

Allegato 2 - costituzione banca genomica e studi preliminari di elaborazione degli indici genomici.

Le più moderne tecniche genomiche e di biologia molecolare richiedono un set organico di campioni dei singoli individui che possa essere analizzato. Una banca genomica affronta questo problema in maniera globale e flessibile ed espande l'utilità dei campioni prelevati che costituiscono la base indispensabile per gli studi preliminari necessari all'elaborazione futura degli indici genomici.

Campioni di sangue vengono già prelevati da ogni singolo cavallo in sede di visite veterinarie. Un'aliquota del sangue prelevato verrà trasferita nel laboratorio del CRCS dove verrà adeguatamente trattata per purificare il DNA. I campioni così preparati verranno conservati in aliquote singole in un'appropriata soluzione tampone alla temperatura di -80°C in un'ultracongelatore.

DISASTER RECOVERY: Le aliquote saranno stoccate in due congelatori differenti.

Questo tipo di trattamento garantisce una conservazione ottimale dei campioni di DNA, che potranno essere utilizzati per analisi genetiche per un tempo indefinito. I campioni prelevati, insieme ai dati del cavallo, verranno inseriti in un database collegato che ne permetterà la corretta catalogazione e il mantenimento della collezione per scopi futuri di ricerca.

DISASTER RECOVERY: Il server NAS d'Ateneo che ospita il database è ridonato con sistema di backup mensile.

La banca genomica (BG) costituisce uno strumento importante per lo studio della popolazione Sella dal punto di vista genetico, e assume un valore particolare che esula parzialmente dalle attività previste per il miglioramento della popolazione, costituendo un requisito essenziale per qualunque iniziativa riguardo allo studio genomico. In particolare, la BG si va ad affiancare alla massa di dati che vengono regolarmente raccolti riguardo all'origine, alla struttura fisica e condizioni di salute dei cavalli, ed ai loro dati di performance.

La possibilità, nel tempo, di avere accesso ai DNA di cavalli del passato per analisi genetiche, costituirà uno strumento fondamentale per le ricerche future e gli indici genomici e permetterà di comparare cavalli che mostrano caratteristiche significative indipendentemente dalla loro età e assoggettamento alle visite di routine.

Un ulteriore punto di interesse nell'organizzare una BG risiede nella possibilità di svolgere studi sulla struttura di popolazione, familiarità e background genetico dei vari cavalli. Questo tipo di indagini sono ormai di interesse primario anche se al momento ancora costose se effettuate su scala genome-wide. Una volta ottenuti i fondi necessari per genotipizzare i soggetti con SNP-Chip ad alta densità, i dati grezzi verranno ospitati nei server d'Ateneo.

Una volta ottenuti di dati potranno essere tentate delle analisi di associazione genotipo-fenotipo (GWAS), indagini sulle firme della selezione con software specifici (PLINK: <https://www.cog-genomics.org/plink/1.9/>) e altri pacchetti dedicati all'interno del software R.

I dati di associazione (posizioni/regioni nel genoma) saranno rese note attraverso pubblicazioni scientifiche o divulgazioni attraverso appropriati canali mediatici rivolti agli specialisti del settore.

DISASTER RECOVERY: Il server NAS d'Ateneo che ospita il i dati grezzi è ridonato con sistema di backup mensile.

RISULTATI ATTESI.

- Per tutti i campioni sarà ottenuto DNA estratto da sangue e stoccato in congelatori multipli che tutelino il materiale biologico.
- Per tutti i campioni sarà disponibile una “patente genomica” che attesti lo stato delle più comuni malattie genetiche (Tabella 1) per ogni singolo soggetto e dell'esatta architettura genetica del mantello (Tabella 2). Tale certificazione porterà sicuramente ad un valore aggiunto per i soggetti Sella che non saranno portatori di condizioni genetiche sfavorevoli.

Tabella 1: Malattie genetiche genotipizzabili.

Malattia
Atlanto occipital fusion (occipitoatlantoaxial malformation / OAAM)
Cerebellar abiotrophy
Epidermolysis bullosa, junctionalis – LAMA 2
Epidermolysis bullosa, junctionalis – LAMA 3
Glycogen storage disease IV
Night blindness, congenital stationary and coat color Leopard complex
Periodic Paralysis II (HYPP)
Dwarfism, Friesian
Ehlers-Danlos syndrome (HERD)
Hoof wall separation syndrome
Hydrocephalus
Incontinentia pigment

Lavendar Foal Syndrome
Malignant Hyperthermia
Megacolon
Multiple ocular defects
Myotonia
Naked foal syndrome
Ocular squamous cell carcinoma
Ovotesticular DSD (Disorder of Sexual Development)
Severe combined immunodeficiency disease
Thrombasthenia
Glycogen Branching Enzyme Deficiency (GBED)
Skeletal atavism
Ehlers-Danlos syndrome, type VI WFFS
Polysaccharide storage myopathy / Exertional rhabdomyolysis

Tabella 2: Loci dei mantelli genotipizzabili.

Locus
Brindle
Coat Color, agouti
Coat Color, champagne
Coat Color, cream dilution
Coat color, dun (D allele)
Coat color, dun (d1 allele)
Coat color, dun (d2 allele)
Coat color, extension (Chestnut)

Coat color, silver (silver dapple)
White Variants (38 markers for different white variants)

- Qualora la banca raggiunga circa 300 unità, sarà possibile cominciare analisi genomiche approfondite quali: calcolo della parentela genomica e dell'inbreeding medio per una corretta pianificazione degli accoppiamenti; calcolo delle selection signatures, o firme della selezione, per individuare regioni altamente selezionate che siano caratteristiche della popolazione; studi di associazione genotipo/fenotipo genome-wide, per l'individuazione di loci importanti per i fenotipi registrati.

Tale corpus di dati sarà la base per la creazione di un indice genomico.

Per il MiPAAF
Il Direttore Generale PQAI
Dr. Francesco Saverio Abate
Firmato digitalmente ai sensi del CAD

Per l'Università degli Studi di Perugia
Il Direttore del Dip. Medicina Veterinaria
Prof. Fabrizio Rueca
Firmato digitalmente ai sensi del CAD