5 \\ .5 & .5 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mu_A \\ \mu_B \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} e_{i1} \\ e_{i2} \\ e_{i3} \end{pmatrix} .....and..weighted..by$$

$$\begin{pmatrix} P(A/yi) \\ P(H/yi) \\ P(B/yi) \end{pmatrix}$$

حيـث ان النمـوذج الإحصـائي للانحـدار المـوزون Weighted Regression Analysis لل M step

$$y^c = X^c\beta + e^c \quad \&$$

$$weight = W^c$$

$$\hat{\beta} = (X^{(c)'}W^cX^{(c)})^{-1}X^{(c)'}W^cy^c$$

$$\hat{\sigma} = \frac{1}{n}(y^{(c)} - X^{(c)}\hat{\beta})'W^{(c)}(y^{(c)} - X^{(c)}\hat{\beta})$$

التوزيع المختلط للنموذج الخليط :

ويمكن تطبيق التوزيعات المختلطة للنموذج الخلـيط لإيجـاد مايسـمى التـأثير الخليط لمعـادلات النمـوذج المخـتلط Mixed-ffect mixture model equations

من المعروف ان النموذج الخليط هو:

$$Yi = X'_j B + Z'_j U + Є_j \qquad 1$$

Y_j هى الملاحظة B, U J= 1,2,….., n متجهات التاثيرات المحددة والعشوائية.

X مصفوفة تربط الملاحظة بالتاثيرات المحددة.

Z مصفوفة تربط الملاحظات بالتاثيرات العشوائية.

وفى حالة وجود كيوتى إل لبيانات أنصاف الاشقة نجد ان النموذج المختلط هو:

$$Y_j = X_j^{'} B + Z_j^{'} U + \sum_{f=1}^{F} \eta_j^{f} h_{jf}^{'} \alpha_f + \sum_{r=1}^{R} \zeta_j^{r} W_{jr}^{'} V_r + \varepsilon_j \quad (1)$$

والجزء الأول هو النموذج الخليط لهندرسون كما سبق ذكره.

المتجه α_f F f=1,2, ……, يمثل التأثير المحدد.

المتجه V_r R r=1,2,……. يمثل التأثير العشوائي.

المتجه h'_{jf} يربط متجه الثوابت α_f للملاحظة Y_j وهو الصف j للمصفوفة H_f.

المتجه W'_{jr} يربط المتجه V_r للملاحظة Y_j وهو الصف j للمصفوفة W_r.

ζ , η مؤشرات لمتغيرات للعوامل المحددة Indicator variables for fixed effects.

α_f, v_r تشير الى العلاقة للمتجهات غير المعروفة مع الملاحظة Yj.

ε_j هى التأثير المتبقى Residual effect وقد وجد ان معادلات النموذج المختلط للتأثيرات الخليطة MEMME mixed effect mixture model هى المعادلة 2 equations

$$\begin{pmatrix} X'\sum^{-1}X & X'\sum^{-1}Z & X'\sum^{-1}U_\alpha & X'\sum^{-1}U_v \\ Z'\sum^{-1}X & Z'\sum^{-1}Z+\sum_u^{-1} & Z'\sum^{-1}U_\alpha & Z'\sum^{-1}U_v \\ U_\alpha^{'}\sum^{-1}X & U_\alpha^{'}\sum^{-1}Z & V_{\alpha\alpha} & V_{\alpha v} \\ U_v^{'}\sum^{-1}X & U_v^{'}\sum^{-1}Z & V_{v\alpha} & V_{vv}+\sum_v^{-1} \end{pmatrix}^{|t|} * \begin{bmatrix} \beta^{|t+1|} \\ U^{|t+1|} \\ \alpha^{|t+1|} \\ V^{|t+1|} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'\sum^{-1}Y \\ Z'\sum^{-1}Y \\ U_\alpha^{'}\sum^{-1}Y \\ U_v^{'}\sum^{-1}Y \end{bmatrix}^{|t|} \quad (2)$$

حيث ان $|t|$ هو رقم الدورة من التدوير Iteration

$$U_{\alpha} = [U_{\alpha f}]$$
$$U_{v} = [U_{Vr}],$$
$$V_{\alpha\alpha} = [V_{\alpha f}\alpha_g],$$
$$V_{vv} = \left[V_{v_r}V_{s}\right] and$$
$$V_{\alpha v} = V'_{v\alpha} = \left[V_{\alpha_f v_r}\right]$$

f,g = 1,2, ……., F & r,s = 1, 2, …… R

بفرض معرفة

$$\sum_{v} = \begin{bmatrix} \sum_{v1} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \sum_{v2} & 0 & 0 \\ \ldots\ldots & \ldots\ldots & \ldots\ldots & \ldots\ldots \\ 0 & 0 & 0 & \sum_{vR} \end{bmatrix}$$

$$U_{\alpha f} = H_f * \Pi d^f$$
$$U_{vr} = W_r * \Pi d^{F+r}$$
$$V_{\alpha_f\alpha_g} = H'_f \Sigma^{-1}[H_g * \Pi(d^f \# d^g)]$$
$$V_{\alpha_f v_r} = V'_{v_r \alpha_f} = H'_f \Sigma^{-1}[W_r * \Pi(d^f \# d^{F+r})]$$
$$V_{v_r v_s} = W'_r \Sigma^{-1}[W'_s * \Pi(d^{F+r} \# d^{F+s})]$$

حيث ان المتجهات Vectors هى اعمدة المصفوفة D وهى مصفوفة المؤشرات والتى تحتوى قيم المؤشرات للمؤثرات المختلطة V_r &α_f.

والمصفوفة D تصبح المعادلة 3

$$D = \begin{bmatrix} d_1^1 & d_1^2 & .... & d_1^F & d_1^{F+1} & d_1^{F+2} & ... & d_1^{F+R} \\ d_2^1 & d_2^2 & .... & d_2^F & d_2^{F+1} & d_2^{F+2} & .... & d_2^{F+R} \\ .... & .... & .... & .... & .... & .... & .... & .... \\ d_L^1 & d_L^2 & .... & d_L^F & d_L^{F+1} & d_L^{F+2} & & d_L^{F+R} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} d_1 \\ d_2 \\ .... \\ d_L \end{bmatrix} \quad (3)$$

حيث ان المتجهات Vectors d^f, d^g ,d^{F+r} and d^{F+s} هى اعمدة المصـفوفة D فمثلا d^f هو ال f th عمود للمصفوفة D. و $\Pi = \{\Pi_{jl}\}_{n*1}$. حيث

$$\phi = \text{normal density}, \quad \pi_{jl} = \frac{p_{jl}\phi(y_j / \mu_{jl}, \sigma_j^2)}{\Sigma_{l=1}^{L} p_{jl}\phi(y_j / \mu_{jl}, \sigma_j^2)}$$

$$\pi_{jl} = \text{posterior probability} \quad (4)$$

والبسط فى المعادلـة الســابقة يمثـل الاحـتمال الشرطـى للملاحظـة J للقسـم l مضروبا فى الكثافـة لمعادلـة المنحنـى الطبيعـى Ø Normal Density Function للملاحظة Y معطا المتوسط والتباين للقسم l التى تقع فيه الملاحظـة بيـنما يمثـل المقام فى المعادلة مجموع قيم البسط لكل الاقسام L.......,1 = l . وبذلك نجد ان فى الاحتمال البعدى posterior probability الملاحظة y_j تقـع فى القسـم l معطا ملاحظة البيانات والتقدير الحالى للتأثيرات غير المعروفة θ والتـى تشـمل u' , v', α' , β =θ. وحساب π_{jl} هو الخطوة E step فى EM الجوريثم. بينما ال M step فى EM الجوريثم هو تعظيم maximize

$$E[\log f(y_c, u, v) / y, \theta') \; \alpha \; \Sigma_{j=1}^{n}\Sigma_{l=1}^{L} \log[\phi(y_j / \theta, \sigma_j^2) p_{ij} / \pi_{jl}$$

$$-1/2u'\Sigma_u^{-1}u - 1/2\sum_{r=1}^{R} v_r' \sum_{r=1}^{-1} v_r$$

وتفاضل المعادلة السابقة بالنسـبة للثوابـت المـراد تقـديرها يعطـى معـادلات MEMME السابقة المعادلة 2 ويلاحظ ان الرمـوز السـابقة هـى الرمـز '#' يشـير إلى ضرب هامرد .Hamard product وهو ضرب عنصر بعـنصر لمصـفوفتين لهـما الرتبة نفسها element by element product بيـنما الرمـز "*" هـو ضرب عـنصر

بعـنصر لكـل عمـود فى مصـفوفة بمصـفوفة مـن عمـود فمـثلا لـو ان المصـفوفة $A=\{a_{ij}\}_{n*m}$ والمصفوفة العمـود $b=\{b_i\}_{n*1}$ ويصـبح حاصـل ضرب Ab هـو $Ab=\{a_{ij}b_i\}_{n*m}$.

خطوات استخدام النموذج المختلط :

والمثالي التالي يوضح خطوات إستخدام MEMME:

Animal	Sire	Dam	Marker Genotype	Observation
الحيوان	الطلوقة	الام	جينوتيب الماركر	الملاحظة
1	-	-	12	-23
2	-	-	34	17
3	1	2	13	-13
4	1	2	23	7
5	4	3	33	12

معدل التوافيق الوراثية بين الكيوتي إل والماركر هو 1.

وبفرض ان تباين التأثير المتبقى, وتباين التأثير البولوجينى، وتباين تأثير اليلات الكيوتي إل هو على التوالي 177 ,88 ,75 ,14 ,5 على التـوالى. الحيـوان 2 & 1 هـما مؤسيسا العشيرة.Founder of the population لان الآباء غـير معروفـة. وبفـرض ان الفرد الأول يحمل اليلى الكيوتي إل Q^1, Q^2 بيـنما الفـرد 2 يحمـل الاليلـين Q^3, Q^4.

يتم حساب حل النموذج المختلط بالخطوات التالية:

أولا: الاحتمال الشرطى لاليلات الكيوتي إل:

طريقة التأثير الخليط لمعادلات النموذج المخـتلط MEMME لتطبيـق م ا س MAS يتطلب معرفـة الاحـتمال الشرطـى Conditional probability لجينوتيـب الكيوتي إل فى وجـود معلومـات المـاركر وذلـك للاسـتدلال عـلى الـيلات الكيـوتي إل المنتقلة من الآباء للأبناء بناءً على معلومات الماركر. بفرض وجود كيوتى إل مرتبطـة السيادة Codominant Marker له معدل توافيق C حيث :

$$M_i^1 \text{ linked with } Q_i^1 \;\&\; M_i^2 \text{ linked with } Q_i^1 .$$

لو ان اليل الماركر M_i^1 إنتقل من الاب i للنسل j نجد ان الاحـتمال الشرطـى ان النسل يستلم اليلات الكيوتي إل $Q_i^1 \& Q_i^2$ هى c-1 وc على التـوالى. وإحـتمالات لانتقال $Q_i^1 \& Q_i^2$ هو c وc-1 لو كان اليل الماركر M_i^2 هو المنتقل.

الاحتمال الشرطى لاليلات الكيوتي إل معطا الهابلوتيب المنتقـل للماركـر التـى تحصر الكيوتي إل كما فى الجدول الاتى:

Marker Haplotype M	Haplotype Frequency	Transimition Probability	
		TrQ_i^1/M	TrQ_i^2/M
$M_i^1 - N_i^1$	1-c/2	$1-c_1\ 1-c_2\ /1-c$	$c_1c_2/1-c$
$M_i^1 - N_i^2$	c/2	$1-c_1\ c_2/2$	$c_1 1-c_2\ /c$
$M_i^2 - N_i^1$	c/2	$C_1\ 1-c_2\ /2$	$1-c_1\ c2\ /c$
$M_i^2 - N_i^2$	1- c/2	$c_1c_2/1-c$	$1-c_1\ 1-c_2\ /1-c$

c معـدل التوافيـق بـين المـاركرين., c1, c2 معـدل التوافيـق بـين الكيـوتي إل والماركرز M, N الماركرز الأبوية والكيوتي إل فى حالة التجـاذب Coupling وتوزيـع اليلات الكيوتي إل لكل نسل فى العشيرة يمكن الاسـتدلال عليـه مـن توزيـع الـيلات الكيوتي إل لآبائهم واليلات الماركر الموروثة من الآباء. وان إحتمال النسل j للحصول عـلى اليـل الكيـوتي إل A^+ مـن الاب S هـو المعادلـة رقـم I وان إحـتمال النسـل j للحصول اليل الكيوتي إلA^+ من الام d هو المعادلة II.

$$\text{I)}\ pr(Q_j^p \equiv A^+) = pr(Q_s^p \equiv A^+)Tr(Q_s^p / M) + pr(Q_s^m \equiv A^+)[1 - tr(Q_s^p / M)]$$

$$\text{II)}\ pr(Q_j^m \equiv A^+) = pr(Q_d^m \equiv A^+)Tr(Q_d^m / M) + pr(Q_d^m \equiv A^+)[1 - tr(Q_d^m / M)]$$

حيث ان:

$$Q_j^p, Q_j^m, Q_s^p, Q_s^m, Q_d^p, Q_d^m$$

هى اليلات النسـل الابويـة Descendant's paternal allele والـيلات النسـل الأمويـة Descendant's maternal allele, اليـل الأب الأبـوي father's paternal allele, اليل الأب الأموي father's maternal allele, اليـل الأم الأبـوي mother's paternal allele واليل الأم الأموي mother's maternal allele.

وان $Tr(Q_s^P / M)$ هو إحتمال الانتقال الشرطى للنسـل بـان يسـتلم اليـل الأب لابوى للكيوتى إل QTL معطا إنتقال الماركر هابلوتيب. و $Tr(Q_d^m / M)$ هو إحـتمال الانتقال الشرطى للنسل بان يستلم اليل الأم الأموي للكيوتى إل معطا إنتقال الماركر هابلوتيب. ويلاحظ ان $Tr(Q_s^P / M)$ و $Tr(Q_d^m / M)$ يصبحا c, 1-c فى حالة الماركر الفردىSingle Marker.

