

VEISTE VERETÜPISEERIMISE REAGENTIDE STANDARDISEERIMINE

H. Viinalass, S. Värvi

Üha laienev rahvusvaheline tõumaterjalikaubandus ja genofondiuringud seavad järjest kõrgemaid nõudeid ka loomade geneetilisele ekspertiisile, mistõttu kasutatavate markerite ühtlustamine on omandanud suurema tähtsuse kui kunagi varem. Vaatamata DNA markerite üha laialdasemale kasutuselevõtule konstateeriti Rahvusvahelise Loomageeneetika Ühingu (ISAG) 25. konverentsil Toursis Prantsusmaal 1996. a., et veiste veregrupid, polümorfed proteiinid ja ensüümid on veel jätkuvalt rahvusvaheliseks standardiks põlvnemisandmete õigsuse kinnitamisel. DNA markerite komplekti kasutatakse täiendavalt, eelkõige eksporditavate/imporditavate loomade põlvnemisandmete kinnitamiseks.

Veiste veregrupi faktoreid tähistatakse nende avastamise järjekorras suurte ladina trükitähtedega, täiendavalt kasutatakse ülakomasid ja indekseid. Veregrupi faktorite pärandumine on aluseks nende jaotamisele geneetilistesse süsteemidesse. Faktorid, millel esinevad lineaarsed seroloogilised alatüübid, on tähistatud alaindeksitega. Geneetilised süsteemid on tähistatud samuti suurte ladina trükitähtedega. Uuele antiseerumile antakse rahvusvaheline tähistus ainult siis, kui see on valmistatud vähemalt kahes ja soovitatavalt kolmes laboris. Veiste veregrupifaktorid jaotuvad 11 geneetilisse süsteemi (Larsen, Simonsen, 1990). ISAGi 1995/96. a. võrdlustesti põhjal tunnustatakse veistel 94 verefaktorit. 21. rahvusvahelisel loomageeneetika konverentsil Michigani 1990. a. otsustati muuta olemasolevat loomade geneetilist nomenklatuuri sarnasemaks inimestel kasutatavaga. 1991. a. töötas lammaste ja kitsede geneetilise nomenklatuuri täiustamiseks. Veiste erütrotsüüdi antigeenide (EA) geneetilistele süsteemidele (A, B, C, F, J, L, M, S, Z, R' ja T') soovitati anda uus lookuse tähistus – EAA, EAB, EAC jne. Rahvusvaheliselt tunnustatud veregrupi faktorite nimetused jäeti muutmata (COGNOSAG Workshop Report, 1992). Praeguseks on üle mindud uuele lookuste tähistusele.

Uuemad uurimissuunad loomade geneetiliseks identifitseerimiseks kulgevad molekulaargeneetika valdkonnas. Tõenäoliselt parimaid tulemusi on võimalik saavutada DNA nende regioonide markerite abil, mis ka veregrupiandmete põhjal osutavad suuremale geneetilisele varieeruvusele.

Eggeni ja Friesi (1996) järgi on veregrupe determineerivate lookuste tsütogeneetiline lokaliseerimine ning ISAG võrdlustestide põhjal eri spetsiifilisusega antigeenide arv neis esitatud tabelis 1.

Tabel 1. Veiste veregruppide süsteemid ja nende tsütogeneetiline lokaliseerimine
Table 1. Bovine blood group systems and their cytogenetic localization

Veregrupi süsteem <i>Blood group systems</i>	Tunnustatud antigeenseid <i>The internationally recognized</i>		Tsütogeneetiline lokaliseerimine kromosoomis number <i>Cytogenetic localization in chromosome No</i> (Eggen et Fries, 1996)
	faktoreid <i>factors</i>	faktoreid koos alatüüpidega <i>factors with subtypes</i>	
EAA	4	6	15
EAB	31	49	12
EAC	9	14	18
EAF	4	6	
EAJ	1	1	11
EAL	1	1	3
EAM	2	3	23
EAS	7	9	21
EAZ	1	2	10
EAR'	2	2	16
EAT'	1	1	19

1997. a. identifitseerisid Méténier-Delisse jt. (1997) veiste erütrotsüütide membraanil uue, inimeste reesus-süsteemiga sarnaneva lookuse paiknemisega 2. kromosoomis. Senini veel ei ole kinnitust selle lülitamise kohta rahvusvaheliselt tunnustatud süsteemide ja faktorite nimistusse.

