

ADVANCES IN EQUINE GENETIC RESEARCH, AND HOW NEW INFORMATION CAN HELP BREEDERS

POSTĘPY W DZIEDZINIE BADAŃ NAD GENETYKĄ KONI I JAK MOGĄ BYĆ POMOCNE HODOWCOM KONI

tekst: prof. Matthew Binns

tłum.: Krystyna Chmiel

fot.: z archiwum prof. Matthew Binns'a

Photos from the archives of prof. M. Binns

Część I

Wystąpienie prof. Matthew Binns'a na Konferencji WAHO w Katarze, 2011 r.

Prof. Matthew Binns jest światowej sławy specjalistą w dziedzinie genetyki koni. Poprzednio pracował na Wydziale Weterynarii i Ochrony Zdrowia Zwierząt w Wielkiej Brytanii, a obecnie przeniósł się do USA, gdzie zajmuje się najnowszymi badaniami z zakresu genetyki koni. Uczestnicy Konferencji WAHO 2004 w Warszawie mogą pamiętać jego wystąpienie jako zaproszonego gościa.

From 2011 WAHO Conference Doha,
Qatar, Part I – Professor Matthew Binns

Professor Matthew Binns, is one of the world's leading equine geneticists. Formerly at the Animal Health and Royal Veterinary College in Great Britain, he is currently based in the United States, working at the cutting edge of equine genetic research. One can remember Professor Binns was a guest speaker at the 2004 WAHO Conference in Warsaw.

There are going to be three presentations on genetics at this meeting and I have tried hard to avoid duplicating what I think, from their titles, the topics the other speakers will cover. I am going to be very interested to hear Michael Bowling's talk and perhaps there will be some discussion to which I can contribute, after he has spoken. I am going to cover the following areas, I always like to have a plan of a talk when I am sitting in the audience so I know how far through it is, and if it is an incredibly boring talk I know that we are getting towards the end of things! So I am going to try and talk a little bit about pedigrees, and what the genetic realities of pedigrees are. This doesn't involve any modern research, this is knowledge that has been known for a hundred years, but isn't generally recognized by breeders. And I am going to talk about new information concerning what I refer to as the 'genetic architecture' of breeds, a kind of scaffolding, there are certain characteristics which are very surprising in domestic animal breeds such as the Arabian horse. Then I am going to talk about some really fascinating new research that's being coordinated by a group at the University of Minnesota, which lets us understand the inter-relationships between many horse breeds. And again, you can see where the Arabian horse fits in this picture. And then I am going to go on to some of the work that I have done with Thoroughbred horses. I am a Thoroughbred horse person, working in the racing industry,

W programie tej konferencji przewidziane są trzy prezentacje na tematy związane z genetyką, więc postaram się nie dublować doniesień innych autorów. Z ciekawością oczekuję wystąpienia Michaela Bowlinga i chętnie wezmę udział w dyskusji po jego referacie. Na początku chcę powiedzieć Państwu, o czym zamierzam mówić, bo gdy sam siedzę na widowni – lubię mieć przed sobą plan wystąpienia mojego przedmówcy, aby wiedzieć, do jakiego miejsca już doszedł. Jeżeli doniesienie okaże się nudne – wiem, że szybko się skończy. Chciałbym powiedzieć parę słów o rodowodach i ich rzeczywistej wartości z punktu widzenia genetyki. Nie potrzeba do tego najnowszych osiągnięć nauki, gdyż są to sprawy znane od stu lat, tylko hodowcy nie przykładają do nich dostatecznej wagi. Pragnę też podać trochę nowych informacji o tym, co nazywam „architekturą genetyczną” różnych ras zwierząt, czymś w rodzaju „szkieletu”, chociaż niektóre rasy zwierząt domowych, jak np. konie arabskie, posiadają pewne zasakujące cechy charakterystyczne. Mam również zamiar wspomnieć o naprawdę fascynujących wynikach najnowszych badań, prowadzonych przez zespół Uniwersytetu Stanu Minnesota, które pozwolą nam zrozumieć wzajemne powiązania między poszczególnymi rasami koni. Oczywiście Państwo z łatwością zauważą, co wspólnego mają z tym konie arabskie. Następnie chcieliby zapoznać Państwa z wynikami moich własnych badań prowadzonych nad końskim pełną krwi angielskiej. Specjalizuję się bowiem w tej rasi i współpracuję z przemysłem wyścigowym. Zidentyfikowaliśmy już niektóre geny odpowiedzialne za cechy użytkowe, a dla Państwa największe znaczenie mają markery wytrzymałości dystansowej. Wczoraj oglądalem wyścigi arabów i wydaje mi się, że niektóre wyniki naszych badań nad końskim pełną krwi mogą mieć związek także z użytkowością wyścigową koni arabskich. Poświecie również trochę czasu dziedziczeniu białych odmian na kończynach, aby udowodnić, że na



uka poszła naprzód tak znacznie, że jesteśmy w stanie sporządzić mapy genów determinujących tak złożone cechy. Podsumowując, przedstawię Państwu swoją wizję przyszłości i przewidywane efekty naszych prac.

Zacznijmy więc od rodowodów. Na slajdzie nr 1 ukazany jest dowcip rysunkowy, autorstwa znanego amerykańskiego rysownika koni, występującego pod pseudonimem Peb. Animacja przedstawia dwoje żrebiąt rozmawiających przez plot. Jedno z nich chwali się koledze swoim rodowodem. Tym z Państwa, któ-

rzy niezbyt dobrze orientują się w genealogiach koni pełnej krwi, podpowiem, że Northern Dancer był chyba najwybitniejszym reproduktorem tej rasy w XX wieku, a Dahlia była wartościową klaczą. Źrebak ten jest więc prawdziwym arystokratą i z dumą oświadcza: „Popatrz, jakie mam wspaniałe pochodzenie!”. A drugi kwituje krótko: „No i co z tego?”. Spróbuj więc Państwu wyjaśnić, który z tych żrebałów miał rację, a więc, jakie rzeczywiste znaczenie mają rodowody.