والجدول الاتى يمثـل الاحـتمال الشرطـى لالـيلات الكيـوتي إل للأفـراد c=.1 فى المثال السابق:

Animal	الأليل الأبوى Paternal allele				الأليل الأموى Maternal allele			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1	0	0	0	0	1	0	0
2	0	0	1	0	0	0	0	1
3	.9	.1	0	0	0	0	.9	.1
4	.1	.9	0	0	0	0	.9	.1
5	.09	.01	.81	.09	.01	.09	.81	.09

ثانيا: المصفوفة D هى:

وهى التوافيق الزوجية لتأثيرات اليلات الكيوتي إل

$$D = \begin{bmatrix} 2 & 1 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 2 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 2 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 2 \end{bmatrix}$$

والجـدول التـالى يبـين الاحـتمال الشرطـى للكيـوتى إل جينوتيـب لكـل فـرد عناصر Π للدورة الاولى من التدوير first iteration:

الكيوتي إل جينوتيب Genotype QTL

Animal	11	12/21	13/31	14/41	22	23/32	24/42	33	43/43	44
1	0	10000	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	10000	0
3	0	0	8100	900	0	900	100	0	0	0
4	0	0	900	100	0	8100	900	0	0	0
5	9	82	810	90	9	810	90	6561	1458	81

12/21 هـى الجينوتيـب 12 أو 21 وكـذلك 13/31 هـى الجينوتيـب 13 أو الجينوتيب 31 وهكذا وبناءا على الاحتمالت الشرطيـة والمصـفوفة D مـع التقـديرات الحالية للتأثيرات غير المعروفة, يتم حساب قيمة المصفوفة Π باستخدام المعادلة 4 .

والاحتمالات الشرطيـة فى الجـدول السـابق والمصـفوفة D تكـون ثابتـة خـلال دورات الالجوريثم EM algorithm. بينما Π , U_a, V_{aa} تتغير مع التدوير change with iteration. وباسـتخدام الصـفر للقـيم الاوليـة لكـل قـيم المواقـع تصـبح المصفوفـة U_a, V_{aa} هى :

$$U_a = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 1 \\ .9 & .1 & .9 & .1 \\ .1 & .9 & .9 & .1 \\ .1 & .1 & 1.62 & .18 \end{bmatrix},$$

$$V_{aa} = \begin{bmatrix} 2.10 & 1.01 & .98 & .11 \\ 1.01 & 2.1 & .98 & .11 \\ .98 & .98 & 5.73 & 1.15 \\ .11 & .11 & 1.15 & 1.40 \end{bmatrix}$$

ثالثا: وتصبح الدورة الأولى من معادلات النموذج المختلط للتأثيرات الخليطة هى:

$$\begin{bmatrix} \hat{\mu} \\ \hat{U}_1 \\ \hat{U}_2 \\ \hat{U}_3 \\ \hat{U}_4 \\ \hat{U}_5 \\ \hat{a}_1 \\ \hat{a}_2 \\ \hat{a}_3 \\ \hat{a}_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 5 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 2.1 & 2.1 & 4.42 & 1.38 \\ 1 & 5 & 2 & -2 & -2 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 5 & -2 & -2 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 \\ 1 & -2 & -2 & 6 & 1 & -2 & .9 & .1 & .9 & .1 \\ 1 & -2 & -2 & 6 & 1 & -2 & .9 & .1 & .9 & .1 \\ 1 & 0 & 0 & -2 & -2 & 5 & .1 & .1 & 1.62 & .18 \\ 2.1 & 1 & 0 & .9 & .1 & .1 & 14.1 & 1.01 & .98 & .11 \\ 2.1 & 1 & 0 & .1 & .9 & .1 & 1.01 & 14.1 & .98 & .11 \\ 4.42 & 0 & 1 & .9 & .9 & 1.62 & .98 & .98 & 17.73 & 1.15 \\ 1.38 & 0 & 1 & .1 & .1 & .18 & .11 & .11 & 1.15 & 13.41 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 0 \\ -2.1 \\ 17 \\ -13 \\ 7 \\ 12 \\ -32.8 \\ -16.8 \\ 31.04 \\ 18.56 \end{bmatrix}$$

رابعا: حساب القيمة التربوية BV :

يتم حساب القيمة التربوية من المعادلة التالية

$$BV = u + II\ D\ A$$

حيث u تمثل التأثير البولوجينى, وΠ مصفوفة الاحتمالات الشرطية, والمصفوفة D مصفوفة تحتوى كل قيم مؤشرات المتغيرات للتأثيرات المختلطة α_f, v_r.

الجدول الآتي يمثل التأثير البولوجينى والقيمة التربوية المحسوبة رقم الحيوان

MEMME	1	2	3	4	5
البولوجينات	-5.84	5.84	-1.49	2.15	2.50
القيمة التربوية	-8.32	8.32	-1.67	3.17	5.61

والجدول التالي يبين الحل لثلاث دورات

μ	U1	U2	U3	U4	U5	a1	a2	a3	A4
-1.257	-5.846	5.846	-1.485	2.357	2.518	-1.725	-.738	1.536	.926
-1.275	-5.841	5.841	-1.487	2.350	2.498	-1.741	-.738	1.555	.923
-1.275	-5.840	5.840	-1.487	2.349	2.498	-1.740	-.738	1.556	.922

مزايا النموذج المختلط :

وهناك مزايا للنموذج المختلط وهى:

أولا: تقييم MEMME هو تقدير تدويرى Iterative ويعتمد على إستخدام EM algorithm مع وجود جينوتيب QTL غير معروف ومعاملته كبيانات غير معروفة Missing Data.

ثانيا: كل متجه vector α_f هو جزء من المتجه α يجب ان يعامل منفصلا عن حساب المصفوفة U, V وكذلك بالنسبة للمتجه v_r من المتجه V. ولايمكن ملاحظة ذلك فى معادلة هندرسون .

ثالثا: معادلات α و V فى النموذج المختلط لها تركيب مختلف حيث ان

$$V_{\alpha\alpha} \neq U_{\alpha}^{'}\Sigma^{-1}U_{\alpha}, V_{vv} \neq U_{v}^{'}\Sigma^{-1}U_{v}, V_{\alpha v} \neq U_{\alpha}^{'}\Sigma^{-1}U_{v}$$

رابعا: يساعد النموذج المختلط على إستخدام طريقة لتقييم الكيوتي إل وتقدير تأثيرها وكذلك تقدير وضع النموذج الجاميطى غير المختلط للتقييم بإستخدام الماركر الوراثى.

خامسا: لا يقيم النموذج المختلط فقط نموذج الحيوان-الكيوتي إل Animal-QTL-effect model وهو نموذج غير مختلط non mixture model والذى يحدد تاثير اليلات الكيوتي إل لكل موقع، ولكل حيوان، ولكن يحدد أيضا مثلا: النموذج المختلط للنماذج Sire- QTL-effect model-، Sire-dam-QT effect models، Grandsire-QTL-effect models، Fouder-QTL effect models ..... وهكذا.

سادسا: مرونة النموذج المختلط فى تقدير تأثير الكيوتي إل لاجيال مختلفة وكما يسمح أيضا باستخدام الكيوتي إل كعامل عشوائى random أو عامل محدد fixed.

سابعا: تطبيقات النموذج المختلط ليست فقط فى م ا س MAS، ولكن يمكن تطبيقه فى خرائط الكيوتي إل، فيمكن إستخدام معادلاته فى تقدير تأثير الكيوتي إل فى خرائط السافات الوراثية. وكذلك معادلات خرائط المسافات الوراثية فى نظم الخلط الرجعى, ومعادلات خرائط المسافات الوراثية لنظم الخلط بين خطين two line crossing. ويستخدم كاداة إحصائية للعوامل المستقلة غير المعروفة uncertain independent variable فى تقييم الطلائق فى حالة الآباء غير المعروفة أو مجموعات الطلائق المتعددة joining والتى تظهر فى تربية ماشية اللحم.

ثامنا: تحليل النموذج المختلط للكيوتى إل فى عشائر الاباعد يكون معقدا وذلك لان جينوتيب الكيوتي إل غير معروف uncertain ووجود قرابة بين أفراد القطيع لذلك يجب ان يكون التوزيع للملاحظات ممثلا فى معادلة الحدبة العظمى Likelihood function. وبالتالى متجه الملاحظات الممثل فى توزيعات الجينوتيب الممكنة هو توزيعات مختلطة لمتجه الملاحظات Mixture Distributions of observation vector، ويكون عدد مكونات التوزيع المختلط عدد توزيعات جينوتيب الكيوتي إل فى معادلة الحدبة العظمى كبيرا جدا، ويتزايد مع حجم العينة. حيث لا يمكن إيجاد تحليل لمعادلة الحدبة العظمى بالضبط، وهنا يمكن التعبير عن توزيع متجه الملاحظات كحاصل ضرب توزيعات الملاحظات الفردية حيث $f(y,u,v) = f(y/u,v)f(u)f(v)$ يمكن تعظيمها. وحيث ان $f(y/u,v)$ يمكن إيجادها كحاصل ضرب التوزيعات للملاحظات الفردية لان Y_{ij} مستقلة عن بعضها البعض معطا U,V ولو كانت مصفوفة التباين، والتباين المشترك Variance-covariance matrix مصفوفة وترية. عندئذ نجد ان $y/\beta,u,\Sigma \sim N(x\beta + ZU,\Sigma)$ وكما هو الحال فى معادلة النموذج الخليط Mixed linear model مما يجعل تركيب معادلة الحدبة العظمى اكثر سهولة.

12

الباب الثانى عشر
الماركرز و التنوع الوراثي

الباب الثانى عشر
الماركرز و التنوع الوراثي
Markers and Genetic Diversity

تلعب الماركرز دورا هاما في دراسة التنوع الوراثي وتحديد الأجناس والأنواع المختلفة وكذلك تحديد وشرح نظم التوطين Domestication ونظم الهجرة للأنواع المختلفة فى المناطق الجغرافية المختلفة وهناك ثوابت هامة للماركرز يجب تقديرها عند دراسة التنوع الوراثي وأهمها:

1- عدد الأليلات وتكرارها لكل موقع ,وكذلك عدد التراكيب الوراثية وتكرارها لكل موقع.
2- حجم الأليل والمدي الذي يتراوح فيه حجم الأليل,والعدد الفعال للأليلاتNumber of allele Effective .
3- رقم الكروموسوم الذي يقع فيه الماركرز.
4- التتابع Sequencing بالنسبة لقواعد الدنا-ال DNA لكل ماركرز في الأجناس أو الأنواع المختلفة
فمثلا: هل هذا التتابع مختلف في الأبقار عنه في الجاموس .
5- درجة الخلط Heterozygozity وكذلك محتوي المعلومات للتعددية الجينيةPIC Polymorphism Information Content.
6- خرائط المقارنة Comparative mapping.

التماثلية فى التنوع الوراثي Orthologus In DNA Sequence :

يستخدم تتابع القواعد وتكرارها في الدنا لمعرفة التماثلية Orthologus بين الدنا للأجناس والأنواع المختلفة الجاموس والبقر مثلا بمعني أن يستخدم مايكروساتليت ماركر Microsatellite لموقع معين أو لعدد من المواقع لمعرفة تتابع القواعد في الجاموس مثلا مع نظيرتها في البقر. مما يعني وجود تتابع بسيط Simple Repeat للدنا بين الأجناس المختلفة وكلما زادت نسبة التماثلية 70% < بين الدنا للأجناس المختلفة، كلما دل ذلك علي أن الماركر المستخدم لتحديد ترتيب القواعد لموقع معين في جنس معين يمكن أن يستخدم نفسه في تحديد موقع متماثل في جنس أخر وهذا إحدي خطوات التحليل الجينومي المقارن

بين الأجناس المختلفة وبالتالي يمكن معرفة مـدي التطـور وكـذلك معـدل حـدوث الطفرة للأجناس المختلفة.

هنـاك إسـتخدام للبصـمة الوراثيـة Genetic Fingerprinting وذلـك بتعظـيم السيادة maximizing Dominance فى الخلط وتعظيم قوة الهجـين Maximizing Heterosis وذلك بالتنبأ بقوة الهجين من التنـوع الـوراثى عـلى مسـتوى الـدنا الخلـط Heterozygozity. تـدل نسـبة التركيـب الخلـيط H في العشـيرة عـلي معـدل تكـرار المواقـع الخليطـة في العشـيرة، ويمكـن إسـتخراج نسـبة التركيـب الخلـيط في العشـيرة بإستخدام المعادلة الآتية:

$$H = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_i 2$$

n =عدد الاليلات, P_i = تكرارالاليل i في العشيرة

ويكون محتوي المعلومـات Polymorphism Information Content PIC في التعددية الاليلية

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} 2P_i^2 P_j^2 \le [(n-1)^2 (n+1)] / n^3$$

n = عدد الاليلات, Pi = تكـرار الاليـل i , Pj = تكـرار الاليـل j والتـى هـى إحـتمال ان أحـد الآبـاء خلـيط المـاركر Marker Heterozygote وزيجتـه لهـا جينوتيب مختلف اى تزاوج رجعى، أو تام المعلوماتية مع إستبعاد عـائلات الخلـط الداخلى وفى هذه الحالة يمكن ان نميز بين اليلات المـاركر البـديل لـلأب الأول , فى كل النسل من هذا الخلط.

والحد الأعلى Upper bound $[n-1^2 \; n+1]/n^3$ يحدث عنـدما تكـون كـل اليلات الماركر لها تكرار متساوى $P_i = 1/n$.

وتكون نسبة التـزاوج المعلومـاتى التـام Proportion of fully informative matings PFIM حيث تكون اليلات الماركر من كل من الأبـويين يمكـن تميزهـا فى كل النسل الناتج ويمكن حساب تلك النسبة كالآتي:

$$PFIM = \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} 2P_i P_j [(\sum_{k=1}^{n-1} \sum_{l=k+1}^{n} 2p_k p_l) - 2p_i p_j] \le [(n-1)(n-2)(n+1)] / n^3$$

حيث ان i , j, k ترمز للاليلات المختلفة للماركر.

والأب معلوماتي الماركر ليس من الضروري أن يكون معلوماتيا للكيوتى إل. والكيوتي إل التى لها n_Q, يكون ال i^{th} اليل منهم له تكرار q_i ويكون إحتمال أن أب خليط للكيوتى إل فى تزاوج عشوائى هو :

$$(1-\sum_{i=1}^{n_Q} q_i^2) \le (1-\frac{1}{n_Q})$$

والعشيرة والتى يكون الآباء فيها فى حالة إتزان عشوائى, يكون إحتمال على الأقل واحد من الاباء خليط مزدوج QTL/Marker للكيوتي إل/ ماركر, واليلات الماركر البديلة من هذا الأب لا يمكن تميزها فى كل النسل إى احتمال انه على الأقل أب واحد تام المعلوماتية هو:

$$\Pr(\text{at least one parent fully Informative}) = PIC * (1-\sum_{i=1}^{n_Q} q_i^2)$$

وإحتمال ان يكون الأبويين تاما المعلوماتية هو

$$\Pr(\text{both parents fully informative}) = PFIM * (1-\sum_{i=1}^{n_Q} q_i^2)^2$$

وعموما نتوقع ان معظم الآباء غير معلوماتيا لتوليفة الكيوتي إل/ ماركر .

مثال:

عشيرة ينعزل فيها خمسة اليلات لموقع لماركر عندئذ تكون قيمة

PIC=4^2 * 6 /5^3 = .768 and PFIM= 4*3*6/5^3 =.576

لذلك للحصول على 100عائلة معلوماتية الماركر لأب واحد على الأقل هو: 130=100/.768 عائلة مسحوبة عشوائيا يجب فحصها. ولو أردنا ان تكون العائلات معلوماتية لكل من الأبويين يجب فحص 174=100/.576 عائلة، ذلك لو كان هناك خمسة اليلات متساوية التكرار.