Veiste veregruppide määramiseks kasutatavad reagentid on välja töötatud valdavalt immuniseerimise teel. Testseerumi antikehade soovitud spetsiifilisuseni jõutakse absorptsioonidega veiste sobivate erütrotsüütide antigeenispektri abil. Elusorganismi kaitsereaktsioonil põhineva meetodi tõttu on tulemus tekkivate antikehade komplekti näol alati unikaalne, kuigi erinevais laboreis tehtud töö võib olla suunatud sama spetsiifilisusega reagenti tootmisele. Ka väikesed iseärasused reagentide spetsiifilisuses ja kasutatav reagentide komplekt mõjutavad identifitseeritava isendi genotüübi kirjapilti, mistõttu saab rääkida teatud "geneetiliste dialektide" olemasolust identsete genotüüpide kirjapanekul sõltuvalt laborist, kus looma tüpiseeritakse.

Erinevais laboreis toodetud reagentide spetsiifilisuse kontrollimiseks korraldab Rahvusvaheline Loomageeneetika Ühing oma liikmetele regulaarselt üle kahe aasta veretüüpiseerimise võrdlusteste. EPMÜ Loomakasvatusteaduste instituudi geneetika labor on rahvusvahelise ühingu liige. Erütrotsüütide antigeenide võrdlustestide puhul lähtutakse kahest oma-

ette eesmärgist, millest esimene on seotud ühtse standardiseeritud nomenklatuuriga reagentidepanga olemasolu kindlustamisega võimalikult laiale kasutajaringile ja teine uute eksperimentaalseerumite spetsiifilisuse määramise ning võrdluste tagamisega.

Alternatiivina rakendatud monoklonaalsete antikehade tootmise meetod Tokyo ja Foulumi laboris on võrdlustestide põhjal andnud häid tulemusi, ehkki toodetud reagentide arv on väike (ISAG Comparison Test 1995/96).

Tunnustatud spetsiifilisusega erütrotsüütide antigeenide määramiseks esitasid 1995/96 võrdlustestist osavõtvad laborid kontrolli 109 reagenti, neist kaks homosüootse faktori (Z/Z ja F/F) määramiseks, mõnede faktorite määramiseks esitatud reagentid olid dubleeritud eri tähistuste all (näiteks G=G₂, B=B₂ jt.). EAB süsteemis esitati kontrolli 59 ja EAC süsteemis 17 reagenti; EAA, EAF, EAJ, EAL, EAM, EAS, EAZ, EAR' ja EAT' süsteemidesse 10 või vähem. Eksperimentaalseerumite osas esitati kontrolli kokku 108 reagenti, neist 36 EAB, lihtsama struktuuriga ja kinnistesse süsteemidesse kuuluvate erütrotsüütide antigeenide määramiseks igasse alla kümne ja 43 teadmata süsteemi kuuluva (klassifitseerimata) spetsiifilisusega reagenti.

Saskatooni veretüüpiseerimise labori poolt korraldatud 1995/96. a. võrdlustestid reglementeeritud 40 isendi identifitseerimiseks viisime läbi laboril olemasoleva 437 reagentiga 62 erineva spetsiifilisusega antigeense faktori määramiseks. Antigeensed faktorid jaotusid 10 geneetilise lookuse vahel järgnevalt: EAA – 3, EAB – 33, EAC – 11, EAF – 2, EAJ – 1, EAL – 1, EAM – 1, EAS – 7, EAZ – 1 ja EAR' – 2. Oma laboris välja töötatud 96 reagenti testisime 43 tunnustatud standardsusega antigeense faktori määramiseks.

