

UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

## Genetisk studie af mitral klap sygdom i Cavalier King Charles Spaniels

Majbritt Busk Madsen


Cand.scient bioteknologi  
PhD studerende  
LIFE-KU  
Institut for Basal Husdyr og Veterinærvidenskab  
Genetik




UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

## LUPA


- Genetikere i 12 EU lande
- Udforskning af gener i hunde
- Sammenligning med humane sygdomme
- GWAS
- Special designet SNP chip



UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES


## Gener

- Kun ca. 1,5% af genomet koder for proteiner
- Mennesket har ca. 23.000 gener
- Ca. det samme hos hunde



UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

## SNP – single nucleotide polymorphism



```

...AAAGGGTCGT CATT CGT CAACGTCGTAGCCTGG
TACCCTCCCTATTGCTACGTCGACCTGGTTCAAC
GTTTGGGCGCTCGATGCTAGGTCCTGCAAACTGG
CTTAAAGTGGCACCATGCTACTGGACTGACTAAA
GGGTGTCATTGCTCAACGTCGTAGCCTGGTACCT
CCCTATTGCTACGTCGACCTGGTTCAACGTTTG
GGGCTCGATGCTAGTCCCTGCAAACTGGTTAA
AGTGGCACCATGCTACTGGACTGACTAAAGGGT
CGTCATTGCTCAACGTCGTAGCCTGGTACCTCCCT
ATTGCTACGTCGACCTGGTTCAACGTTTGGGGTC
GATGCTAGTCCCTGCAAACTGGCTTAAAGTGGC
GGCACCATGCTACTGGACTGACTAAAGGGTGT
CATTGCTCAACGTCGTAGCCTGGTACCTCCCTATT
CGTACGTCGACCTGGTTCAACGTTTGGGGTC
GATGCTAGTCCCTGCAAACTGGCTTAAAGTGGC
ACCATGCTACTGGACTGACTAAAGGGTGTGCTATT
CGTCAACGTCGTAGCCTGGTACCTCCCTATTGTA
CGTACGCTGGTTCAACGTTTGGGGTCGATG
CTAGTCCCTGCAAACTGGCTTAAAGTGGACAT
GCTACTGGACTGACTAAAGGGTGTGCTATTGCTCA
ACGTCGACCTGGTACCTCCCTATTGCTAGCTCG
ACCCTGGTTCAACGTTTGGGGTCGATGCTAGG
TCCGTCGCAAACTGGCTTAAAGTGGCACCATGCTAC
TGGACTGACT ...

```

UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

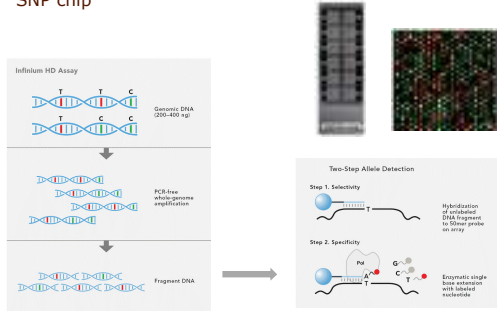
## Eksempel

- Muskeltræthed hos Gammel Dansk Hønhund
- SNP i CHAT genen
- G → A
- Intolerance overfor motion



UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

## SNP chip



**Infinium HD Assay**

Genomic DNA (200-400 ng)

PCR-free whole-genome amplification

Fragment DNA

**Two-Step Allele Detection**

Step 1: Selectivity

Hybridization of amplified DNA fragment to oligo probe on array

Step 2: Specificity

Enzymatic single base extension with labeled nucleotides

UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

### Hunde vs. Mennesker

UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

### LUPA

Karlsson and Lindblad-Toh 2008, Nature Rev Genet. : 713-725

UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

### Hunden som model

- God model for humane sygdomme
- "Én race, én sygdom"
- Indenfor hver hunderace er genomet meget ens
- Brug for færre individer i undersøgelsen

UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

### MMVD

- Mest almindelige hjerte sygdom hos hunde
- Små og mellemstore hunderacer
- Nedbrydning af og mindre fleksible klapper
- Mitral regurgitation
- Klapperne folder ind i forkammeret (prolaps)

UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

### MMVD

UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES



### MMVD - Diagnose

- Diagnose i hunde:
  - Auscultation
    - Grad 0-6
  - Hjerte scanning
    - Jet i MR %

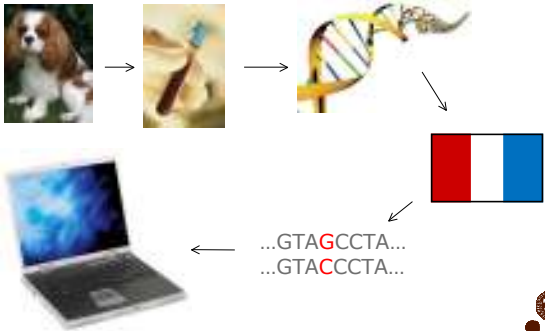
UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

### MMVD – kriterier for GWAS


- Cavalier case
  - Tidlig udvikling af MMVD
    - <4.5 år gammel
    - ≥grade1 hjerte mislyd
    - >20% MR jet
  - Hjertesvigt eller spontan død pga hjertesvigt <8 år
- Cavalier kontrol
  - Sen udvikling af MMVD
    - >8 år uden MR eller mild MR
    - ≤grad 2 hjerte mislyd
    - <50% MR jet
- Blodprøver fra
  - 139 cases
  - 102 kontroller

UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES



...GTAGCCTA...  
...GTACCCTA...



UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

### Konklusion

- Konklusion
  - Identifikation of to nye kandidat regioner
- Kandidat gener i de to regioner
- Fremtidig anvendelse
  - Gen test af bl.a. Cavalier
  - Samme gener i mennesker?




UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

### Tak til:

<ul style="list-style-type: none"> <li>Lisbeth Højer Olsen</li> <li>Jens Håggström</li> <li>Kajta Höglund</li> <li>Ingrid Ljungvall</li> <li>Gerhard Wess</li> <li>Hannah Copeland</li> <li>Valérie Chetboul</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Peter Karlskov-Mortensen</li> <li>Helle Friis Proschowsky</li> <li>Susanna Cirera</li> <li>Merete Fredholm</li> </ul>
---	--





UNIVERSITY OF COPENHAGEN FACULTY OF LIFE SCIENCES

### Spørgsmål?