

BovineSNP50 v3 BeadChip

Mit 53.218 im gesamten Rindergenom gleichmäßig verteilten und strategisch platzierten SNPs.

Vorteile

- **Exzellente Call-Raten und Genauigkeit**
> 99 % durchschnittliche Call-Raten und 99,9 % Reproduzierbarkeit
- **Umfassende und einheitliche Coverage**
Gleichmäßig verteilte polymorphe SNPs mit einem mittleren Abstand von 37,4 kb
- **Einfacher Workflow**
Protokoll ohne PCR und Ligation
- **Hochdurchsatzformat**
Untersuchung von bis zu 24 Proben gleichzeitig

Einleitung

Illumina hat gemeinsam mit dem Agricultural Research Service (ARS) des United States Department of Agriculture (USDA), der University of Missouri und der University of Alberta die dritte Generation des BovineSNP50 v3 BeadChip entwickelt (Abbildung 1). Dieser genomweite Genotypisierungs-Array mit hoher Dichte (Tabelle 1) ermöglicht mit 53.218 informativen, einheitlich über das gesamte Rindergenom verteilten SNP-Sonden (Single Nucleotide Polymorphism, Einzelnukleotid-Polymorphismus) die Untersuchung genetischer Varianten bei Rindern. Der BeadChip ermöglicht Anwendungen wie die Selektion anhand des gesamten Genoms, die Identifizierung quantitativer Merkmalsloci, die Bestimmung der genetischen Vorzüge von Individuen sowie vergleichende genetische Studien an Fleisch- und Milchrindern mit der Möglichkeit zur Imputation.

Mit dem iScan™ System, integrierter Analysesoftware und dem Infinium HTS-Assay (High-Throughput Screening, Screening mit hohem Durchsatz) bietet dieser 24-Proben-BeadChip besonders hohe Call-Raten und ermöglicht die flexible Entwicklung von Inhalten sowie die Erkennung und Bestimmung von Kopienzahlvarianten. Darüber hinaus reduziert die PCR-freie Einzelröhrchen-Probenvorbereitung^{3, 4} den Aufwand und mögliche Fehler bei der Handhabung von Proben erheblich.

Inhalt des BovineSNP50 v3 BeadChip

Der hochwertige Inhalt stammt aus öffentlich zugänglichen Quellen wie dem Referenzgenom *Bos taurus* (Rind)¹ sowie vom Bovine Genome Consortia². Wissenschaftler von Illumina und Partnern haben gemeinsam ein informatives und hochdichtes SNP-Genotypisierungs-Microarray zur Untersuchung von Genvarianten bei allen Rinderrassen entwickelt. Mehr als 12.000 Sonden wurden für validierte häufige, vom Bovine HapMap Consortium beschriebene SNPs (MAF \geq 0,05) entwickelt. BeadChip-Entwickler haben zudem öffentlich verfügbare Quellen mit häufigen SNPs wie Btau sowie Shotgun-Reads aus dem gesamten Genom einbezogen, die vom Baylor College of Medicine⁵ zusammengestellt wurden. Weitere Inhaltsquellen sind von Forschern des US Meat Animal Research Center sowie des Clay Center ermittelte Abstammungsmarker⁶. Der Inhalt umfasst außerdem SNPs, die von Forschern der USDA ARS durch den Vergleich der Sequenzdaten für das Holstein-BAC (Bacterial Artificial Chromosome, bakterielles künstliches Chromosom)⁷ mit der Rindergenom-Assemblierung ermittelt wurden (Tabelle 2).

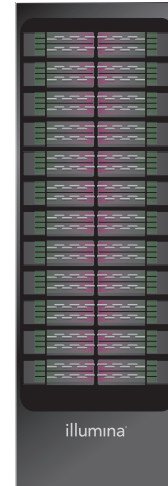


Abbildung 1: BovineSNP50 v3 BeadChip: Der BovineSNP50 v3 BeadChip umfasst über 53.218 gleichmäßig über das gesamte Rindergenom verteilte SNPs.