لو فرضنا ان الماركر مرتبط لكيوتي إل وله اليلات ثلاثة لهم التكرار, 2 .,3,.5. يصبح إحتمال ان يكون الفرد خليط للكيوتى إل هو $.2^2$+$.3^2$+$.5^2$ - 1≈ .62 وللحصول على 100 عائلة والتى يكون فيها إحدى أو كل من الأبويين تام

المعلوماتيـة يتطلـب فحـص عـلى الاقـل 130/.62 ≈ 210 عائلـة و174/.62=453 عائلة عشوائية على الترتيب.

وتستخدم قيمة PIC لتحديد كمية البلومـورفيزم اى هـى مقيـاس للتعدديـة الاليلية أو مقياس لتكرار اليلات الجين أو المـاركرز. ويعتـبر المـاركر متعـدد الاليليـة Polymorphic إذا كانـت H >0.1 بيـنما يعتـبر المـاركر Highly Polymorphic متعدد الاليلية جدا، إذا كانت H>.7. ويتضمن التعريف أن الماركر متعدد الاليليـة عندما يكون الاليل الأكثر تكرارا له تكرار أقـل مـن 95% وتصـبح قيمـة H=1-.95 =0.1^2 كما يعتبر أيضا الماركر متعدد الاليليـة جـدا Highly Polymorphic عنـدما يكون الاليل الاكثر تكرارا له تكرارا أقل من 55%.

يمكن تقدير قيمة غير متحيزة لنسبة الخليط وتباينها لعينة حجمها n

$$\hat{H} = \frac{n}{n-1}(1-\sum_{i=1}^{l}\hat{P}_i^2)$$

$$V(\hat{H}) = \frac{n}{(n-1)^2}\{\sum_{i=1}^{l}\hat{P}_i^2 - [\sum_{i=1}^{l}\hat{P}_i]^2\}$$

ولو كان معامل التربية الداخلية هو F تصبح قيمة H المتوقعة في العشـيرة -1 F H حيث أن H هى مقياس للخلط فى العشيرة بالنسبة لموقع معين. وكلما زادت نسبة H تقل نسبة الثبات فى العشيرة بالنسبة لموقع معين أو قلة نسبة التماثـل في العشيرة وأن قيمة PIC هي أيضا دليل يقيس التعددية الاليلية لجين معين وبالنظر لقيمة PIC وقيمة H يمكن ملاحظة العلاقة بيـنهما لـذلك عنـدما تكـون PIC>.5 مرتفعة يكون دليلاً على تعددية مرتفعة أو بلومورفيزم مرتفع بالنسبة لجين معـين. بيـنما لـو كانـت 25<PIC<.5. هـذا يـدل عـلى أن الموقـع فى مسـتوى متوسـط للبلومورفيزم. وتعتبر قيمة 25. قيمة منخفضة البلومورفيزم.

وتعتبر قيمة H مقياسًا خاصًـا بأليـل معـين، بيـنما قيمـة PIC مقياسًـا خاصًـا بموقع معين علي الكروموسوم حيث تمثل H حدا أعلي لقيمة PIC.

ويمكن تقدير H,PIC لكل بريمر او لكل مـاركر عنـد إسـتخدام طريقـة المايكروساتليت Microsatelite المستخدمة للتمييـز بـين عشـائر الأجنـاس، والأنواع المختلفـة، حيـث أن دراسـة الخصـائص الوراثيـة لعشـائر الأجنـاس، والأنواع المختلفة يساعد علي تقييم الإختلافات، والتباين الوراثي بين العشائر المختلفة. وهذا عامل مهم في تحديد إستراتيجيات التربية، وكـذلك في بـرامج

المحافظة علي الأنواع وخصوصا في قطعان الماشية والأغنام والماعز والتي يستخدم معها تقنيات مثل التلقيح الصناعي، ونقل الأجنة والانتخاب، والتي تقلل من التباين الوراثي في العشيرة.

ويمكن حساب التنوع الوراثي Genetic Diversity كدالة في قيمة الخليط حيث أن قيمة التنوع الوراثي هى:

حيث ان Pij تكرار الاليل i عند الموقع j و L تمثل عدد الاليلات وقيمة n تمثل عدد المواقع.

الماركر المعلوماتى Informative Marker :

يعتبر الماركر معلوماتيا عندما يتم التقييم بطريقة تؤكد أن أليل من الفرد توارث من الأب أو من الأم، وهذا يحدث عندما يكون الأب خليط وله طور معروف. وان الفرد نفسه له طور معروف. وإحتمال أن يكون الماركر معلوماتيا هو دالة في عددالاليلات m عند موقع الماركر ويكون الهم التكرارات $P_1,P_2,\ldots\ldots,P_m$ عندئذ تصبح S هى

$$S = 2\sum_{i=1}^{m-1}\sum_{j=i+1}^{m}(p_i p_j(1-p_i p_j)^2)$$

$$D = -\ln(I)$$

وتصبح قيمة S عند وجود أليلين فقط لها التكرارات P_1,P_2 هي $S = 2p_1 p_2(1-p_1 p_2)^2$ وهناك علاقة بين قيمة S وقيمة PIC ولكن قيمة PIC تأخذ في اعتبارها إذا كان الأب خليط، وأن النسل له طور معروف Coupling or Repulsion بينما تأخذ S في إعتبارها إذا كان للأب طور معروف أم لا. لذلك يعتبر الماركر له قوة معلوماتية أقوي Potentially Informative إذا كان الأب خليط وله طور معروف. وتعتبر قيمة S هي القيمة المتوقعة للخلط في وجود إتزان هاردي واينبرج في العشيرة أي تصبح S = H.

حيث n = عدد الاليلات, Pi = تكرارالاليل i في العشيرة.

ويكون الماركر غير كامل المعلوماتية Incomplete Informative عندما تكون الأطوار Coupling or Replusion غير مرئية، لوجود السيادة وهناك حالة خاصة لغياب المعلومات عن الماركر هو الانتخاب للتراكيب الوراثية

Selective Genotyping حيث تجمع بيانات الماركر فقط للقيم المظهرية الطرفية Extereme Phenotyping Value.

أنواع التزاوج للماركر المعلوماتى :

1- تزاوج تام المعلوماتية Full Informative MiMj*MkMl
ويكون فيه الآباء خليطًا ولهم ماركر مختلف ويكون النسل معلوماتيا فى التمييز بين الاليلات البديلة لكل من الأبويين.

2- التزاوج الرجعى Backcross MiMj* MkMk
ويكون إحدى الأبويين له ماركر خليط، بينما الأب الآخر له ماركر أصيل. ويكون النسل كله معلوماتيا فى التمييز بين الآباء الخليطة للاليلات البديلة.

3- التزاوج الداخلى Intercross MiMj*MiMj
وكل من الأبويين لهما الماركر الخليط نفسه. ويكون النسل الأصيل معلوماتيا فى التمييز بين اليلات الأب البديلة.

مقاييس المعلوماتية Measures of Infrmativnes :

أن الفرق الرئيسى بين تحليل خليط الخطوط المرباة تربة داخلية Crosses Inbred Lines مقابل العشائر المرباة تربية متباعدةOutbred population هو: أن الآباء فى الأول تكون متجانسة بينما فى الأخيرة تكون وراثيا متباينة ونتائج هذا التمييز هو:

1- ان هناك جزء فقط من الآباء من العشيرة المرباة تربية متباعدة يكون معلوماتيا. ويجب ان يكون الاب خليطا عند موقع الماركر وموقع الكيوتي إل مرتبطة معه حتى يمكن للأب أن يكون مصدرا للمعلومات المرتبطة وراثيا. حيث يمكن للماركر المصاحب للصفة ان يظهر فى النسل. وهناك جزء عشوائى فقط من الآباء من العشيرة المتباعدة Outbred populationيكون خليطا, بينما يكون F1 للخطوط الأصيلة Inbred Lines خليطا لكل المواقع، والتى تختلف بإختلاف الخطوط الخليطة Crossed lines، وبالتالى تكون كل الأباء كاملة المعلوماتية.

2- اليلن فقط ينعزلا عند إى موقع فى نظام خلط الخطوط الأصيلة Inbred-line Cross Design, بينما فى العشائر المتباعدة Outbred population يمكن أن ينعزل فيها اى عدد من الاليلات.

3- تختلف الأفراد فى العشائر المتباعدة Outbred population, فى طور إرتباط الماركر- كيوتى إل حيث ان الجاميطة التى تحمل الاليل M تكون مرتبطة باليل Q للكيوتى إل فى جزء ما، بينما ترتبط بالاليل q فى جزء أخر. لذلك من الضرورى فحص كل أب منفصلا فى العشائر المتباعدة لوجود المصاحبة بين الماركر والكيوتي إل. بينما فى خليط الخطوط الأصيلة F1 تكون الآباء متطابقة الجينوتيب حتى مشتملة فى طور الارتباط . لذلك يمكن اخذ متوسط الصفة المصاحبة للماركر لكل النسل بغض النظر عن أباء هذا النسل.

4- ويكون الأب معلوماتيا للماركر إذا كان خليطا للماركر. كما يكون معلوماتيا للكوتى إل إذا كان خليطا للكيوتى إل. وإذا لم يكن كلا من الماركر والكيوتي إل متعدد الاليلية Polymorphoc تكون الآباء غير معلوماتية. وفى حالة وجود الرغبة لتغظيم جزء الآباء المعلوماتية للماركر, اقسام مواقع الماركرالتى تستخدم بنجاح مع الخطوط الاصيلة Inbred lines ممكن الا تكون المثلى للعشائر المتباعدة. على سبيل المثال: الماركر RFLP أستخدم فى الخطوط الأصيلة Inbred lines على نطاق واسع وهذا الماركر هو ماركر ذو اليلين اى له تعددية اليلية متواضعة. بينما ماركرز السااتليت هى ماركز عالية التعددية الاليلية وبالتالى تنتج أفراد ذو ماركرز عالى المعلوماتية.

الماركر والمسافات الوراثية بين العشائر :

عند دراسة التنوع الوراثي من المهم معرفة المسافات الوراثية بين عشائر الأنواع أو عشائر الأجناس. ويتم ذلك بحساب معامل التماثل بين الأنواع. فمثلا: لوكان عشيرتين X,Y لكل منهما عدد من المواقع r، ولكل موقع عدد من الاليلات m عند ئذ يمكن حساب:

1- تكرار الاليل i من الموقع j في العشيرة X أو العشيرة Y ويرمز لهذا التكرار Y_{ij} , X_{ij}.
2- متوسط إحتمال الاليلات المتمثلة لمواقع إختيرت عشوائيا للعشيرة $^{\circ}$ X,Y .

$$I = \underset{xy}{J} / \sqrt{J_x J_y}$$

$$J_X = \sum_{j=1}^{r} \sum_{i=1}^{mi} X_{ij}^{2} / r$$

$$JY = \sum_{j=1}^{r} \sum_{i=1}^{mi} Y_{ij}^{2} / r \qquad -3$$

$$JXY = \sum_{j=1}^{r} \sum_{i=1}^{mi} X_{ij} Y_{ij} / r$$

4- حساب قيمة المسافات الوراثية بين العشائر D= -lnI .

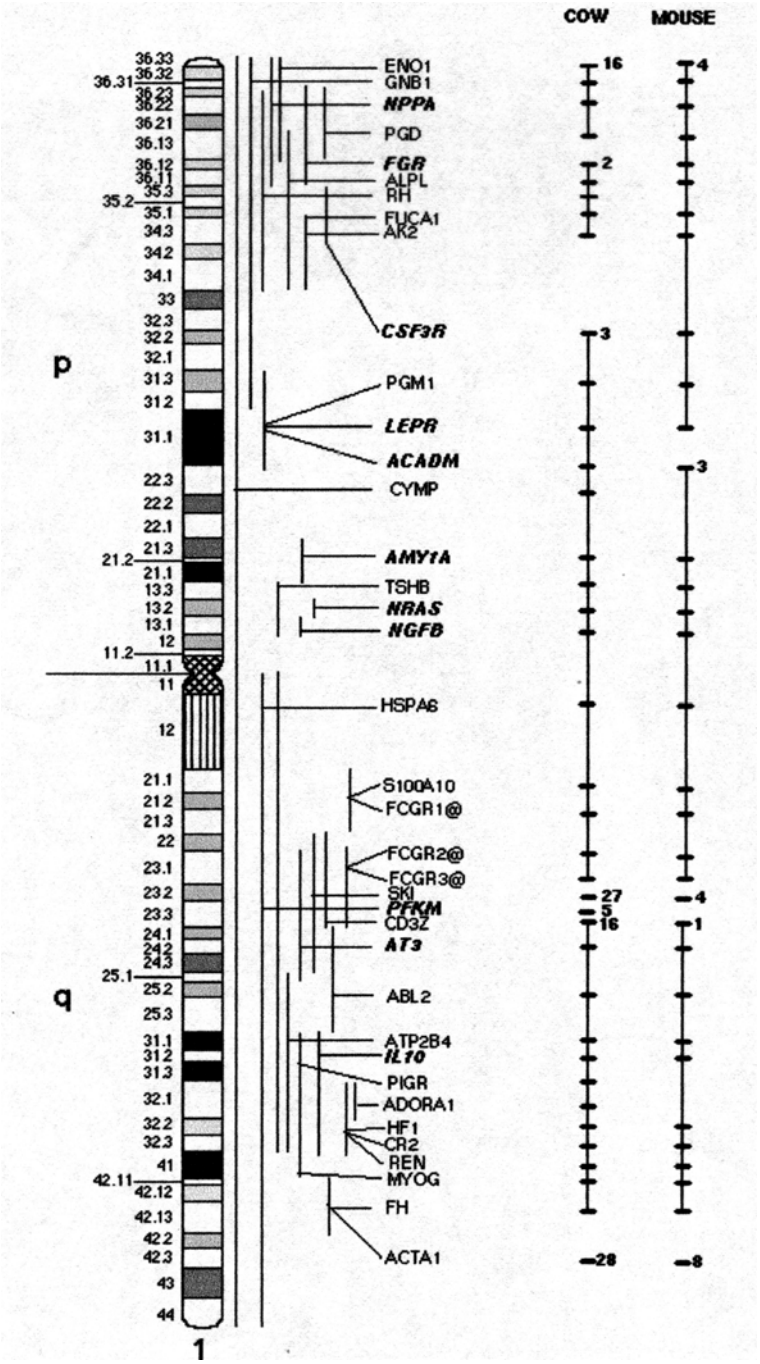
خرائط المقارنة Comparative Mapping :

تبني خرائط المقارنة علي تماثلية الجينوم، وهى إستراتيجية تزيد من دور الماركرز في تحديد الأجناس وعلاقتها ببعضها بعضًا عند وجود معلومات غير كافية، أو عند صعوبة معلومات من الخرائط الوراثية. وتستخدم هذه الإستراتيجية للحصول علي معلومات من الأجناس التي توجد صعوبات عند دراستها كالإنسان مثلا، والأجناس التي من السهل دراستها مثل الفئران، فالمعلومات للجينوم البسيط يمكن تطبيقها وإستخدامها للجينوم المعقد من الشعير للقمح مثلا.