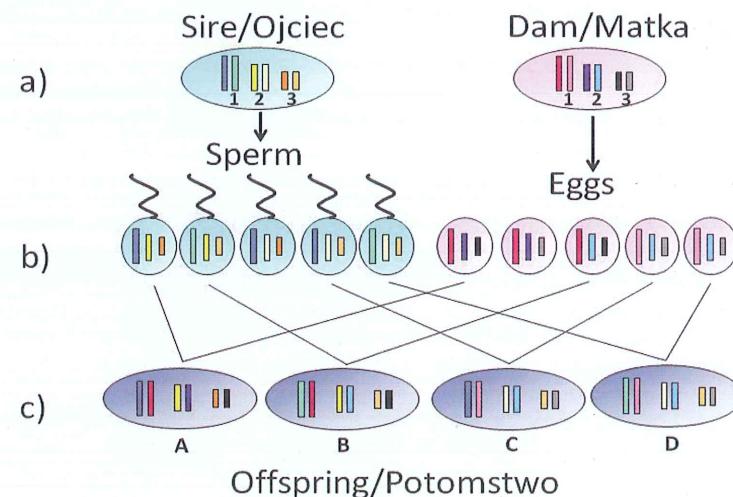
Hodując zwierzęta jakiegokolwiek gatunku musimy pamiętać, że każdy osob-

nik jest indywidualnością jedyną w swoim rodzaju. Stopień inbredu nie ma tu znaczenia – nie mówię w tej chwili o wyhodowanych w warunkach laboratoryjnych szczebach wysoko zinbredowanych myszy, ale o zwierzętach towarzyszących człowiekowi. Pomyślmy, jak wyglądają problemy genetyki u ludzi. Jakie cechy mamy wspólne ze swoimi braćmi, siostrami czy rodicami, a jak bardzo się od nich różnimy. Ja na przykład mam brata, którego nikt by nie posądził o tak bliskie pokrewieństwo ze mną, gdyby znajdował się na tej sali. Jest do mnie zupełnie niepodobny, ma 167,5 cm wzrostu i ciemne włosy, chociaż mamy w 50% to samo DNA. W plemniku ogiera i w komórce jajowej kłaczy ilość możliwych kombinacji genów sięga rzędu 2^{32} , czyli wielu trylionów. Dlatego z każdym kolejnym kojarzeniem tej samej pary otrzymamy osobnika o unikalnym geno- i fenotypie.

Na slajdzie nr 2 nie zmieści się rodomów sięgający do piątego pokolenia, ale na pewno Państwo nie raz takie widzieli. Kiedy patrzę na rodowód z punktu widzenia genetyka, dostrzegam przede wszystkim dwa zjawiska. Jednym z nich jest to, że chromosom Y jest przekazywany po linii męskiej, czyli wzduż górnego brzegu rodowodu. W naszym przykładzie przechodzi on od Street Cry poprzez ogiery: Machiavellian, Mr. Prospector, Raise a Native i tak dalej. Natomiast po linii żeńskiej, czyli wzduż dolnego brzegu rodowodu, biegnie mitochondrialne DNA przekazywane przez matkę na synów

and we have found some genes which are relevant to performance traits and I think particularly the distance marker is of relevance to you. Having watched the Arabian horse racing last night, I think there are some interesting results we have from Thoroughbreds which have implications for the sport of Arabian horse racing. Then I am going to talk a little bit about the genetics of white leg markings, just to really show you how the technology has moved forward and we can map genes for fairly complex traits. And finally, a very brief summary with my views on the future and where some of this work is going.

So, if we start with pedigrees. This slide (no.1) is a cartoon, by a very famous horse cartoonist in the United States called Peb. It shows two foals talking to each other across a fence, and one of them is giving his pedigree. For those of you unfamiliar with Thoroughbred pedigrees, Northern Dancer is probably the greatest sire of the 20th Century, and Dahlia was a very good mare. So this is a blue-blooded foal and he is basically saying, “Look at me, I am this fantastically bred horse”, and the other foal is just saying “So what?”. And I want to sort of explore that concept of how important is the pedigree, and which of these foals is right, if you like.



One thing we should remember, whenever we breed any animals together, we generate a unique individual (slide no.2). It does not matter how inbred or roughly how inbred – I will leave experimental inbred mice out – but for the sort of populations of companion animals, each is a unique individual. I often think it is useful, when trying to think about genetics, to think about humans. Think about

your brothers and sisters and parents, and what proportion of DNA you share with them, and what traits you share with them. What similarities you have, and what differences you have. I have a brother who, if he was here in the room, nobody here would guess he is my brother. He is 5 foot 7, he is dark haired, he doesn't look anything like me. We share on average 50% of our DNA. When

i córki, z tym, że synowie nie są w stanie swojego mitochondrialnego DNA przekazać dalej.

W populacji koni pełnej krwi angielskiej, jeśli, śledząc przebieg mitochondrialnego DNA, cofniemy się wystarczająco daleko w linii żeńskiej rodowodu, dojdziemy do klacz – założycielek linii. W tej rasie było ich około 70. Cofając się do wstępnych pokoleń rodowodu w linii męskiej, zgodnie z torem przekazywania chromosomu Y, dojdziemy do 3 ogierów – założycieli. Do wytworzenia rasy przyczyniło się jednak wiele innych ogierów, tylko nie pozostawiły one następców i nie miały komu przekazać swojego chromosomu Y. Podobne procesy zachodząły w trakcie kształtowania się rasy arabskiej, tylko inne były liczby jej protoplastów. Są to jednak jedyne informacje, jakie możemy uzyskać na podstawie rodowodu. Obie wymienione postacie DNA, zawarte w chromosomie Y i mitochondrialnym, przynoszą tylko niewielki ułamek łącznej liczby około 20 000 genów zawartych w innych chromosomach, których możliwości losowej segregacji są nieprzewidywalne.

Jednak fanatycy rodowodów koni pełnej krwi (a podejrzewam, że również niektórzy hodowcy arabów) podkreślają z naciskiem, jak ważne jest, kiedy w rodowodzie wybitny przodek powtarza się aż dwa razy! Przykładowo, w tym rodowodzie sławny ogier Nashua występuje w piątym pokoleniu, zarówno po stronie męskiej, jak żeńskiej. Fanatycy twierdzą, że to dzięki temu właścicielka tego rodo-

wodu, klacz Zenyatta, miała tak wspaniałą karierę wyścigową. Istotnie, wygrała 19 spośród 20 wyścigów, a dwudziestą gońnicę przegrała do najlepszych ogierów świata i to tylko o krótki leb! Hodowcy ci święcie wierzą, że kluczem do sukcesu jest obecność wybitnego wyścigowego przodka w piątym, lub nawet ósmym, pokoleniu wstępczym, toteż próbują stosować podobne schematy kojarzeń. Przypuszczam, że podobnie postępują hodowcy psów, a pewnie i koni arabskich.