Tabelle 1: Informationen zum Produkt^a

Merkmal	Beschreibung
Spezies	<i>Bos taurus</i> (Rind)
Anzahl der Marker insgesamt	53.218
Kapazität für anwendungsspezifische Bead-Typen	600.000
Anzahl der Proben pro BeadChip	24
Erforderliche DNA-Zugabe	200 ng genomische DNA
Assay-Chemie	Infinium HTS
Unterstützte Geräte	iScan System
Maximaler Probendurchsatz des iScan System ^a	ca. 5.760 Proben/Woche
Scandauer je Probe	30 Minuten

a. Die ungefähren Werte, Scanzeiten und der maximale Durchsatz können je nach Labor- und Systemkonfiguration variieren.

Mehr als 24.000 SNP-Sonden auf dem BovineSNP50 BeadChip zielen auf neue SNP-Loci ab, die durch Sequenzierung von drei gepoolten Populationen wirtschaftlich wichtiger Fleisch- und Milchrinder entdeckt wurden. Wissenschaftler von Illumina und Partnern haben durch die tiefgehende Sequenzierung von 2 % des *Bos taurus*-Genoms⁸ mehr als 62.000 mutmaßliche SNPs entdeckt. Mehr als 23.800 SNPs aus dieser neuen Datenquelle wurden basierend auf ihrem Abstand, der erwarteten Häufigkeit des seltenen Allels (MAF, Minor Allele Frequency) und der Leistung des Infinium HTS-Assays ausgewählt. Darüber hinaus haben die BeadChip-Entwickler Loci ausgewählt, die auf die größten nicht zugeordneten Contigs abzielen, um eine umfassende Coverage zu gewährleisten. Alle 53.218 SNP-Sonden auf dem BovineSNP50 v3 BeadChip wurden bei 19 gängigen Fleisch- und Milchrasen validiert (Tabelle 3).

Der BeadChip zielt auf gleichmäßig verteilte SNPs ab, die über die getesteten Rassen hinweg polymorph sind. Der durchschnittliche Sondenabstand beträgt 50,6 kb und der mediane Abstand 37,4 kb. Die durchschnittliche MAF beträgt über alle Loci hinweg 0,25.

Die aktuelle Forschung zum Kopplungsungleichgewicht (LD, Linkage Disequilibrium) bei unterschiedlichen Rinderrassen deutet auf Haplotypblöcke mit durchschnittlich etwa 70 kb hin.⁹ Damit liegt die Auflösung des BovineSNP50 v3 BeadChip deutlich unter dem LD bei Rindern. Mehr als 53.000 SNP-Sonden auf dem BovineSNP50 v3 BeadChip entsprechen UMD 3.0, der neuesten bovinen Referenzgenom-Assemblierung.

Tabelle 2: Quellen für den Inhalt des BovineSNP50 BeadChip

Quelle	BovineSNP50 v1-Sonden	BovineSNP50 v2-Sonden	BovineSNP50 v3-Sonden
Neue SNPs, die mithilfe der Sequenzierung gängiger Rinderrassen mit dem Illumina GenomeAnalyzer ermittelt wurden	23.840	24.181	22.299
HapMap-Rinderdatensatz	12.298	12.342	11.607
Btau-assemblierte SNPs	9.361	9.404	9.086
Genom-Shotgun-Reads ^a	5.808	6.038	5.485
Holstein-BAC-Sequenzdaten	1.409	1.411	1.238
Abstammung ^b	116	120	200
Sonstiges ^c	1.169	1.113	3.384
Gesamt	54.001	54.609	53.218

- a. Reads von sechs Kühen/Rassen (Norwegian Red, Holstein, Brahman, Angus, Jersey und Limousin) im Vergleich zu Btau2.0.
- b. Umfassend kuratierte Abstammungsmarker mit 30 Duplikaten.
- c. Enthält gängige SNPs, die vom Institute for Food and Agricultural Sciences Alberta und dem französischen nationalen Institut für Agronomieforschung INRA (Institut national de la recherche agronomique) validiert wurden.