والرسم التالى يبين :

المناطق المتماثلة فى الكروموسوم فى الإنسان والكروسوم 28 فى البقر والكروموسوم 8 فى الفئران.

human


COW
MOUSE
ENO1
GNB1
NPPA
PGD
FGR
ALPL
RH
FUCA1
AK2
CSF3R
PGM1
LEPR
ACADM
CYMP
AMY1A
TSHB
NRAS
NGFB
HSPA8
S100A10
FCGR1@
FCGR2@
FCGR3@
SKI
PFKM
CD3Z
AT3
ABL2
ATP2B4
IL10
PIGR
ADORA1
HF1
CR2
REN
MYOG
FH
ACTA1
p
q
1

13

الباب الثالث عشر
الإنتخاب الوراثى للمقاومة للمرض

الباب الثالث عشر
الإنتخاب الوراثى للمقاومة للمرض

أولا: العقبات التى تواجه الانتخاب للمقاومة للمرض:

1- صعوبة تحديد القيمة المظهرية للمقاومة للمرض.
2- صعوبة تحديد مدى المقاومة للمرض، بمعنى أنه فى عشيرة من الحيوانات السليمة، والمريضة لا يمكن تحديد ما إذا كانت الحيوانات السليمة هى فعلا مقاومة للمرض. أن تكون تعرضت لمدة غير كافية للميكروب، وبدرجة تظهر المرض.
3- الحيوانات التى تبدو سليمة يمكن أن تكون حاملة للمرض أو تكون معدية تحت إكلينيكيا Subclinical Infection.
4- الأعراض المرضية التى تظهر على الحيوانات لمرض معين، لا يمكن تميزها عن أعراض أمراض أخرى، فمثلا: أعراض الالتهاب الرئوى لا يمكن تميزها عن أعراض التهاب الشعب الهوائية، أو عدوى الجهاز التنفسى.
5- قد يكون مكلفا أو غير أخلاقي تعرض الحيوان السليم لميكروب المرض لتحديد مدى مقاومة الحيوان للمرض.
6- انتخاب الحيوان للمقاومة لميكروب معين، يمكن أن يؤدى إلى أن يصبح الحيوان نفسه أكثر حساسية للإصابة بميكروب أخر.
7- الاحتفاظ بالنظام الدفاعى فى حالة إتزان Homestasis بدون ان يؤدى الى مناعة ذاتية يكون من الصعب تحقيقه.

ثانيا: متى يمكن إدخال المقاومة للمرض فى برامج التربية:

1- يجب توفير تكاليف اقتصادية مرتفعة للمرض حتى يمكن الانتخاب للمقاومة للمرض. ويكون التحسين الوراثى اكثر فاعلية عند وجود مغامرة قليلة Low Risk للسيطرة على المرض.
2- هناك تباين وراثى كافى للمقاومة للمرض Resistance to disease او تحمل المرض Tolerance to disease بين الأنواع المختلفة للحيوانات، وكذلك داخل النوع الواحد, مما يسمح بتحسين وراثى فعال. أو الفصل بين المقاومة للمرض Resistance to disease وتحمل المرض Tolerance to disease حيث أن التحسين الوراثى فى العائل المقاوم للمرض، يكون التأثير على نقل العدوى،

بينما التأثير عند الانتخاب لتحمل المرض يؤدى إلى تقليل أعراض المرض، ولكن لا يقلل من تأثير إنتقال العدوى للحيوانات الأخرى. وقد وجد أن هناك اكثر من 50 مرضا أظهر مقاومة للعائل أو تحمله للمرض بين الأجناس المختلفة ومن أمثلة ذلك: مرض مارك فى الدواجن Marek's وعدوى F4,F18 لبكتريا E coli فى الخنازير, وعدوى النماتودا والتهاب الضرع فى الأبقار.

3- يكون هناك قيمة إقتصادية ومنافع إجتماعية من إدخال المقاومة لمرض معين فمثلا إمتناع المستهلك عن منتج معين لوجود خطورة نتيجة لوجود بقايا المضادات الحيوية، أو صعوبة علاج مرض معين مثل: أنفلونزا الطيور, يكون الانتخاب بديلا مفضلا.

4- إذا أصبح استخدام المضادات الحيوية أو الأدوية الأخرى غير مجدى فى علاج الحيوان لوجود مقاومة للميكروب ضدها، هنا يصبح الانتخاب للمقاومة للمرض دور هام.

5- الانتخاب الوراثى للمقاومة للمرض يمكن ان يكون مفيدا عند عدم توافر الفاكسين أو الأدوية الأخرى. وكذلك عند عدم المقدرة على إستخدام الفاكسين، أو الأدوية الأخرى، كما فى حالة إنتاج اللحم.

6- الانتخاب يكون مهما أيضا لعدد من الأمراض والتى فيها يصيب عدد من الميكروبات الحيوان بالطريقة نفسها.

ويكون الانتخاب غير مفضلا عندما يتسبب الانتخاب للمقاومة للمرض فى قلة الإنتاج مثل: صفات النمو، والكفاءة التحويلية للغذاء فمثلا: الانتخاب لمعدل النمو فى الرومى يزيد من معدل الاصابة بالنيوكاسل.

والتحدى الاكبر عند الانتخاب للمقاومة للمرض هو التحديد الدقيق للقيمة المظهرية للمقاومة للمرض Phenotype of Disease Resistance أو إيجاد ماركرز يمكن الإعتماد عليه اى له قيمة تنبأ عالية للقيمة المظهرية للمرض فمثلا: بعض الأمراض لها مظاهر إكلينيكية وتحت إكلينيكية بينما أمراض أخرى تأخذ الأعراض الإكلينيكية فقط فى الاعتبار.

ومعرفة طبيعة عدوى المرض Mode of Disease Infection، وإستجابة الحيوان لها هى أساسية لمعرفة التعقيد فى الانتخاب لعدوى المرض حيث يجب ان يخترق الميكروب بدرجة كافية لكل الموانع الدفاعية للحيوان، ويهاجم الخلايا، ويتكاثر فيها.

ثالثا: الموانع الدفاعية للمرض فى الجسم:

هناك ثلاثة موانع دفاعية فى الجسم ضد العدوى:

أ - المناعة الطبيعية هى خط الدفاع الأول وتتكون من الجلد، والشعر، واللعاب، وإفرازات الأنسجة المخاطية، والغدد مثل الدموع، والمعدو، واللعاب، وافرازات الجلد، والسلوك الشاذ مثل: اللعق، والدوران فى التراب، وإهتزاز الذيل. والميكروبات، أو الكائنات الدقيقة المفضلة والتى تعمل ضد الباثوجينات الضارة مباشرة أو غير مباشرة. وهناك أيضا جزء غذائى للمناعة الطبيعية مثل: فقدان الماء و نقص التغذية قد يقلل الإفرازات الطبيعية مما يجعل بعض الأنسجة أكثر حساسية للإصابة بالمرض، ونقص الفيتامينات، والمعادن تثبط الجهاز المناعى بالإضافة إلى مكون وراثي للمناعة الطبيعية فمثلا: وجد ان بعض الخنازير تكون مقاومة تماما للبكتريا المسببة للاسهال E Coli لنقص مستقبلات خلايا الأمعاء لالتصاق هذه البكتريا. كما وجد أن الذبابة الهجومية Fly Infestation للقطعان تتأثر بطول الشعر وطول الصوف وإفرازات الجلد.

ب- المناعة الذاتية والمناعة المكتسبة وهما يعتمدان على بعضهما، ويكونان شبكة من الخلايا والأنسجة والتى تتفاعلان مع بعضهما لتحديد البثوجينات ومهاجمتها، والانتجينات المصاحبة. والمناعة الذاتية أو الداخلية Innate Immune System تشتمل على:

1. كل الجهاز المناعى الذى ولد به الحيوان.
2. الاستجابة الأولية بواسطة الجسم لازالة الميكروبات ومنع العدوى.
3. خلايا الدم البيضاءالخلايا الطبيعية القاتلة, ونيتروفيلز، والايزونوفيل والمونوسيتس والماكروفاج .
4. البروتينات المكملة C1-C4 والتى تكون ملاصقة للباثوجين.
5. السيتوكينيز أنترفيرون والكيموكينيز والتى تجذب الخلايا المناعة إلى مكان العدوى. وتبحث المناعة الذاتية دائما عن الانتوجينات البكترية, الفطرية, والفيروسية . وعند إكتشاف الانتوجين يمكن للخلايا المناعية مهاجمته.

ويلاحظ أن الجهاز المناعى الذاتى ليس له خاصية التخصص لباثوجين معين، وبالتالى ليس له ذاكرة للتعرض للإصابة السابقة، أو ذاكرة التعرض لباثوجين سابق. وقد سجلت فروق بين الأنواع فى المناعة الذاتية فمثلا إرتفاع النشاط التكاملي للدم Higher Haemollytic Complement Activity فى الأنواع الهندية Bos Indicus يكون مصاحبا للمقاومة العالية للقراد Tick Infesation

وبالتالى لأمراض القراد Diseases Tick Borne وذلك مقارنة بالأنواع الأوربية Bos Taurus Breeds.

ج- المناعة المكتسبة Acquired Immune System :

هى تعرض التى أكتسبها الحيوان بالتعرض للباثوجين أو الفاكسين سابقا وبالتالى، يمكن التعرف على باثوجينات أصيب بها الحيوان سابقا والمناعة المكتسبة تكون خاصة بانتوجين معين Antigen Specific. وهناك نوعان من المناعة المكتسبة. المناعة المكتسبة من الخلايا المناعية Cell-Mediated Immunity وهذه تتكون من الخلايا المناعية التى تهاجم الخلايا المصابة بالباثوجين مباشرة. والمناعة المكتسبة Humoral Immunity من الأجسام المضادة أنواع محددة من البروتين المناعى والتى توجه تجاه الباثوجين.

وتتكون المناعة المكتسبة من نوعين من الخلايا المناعية T cells, B cells وهما خلايا بيضاء متخصصة. وتهاجم خلايا ال T الخلايا المصابة لباثوجين معين أما خلايا B فتطور إلى خلايا متخصصة منتجة لخلايا الأجسام المضادة. Specific Antibody Producing Cells–. وتحدث المناعة المكتسبة بنوعين موجب وسالب Passive and Active والمناعة السالبة تنتقل من البقرة للعجل من خلال السرسوب والذى يحتوى على الأجسام المضادة. والمناعة السالبة فتعد مناعة مؤقتة فمثلا: مناعة العجل تعتمد لحد كبير علي المناعة السالبة. والتى تستمر لمدة بسيطة بعد الولادة. ويحدث نقص فى مقدرة الأمعاء على إمتصاص الأجسام المضادة الامينوجلوبيولين ، كلما تقدم موسم الحليب. ويوجد مكون وراثى فى المناعة السالبة فى الابقار فقد وجد دنا ماركرز DNA Markers مصاحبة للفشل فى المناعة السالبة. لذا فمن المهم ان يبدأ العجل المناعة الموجبة فى عمر مبكر لإنتاج خلايا مناعية Cell-Mediated Immunity، وأجسام مضادة إستجابة للانتجينات، والفاكسينات لتحل محل المناعة السالبة وإختفاء مناعة الام.

رابعا: الإنتخاب الوراثى للمقاومة للمرض :

من الأهمية بمكان فهم المناعة الذاتية والمكتسبة من المنظور الوراثى لتطوير برامج الانتخاب للمقاومة للمرض ,على سبيل المثال: لو كان الهدف هو تقليل بكتريا الإسهال فى العجول الصغيرة عندئذ يكون الانتخاب يشتمل على مقدرة وراثية للأمهات لإنتاج أجسام مضادة فى السرسوب مناعة سالبة ، وكذلك عجول ذو مقدرة وراثية لتطوير مناعة ذاتية ومناعة مكتسبة فى عمر مبكر للباثوجين

المسبب لمرض الإسهال، ولكن قد يكون هناك بعض المشاكل لوجود إرتباط سالب بين مقاومة الام ومقاومة العجل، لبعض الامراض. وعموما الانتخاب للمقاومة للمرض مكلفا كما يسبب نقص فى الإنتاج وزيادة فى معدل الوفيات، ونقص فى طول مدة الحياة وزيادة فى التشخيص والعلاج..

الانتخاب المباشر للمقاومة للمرض:

تحدث المقاومة للمرض بثلاث طرق:

أ - ملاحظة الحيوانات فى بيئة معينة، أو نظام إنتاجي نقص الأعراض الإكلينيكية للمرض. وتحت هذا الاتجاه الانتخابى يمكن إفتراض أن الباثوجين المرضى دائما متواجد ولكن تعبير المقاومة للمرض يكون عرضة للسؤال. ويمكن تحديد الحيوانات التى تظهر عليها الأعراض الإكلينيكية بدقة منخفضة، ولكن ليس من الضروري ان تتعرض الحيوانات السليمة للباثوجين. وتحدث الأمراض عموما فى سنة أو وقت معين من السنة أو أثناء دورة إنتاجية معينة أو فى مكان معين قطيع- المرعى- المزرعة - منطقة معينة والجدير بالذكر أن السنوات التى يكون فيها معدل حدوث المرض مرتفعا تكون هناك درجة دقة عالية، ودرجة إحتمال عالية، فى تحديد الحيوانات المقاومة للمرض وقد تنخفض هذه الدقة أو تنتهى فى السنوات التى يكون معدل حدوث المرض منخفضا.

ب- التعرض المنظم لكل قطعان التربية للمرض، ويكون هذا الاتجاه بالطبع مكلفا، ويتوقف هذا على مدى قوة الباثوجين، ومدى ظهور الأعراض الإكلينيكية للمرض. وهذا الاتجاه يمكن اعتماده كمقياس للمقاومة للمرض. ولكن هذا يتطلب عزل العشيرة لمنع إنتقال المرض للقطعان غير المخصصة للتربية.

ج- تعرض الأقارب أو المستنسخات من قطعان التربية للمرض خصوصا اذا كان هذا المرض يتسبب فى معدل مرتفع من الوفيات، وهذا الاتجاه يمكن اعتماده لمعرفة مدى المقاومة الوراثية للمرض.