W jądrze komórki konia znajdują się 64 chromosomy, z czego 32 pochodzą od ojca, a 32 od matki. Prawda jednak jest taka, że po przodkach występujących w dalekich pokoleniach wstępnych rodowodu koni dziedziczy bardzo niewielką ilość materiału genetycznego. W naszym przykładzie Nashua przekazała 32 chromosomy ogierowi Gold Diggerowi, który przekazał og. Mr. Prospectorowi 16, ten z kolei 8 og. Machiavellianowi, którego 4 chromosomy odziedziczył Street Cry, a po nim 2 przejęła Zenyatta. Podobny podział przebiegał po linii żeńskiej. Podsumowując, nasza Zenyatta odziedziczyła po Nashui tylko 6% jego DNA, a pozostałe 94% po innych ogierach występujących w jej rodowodzie. Patrząc na rodowód, wpadamy bowiem w tę samą pułapkę – w pierwszej kolejności dostrzegamy w nim imiona wybitnych przodków. Tymczasem interesujący nas osobnik mógł z równym prawdopodobieństwem odziedziczyć swój materiał genetyczny właśnie po tych mniej zasłużonych i mało

tego – część tego DNA będzie taka sama jak ta, którą odziedziczyły po innych. Do tego zresztą jeszcze dojdziemy.

W tak zamkniętej populacji, jaką jest rasa pełnej krwi angielskiej, zakres zmienności jest ograniczony, więc czasem fragmenty DNA nieoczekiwane się przemieszczają. Dla zilustrowania tego procesu, rozpisałem kolejne pokolenia, podając dla każdego liczbę przodków, procent materialu genetycznego przekazywanego przez każdego przodka w kolejnym pokoleniu i średnią liczbę przekazywanych przez niego chromosomów. I tak, w szóstym pokoleniu mamy 64 przodków, a koni ma 64 chromosomy, czyli każdy z tych przodków przekazał następnemu pokoleniu średnio po jednym chromosomie. A tak naprawdę w V-VI pokoleniu niektórzy przodkowie nie przekazują żadnego materiału genetycznego. Obecni na tej sali pracownicy naukowi na pewno w tej chwili zakrzykną: „A co z rekombinacją i zjawiskiem crossing over?“ Nie zmienia to jednak faktu, że osobnik, na którego rodowód patrzmy, mógł nie odziedziczyć niczego po niektórych przodkach z V i VI pokolenia.

I jeszcze jedno – wiem, że Michael Bowling ma nam coś do powiedzenia o linach żeńskich w populacji koni arabskich, ale i my, „folbluciarze“, poczynimy w tej kwestii interesujące spostrzeżenia. Jak już mówiłem, DNA mitochondrialny jest przekazywany po linii żeńskiej. Księga stadna koni pełnej krwi sięga wstecz do 1781 r., a więc możemy doprowadzić rodowód

a male horse makes a sperm, there are 2 to the power of 32 different possible combinations, trillions and trillions of possible different combinations. The same when the dam makes an egg. Put those two together, and when you repeat a mating you are going to get a very different individual. Individuals are unique.

I appreciate this slide is probably too small to see at the back, but you all know what 5-generation pedigrees look like. As a geneticist, when I look at a pedigree, I know only two things. That is that the Y chromosome goes along the top male line, so in this case Street Cry, Machiavellian, Mr. Prospector, Raise a Native and so on. The Y chromosome goes along that top line in a pedigree. Along the bottom line goes the Mitochondrial DNA, passed from mother to sons and daughters. Sons cannot pass on their Mitochondrial DNA. And in a Thoroughbred, if we go back far enough, if we follow the Mitochondria back, we get to the founding families, the founding females. In Thoroughbreds there are about 70. If we follow the Y chromosomes back in Thoroughbreds, we get to 3 founding males. But there were many other males which contributed genetics to the breed, they just don't have any

sons existing today, at some point that chain was broken. A male didn't have a son and therefore that Y chromosome passage was broken. Similar things are occurring in your breed, different numbers of males, different numbers of females. But that is the only thing we can pick out of this pedigree. Both these DNA entities, Mitochondrial DNA and the Y chromosome, carry a very small number of genes compared to the 20,000 or so genes that are encoded on the other chromosomes, which follow an unpredictable path of random segregation.

Now, when I talk to pedigree experts in the Thoroughbred, and they are fanatical, I think probably in a similar way to how some of the Arabian horse breeders are, they will say 'ah, but it is crucial that we have a duplication'. In this case we have a very famous horse called Nashua duplicated here in the fifth generation on both the top line and on the bottom line. And they may say that this is the reason that this particular horse whose pedigree this is, Zenyatta, was such a fantastic racehorse, she won 19 out of 20 races and lost her 20th race against the best male horses in the world by a short head.