Testide protokollidest lähtub, et suuremat ebahütlust näitavad antigeenide alatüüpe määravate reagentide võrdlused. 1993/94. a. võrdlustesti andmetel varieerus erinevatel laboritel enam antigeense faktori E' spetsiifilisus – esitatud 20 reagentist ühtisid tulemused vaid 9 laboril, viimase võrdluse kontrollpaneel ei võimaldanudki selle antigeense faktori kõiki alatüüpe (E'₁, E'₂, E'₃, E'₄) eristavaid reagentide kontrollida.

Kanemaki jt. (1996) uuringud veiste 12. kromosoomi EAB regiooni krossingoveri esinemisest näitasid nelja esinenud fenogrupi (BG₂KY₁A'₁E'₃O'A"G"₁, G₂Y₂A'₂, Y₂A'₁D'G" ja E'₂) puhul jaotumist vastavalt 23, 9, 6 ja 14 haplotüüpi, mis on kõikide nimetatud alleelide puhul rohkem, kui on võimalik determineerida teadaolevate spetsiifilisustega reagentide abil. Seega võib uute standardsete testseerumite väljatöötamist takistavaks teguriks osutada immuniseerimismeetodi ja materjali ammendumata.

1997/98. a. kontrolltesti raames testisime 40 laborile saadetud kontrollprooviga kümnest veregrupisüsteemist 364 test-, eksperimentaal- ja toorseerumit, millest erinimelisi oli 60, omavalmistatud 80 ja Armaviri biovabrikust ostetuid 284. Testi tulemused on veel selgumata.

Vastavalt Rahvusvahelise Loomageneetika Ühingu nõuetele peab olema tagatud testseerumite komplekt vähemalt 52 erinimelise antigeeni määramiseks. Meie laboris kasutatavad rahvusvaheliselt standardiseeritud testseerumid võimaldavad käesoleval ajal määrata 62 erütrotsüüdi antigeeni kümnes lookuses (EAA, EAB, EAC, EAF, EAJ, EAL, EAM, EAS, EAZ, EAR').

Kirjandus

- COGNOSAG Workshop Report (by B. Larsen, L. Di Stasio and M. Tucker). – Animal Genetics vol. 23, No. 2, p. 188...192, 1992.
- Eggen A., Fries R. An integrated cytogenetic and meiotic map of the bovine genome. – Animal Genetics vol. 26, p. 215...236, 1995.
- Kanemaki M., Tanabe Y., Katsumoto K., Ishihama K., Morita M. Bovine chromosome 12 haplotypes as markers for identification of individuals and parentage. – Animal Genetics vol. 27, Suppl. 2, p. 21...22, 1996.
- Larsen B., Simonsen V. Present state of genetic nomenclature for polymorphic loci in cattle. – Proc. of the 4th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. XIV Dairy Cattle Genetics and Breeding, Adaption, Conservation. Edinburgh, 23-27 July 1990, p. 512...524, 1990.
- Méténier-Delisse L., Hayes H., Leroux C., Giraud-Delville C., Levéziel H., Guérin G., Martin P., Gros-Claude F. Isolation and characterization of bovine Rhesus-like transcripts and chromosome mapping of the relevant locus. – Animal Genetics vol. 28, p. 202...209, 1997.

Standardisation of Bovine Blood Typing Reagents

H. Viinalass, S. Värvi

Summary

According to the last results of the international cattle blood typing comparison test our lab has a standardized set of testsera for routine determining of 62 erythrocyte antigens belonging to ten genetic loci (EAA, EAB, EAC, EAF, EAJ, EAL, EAM, EAS, EAZ, EAR'). The number of different erythrocyte antigens detectable by using our lab testsera in the above mentioned loci is 3, 33, 11, 2, 1, 1, 1, 7, 1 and 2, respectively.