ويلاحظ انه ممكن أن يحدث خطأ فى تحديد الحيوانات المقاومة وراثيا للمرض لوجود خلفية مناعية سابقة التعرض سابقا للباثوجين ومختلفة بين الحيوانات. ويجب أن تحدد الأبحاث أهمية الخلفية المناعية فى حدوث التحيز فى ملاحظة استجابة الحيوانات للأمراض. فمثلا استخدام فى الماشية الانتخاب المباشر فى تقليل الإصابة لمرض البروسيلا. وقد وجد زيادة المقاومة الطبيعية لمرض

البروسيلا فى العجول الصغيرة من 20% إلى 59% بعد تلقيح الأبقار من طلوقة لها مقاومة طبيعية للمرض. ويستخدم الاتجاه المباشر للتحديد المظهري للحيوانات للمقاومة المرضية فى البيئة المعزولة والمحكمة.

الإنتخاب غير المباشر للمقاومة للمرض :

وهذا يحدث بالانتخاب لادلة للمقاومة للمرض وهذه الأدلة تشتمل على منتجات الباثوجين Pathogen Products معدل تكاثر الباثوجين ومخلفات الباثوجين, والاستجابة المناعية والبيولوجية للعائل للمرض. وهناك مثال واضح للانتخاب غير المباشر وهو: انتخاب الأغنام لعدد أقل من الطفيليات الداخلية اي عدد اقل للبيض فى الروث, ومقال آخر فى ماشية اللبن إستخدام عدد خلايا الدم البيضاء Somatic Cell Count كمعيار انتخابى لتقليل الاصابة بمرض التهاب الضرع. وقياس الاستجابة المناعية، يتم بتعريض الحيوان لانتوجين، أو فاكسين. وقياس كمية الأجسام المضادة أو قياس كمية الإنتاج كان انتخابا فاعالا فى الدواجن والخنازير. ويعتبر مقياس الاستجابة المناعية دليل مفيد للمقاومة للمرض فى الماشية ويعد هذا دليل جيد عندما يكون هناك مرض واحد تحت الدراسة. والانتخاب للاستجابة المناعية قد يحسن المقاومة لمرض معين ولكن قد يزيد الحساسية لمرض أخر، وقد أشارت إلى ذلك بعض الدراسات فى الخنازير. وللانتخاب غير المباشر الفعال يجب أن يكون دليل الصفات له صفة التوريث Heritable، وله إرتباط وراثى مرتفع للمقاومة للمرض، كما أن المرض تحت الدراسة من السهل قياسه وتمويله.

الخريطة الوراثية :

ان معرفة تتابع الدنا DNA Sequencing فى جينوم من الفئران، و الإنسان، وبناء خرائط وراثية مماثلة فى القطعان. قد أدى الى اكتشاف جينات لها علاقة بالجهاز المناعى. ولقد اكتشفت معظم الجينات والتى لها علاقة بالمقاومة للأمراض باستخدام سلالات الفئران المرباة تربية داخلية Inbred Strains of Mice. وجدت عدد قليل من الجينات، لها علاقة بالمقاومة للأمراض فى الماشية. كما وجد الجين المسمى نارب 1 Narmp1 ، أو جين المقاومة الطبيعية المرتبط ببروتين المكروفاج أن له علاقة بجهاز المناعة الذاتية. كما أن نارب 1 وجد مرتبطا وله علاقة بالمقاومة لمرض البروسيلا، والسل، والسلمونيلا ولقد تم تجديد النظير Homologues للنارب 1 ومعرفة تتابعه، وموقعه على الخريطة الوراثية. وتعد

والجينـات المرتبطـة بالاسـتجابة المناعيـة الخاصـة والمسـماة Complex MHC Major Histocompatibility مـن أوائـل الجينـات التـى تـم تحديـدها تتابعيًـا ووضعها على الخريطة الوراثية والتى لها علاقة بالأمراض.

وتعتبر جينات MHC ذات درجة عالية من التعددية الاليلية اى لهـا درجـة عالية من البلومورفيزم. بمعنى أن اكثر من اليل للجين الواحـد يتواجـد فى العشـيرة، ولقد تم تحديـد أكـثر مـن 50 اليـل مـن MHC. ودرجـة البلومـورفيزم العاليـة ل MHC والتى هى خاصة Unique بكل فرد اكثر من 100 مليـون توليفـة محتملـة تشرح جزئيا كيف يمكن للجهـاز المنـاعى ان يهـاجم مثـل هـذا العـدد الكبـير مـن الانتيجينات، ويمكنه ايضا التمييز بين الانتوجين الغريب والانتوجين الـذاتى الـدخلى. ولقد وجد فى ماشية الحليب ان MHC للبقر مرتبطـا بالمقاومـة للمـرض لصـفات ذات أهميـة اقتصـادية مرتفعـة. أمـا فى الـدواجن وجـد ان ال MHC مرتبطـة بالمقاومة لمرض مارك وكذلك المقاومة لكلوليرا الدواجن.

وتم اكتشاف جينات فردية تؤثر فى المقاومة المرضية لقطعان الحيوانات مثـل الجين المسمى فمبريا K88 F4 فى الخنازير، والذى يقلل بكتريا الإسهال E Coli فى أمعاء الخنازير. وجين البريون بروتين PrP والـذى لـه علاقـة بالإصـابة بـالجرب فى الأغنام، والذى يسبب تسـاقط الصـوف، وهـو مـرض يصـيب الجلـد . وقـد يسـبب فقـدان فى الجهـاز العصـبى وتـدهور فى الجهـاز العصـبى المركـزى. وكـذلك الجـين المسمى ب TNC والذى له علاقة بالإصابة بالسالمونيلا فى الدواجن.

من الواضح ان النظـام المنـاعى معقـد وان هنـاك عـدد مـن الجينـات تـدخل فى المقاومة للأمراض، وان الخرائط الوراثية يمكن ان تؤدى الى ظهور كيوتى ال، أو مناطق معينة على الكروموسوم ذات علاقة بالمقاومة للأمراض وقد وجد ان هناك منطقة على الكروموسوم رقم 1 مرتبطة بمرض العين البمبى Keratoconjunctivitis فى الماشية.

وقد تم تحديد عدد من الكيوتي إل والتى لها تـأثيرات مختلفـة عـلى الأمـراض فمثلاً. تم تحديد 14 كيوتى إل مرتبطة بمؤشرات مختلفة للمقاومـة لمـرض مـارك فى الدواجن Mark's disease وهو مرض يصيب الجهاز الليمفـاوى فى الـدواجن وقـد يصـيب أيضًـا الجهـاز العصـبى ويـؤدى إلى الشـلل. وهنـاك 16 كيـوتى إل مرتبطـة بمؤشرات مختلفة للتحمل لمرض التريبانوسوموسيس Trypanosomosis فى الخليط بـين ماشـية إن دامـا N' Dama وماشـية البـوران Boran cattle ومـن ثـم نجـد

عدد من الكيوتي إل لها تأثيرًا مختلفًا على انتقال العدوى ويبقى السؤال الهام وهو أى من الكيوتي إل أكثر فاعلية فى المساعدة للتعامل مع المقاومة للمرض؟

والإجابة العامة هى الكيوتي إل التى تقلل من تأثير المرض بتقليل الحساسية للعدوى هى الكيوتي إل الأنسب استعمالا ويبقى القرار على أى من الجينات أو الكيوتي إل تكون ملائمة للبحث أو الانتفاع بها والذى يكون من خلال المنظور لكل مرض على حده.

والسؤال الذى يطرح نفسه ما مدى الفائدة من التحسين للمقاومة للمرض, علمًا بأن تحسين المقاومة للمرض يختلف عن التحسين للإنتاج؟ فمن الشائع أن الحيوانات يمكن ان تعدى بعضها بعضا، وبالتالى نجد ان المقاومة للمرض فى حيوان معين ليست مستقلة عن المقاومة للمرض فى حيوان أخر، ولكن يمكن أن نجد ان الإنتاج فى حيوان معين يكون مستقلا عن الإنتاج فى حيوان آخر خصوصا إذا لم يكن هناك صلة قرابة.

تحديد النوع الأكثر مقاومة للمرض والاستفادة منه فى برامج التربية:

لو كان هناك نوعان من الحيوانات مربا فى بيئة معينة كيف يمكن تحديد النوع الأكثر مقاومة؟ أو كيف يمكن إختبار النظرية الفرضية ان النوعيين يحملا ميكانيزم مختلف للمقاومة الوراثية لمرض معين؟

هناك خطوات يجب اتباعها للإجابة عن هذا التساؤل:

أولا: يجرى مسح وراثى لمتسع العشيرة Genome-Wide QTL Interval Mapping لتحديد الكيوتي إل بإستخدام خريطة المسافات، مثلا مع إستخدام عديد من الماركرز الوراثية فى جيل F2 أو جيل التلقيح الرجعى Backcrosses بين النوعيين , حيث ان معلومات الماركرز تزودنا بأسهل الطرق لتقدير التنوع الوراثى داخل وبين اى مجموعة من الأنواع ومن امثلة ذلك الاحتمال للتريبانوسوموسيس Trypanosomosis tolerance. الحيوانات فكلما أمكن التمييز الوراثى بين عشيرتى النوعيين فى قطعان الحيوانات كلما زاد إحتمال وجود تعددية اليلية تميز بين النوعيين Distinct genetic polymorphism، وامكن للانتخاب ان يثبت جينات خاصة بالمقاومة المرضية فى عشيرة معينة.

ثانيا: مع تحديد موقع الكيوتي إل وحجمها, يجرى فى الوقت نفسه تسجيل للقيم المظهرية اى:

أ - تحديد مظهر الأنواع النقية Performance of purebreeds أو تحديد القيمة المظهرية لصفة المقاومة لمرض معين.

ب- تحديد مظهر افراد جيل ال F2 الناتج عن خلط النوعيين الأصيلين, او تحديد مظهر افراد الخلط الرجعى Backcross.

ثالثا: الاستفادة من أحد الأنواع الأصيلة الأكثر مقاومة للمرض فى برامج للخلط أو تكوين نوع جديد من خلال الانتخاب من الجيل F2, أو من الانتخاب من جيل عشيرة الخلط الرجعى Backcross Population او إدخالكيوتي إل QTL من نوع اكثر مقاومة لنوع اخر.

رابعا: يجب التأكد من ان برنامج التحسين الوراثي يمكنه إدخال ما يسمى ماركر قاعدى للإنتخاب Marker-based selection اي ان هذا البرنامج لا يعتمد فقط على قيمة الماركر فى تحديد الكيوتي إل ولكن على تكاليف والإمكانية اللوجستية فى إستخدام الماركر فى برنامج التحسين الوراثى.

دور الماركر فى دراسة المقاومة المرضية وتحسين الانتاج :

من المعروف ان الحيوانات التى لاتمتلك مقاومة تامة لمرض معين يظهر عليها نقص إنتاجي عند إصابتها بهذا المرض، ووجود مستوى عدوى مرتفع مع وجود مستوى منخفض من المقاومة للمرض مما ينتج عن ذلك نقص فى الإنتاج. وعندما يكون مستوى المقاومة مرتفع، لا يظهر تأثير العدوى على الإنتاج، وعند وجود مستوى عدوى ثابت، ومستوى مقاومة ثابت Constant Infection Preasure، يتسبب الانتخاب فى زيادة المقدرة الإنتاجية الإنتاج الذى يحدث فى غياب العدوى ، وزيادة مستوى المقاومة كذلك والمثال على ذلك هو ترابيونوسوموزيسٌ Trypansomosis. ان الماشية المحلية المقاومة لمرض الترايبونوسوموزيس قد تحسن إنتاجها ومقاومتها نتيجة للانتخاب. ويتطلب قياس القيمة المظهرية الإنتاجية تعرض الحيوان للباثوجين، والبديل لذلك هوتربية الحيوان تحت بيئة غير معدية أو تحت علاج ، ودمج المقدرة الانتاجية مع وجود QTL كيوتى إل للمقاومة المرضية، والتنبأ بالإنتاج مع وجود معدل ثابت من العدوى. وفى الواقع نجد ان معدل الإصابة ليس ثابتا بل يتغير مع الوقت وينتج بالتالى تأثير انتخابي متقطع للمقاومة المرضية عند تطبيق الانتخاب الفردي على الإنتاج الملاحظ, واستخدام الكيوتي إل يساعد فى الانتخاب للمقاومة المرضية بغض النظر عن وجود العدوى من عدمه.

ويمكن إيجاد العلاقة بين مستوى المقاومة للمرض ResistanceR والإنتاج الملاحظ P_0 Observed Production في وجود العدوى . والمستوى الإنتاجي الذى يمكن تحقيقه لوكان الحيوان لديه مقاومة تامة يسمى المقدرة الإنتاجية Potential Production ويرمز له بالرمز P_P. وفى وجود العدوى المرضية يكون الإنتاج الملاحظ P_0 هو دالة فى كل من المقدرة الإنتاجية، والمقاومة $P_0 = f R * P_P$ ، حيث ان fR هى دالة فى المقاومة والتى تصف تأثير المقاومة على الإنتاج الملاحظ ويمكن هنا ان نميز بين ثلاثة أقسام من المقاومة والتى يكون الفصل بينها بنقاط حدية . فى القسم الأول تكون الحيوانات حساسة للمرض Susceptible عند إنخفاض مستوى المقاومة للمرض عن أقل نقطة حدية Lower ThresholdL وفي هذه الحالة يتوقف الإنتاج عند Po = 0 .

وفى القسم الثانى تكون الحيوانات مقاومة تماما للمرض عندما يكون مستوى المقاومة للمرض فوق أعلى نقطة حدية Upper ThresholdU عندئذ يكون الإنتاج الملاحظ مساويا للمقدرة الإنتاجية Production Potential أو مساويا الإنتاج عند أقصى مقاومة أى $P_0 = P_P$.

وفى القسم الثالث تكون الحيوانات ذات مقاومة جزئية للمرض أي تقع الحيوانات بين النقطتين الحديتين L, U ويصبح الإنتاج الملاحظ أقل من المقدرة الإنتاجية أو الإنتاج عند أقصى مقاومة. ويعتمد حجم النقص فى الإنتاج خطيا على مستوى المقاومة عندئذ يصبح تأثير المقاومة على مستوى الإنتاج الملاحظ كالآتي:

f R =0	for R<L	
f R =R-L / U-L	for	L<R<U
fR =1	for R>U	

R = مستوى المقاومة للمرض

L = أقل نقطة حدية

U = أعلى نقطة حدية

f R = دالة فى المقاومة للمرض

وبفرض ان القيم الحدية محددة Fixed Threshold وقيمتها تعتمد على نوع العدوى، والعوامل البيئية الأخرى يمكن فرض ان المقاومة، والمقدرة الإنتاجية تتوزع طبيعيا وانه لايوجد ارتباط بين المقدرة الإنتاجية والمقاومة وان قيمة المقاومة دائما موجبة.

إستراتيجيات الانتخاب للمقاومة المرضية :

هناك استراتيجيتان للانتخاب للمقاومة المرضية :

الاستراتيجية الأولى: تتم بناءً على القيمة المظهرية للإنتاج الملاحظ تحت ظروف العدوى.