 STREET CRY (IRE) db/b. 1998 (39.16) 8-2-5-1 \$943,675	MACHIAVELLIAN (USA) ♂ (1) b. 1987 (75.64) 7-4-1-0 \$357,023	MR. PROSPECTOR (USA) ♂ (1) b. 1970 (6C) (78.54) 14-7-4-2 \$112,171	RAISE A NATIVE (USA) ♂ (1) b. 1961 (B) (66.19)	NATIVE DANCER (USA) ♀ (1) b. 1950 (6C) (61) 5-6-1
			COUP DE FOLIE (USA) ♂ (1) b. 1982 7-4-0-2 E93,151	PETITION (GB) ♂ (1) b. 1965 (73)
			TROY (GB) ♂ (1) b. 1976 (9) 11-8-2-1 L450,494	ALCAZAR (FR) ♂ (1) ch. 1957
			HELEN STREET (GB) ♂ (1) b. 1982 9-3-2-2 L453,339	HORNBEAM (GB) ♂ (1) ch. 1953
			WATERWAY (IRE) ♂ (1) b. 1976 11-7-2-2 L307,941	PIN PRICK (GB) ♂ (1) b. 1955
			RIVERMAN (USA) ♂ (1) b. 1969 (1C) (78.98)	NEVERENDLESS (USA) ♂ (1) b. 1963 (D)
			BOULEVARD (IRE) Ch. 1963	DALL MALL (IRE) ♂ (1) ch. 1963
			ROBERTO (USA) ♂ (1) b. 1969 (C) (90.61) 14-7-3-0 \$330,302	COSTA SOLA (IRE) ♂ (1) ch. 1963
			HAIL TO REASON (USA) ♂ (1) b. 1958 (C) (82.03)	TURN-TO (USA) ♂ (1) b. 1951 (B)
			KRIS S (USA) ♂ (1) b. 1977 (74.37) 5-3-1-0 \$53,350	NOTHIDCHANCE (USA) ♂ (1) b. 1948
VERTIGINEUX (USA) ♂ (1) db/b. 1995 7-2-0-1 \$60,480	FOR THE FLAG (USA) ♂ (1) b. 1978 9-1-2-0 \$72,030	BRAMALEA (USA) ♂ (1) b. 1959	HASHUA (USA) ♂ (1) b. 1952 (IC)	PRINCE ROSE (GB) ♂ (1) b. 1928 (C)
			SHARP QUEEN (USA) ♂ (1) b. 1965 14-7-3-2 \$11,771	NEVERENDLESS (USA) ♂ (1) b. 1963 (D)
			FORLI (ARG) ♂ (1) ch. 1963 (C) (68.96) 10-8-1-0 8f, 7c, 6w, 1sw AEI 2.13	PRINCEQUILLO (IRE) ♂ (1) b. 1940 (15) (90.74)
			ARISTOPHANES (GB) ♂ (1) ch. 1948 (73)	COSQUILLA (GB) ♂ (1) ch. 1933
			FOR THE FLAG (USA) ♂ (1) b. 1973 14-5-2-2 \$29,910	ADVOCATE (GB) ♂ (1) ch. 1940
			TREVISA (ARG) ♂ (1) ch. 1951	VENETA (ARG) ♂ (1) ch. 1940
			IN THE OFFING (USA) ♂ (1) b. 1968 (B) (86.01)	HOIST THE FLAG (USA) ♂ (1) b. 1968 (B)
			MRS. PETERKIN (USA) ♂ (1) ch. 1965	WAVY NAVY (USA) ♂ (1) ch. 1954
			LEGENDRA (USA) ♂ (1) ch. 1944	TOM ROLFE (USA) ♂ (1) b. 1962 (CP)

któregokolwiek z żyjących koni do jednej z klaczy – założycielek. Teoretycznie wszystkie osobniki wywodzące się od tej samej założycielki powinny dziedziczyć tę samą sekwencję mitochondrialnego DNA. Tymczasem na slajdzie nr 4 widać, że

sko mają zupełnie inną. Świadczy to, że mniej więcej w latach 50. XIX wieku dokonano błędego wpisu do ksiąg. Błędy takie można znaleźć w pierwszych pokoleniach wielu linii. Zdziwiłbym się, gdyby takie zjawisko nie występowało w rodó-

się błędów, ale nie sądzę, abyśmy mieli się tym przejmować.

Kiedy zajrzałem do prezentacji, jaką przywoziłem na konferencję WAHO w Polsce w 2004, zdalem sobie sprawę, jak bardzo od tamtych czasów zmienił się świat. Pewnie zmienił się nie tylko dla mnie, ale jako genetyk szczególnie to odczułem. Najlepiej widać to na przykładzie klaczy pełnej krwi Twilight, której wtedy demonstrowałem na slajdzie nr 5. Kłącza ta, należąca do doświadczalnego stada dr Douga Antczaka w Cornell, była pierwszym koniem, której pełną sekwencję DNA jej genomu, liczącą 3 mld liter, udało się zmapować członkom Zespołu Genetyki Koni. Stanowi ona „Księgę Życia” tej klaczy, czyli instrukcję, według której jest ona zbudowana.

Dla porównania, wykonanie pierwszej mapy genomu ludzkiego zajęło dziesięć lat i pochłonęło setki milionów dolarów. Kilka lat później brałem udział w opracowaniu sekwencji genomu psa, co zabrało mi wtedy rok, a kosztowało czterdziestki milionów dolarów. Po następnych dwóch latach udało się nam sporządzić mapę genomu konia w ciągu sześciu miesięcy i kosztem piętnastu milionów. Tego lata natomiast uczestniczyłem w konferencji, gdzie dowiedziałem się o zmapowaniu genomów kilku dalszych koni, co trwało mniej niż tydzień i kosztowało trzy tysiące dolarów. Czyli że od kosmicznych setek milionów dolarów doszliśmy do kwoty dostępnej dla indywidualnego hodowcy, który może za to mieć zbadaną sekwencję.

w tych starych rodowodach popełniano błędy. Mamy tu założycielkę rodziny 1 i jej współczesne reprezentantki. Wszystkie odgałęzienia tej rodziny mają taką samą sekwencję, ale te zaznaczone na niebie-

wodach koni arabskich. Możliwe, że jest ono już znane, ale głównie chodzi o to, że do większości ksiąg stadnych przed wprowadzeniem obowiązku identyfikacji zwierząt na podstawie badań krwi wkradły

And they are convinced that a horse in the fifth generation, or in the eighth generation holds the key, people try to do 'pattern recognition'. They try to see patterns in the pedigrees of successful racehorses and think this is the key to breeding a successful horse. I think dog breeders do similar things and I would imagine Arabian horse breeders do similar things.