Hohe Datenqualität

Die 53.218 SNP-Sonden auf dem BovineSNP50 v3 BeadChip wurden zur Gewährleistung einer hohen Leistung strikten Funktionstests mit dem Infinium HTS-Assay unterzogen. Studien zur Genomassoziation sind u. a. aufgrund von hohen Call-Raten und genauem Genotyp-Calling erfolgreich. Da komplexe Merkmale häufig nur eine relativ kleine genetische Grundlage haben, bleiben potenzielle Assoziationen mitunter unbemerkt, wenn der untersuchte SNP im LD mit dem SNP von Interesse eine niedrige Call-Rate oder einen falschen Genotypaufruf aufweist. Illumina gewährleistet, dass jeder BovineSNP50 v3 BeadChip eine Call-Rate von über 99 % bietet (Tabelle 3).

Die interne Validierung des Inhalts auf dem BovineSNP50 v3 BeadChip mit vom Bovine HapMap Consortium bereitgestellten Proben ergab herausragende Ergebnisse (Tabelle 4). Produktentwickler haben 4.290 Loci ermittelt und beibehalten, bei denen bei den entsprechenden Rassen offensichtlich eine angrenzende oder zugrunde liegende Deletion vorhanden ist. Diese Loci ergeben im Vergleich zu den anderen Loci auf dem Panel niedrigere Call-Raten. Sie wurden jedoch beibehalten, da sie biologisch relevante Informationen für Merkmale von Interesse und für zukünftige Verbesserungen des Genomaufbaus liefern können.

Die Ergebnisse der Leistungs- und Inhaltsvalidierung zeigen deutlich die Zuverlässigkeit und herausragende Datenqualität des BovineSNP50 v3 BeadChip. Mit diesem BeadChip können Forscher bei Phänotypen von Interesse deren genetischen Wert bestimmen und die genetische Grundlage der Variante bei einer Vielzahl von Rinderrassen untersuchen. Der BovineSNP50 v3 BeadChip unterstreicht das Engagement von Illumina bei der Bereitstellung innovativer Instrumente für die Forschung und Produktion im Bereich der Viehzucht.

Tabelle 3: Leistung des BovineSNP50 v3 BeadChip

Parameter	Ergebnisse	Produktspezifikation
Durchschnittliche Call-Rate ^a	99,7 %	> 99 %
Reproduzierbarkeit ^b	100 %	> 99,9 %
Mendel-Fehler	0,06 %	< 0,1 %

- a. Basierend auf 274 Individuen aus 17 wichtigen Rinderrassen, 31 Trios und 1 Replikat.
- b. Basierend auf 4 Holstein-Trios.

Tabelle 4: Validierung des BovineSNP50 v3 BeadChip-Inhalts

Rasse	Proben	Polymorphe Loci ^a	Mediane MAF	Mediane MAF ^b
Angus	22	41.209	0,22	0,23
Beefmaster	24	43.741	0,23	0,23
<i>Bos indicus</i> Gir	17	25.320	0,11	0,03
<i>Bos indicus</i> Nelore	5	22.422	0,1	0
Brahman	20	33.038	0,13	0,08
Charolais	14	42.685	0,23	0,21
Guernsey	21	37.313	0,2	0,19
Hereford	20	43.902	0,23	0,23
Holstein	22	41.913	0,23	0,23
Jersey	9	36.683	0,18	0,17
Limousin	10	42.732	0,21	0,2
N'Dama	6	29.032	0,14	0,08
Piemontese	21	42.652	0,23	0,24
Red Angus	10	43.028	0,22	0,2
Romagnola	6	38.521	0,2	0,17
Santa Gertrudis	7	42.675	0,21	0,21
Sheko	9	36.582	0,17	0,17
Gesamt	274	47.919	0,26	0,26

- a. Häufigkeit des seltenen Allels (MAF, Minor Allele Frequency) > 0,05
- b. Über alle 53.218 Loci hinweg

Lösungen für die Genotypisierung

Ein optionales LIMS (Laboratory Information Management System, Labor-Informations-Management-System) und ein Automatisierungsroboter sind verfügbar, sodass sich Proben während des gesamten Workflows genau und effizient verfolgen lassen. Forscher können mithilfe der DNA-Analysesoftware Illumina GenomeStudio oder des FastTrack Genotyping Service eigene Proben genotypisieren.