الاستراتيجية الثانية تتم بناءً على وجود QTL للمقاومة للمرض والمعلومات المظهرية للمقدرة الإنتاجية تحت ظروف عدم وجود عدوى.

الانتخاب الفردى Mass Selection تحت ظروف العدوى الثابتة وفى هذه الحالة يتم ترتيب الحيوانات طبقا للقيمة المظهرية للإنتاج الملاحظ تحت ظروف معدية والذى بعدها يتم إجراء القطع الانتخابى Truncation Selection. وعند معاملة الحيوانات بالأدوية من المفروض ان العلاج يكون قد تم بعد تسجيل الإنتاج الملاحظ. وتستخدم نتائج الانتخاب الفردى تحت ظروف العدوى الثابتة كمرجع للمقارنة بين النتائج المستخلصة من طرق الانتخاب الاخرى تحت ظروف العدوى المتقطعة.

الانتخاب بإستخدام الكيوتي إل QTL Selection :

فى غياب العدوى, معلومات القيمة المظهرية على الإنتاج غير موجودة، وفى مثل هذه الحالة يتم الانتخاب بناءً على القيمة التربوية للإنتاج الملاحظ والذى يُقدر باستخدام معلومات الكيوتي ال عن المقاومة المرضية ومعلومات القيمة المظهرية للمقدرة الإنتاجية. وبفرض ان عدد الكيوتي إل للمقاومة المرضية قد تم تحديده والذى يشرح الجزء من التباين الوراثى التجمعى الكلى موزعا توزيعا طبيعيا وبفرض ان المتوسط للكيوتى إل هو μ_{QTL} والمعامل الوراثى للكيوتى إل هو $h^2_{QTL}=1$ لانه من المفروض ان تكون الكيوتي إل محددة ومعروفة بدون خطأ. ويصبح الجزء من التباين الذى يشرح بواسطة الكيوتي إل ثابتا مع الزمن وبفرض ان تثبيت الكيوتي إل الذى يعزى للانتخاب يمكن تعويضه كليا بتحديد كيوتى إل جديدة خلال التجربة . وتقدير القيمة التربوية للفرد هو ضعف القيمة المظهرية للنسل مقاسا كانحراف من متوسط العشيرة.

وباستخدام النموذج الخليط Mixed Model هذا التعريف يساوى القيمة الوراثية التجمعية للفرد نفسه مقاسا كانحراف من متوسط العشيرة. وفى وجود النموذج غير الخطى Non Linear يتوقع أن مظهر النسل يعتمد على كل من القيمة الوراثية للآباء وتباين مظهر النسل حول المتوسط. على سبيل المثال عندما تكون

القيمة المتوسطة للآباء للمقاومة للمرض فوق أعلى قيمة حدية Upper Threshold, تظل القيمة المظهرية للمقاومة للنسل اسفل أعلى قيمة حدية Below upper Threshold مما يعزى الى التأثير المندلى Mendelian Sampling وكذلك التباين فى المقاومة, والذى يقلل من القيمة الملاحظة للإنتاج فى النسل. كذلك نجد ان القيمة التربوية المقدرة للإنتاج الملاحظ Observed Production لايمكن ان تعتمد على القيمة الوراثية للآباء. ولكن القيمة المتوقعة للإنتاج للنسل يجب ان يتنبأ لها لان الهدف من التربية هو تحسين القيمة المظهرية الإنتاجية فى ظروف العدوي، وان مظهر النسل سوف يتنبا له فى ظروف العدوى المرضية والقيمة الملاحظة لإنتاج النسل يتنبأ لها من متوسط الآباء وتباين مظهر النسل حول المتوسط، وعند معرفة القيمة التربوية المقدرة للمقاومة للآباء تصبح القيمة المظهرية للمقاومة للنسل موزعة طبيعيا بمتوسط.

$1/2ebv_P + 1/2\overline{ebv_M}$

وتباين $\sigma^2_{PR} - 1/4 P_M \sigma^2_{AR}$ حيث ان R_O

$$R_O \sim N(1/2ebv_P + 1/2\overline{ebv_M}, \sigma^2_{PR} - 1/4 P_M \sigma^2_{AR})$$

ebv_p تمثل القيمة التربوية لمقدرة الأب للمقاومة, $\overline{ebv_M}$ تمثل متوسط الزيجات . التباين المظهرى لمقاومة النسل معطا الأب أى انتخاب الأب بناءً على الكيوتي أل للمقاومة للمرض يشرح الكمية $1/4 P_M \sigma^2_{AR}$ من التباين المظهرى للنسل.

وان مربع معامل الارتباط بين تأثير الكيوتي إل والقيمة التربوية لمقاومة المرض P_m= القيمة المظهرية للمقاومة للنسل =Ro وبناءً على متوسط وتباين Ro نسبة ال P_L من النسل سوف تكون لها قيمة أقل من القيمة الحدية السفلى بينما النسبة P_U، سوف يكون لها قيمة أكبر من أعلى قيمة حدية Upper Threshold, وان النسبة P_B تقع بين القيمتين الحديتين وتصبح قيمة

$$P_L = \phi\left(\frac{L - 1/2ebv_P - 1/2\overline{ebv_M}}{\sqrt{(\sigma^2_{PR} - 1/4P^2\sigma^2_{AR})}}\right)$$

$$P_U = 1 - \phi\left(\frac{U - 1/2ebv_P - 1/2\overline{ebv_M}}{\sqrt{(\sigma^2_{PR} - 1/4P^2\sigma^2_{AR})}}\right)$$

Ø تمثل النسبة الدنيا الجزء من الذيل السفلى من المحنى الطبيعى القياسى

$P_B = 1\text{-}P_L - P_u$

ويمكن ان يكون واحد او اثنين من القيم P_u , P_B, P_L مساويا صفرا.

ومعرفة توزيع المقاومة للمرض فى النسل يمكن منه التنبأ بالقيمة الإنتاجية للنسل بإعطاء نسبة من الوزن المناسب للإنتاج الملاحظ فى كل جزء من التوزيع لقيمة المقاومة للنسل Ro

و قيمة $Po=0$ للجزء $R< L$

وقيمة $Po= Pp$ للجزء $R>U$

وتصبح قيمة الإنتاج المتوقعة للنسل $SCPo=P_B*P_{oB} + P_U *P_p$

حيث $P_{oB} = {}_{RM}\mu - L / u - L * P_{po}$

وهى القيمة المتوقعة للإنتاج للنسل عندما $L<R<U$

$Ppo=1/2\ Pp\ sire + 1/2Pp\ mate$

وهى القيمة المتوقعة للمقدرة الإنتاجية للنسل Expected potential production of offspring.

والقيمة المظهرية المتوقعة لمقاومة النسل فى حالة ان $L<R<U$ يمكن حسابه من

$\mu_{RB} = \mu_{Ro} - Pu^* \mu_{Ru} - PL^*\mu_{RL} / P_B$

حيث $\mu_{Ru} = {}_{Ro}\mu + i\ {}_{\mu}\sigma_{PRO}$ هى القيمة المتوقعة للمقاومة للنسل عندما $R>U$، ${}_{RL}\mu = {}_{RO}\mu - i_L\sigma^*_{PRO}$ هى القيمة المتوقعة للمقاومة للنسل عندما $R<L$.

وان i_L, i_U هى العمق الانتخابي المناظر لقيمة P_U, P_L. وعموما تنتخب الحيوانات بناءا على القيمة المتنبأ للإنتاج الملاحظ للنسل SCPo.

وفى إحدى الدراسات باستخدام النموذج الثابت على بيانات أو جدت بواسطة نظام المحاكاة Simulation ل 50 جيلا. قوم استخدام الكيوتي إل للمقاومة المرضية عند الانتخاب لزيادة الإنتاج، وفى وجود العدوى المرضية وقورن ذلك مع الانتخاب

الفردى فى وجود العدوى المستمرة، والعدوى المتقطعة للحيوانات وأشارت النتائج ان الإنتخاب للإنتاج المتنبأ وباستخدام الماركرز الوراثية المرتبطة بالكيوتي الكيوتي إل متعددة ولها علاقة بالمقاومة المرضية أثرت على المقاومة ويمكنها الإنتاج المتنبأ باستخدام الماركرز ان تكون بديلا للانتخاب الفردى Mass Selection لزيادة الانتاج والمقاومة المرضية معا Production and Resistance Simultaneously ومع استخدام نموذج MAS Marker Assisted Selection أصبح ليس ضروريا منع الحيوان من الفاكسين اومنعه من العلاج بالادوية بعد العدوى حتى يمكن أخذ القياسات الانتاجية او حتى الاحتفاظ بالحيوانات فى بيئة مصابة بالعدوى. وعموما يزداد مستوى المقاومة للمرض باستخدام الكيوتي إل عنها فى الانتخاب الفردى للإنتاج. وان التحسين الوراثى فى الإنتاج كان مقاربا أومتفوقا على الانتخاب الفردى عندما كان العمق الوراثى Heritability للمقاومة المرضية منخفضا. ولوكان الانتخاب متقطعا Intermittentعندئذ يصبح الانتخاب الفردى لتحسين الإنتاج تحت ظروف العدوى الثابتة أقل فاعلية. ووجود الكيوتي إل للمقاومة لا يؤثر فقط على مدى مقاومة الحيوان المرضية ولكن يؤثر أيضا على مدى تاقلم Adaptability الحيوان مع البيئة التى حدث فيها تحديد الكيوتي إل. وفى البيئة التى تكون العدوى فيها غائبة، أو عوامل العدوى غير ثابتة تختلف المقاومة للحيوان عنها فى البيئة التى تكون العدوى فيها موجودة، لذلك من المهم ان تحدد الكيوتي إل على الخريطة الوراثية فى البيئة نفسها التى ينتخب فيها الحيوان.

والانتخاب الناجح للقيمة الإنتاجية يتطلب معرفة كيوتى إل متعددة.وتنخفض الدقة فى الانتخاب، كلما زادت المسافة بين الكيوتي إل والماركر الوراثى اى زيادة معدل التوافيق الوراثية ، والذى يؤدى إلى نقص وجود الكيوتي إل فى العشيرة وقد وجدأن تثبيت Fixation أو تحديد Detection الكيوتي إل يعادل كل منهما الآخر balance each other out ولكن وجود عدد كاف من الكيوتي إل يبقى عاملاً هامًا ليعطى توزيعا طبيعيا. وان برنامج م ا س Marker Assisted Selection يؤدى الى تثبيت Fixation الكيوتي إل وبالتالى الى نقص كبير فى التباين الذى يعزى للكيوتى إل.

ولكن عند إفتراض وجود تداخل Interaction بسيط بين أثنين من الكيوتي إل نجد ان تغير بسيط يحدث فى الخلفية الوراثية بتثبيت الكيوتي إل من خلال الانتخاب يمكن ان يكون له تاثير كبير على تعبير الكيوتي إل الجديدة. ووجد انه يتم إكتشاف، وتحديد كيوتى إل جديدة بإنتظام، وانه من المهم الاستمرار فى تحديد

كيوتى إل جديدة، لان الكيوتي إل الجديدة تظهر لوجود تغيير فى التعبير خلال عملية الانتخاب.

والكيوتي إل التى تكتشف مبكرا هى الأهم فى عملية الانتخاب، لان تأثير الانتخاب على تأثير الكيوتي إل للمقاومة يتناقص مع زيادة مستوى المقاومة، وعندما تقترب المقاومة الى أعلى نقطة حدية تكون الزيادة فى معدل المقاومة نتيجة الانتخاب ليس ذو أهمية. وان الكيوتي إل ذات التأثير الكبير عددها قليل ويتم إكتشافها مبكرا وان هناك عددًا كبيرًا منها له تأثير صغير وان الكيوتي إل التى تكتشف مؤخرا سوف يكون لها تأثير صغير على صفة المقاومة للمرض، لان الانتخاب فى العشيرة يكون موجها اكثر للإنتاج وليس للمقاومة، والتغير فى التباين لثبات الكيوتي إل ذات التأثير الكبير ممكن ان يحدث ويكون اقل تأثيرا عند تطبيق النموذج الحدى Threshold Model بدلا من تطبيق النموذج الخطى Linear Model.

وعندما تكون المقاومة منخفضة فى الأجيال الأولى يؤدى الانتخاب للإنتاج الملاحظ إلى زيادة المقاومة بدلا من الزيادة فى المقدرة الإنتاجية، وبزيادة مستوى المقاومة يؤدى الانتخاب للإنتاج الملاحظ إلى زيادة فى كل من المقاومة والمقدرة الإنتاجية. ومجرد ان تصل المقاومة فوق أعلى قيمة حدية يصبح الانتخاب على الإنتاج الملاحظ مساويا للمقدرة الإنتاجية.

المقاومة لمرض التهاب الضرع Marker and Genetic Resistance to Mastitis:

تم دراسة العلاقة بين الماركر المصاحبة للمناعة لمرض التهاب الضرع، وعلاقة ذلك بالقيمة التربوية المتوقعة لمقاييس مرض التهاب الضرع فى أبقار الهولستين فريزيان , وكانت مقاييس مرض التهاب الضرع هى عدد خلايا الدم البيضاء Somatic Cell Count SCC , الالتهاب السريرى Clinical Mastitis CM, العدوى الداخلية Intramammary Infection IMI فى وجود ميكروب رئيسى Major, وميكروب ثانوى Minor, وكانت الاليلات هى:

1- اليلات المطابقة النسيجية الرئيسة للبقر Bovine Major Histocompatability وهى اليلات الجين DRB3.2وعددها إحدى عشرة اليلا.
2- اليلات جين المناعة IgG2 وهما $IgG2^a$,$IgG2^b$ وهناك ثلاثة تراكيب وراثية لجين المناعة هى:

$AA(IgG2^a$ /$IgG2^a$), $AB(IgG2^a/IgG2^b)$, $BB(IgG2^b/IgG2^b)$

3- الـيلات نقـص الليكوسـيت Bovine Leukocyte Adhsion Defficiency BLAD وهو الجين CD18 والطفرة له هى D128G.

النموذج الاحصائى:

$$D_i = MHC_i + IgG2_i + BLAD_i + \varepsilon_i$$

حيث D_i تمثل القيمة التربوية المتوقعة للبقـرة i لكـل مـن لكـل مـن SCC, IMI major CM,IMI minor المتغير MHC_i يمثل مجموع تاثير استبدال الجـين للاليل m فى الجين DRB3.2 مضروبا فى عدد النسخ n = 0, 1, 2 للبقرة i.