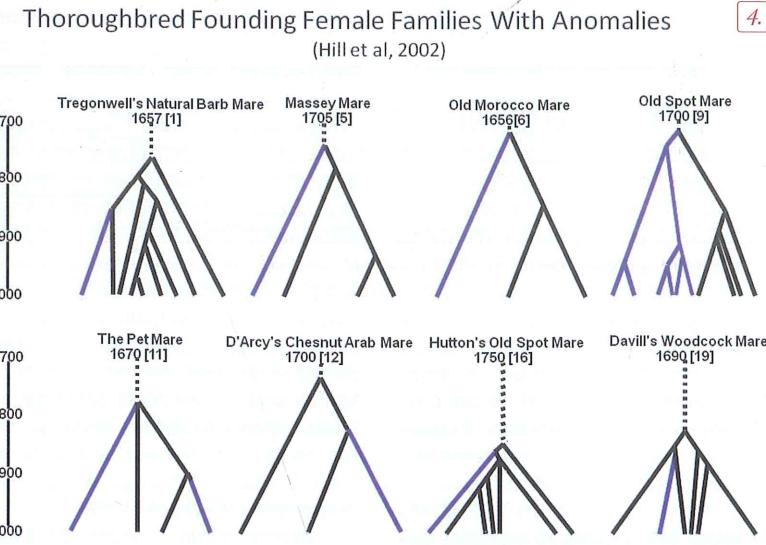
The horse has 64 chromosomes in a cell, you get 32 from the sire and 32 from the dam. The reality is that ancestors far back in the pedigrees contribute very little genetic material, so I have tried to put it up on the pedigree that in this case, Nashua only passed on 32 chromosomes to this horse Gold Digger, who passed on 16 chromosomes, on average, to Mr. Prospector; who passed on 8 chromosomes, on average, to Machiavellian; who passed on, on average, 4 chromosomes to Street Cry; who passed on 2 chromosomes to Zenyatta. There is a similar halving of the contribution all the way through the dam line. So when we get to the horse we are looking at, Zenyatta, she got on average about 6% of her DNA from Nashua. She got 94% from other horses in this pedigree. And it is very important that when you look at a pedigree – and I fall into the same trap,

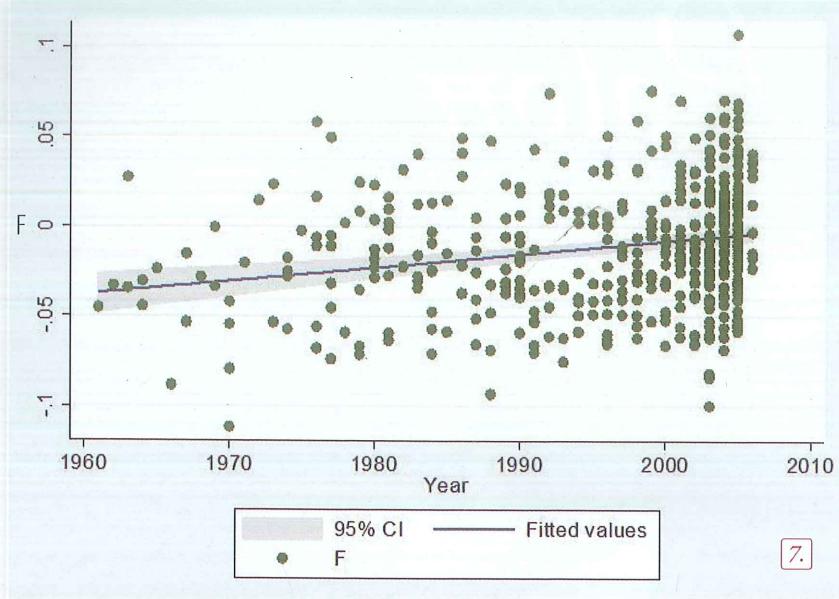
you see the famous names and your eye goes to the famous names – but the reality is that the genetic material that the individual is inheriting can quite easily come from these lesser names in the pedigree, and that some of that DNA is the same as in some of the others. And I will come on to that.

There is a very restricted repertoire of variation in a closed breed, so pieces of DNA are making movements that you don't expect. Just to really emphasise the point, I have listed generations, the number of ancestors in that generation, the average% contribution from each ancestor in that generation, and the average number of chromosomes transmitted per ancestor. So if we go to the sixth generation, with 64 individuals, I said that a horse has 64 chromosomes. On average, each one of those 64 ancestors would have given one chromosome. The reality is that by the fifth or sixth generation, many ancestors will have contributed no genetic material. Now the scientists amongst you will say 'What about recombination', there is a process which results in crossing over between maternal and paternal chromosome pairs.. But recombination would even out and the facts I am saying would still be the same. Individuals in the sixth

generation and fifth generation, some of them will give nothing to the individual you are looking at.

Now, something else – I know that Michael Bowling will probably talk about some of the maternal lines in the Arabian horse and we have an interesting finding in Thoroughbreds. As I have said, Mitochondrial DNA passes down the female line. In Thoroughbreds, we have a studbook going back to 1781 and we can trace pedigrees back for any existing animal to one of the founding females. All current individuals who trace back to the same founding female should share the same Mitochondrial sequence. This slide (no.4) shows that these early Thoroughbred pedigrees are incorrect. What we have is one of the founding females here, Family 1, we have a number of existing females in current times. These branches of the family all share a similar sequence, but the lines in blue indicate a very different sequence, indicating there was an error in the pedigree, in this case sometime in the 1850s. And you can see early errors many times in many families. I think it would be very surprising if the same thing does not occur in Arabian horses, and maybe this is already known, but at least I think the reality is that for most





cję DNA swoich koni. A jeszcze rok czy dwa i ta cena spadnie ponizej tysiąca dolarów. Więc dla mnie świat zmienił się w tym sensie, że przedtem szukalem danych do przeprowadzenia analizy, a teraz mam ich więcej niż jestem w stanie ogarnąć. Dla Państwa, jako hodowców, będzie to zmiana na lepsze, gdyż dzięki temu uda się uzyskać wiele istotnych wyników.

W ramach badania sekwencji genomu genetyka zajmuje się również problemem zmienności. Rozejrzyjmy się po tej

sali, a na pewno nie znajdziemy dwójga identycznych ludzi. Jak już powiedziałem, każdy z nas jest indywidualnością jedyną w swoim rodzaju, a to dlatego, że nasze cechy fenotypowe, takie jak kolor skóry, kolor oczu czy wzrost, są determinowane przez szereg mutacji. Jako genetycy chętnie byśmy je zbadali, co w dzisiejszych czasach nie jest trudne. W ramach Projektu Genomu wyodrębniliśmy zestaw końskich mutacji, które wykryliśmy porównując wiele osobników. Na tym slajdzie ukazany jest przyrząd, którego użyc-

animal studbooks, we have to accept that before blood-typing for parentage verification there were errors, and I don't think we should worry too much about that.