Zusammenfassung

Der BovineSNP50 v3 BeadChip wurde in Zusammenarbeit mit führenden Rinderforschern entwickelt und enthält über 53.000 gleichmäßig über das gesamte Rindergenom verteilte SNP-Sonden. Dieser BeadChip für 24 Proben stellt eine kostengünstige Lösung mit hohem Durchsatz für Genomstudien an Fleisch- und Milchrindern dar.

Bestellinformationen

BovineSNP50-24 v3 BeadChip Kit ^a	Beschreibung	Katalog-Nr.
48 Proben	Jede Packung enthält zwei BeadChips sowie die Reagenzien für die Amplifikation, Fragmentierung, Hybridisierung, Kennzeichnung und Erkennung von 48 DNA-Proben.	20000766
288 Proben	Jede Packung enthält 12 BeadChips sowie die Reagenzien für die Amplifikation, Fragmentierung, Hybridisierung, Kennzeichnung und Erkennung von 288 DNA-Proben.	20000767
1.152 Proben	Jede Packung enthält 48 BeadChips sowie die Reagenzien für die Amplifikation, Fragmentierung, Hybridisierung, Kennzeichnung und Erkennung von 1.152 DNA-Proben.	20000768
BovineSNP50-24+ v3 BeadChip Kit ^b	Beschreibung	Katalog-Nr.
48 Proben	Jedes Paket enthält zwei BeadChips und ermöglicht Forschern die Aufnahme von bis zu 600.000 zusätzlichen anwendungsspezifischen Sonden pro Probe für gezielte Studien.	20000769
288 Proben	Jedes Paket enthält 12 BeadChips und ermöglicht Forschern die Aufnahme von bis zu 600.000 zusätzlichen anwendungsspezifischen Sonden pro Probe für gezielte Studien.	20000830
1.152 Proben	Jedes Paket enthält 48 BeadChips und ermöglicht Forschern die Aufnahme von bis zu 600.000 zusätzlichen anwendungsspezifischen Sonden pro Probe für gezielte Studien.	20000831

a. Jeder BeadChip kann 24 Proben verarbeiten und ca. 53.000 Loci analysieren.
b. Anwendungsspezifischer Inhalt möglich.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zum BovineSNP50-24 v3.0 BeadChip unter www.illumina.com/products/by-type/microarray-kits/bovine-snp50.html

Quellen

1. Ensembl Genome Browser. uswest.ensembl.org/Bos_taurus/Info/Index. Abgerufen am 2. Juni 2020.
2. The Bovine Genome Consortia. bovinegenome.elsiklab.missouri.edu/bovine_genome_consortium. Abgerufen am 2. Juni 2020.
3. Gunderson KL, Steemers FJ, Lee G, Mendoza LG, Chee MS (2005) A genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology. *Genet* 37(5): 549–554.
4. Steemers FJ, Weihua Chang W, Lee G, Barker DL, Shen R, et al. (2006) Whole-genome genotyping with the single-base extension assay. *Nat Methods* 3(1): 31–33.
5. <ftp://ftp.hgsc.bcm.tmc.edu/pub/data/Btaurus/snp/Btau20070913/README>
6. Heaton MP, Keen JE, Clawson ML, Harhay GP, Bauer N, et al. (2005) Use of bovine single nucleotide polymorphism markers to verify sample tracking in beef processing. *J Am Vet Med Assoc* 226(8): 1311–1314.
7. Matukumalli LK, Taylor JF, and Van Tassel CP. Personal communication.
8. Van Tassel CP, Smith TPL, Matukumalli LK, Taylor JF, Schnabel, RD, et al. (2008) Simultaneous SNP discovery and allele frequency estimation by high-throughput sequencing of reduced representation libraries. *Nat Meth* (accepted).
9. Khatkar MS, Zenger KR, Hobbs M, Hawken RJ, Cavanagh JAL, et al. (2007) A Primary Assembly of a Bovine Haplotype Block Map Based on a 15,036-Single-Nucleotide Polymorphism Panel Genotyped in Holstein-Friesian Cattle. *Genetics* 176(2): 763–772.

illumina • 1.800.809.4566 (USA, gebührenfrei) • +1.858.202.4566 (Tel. außerhalb der USA)

• techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2020 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Inhaber. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html. 370-2007-029-B DEU QB#