المتغـير $IgG2_i$، والمتغـير $BLAD_i$ يمكـن تعـريفهما بـنفس بالطريقـة نفسـها السابقة. وتأثير استبدال الجين هو الفرق بين متوسط الالـيلات فى كـل موقـع. وقـد وجد ان هناك مصاحبة بـين وجـود الاليـل DRB3.2*16 وارتفـاع القيمـة التربويـة المتوقعـة EBV لصـفة عـــدد خـــلايا البيضـــاء SCC. وان المصـــاحبة بـــين كـــلا من,DRB3.2*16 DRB3.2*8 وCM دلالة الدم على الحساسية للإصـابة بـالمرض. وكـان DRB3.2*11 مصـاحبا لـنقص القيمـة التربويـة المتوقعـة EBV للالتهـاب السريرى لمرض التهـاب الضرع Clinical Mastitis بيـنما كـان ارتفـاع DRB3.2*8 مصاحبا لزيادة EBV للالتهاب السريرى CM . وان هنـاك تـأثير معنـوى للالـيلات DRB3.2*24, DRB3.2*3 على العدوى الداخلية Intramammary Infection.

ووجـد أيضا أن $IgG2^a$ له تـأثير معنـــوى لخفـض القيمـــة التربويـة للالتهـاب السريرى CM وان حامل الطفرة للاليل CD 18 له تأثير معنـــوى للقيمـة التربويـة المنخفضة للالتهاب السريري CM.

والحيوان الذى له قيمة مفضـلة لعـدد خلايـا الم البيضـاء قيمـة منخفضـة لـل SCC له الخلايا المناعية المتعادلـة نتروفيلـز Neutrophils بوظـائف عاليـة قيمـة تربوية عالية وعدد اكبر من الخلايا المناعية الوحيـدة momocytes وقـد وجـد ان الماركرز يكون 40% من التباين الوراثى لمرض التهاب الضرع.

14

الباب الرابع عشر
برامج الماركر المساعدة للانتخاب م ا س

الباب الرابع عشر
برامج الماركر المساعدة للانتخاب م ا س
Markers Assisted Selection M A S

المقصود ببرامج الماركر المساعدة للانتخاب م 1 س هى كل الدراسات والبرامج التى يستخدم فيها الماركرز كأداة مساعدة فى تقييم الحيوانات وتقدير القيمة التربوية، وزيادة الدقة لتسهيل عمليات الانتخاب لتحقيق التحسين الوراثى المنشود.

أنواع الماركرز المستخدمة فى برامج الماركر المساعدة للانتخاب :

1- Restriction Fragment Length Polymorphism RFLP :

ويعتمد هذا الماركر على إستخدام إنزيمات التقطيع Restriction Enzymes لتقطيع الدنا DNA فى مواضع معينة وتنتج التعددية الاليلية polymorphism من حذف أو أزدواج Duplication قطعة معينة من الدنا أو نتيجة لحدوث طفرة عند، مكان التقطيع. RFLP ماركر هو أساس الأبحاث الأولى ولكنه يتطلب كمية كبيرة من الدنا large amount of DNA وبالتالى يكون هذا النوع من الماركر مكلفا فى برامج المسح الوراثى.

2- Random amplification of polymorphism DNA RAPD :

وهذا الماركر يكون مكلفا أيضًا فى برامج المسح الوراثى الكبيرة وينتفع بالتحديد المنخفض للPCR اى ينتفع باستخدام كمية قليلة من الدنا أو باستخدام برايمرز أحادية لتتابع إفتراضى من الدنا لإنتاج سلسلة من الدنا أوصف من سلسلة من أجزاء مجهولة من الدنا وبالتالى يتطلب هذا الماركر كمية بسيطة من عينة الدنا لتحليل عدد كبير من المواقع البلومورفوزمية.

3- Amplified Restriction Fragment Length AFLP :

يتطلب هذا الماركر هضم وتقطيع دنا بإستخدام إنزيمات التقطيع Restriction Enzymes، ثم إستخدام ال PCR وعدد من النيكلوتيدات المختارة فى برايمرز معين، وذلك لإنتاج عدد كبير من أجزاء محددة من الدنا، وفى هذه الطريقة يمكن قياس عدد من المواقع يصل لغاية 100 موقع بلومورفوزيمى، وبالتالى يتطلب هذا كمية بسيطة من الدنا لكل إختبار.

: Single Sequence Repeat SSR -4

وبنى هذا الماركر على تحليل الميكروستاليت تكرار مصغر لاجزاء صغيرة مكررة التتابع للدنا Short Reoeat، وهذا ينتشر إنتشارا واسعا فى جينوم الحيوانات المتعددة الخلايا Eukaryotes، وذلك لتحديد التباين فى التتابع البسيط للمكررات، وبذلك يتطلب هذا التحليل قطع صغيرة من الدنا ويتميز بقلة التكلفة لكل تحليل.

: Single Nucleotide Polmorphisms SNP -5

ويكتشف هذا الماركر باستخدام ال PCR، وهذا الاختبار يلقط بكفاءة نقطة الطفرة مكان الطفرة ، وتتطلب هذه الطريقة كمية بسيطة من الدنا لكل عينة، وبالتالى تكون التكلفة بسيطة لكل عينة.

خطوات تنفيذ برامج المارکرز المساعدة للانتخاب م ا س . Markers Assisted Selection M A S ويتم تنفيذه في أربع خطوات أساسية هى:

د- البحث عن ماركرز وراثية.
د- عمل خريطة ارتباط وراثية.
د- إيجاد العلاقة بين الماركرز والكيوتي إل.
د- استخدام الماركرز فى برامج الانتخاب.

يتم البحث عن الماركرز باستخدام الاختبارات الوراثية مثل اختبارات RFLP, AFLP, RAPD, PCR وتعتمد هذه الاختبارات تكنيكيا على اتجاهين هما الهيبردة Hybridization والامفلنكة Amplification وفى نهاية هذه الاختبارات نحصل على عدد من نسخ الدانا DNA لها تتابع قاعدى مطابقا للجزء المطلوب تخليقه من الدنا Target Sequence of DNA.

يتم عمل الخريطة الوراثية باستخدام تحليل الارتباط الوراثي Genetic Linkage Analysis حيث يتم ذلك فى الخطوات التالية:

أ - تحديد معدل التوافيق الوراثية ر بين كل زوج من مواقع الماركرز وبالتالي بمكن. تحديد المسافاتم على الخريطة الوراثية في كل اثنين من الماركرز وتستخدم طريقة الحدبة العظمى Maximum Likelihood أو طرائق إحصائية أخرى لتقدير قيمة ر بمعرفة تكرار التراكيب الوراثية.
د- تقسيم الماركرز فى مجموعات وراثية Linkage Grouping.

د- ترتيب الماركرز داخل كل مجموعة على الخريطة الوراثية وبذلك أمكن تحديد الترتيب النسبي للماركرز.

د- تقدير معدل التوافيق الوراثية للنقاط المتعددة بين المواقع المتجاورة.

الارتباط بين الماركرز والكيوتي ال, يتم باستخدام المسح الوراثي للجينوم Genome Scanning بعد تحديد المسافة بين الماركرز على طول الجينوم. ويجب تحديد عدد ال كيوتى إل الواجب أخذها على الجينوم، والتى سوف تستخدم في م ا س وبذلك سوف يحدد الجزء من التباين الوراثي الذى يرجع إلى عدد الكيوتي ال المكتشفة، وهذا عامل هام في تحديد الدقة في استخدام م ا س ويتحدد عدد كيوتى ال بثلاث عوامل:

1- تأثير الكيوتي إل: فقد وجد أن 60% من التباين في الكيوتي إل يمكن ان يعزى الي تأثير 5% من الكيوتي إل ذات التأثير كبير الحجم.
2- قوة التجارب الوراثية ودقتها Power of Mapping Experiment.
3- مستوي القوة في الإختبار الإحصائي والذي يستخدم لمعرفة القيمة الحدية Significance of Threshold والتي فوقها يمكن تحديد وجود الكيوتي إل من عدمه. حيث ان انخفاض القيمة الحدية المعنوية يعنى زيادة عدد الكيوتي إل التي يمكن تحديدها والتي من بينها عدد غير حقيقي من الكيوتي إل وهذا يقلل الدقة فى م ا س . وارتفاع القيمة الحدية يعني قلة عدد الكيوتي إل التي يمكن تحديدها.

نتائج هامة للاستجابة للانتخاب باستخدام الماركرز :

1- برامج الماركر المساعدة للانتخاب م ا س يمكن ان تستعمل لزيادة معدل التحسين الوراثي وزيادة درجة الدقة في الانتخاب وكذلك تقليل الفترة بين الأجيال Generation Interval.
2- الانتخاب باستخدام الماركرز لايعطي مطلقا اقل استجابة للانتخاب م ا س عنها في عدم وجود الماركرز وان هذه الاستجابة تتزايد بتقدم الأجيال.
3- برنامج م ا س أكثر اربحية عندما يكون هناك كيوتي إل مرتبطة بماركر وان الكيوتي إل ذات تأثير كبير أي يعزي إليها للكيوتى ال جزء كبير من التباين الوراثي.

4- يمكن تتبع الكيوتي إل ذات التأثير الكبير حتى تثبت في العشيرة، مما يعنى إعادة تقدير تباين هذه الكيوتي إل علي فترات حتى تقل مساهمتها في قيمة التباين الوراثي.

5- استخدام اكثر من كيو تي ال فى برنامج م ا س يضمن ميزة البقاء لهذا البرنامج ويكون العمق الانتخابي للكيوتي إل المنفردة ليس كبيرا وان الكيوتي إل غير المرتبطة بالماركر تساهم بجزء بسيط من التباين الكلي حيث ان الفائدة من م ا س يكون محددا بالجزء من التباين الوراثي الذي يعزى للكيوتى إل.

6- عند تحديد كل الكيوتي إل المرتبطة بالماركرز فانه لن يكون هناك فرق بين قيمة العمق الانتخابي في برنامج م ا س MAS عنه في برنامج الانتخاب العادي Non MAS .

7- يمكن تحديد الكيوتي إل باستخدام كل المعلومات عن الماركرز الموجودة علي الكرموسوم معا Simultaneously و أو استخدام الصفات المتعددة مما يؤدي الي زيادة الدقة في تحديد موقع الكيوتي إل. كما ان تقدير تأثير الكيوتي إل من هذا يؤدي الى زيادة الدقة م ا س المتتابعة.

8- عندما يكون الارتباط الوراثي بين الماركر والكيوتي إل ارتباطًا واسعًا Losely linked to QTL يتطلب ذلك معرفة طور الارتباط Linked Phase الوراثي بين الماركر والكيوتي إل سواء طور التزاوج Coupling، أو طور النفور Repulsion، وذلك لكل عائلة تحت الدراسة. والبديل لذلك هو البحث عن ماركرز في حالة ارتباط غير متزن Linkage Disequilibrium LD مع الكيوتي إل ويجب ان يستمر هذا الارتباط بين الماركر والكيوتي إل عبر العشائر across families.

9- يسمح الارتباط غير المتزن باسخدام الماركر-كيوتي إل ومعرفة تأثيرها عبر العشائر أو عبر العائلات across families. ويعتمد م ا س علي الاستفادة من التباين الوراثي الذي يعزي الي الارتباط غير المتزن وقد وجد ان الخلط بين خطوط الانتخاب احدي الوسائل لايجاد الارتباط غير المتزن. ولذلك هناك أهمية خاصة م ا س وهو ادخال جينات من عشائر مصدرية السلالات الاصيلة الي الخطوط التجارية الخطوط التجارية فى الدواجن مثلا كما هو الحال في عملية الخلط Crossbreeding.

10- في حالة استخدام الماركرز يجب البحث عن ماركرز قريبة جدا إجزاء من ال CM الواحد مثل 4,10 أو مرتبطة ارتبطا قويا بالكيوتي إل. ويصبح الارتباط غير المتزن كاملا Complete Linkage Disequilibrium عند تحديد ماركرز متعددة الاليلات Unique polymorphic Markers وقريبة جدا ومرتبطة ارتبطا وثيقا لكيوتي إل معين. ويصبح كل اليل من اليلات الكيوتي إل اليل متطابقًا بالنسب اليل IBD . وتصبح اليلات الكيوتي إل مرتبطة ارتباطا وثيقا بالماركر الخاص بها Uniquely Associated with it's Own DNA Marker، وهنا يكون الانتخاب ذو تاثير علي اليلات الكيوتي إل نفسها أي الانتخاب المباشر للكيوتي ال.

11- استخدام الارتباط غير المتزن يؤدي إلي إجراء م ا س سهلا حيث انه وليس من الضروري وجود طور الارتباط لكل عائلة طلوقة معينة وليس من الضروري تقدير التأثيرات داخل كل عائلة، وليس من الضروري تراكم البيانات المظهرية Phenotypes والوراثية Genotypes.

12- يمكن استخدام الماركر هابلوتيب Marker-Haplotype مجموعة من الاليلات لمواقع وراثية قريبة من بعضها في حالة ارتباط غير متزن قوى Strong LD مع الكيوتي إل وهذه الماركر هابلوتيب تكون غالبا متطابقة بالنسب IBD وقد تحمل اليلات الكيوتي إل نفسها.

13- إن م ا س له أهمية كبيرة في الانتخاب للصفات المرتبطة بالجنس Sex Limited Traits والانتخاب المبكر للحيوانات لاجراء اختبارات مستقبلية، وانتخاب الحيوانات الصغيرة والمشابة أو انتخاب الأجنة وكذلك دراسات الأمراض الوراثية.

14- الماركر جين DGAT1 والذى يلعب دورا فى إنتاج الحليب ومكوناته , نجد ان هذا الجين له اليلين هما: اليل الليسين وهذا له تأثير واضح فى إنتاج محصول الدهن، وكذلك نسبة الدهن فى الحليب وعلى النقيض من ذلك نجد ان اليل الألانين لل DGAT1 له دور هام فى إنتاج الحليب ومحصول البروتين. وفى الولايات المتحدة هناك أهمية اقتصادية موجبة للالانين وقيمة سلبية لليسين، بينما أدلة الانتخاب أثبتت أهمية الليسين فى بلاد أخرى كنيوزلندة مثلا. وقد وجد ان الأبقار التى ينتهى نسبها إلى أبقار الولايات المتحدة تحتوى على تكرار أعلى من اليل الالانين 70% بينما الأبقار التى

ينتهى نسبها إلى الأبقار النيوزلندية لها نسبة أعلى من تكرار اليل الليسين وبالطبع تكرار هذه الألـيلات سواء فى الأبقار الأمريكية أو النيوزلندية هو نتيجة للانتخاب المستمر لمحصول الحليب فى القطعان الأمريكية، كذلك الانتخاب المستمر لنسبة الدهن فى الأبقار النيوزلندية. وحيث ان تكرار اليلات الألانين والليسين مرتفعة فى كلا من البلدين فإن إستخدام الماركرز برنامج م ا س له أهمية محدودة.

15- تكاليف المسح الجينومي Genotyping or Genome Scan أي تكاليف البحث عن الماركر هو معادلة في عدد الأفراد.