I looked through the presentation I gave in Poland to WAHO in 2004 and the world has changed for me. The world has probably changed for many people, but as a geneticist the world has really changed. This Thoroughbred mare (*slide of mare Twilight*) (no.5) is one the reasons the world changed. The Equine Genetics Group was able to get the complete genome sequence of the horse, the three billion letters of DNA that make up the 'Book of Life', the instructions, how is a horse built. This animal, Twilight, is a Thoroughbred mare from Dr. Doug Antczak's research herd at Cornell and this is one of his horses, and she was the first horse that was sequenced. To put this in perspective, and the way that the technology has changed, when the Human Genome was sequenced, it took about ten years and hundreds of millions of dollars to get that sequence of the human genome. I was involved in getting the sequence of the Dog Genome, several years later, and that took one year

to get the sequence and cost forty million dollars. When we did the Horse Genome, a couple of years later still, it took six months and cost fifteen million dollars. I was at a meeting in the summer, and several additional horses have now

wamy do tego celu. Jest to mały (od 5 do 7,5 cm) chip, podzielony na 12 sekcji. Na każdej z nich możemy umieścić próbki DNA konia, zawierającą 50 000 markerów genetycznych, które jesteśmy w stanie przeanalizować w ciągu dwóch godzin.

W dalszym ciągu mojego wykładu mam zamiar przedstawić Państwu wyniki badań, uzyskane dzięki nowej technologii i w oparciu o wielką ilość dostępnych danych. Zanim jednak wróćmy do tego tematu, chciałbym wprowadzić małą dygresję. W USA wyścigami najwyższej rangi dla koni pełnej krwi są Kentucky Derby, Preakness Stakes i Belmont Stakes, tworzące „potrójną koronę”. Jakieś dwa lub trzy lata temu konie będące faworytami w tych gonitwach, Barbaro i Eight Belles, doznały tak poważnych kontuzji, że trzeba było je uśpić. Na łamach popularnych gazet ukazało się wtedy wiele artykułów alarmujących, że rasa pełnej krwi angielskiej jest już „śmiertelnie zinbredowana”. Ja jednak, czytając te artykuły z punktu widzenia naukowca, nie znalazłem w nich informacji na temat rzeczywistego stopnia spokrewnienia rasy. Dysponując około 50 milionami markerów genetycznych pobranych z licznej populacji koni pełnej krwi, przy czym niektóre z próbek pochodzą jeszcze z lat 60. XX wieku, a najpóźniej z 2006 r., długo próbowałem znaleźć odpowiedź na pytanie, na które nikt nie znał odpowiedzi, ale jest wciąż aktualne.

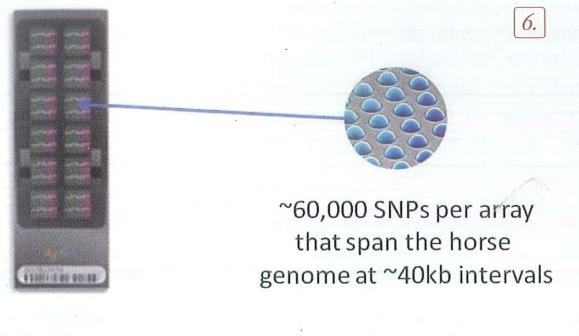
Ten slajd robi wrażenie skomplikowanego, ale nie musimy wdawać się w szczegóły. Ważne jest to, że zilustro-

this price will be under one thousand dollars. So my world has changed from a scientist who was starved of data to do analysis, to one who has more data than he is capable of handling. But it will result in many, many interesting results for you as breeders, this huge change.

As part of the process of sequencing – genetics is about variation, if you look around this room, no two people in this room look the same. As I have said, each individual is unique and that uniqueness results from the fact that we all possess mutations, mutations for hair colour, for height, skin colour, eye colour – a series of mutations, that is the basis of genetics. As geneticists we wish to analyse these mutations. We can now do that so easily. As a part of the Genome Project, we generated a set of horse mutations, we found the mutations present by comparing a lot of individuals. This picture here (*slide no.7*) shows the tool we use, it is a little chip, about 2 or 3 inches big, and on each of the little 12 panels we can put a horse DNA sample, and each one of these little panels has got 50,000 genetic markers. We can run that through in a couple of hours.



been sequenced, and it takes less than a week and costs three thousand dollars. So we have gone from hundreds of millions of dollars to an affordable price for some individual breeders to have the complete DNA sequence of their animal. And it is clear that within a year or so,



wany za pomocą krzywej wzrost inbredyu opartego na informacji genetycznej zawartej w DNA następuje bardzo wolno. Tak wolny wzrost inbredyu nie stwarza zagrożenia dla rasy, a ponieważ rasę pełnej krwi angielskiej uważa się za najbardziej zinbredowaną na świecie – tym bardziej nie powinno to być problemem w innych rasach, także w arabskiej. Konie pełnej krwi są przy tym dużo mniej spokrewnione od niektórych ras psów. Sądzę, że udzieleniem już odpowiedzi na pytanie.

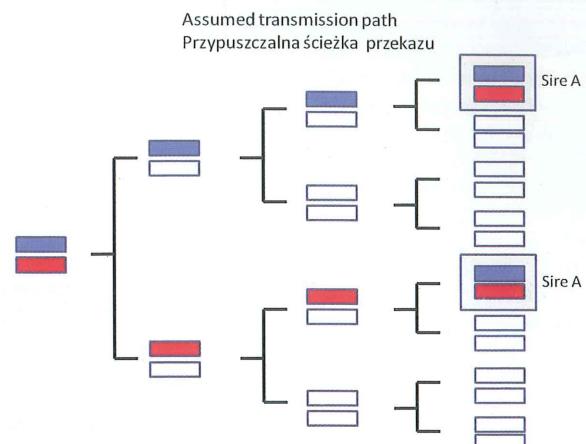
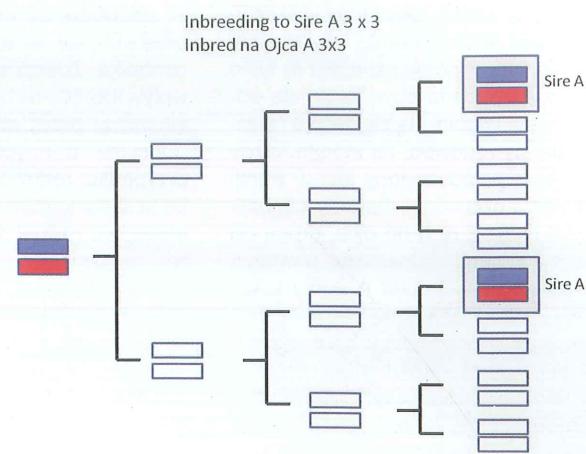
Posuśmy się więc o jeszcze jeden krok dalej. Zainteresował mnie problem, jak ma się wielkość inbredyu oszacowanego na podstawie DNA z wielkością inbredyu oszacowanego na podstawie rodowodu. Porównałem więc współczynniki inbredyu wyliczone dwoma sposobami. Można się było spodziewać, że ich wartości będą zbliżone, zakładając, że DNA jest odzwierciedleniem rodowodu i vice versa. Tymczasem okazało się, że współczynnik korelacji tych wskaźników wynosił 0,05, a więc był bardzo niski. Wynika stąd, że „papierowe” rodowody zwierząt nie mają nic wspólnego z ich rzeczywistym materiałem genetycznym. Brzmi to zaskakująco, ale myślę, że tak wygląda prawda.

Jakie są przyczyny tego pozornie nieologicznego zjawiska? Przyzwyczailiśmy się do czytania rodowodów i wydaje się nam, że coś z tego rozumiemy, bo przecież widzimy konkretne imiona,

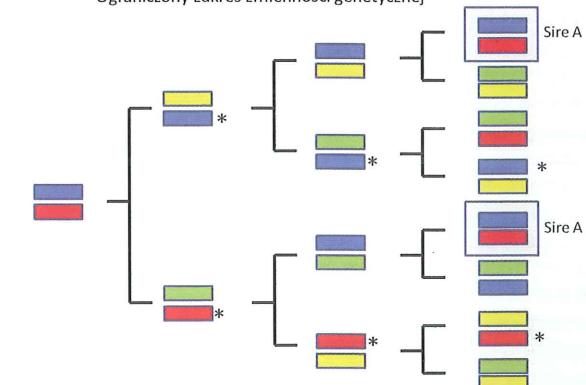
In the rest of my talk I am going to tell you results which are based on all this new technology and this vast amount of data that has become available. So I am going to take a little diversion, to come back to what I think is an interesting point. In America, the best Thoroughbred races, the most valuable ones, are the Triple Crown races: the Kentucky Derby, the Preakness and the Belmont. About 2 or 3 years ago, two of the favourites in those races, Barbaro and Eight Belles, broke down and were euthanized. The general press ran many stories saying the Thoroughbred was being “inbred to death”. And yet as a scientist I looked, and there was very little information about what levels of real inbreeding were in the breed. And here I am, with 50 million data points of genetic markers from a big population of Thoroughbreds, where some of the samples come from the 1960s, all the way through up to 2006. I actually was sitting with the data to answer a question that nobody knew the answer to, but which was topical.

This is a complicated looking slide (no.7), we don't need to understand it, but the bottom line was inbreeding has increased, inbreeding based on DNA. I want to specify that, inbreeding based on the genetic information present in the DNA. Inbreeding in Thoroughbreds has increased slowly, it is not dramatic and it is not problematic at this point. The Thoroughbred is the most inbred horse breed, so if I tell you that I don't think it is a problem in Thoroughbreds, I don't think it is a problem in Arabian horses. Thoroughbred horses are much less inbred than pedigree dog breeds. So, it answered the question.

I then took it a stage further, that having established what the reality of inbreeding was at the DNA level, I thought it would be interesting to compare inbreeding based on DNA against inbreeding based on the pedigree. So I compared what are



Domestic Animal Breeds Have A Limited Repertoire Of Chromosome Variants
Ograniczony zakres zmienności genetycznej



called the inbreeding coefficients from the two methods. You would expect them to be very closely related, surely the DNA will reflect the pedigree and vice versa. The truth is, they don't correlate. There is an r-square valued at 0.05 which is very, very low. Pedigrees, written pedigrees, in animal breeds are very poor indicators of what genetic material is present. It is very surprising, but I think it is true.

What is the explanation? It seems illogical. We are used to looking at pedigrees and thinking we understand, we can see this, we can follow this. I think the explanation lies along these lines. This is a hypothesis, not a proven, we have not proven it, but it matches the facts. These slides (no.8,9) are of a simple pedigree and we are looking at an individual here and we are saying, say this is one chromosome and it has a blue variant and a red variant, it got one from one parent and one from the other. But there is a duplication in the pedigree and inbreeding of this Sire A, who contains the blue and the red. We might expect that the passage of the chromosomes went something

możemy też śledzić jakieś linie krwi. Wydaje mi się, że rozwiązywanie leży właśnie w tych liniach, choć na razie jest to tylko hipoteza, niepoparta dowodami, ale odpowiadająca faktom. Na slajdach 8 i 9 widzimy prosty rodowód, na którym każdy chromosom przedstawiony jest w wersji niebieskiej i czerwonej. Badany osobnik otrzymał jedną z nich od ojca, drugą od matki, ale w jego rodowodzie powtarza się – powiedzmy – ogier A, który także ma niebieskie i czerwone chromosomy. Moglibyśmy się spodziewać, że przekazywanie chromosomów będzie odbywać się w sposób następujący: niebieski pochodzi od ogiera A znajdującego się po męskiej stronie rodowodu, podczas gdy czerwony od tegoż ogiera powtarzającego się po stronie matki. W rzeczywistości możliwość kombinacji jest ograniczona. Ciekawe, ilu spośród panów tu obecnych ma taki sam zwyczaj, jak ja – trzymania różnokolorowych skarpetek bezładnie pomieszanych w jednej szufladzie? A gdyby nagle zabrakło prądu, jakie byłoby prawdopodobieństwo, że uda się nam dobrać parę skarpetek w jednym kolorze, a jakie – że będziemy w pracy wyglądać jak idiota?