- عدد النسل الذى سيجري عليها المسح الوراثي.
- عدد الكروموسومات.
- عدد الماركرز لكل كروموسوم.
- قيمة تكلفة الماركر الواحد وهي 4 دولار/ ماركر/ كروموسوم/ حيوان.

أسباب الاختلافات فى نتائج أبحاث م ا س :

1- الاختلافات فى حجم وتأثير الكيوتي إل.
2- الاختلافات فى تكرار الاليل.
3- معدل حدوث التوافيق بين الماركر والكيوتي إل.
4- نوع الماركر فردي أو هبلوتيب .
5- التباين المتبقى الراجع للتأثير التعددي Residual Polygeneic Variances.
6- التباين البيئى.
7- عدد الأجيال من الانتخاب.
8- تركيب العشيرة وطريقة الانتخاب.

معوقات في استخدام برامج الماركرز المساعدة للانتخاب:

1- عدد الاليلات وتكرارها في العشيرة القاعدية Base Population غير معروف سواء اليلات الماركرز، أو اليلات الكيوتي إل.
2- الأب الأصيل Homozygous Parent لموقع الماركر حيث انه من غير الممكن تتبع أي البل من زوج الاليلات الأبوية التي تقع على الكروموسومات المتماثلة Parental Homologus-Chromosome وانتقالها للنسل.

3- لو كان كلا من الأبوين خليطا، ويحملا الاليلات نفسها علي موقع الماركر، لا يمكن عندئذ تحديد مصدر الاليلات هل هي من الأب أو من الأم والتي يحملها النسل الخليط..

5- لا يمكن ملاحظة التركيب الوراثي للكيوتي إل Genotype at QTL ولذلك لا يمكن معرفة أي من الآباء خليطا للكيوتي إل.

5- من الممكن ان تكون الماركرز التي حددت وراثيا Selectively Genotyped تكون لجزء فقط من حيوانات العشيرة.

تم بحمد الله

المراجــع

المراجع

References

Anderson, L 2001 Genetic isssection of phenoyypic diversity in farm animals. Nature Revs.Genet.2: 130-139.

Ashwell, M.S., W.Heyen, T.S. Sonstegard, C.P. Van Tassell, Y.Da., P.M, M.Ron,J.I. Weller,and H.A.Lewin 2004 .Detection of Quantitative Trait Loci affecting milk production, Health and reproduction traits in Holstein cattle. J. Dairy. Sci. 86:468.

Bennewitz, N.R., S. Paul, C. Looft, B. Kaupe, C. Weimann, G. Erhardt, R. Reents,and E. Kalm 2003 . The DGAT1-k232A mutation is not solely responsible for the milk production Quantitative Traits Locus on the Bovine Chromosome 14 .J. Dairy. Sci. 87:431.

Casas,E., S.N.White, D.G. Riley, T.P.L, Smith, R.A. Brennett, and C.C. Chase, Jr 2003 . Assesment of SNP in genes residing on Chromosome 14 and 29 for association with carcass composition traits in Bos Indicus cattle. J Anim. Sci.83:13.

Churchill,G.A, and R.W. Doerge 1994 Empirical Threshold values for Quantitative Trait Mapping. Genetics .138: 963.

Chen,G.H., X.S. Wu,D.Q. Wang, J.Qin, S.L.Wu,Q.L. Zhang and .O.Olowofeso. Cluster analysis of 12 Chinese native chiken populations using Microsatellite markers 2004 . A.J.A.S. 17:1047.

Dekkers, J.C.M 2004 . Commercial applications of marker and gene-assisted selection in livestock. Strategies and lessons. J. Anim. Sci: 82: E313

Fernando, R.L, and Grossman, M 1989 . Assisted Selection using best linear unbiased prediction. Genetics Selection Evaluation. 21,467.

Gianola, D 2005 . Prediction of Random effects in finite mixture models with Gaussian components. J, Anim. Breed .Genet .122: 145.

Goddard, M.E., and Meuwissen, T.H.E 2005 . The use of linkage disequilibrium to map Quantitative Trait Loci. Austr. J. Exp. Agric. 45:837.

Knott, S.A., J.M. Elsen, C.S. Haley 1996 . Methods for Multiple-Marker mapping of Quantitative Trait Loci in half-sib populations. Theor. Appl. Genet .93:71.

Goddard, M.E 1992 . A mixed model for analysis of data on multiple genetic markers.Theor. Appl. Genet. 83: 878.

Jim Hai-Guo., Zhao yu-min and Zhou Guo-li 2005 Analysis of Microsatellite cattle breeds and application to population genetics studies. AJAS .18:1696.

Kelm, S.C., J.C.D etilleux, A.E. Freeman, M.E.K ehrli. Jr, A.B. Dietz, L.K. Fox. J.e. Bulter, I. Kasckovics and D.H. Kelley. 1077 . Association of Molecular and Physiological Markers of Immunity with Measures of Mastitis in periparturient Holstein cattle. Iowa State Report.

Lander, E.S., and D. Botstein 1989 .Mapping Mendelian factors underlying Quantitative Traits using RFLP Linkage Maps. Genetics: 121:185.

Liu,L., G.B. Jansen, and C.Y. Lin 2004 . Quantitative trait Loci Mapping for dairy cattle production traits using a maximum likelihood. J. Dairy. Sci 87:491.

Liu, Y and Z.B. Zeng 2005 . Mixture model equations for marker – assisted genetic evaluation. J. Anim. Breed Genet. 122:229.

Meuwissen, T.H.E., and M.E. Goodard, 2000. Fine Mapping of QTL Using Linkage Disequilibria with Closely linked Marker Loci. Genetics 155:421.

Meuwissen, T.H.E., and J.A.M. Van Arendonk 1992 . Potential Improvement in Rate of Genetic gain from Marker –Asisted Selection in dairy cattle breeding Schemes. J. Dairy. Sci 75:1651.

Montaldo, H.H, and C.A. Meza-Herrera 1998 . Use of Molecular markers and Major genes in the genetic Improvement of livestock. Molecular Biology and Genetics.1:1.

M. Perez-Enciso and I. Misztal 2004 xpak: a versatile mixed model application for genetical genomics and QTL analysis. Bioinformatics. 20:2792.

Nengjun Yi, Samprit Banerjee, Daniel Pomp and Brian S,Yandell 2007 . Bayesian Mapping of Genomwide Interacting QTL for Ordinal Traits. Genetics.170:1855.

Olsen, H.G., L, Gomez-Raya, Vage, I, Olsaker, H. Klungland, N. Svendser, W. Kramer, G. Thaller, K. Ronningen, and S.Lien 2002 . A Genome Scan for Quantitative Trait Loci affecting milk production in Norwegian dairy cattle. J. Dairy. Sci 85:3124.

Olsen, H.G., S.Lien, M. Svendsen, H. Nilsen, A. Roseth, M. Aasland Opsal, and T.H.E. Meuwissen 2003 . Fine Mapping of Milk Production QTL on BTA6 by combined Linkage and Linkage Disequilibrium analysis.J. Dairy Sci.87:690.

Rohrer, G.A.,J.J. Ford, T.H. Wise, J.L. Vallet and R.K. Christenson 1999 . Identification of QTL affecting female reproductive traits in multigeneration Meishan-White Composite Swine population.J. Anim.Sci 77:1385.

Jansen, R.C 1993 . Interval Mapping of multiple QTL. Genetics 135:205.

Stone, R.T.,J.W. Keele, S.D. Shackel ford, S.M. Kappes, and M. Koohmaraie 1999 .A Primary Screen of the Bovine Genome for Quantitative Trait Loci affecting Carcass and Growth traits.J.Anim.Sci 77:1379.

Schenkel, F.S., S.P. Miller, Z. Jiang, I. B. Mendell, X.Ye, and J.W. Wilton 2006 . Association of a single nucleotide Polymorphism in the Calpastain Gene with Carcass and Meat quality of Beef Cattle. J. Anim.Sci. 84, 291.

Van Arendonk, J.A.M., Tier, B and Kinghorn, B.P 1984 . Use of Multiple Genetic markers in prediction of breeding Values. Genetics. 37:319.

Van der Waajj, E.H,P. Bijma, S.C. Bishop, and J.A.M. Van Arendonk 2002 Using Genetic Markers for disease resistance to improve production under constant infection pressure. J, Anim. Sci. 80:322.

Villanueva, B,R. Pong-Wang, J. Ferandez and M.A. Toro 2005 Benfits from Marker-Assisted Selection Under an additive polygeneic genetic model. G.Anim. Sci 83:1747.

Weller, J.L., Y. Kasi ,and M. Soller 1990 , Power of Daughter and Granddaughter Designs for Determining Linkage Between Marker and Loci and Quantitative Trait Loci in dairy cattle. J.Dairy.Sci.73:2525.

Zhang, Q.,D. Boichard, I. Hoeschele, C. Ernst, A. Eggen, B. Murkve, M. Pfister-Genskow, L.E. White, F.E. Gringnda,

P.Umari, G. Thaller, and M.D. Bishop. 1998 . Mapping QTL for milk production and health of Dairy Cattle in a large outbred pedigree.Genetics.149:1959.

المصطلحات

المصطلحات
Glossary

AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism

- هو اليلات متعددة تكونت بالتوفيق بين هضم الإنزيم المحدد Restriction Enzyme Digestion وتضخيم الدنا باستخدام ال PCR.

Allele

- هو أحد صور الجين أو الماركر.

Average effect of Gene substitution

- متوسط تأثير إستبدال الجين وذلك عندما يحل اليل محل اليل آخر.

Backcross

- الخلط الرجعى , اى الخلط بين التركيب الوراثى الخليط واحد الأبويين.

cM centiMorgan

- وحدة قياس المسافة على الخريطة الوراثية.

Co dominance

- عندما تكون كل الاليلات عبر عنها تماما فى الفرد الخليط.

Coefficient of Cincidence c

- عدد مرات العبور المزدوج الملاحظ مقسوما على العدد المتوقع والكمية C-1 تسمى التداخل العبورى Crossover Interference .

Comparative Mapping

- خرائط المقارنة وهى إستراتيجية نقل معلومات الجينوم عبر الأجناس بناءا على التماثل فى الجينوم بين الأجناس مثل الإنسان والفيران.

Composite Interval Mapping

- هو طريقة لعمل الكيوتي إل [استخدام الانحدار الجزئى والمتغيرات فى النموذج الاحصائى تشمل على متغيرات للمسافات ومتغيرات لأجزاء أخرى من الجينوم لتنظيم التأثيرات الوراثية.

Conditional Probability

- إحتمال الحدث معطا الشرط على سبيل المثال :إحتمال الفرد له التركيب AA معطا أفراد لها التركيب الوراثى BB اى إحتمال AA مشروطا على BB

EM algorithm

- هو طريقة إحصائية تدويرية iterative لإيجاد تقديرا للحدبة العظمى للمشاكل عند وجود بيانات غائبة والطريقة تشتمل على خطوتين التوقع Expectation

والتعظـيم Maximization ويسـتخدم هـذا الالجـوريثم كثـيرا فى التحليـل الجينومى مثل تقدير معدل حدوث التوافيق وتكـوين نمـاذج إحصـائية لمواقـع وراثية متعددة.

Genetic Linkage

- الارتباط الوراثى وهو الانعزال غير العشوائى للجينات أو الماركرز لوجودها قريبـة من بعضها البعض

Genetic Map

- هو الترتيب الخطـى للجينـات أو المـاركرز بنـاءا عـلى معـدل حـدوث التوافيـق الوراثيةRecombination.

Genetic Marker

- هو خاصية مورثة مـن السـهل تتبعهـا لتحديـد فـرد ولرسـم الخريطـة الوراثيـة ويمكن تعريفها كجين وظيفي أو قطعة من الدنا لها وظيفة غير معروفة.

Genome

- كل الدنا التى تحمله الجاميطة.

Genome Database

- المعلومات التى تمثل كل الصفات التى يحملها الجينوم.

Genotype

- التركيب الوراثى للفرد.

Heterozygozity

- حالة الفرد الذى له اثنين من الاليلات المختلفة للجين.

Homology

- التشابه الجينومى.

Information content

- القيمة السـالبة المتوقعـة للتفاضـل الثـانى لمعادلـة لوغـاريثم الحدبـة العظمـى بالنسبة لثابت معين وهى مصفوفة لحالة من الماركرز المتعددة.

Interval Mapping

- مجموعة من الطرق التى تستخدم اثنين مـن المـاركرز المجـاورة لبعضـها والتـى تستخدم فى تقدير التأثيرات الوراثية وكذلك موقـع الجينـات فى الجينـوم والتـى تنظم عمل الصفات الكمية.

Lod Score

- هو اللوغاريثم للأساس 10 للنسبة بين الحدبة العظمـى عنـد النظريـة الفرضـية والحدبة العظمى عند النظرية البديلة.

Likelihood Ratio Test

- هو إختبار لقيمة تساوى 2 مضروبا للوغاريثم الطبيعي للنسبة بين الحدبة العظمى عند النظرية البديلة والحدبة العظمى عند النظرية الفرضية logL1/L02 وهو يتوزع توزيع كاى بدرجات حرية تمثل الفرق بين درجات الحرية لكل من L1,L0.

Map density

- هو عدد الماركر فى وحدة المساحة من الجينوم.

Map Distance

- العدد المتوقع للعبور بين موقعين وهو تجمعى للمواقع المتعددة.

Marker Coverage

- هو الجزء من الجينوم الذى يمكن تغطيته بالماركرز أو أقصى طول لقطعة من الجينوم بين اثنين من الماركرز المتجاوريين.

Polymorphism

- هو الاليلات المختلفة والتى يمكن تحديدها للجين أو الماركرز فى العشيرة او هى التعددية الاليلية للجين فى العشيرة.

Polymorphism Information Content PIC

- كمية البلومورفيزم وهو مقياس لتكرار الاليلات للجين أو الماركرز.

هذا الكتاب

وأخيرًا تم فتح الصندوق الأسود (الجينوم) فانبجست منه مفاهيم ، ومعادلات ، ونظريات ، واستراتيجيات لعلوم جديدة كلها تعمل على كشف حقيقة التباين فى أفراد وأجناس وعشائر الكون ، والتى أسهمت فى الوصول إلى علاج مشكلات كثيرة تعسر الإنسان طوال حياته فى تفسيرها أو حلها حتى أذن الله له اكتشافها وصدق قوله تعالى :

" كُلًّا نُّمِدُّ هَٰٓؤُلَآءِ وَهَٰٓؤُلَآءِ مِنْ عَطَآءِ رَبِّكَ ۚ وَمَا كَانَ عَطَآءُ رَبِّكَ مَحْظُورًا "

(الإسراء : ٢٠)

ISBN 977-05-2569-3

9 789770 525692

مكتبة الأنجلو المصرية
THE ANGLO-EGYPTIAN BOOKSHOP
The World of Words & Thoughts
www.anglo-egyptian.com