Na slajdzie nr 10 zabarwiłem wszystkie chromosomy na cztery kolory: niebieski, czerwony, zielony i żółty. Pamiętamy, że ogierowi A przyporządkowaliśmy kolor niebieski i czerwony, ale tu też widzimy coś niebieskiego, a tam – coś czerwonego! W końcu dojdziemy do tego, że chromosom, który miał pochodzić od ogiera

A, pochodzi od innych przodków znajdujących się w rodowodzie badanego osobnika. Zdarza się bowiem często, że wpływ inbreedu na ogiera A jest całkowicie stłumiony przez obecność tych samych „klocków” u innych przodków. W takim przypadku rodowód nie ma znaczenia, bo ta sama kombinacja błękitu i czerwieni może być również dobrze przypisana powtarzającemu się w rodowodzie ogierowi A, co zupełnie przypadkowym osobnikom. A zatem dane zawarte w rodowodzie nie nadają się do analizy stopnia inbreedu.

Przepraszam, jeśli nie wyjaśniłem dość precyzyjnie tej skomplikowanej koncepcji, ale spróbujmy wrócić do tego wtedy, kiedy będziemy przeglądać jakieś rodowody. W hodowli pełnej krwi angielskiej mamy pewne linie genealogiczne o znaczeniu głównie historycznym. Podobne występują też w hodowli koni arabskich. Jedynym, na co one nam wskazują, jest droga przekazywania DNA mitochondrialnego i z chromosomu Y. Natomiast nie mniej ważny materiał genetyczny przekazują także inni przodkowie obecni w rodowodzie.

No, to najtrudniejsze mamy już za sobą. Chciałbym teraz poświęcić trochę czasu genetycznemu powiązaniom między różnymi rasami koni. Jest to problem istotny również dla hodowców koni arabskich. Ktoś mi kiedyś zadał pytanie na temat udomowienia koni, bo niedawne wykopaliska wskazują, że proces ten mógł mieć miejsce dużo dawnej, niż się uważa-

ża. Udomowienie oznacza zawiadnienie częścią materiału genetycznego należącego do dzikich zwierząt, gdyż odbywało się to tak, że człowiek odlawał partię koni z wolno żyjącego stada. Chyba jeszcze na poprzedniej konferencji wspomniałem, że chromosom Y ma stosunkowo niewielki zakres zmienności. Może to wynikać z faktu, że w grupie koni schwytanych w celu udomowienia nie było zbyt wielu ogierów, może nawet tylko jeden? Powstało w ten sposób „wąskie gardło” dla zmienności genetycznej.

Zgodnie z obecnym stanem wiedzy, udomowienie konia nastąpiło około 5000 lat temu. Przez pierwszych kilka tysięcy lat ludzie użytkowali je w określonych kierunkach: na mięso, jako środek transportu, dla celów wojennych, jako zwierzęta juczne lub pociągowe. Mniej więcej na przełomie XVIII i XIX wieku ukształtowały się odrebnne rasy, z których każda ma swoje „wąskie gardło”. Polega ono na tym, że przy tworzeniu rasy wykorzystywana była część zmienności genetycznej większej populacji. Jeśli więc mówimy o czystości krwi koni arabskich, o której naczytałem się w literaturze, to większość ich materiału genetycznego znajduje się w chwili obecnej w innych rasach, ponieważ powstały one z mniejszym bądź większym udziałem tej krwi. Wprawdzie populacja koni arabskich jest jedyna w swoim rodzaju, ale większość jej wariancji chromosomalnych występuje także w innych rasach. Myślę, że tu leży odpowiedź na niektóre z trapiących nas pytań.

like this: the blue one from Sire A on the sire's side actually followed, say, the top male line and the red one came from Sire A on the dam's side into this sire and on into the dam's sire. The reality may be, as I said, that breeds have a very limited repertoire, there aren't many different variants of each chromosome. So I think a good analogy is maybe, I don't know how many men here are like me where I have a drawer of socks and all the socks are mixed up and they have different colours? And it is the thing about 'If you pick a pair of socks in the dark, what are your chances of getting the same colour socks', or do you go to work looking slightly foolish? If we look here on this slide (no.10), I have coloured in all the chromosomes and there are only 4 colours, there is the blue, the red, the green and the yellow. Whilst Sire A has got blue and red, you can see there is also a blue here, there is a red here, there is a blue here and there is a red here. And what is actually happening is that whilst we end up with something here which we thought came from Sire A, in this case it actually came from these other members of the pedigree. And that this happens so commonly that the inbreeding to Sire A is actually swamped by just the presence of these same blocks, they are so common in all those other ancestors that the repre-

sentation from the pedigree does not truly add up. So the same combination of blue and red that might have been attributed to the duplication of Sire A in the pedigree is actually being generated by random associations from unrelated individuals. The material is in the pedigree but to actually make an analysis on inbreeding, it does not add up.

That's a complicated concept, I am sorry if I have not explained it, but it's an interesting one. Take this back and think about it, when you are looking at pedigrees, just be aware of this kind of phenomena. In the Thoroughbred world we have historic lines, just as you have in the Arabian horse, and historic breeding lines only really report the passage of mitochondrial DNA and Y chromosomes through the pedigree. So perhaps think about this context when you are really concentrating on these historic lines, remember that all those members in that pedigree will have contributed important material.

OK, I hope that was the most complicated section. I am now going to talk about the Genetic Relationships between horse breeds, which I know is a pertinent topic in Arabian horses. Somebody asked me the other day about domestication of horses because apparently there are some new

bones which have been discovered which might have put the domestication process back so many years. Domestication involved the capture of genetic material from wild animals, so historically there were a group of free-roaming, wild horses and man domesticated some of them. I think I told you at the last WAHO meeting that there is very little variation on the Y chromosome, we think man was not able to domesticate very many male horses, maybe even as few as one. So there is a bottleneck, and you capture an amount of genetic variation. We think domestication happened maybe 5,000 years ago. And then for a few thousand years, man just used those horses for function: for food, for transport, for war, as pack animals, as draught animals for use on the farm. And then, in the 1700s and 1800s, breeds were established, and again each breed has another genetic bottleneck, it captures a little bit of the genetic variation of the larger population. So when we talk about, or when I read about in your literature, the purity of the Arabian horse, most of the genetic material in an Arabian horse will be present, in part, in other breeds, because it was captured from this larger set. The combination that was captured will be unique, but most of the chromosome variants will be present in other breeds. I think this helps address some of the questions that face you.