

# Kan en Labrador have stribet?



Foto: Jens Willer

## Aktuel case og en opdatering af ny viden inden for farvegenetik

[ Helle Friis Proschowsky<sup>1</sup>, Jens Erik Sønderup<sup>2</sup>, Jens Willer<sup>3</sup> ]

<sup>1</sup>Dyrlæge, ph.d., Institut for Basal Husdyr og Veterinærvidenskab, KVL, <sup>2</sup>Dyrlæge, Odense, <sup>3</sup>Dyrlæge, Højby Dyreklinik

I foråret 2005 dukkede et kuld labradorhvalpe med afvigende farve op på Fyn. Kuldet bestod af ni hvalpe, hvoraf de fire havde en afvigende fænotype. Faderen til kuldet var sort og moderen gul. Opdrætteren havde haft et kuld på 8 hvalpe efter samme kombination tidligere, og de var alle normalt sorte. De fire hvalpe visste sig at have farvevarianten "sort med brindle i tanpoints". Tanpoints er de områder, der er brune hos hunde med farvevarianten black and tan, f.eks. rottweiler eller dobermann. Det vil sige distalt på lemmerne, omkring anus, omkring snudepartiet samt evt. to pletter over øjene. Hos disse labradorhvalpe var områderne ikke rent brune men stribede eller melerede. Denne farve kaldes brindle - deraf betegnelsen "brindle i tanpoints". Hverken black and tan eller brindle er

godkendte farvevarianter hos labrador - det er kun ensfarvet sort, brun eller gul.

### En faderskabssag?

Den første tanke var selvfølgelig "forkert faderskab". I det mindste måtte de fire fejlfarvede hvalpe have en anden far. Der blev derfor indsendt EDTA stabiliserede blodprøver fra forældre og hvalpe af begge farvevarianter til genetikafdelingen på Institut for Basal Husdyr og Veterinærvidenskab, KVL.

Den faderskabstest, der udføres her, er baseret på genotypning af alle individer med 10 DNA markører (mikrosatellitter), og den er meget sikker. Faderskabstesten kunne klart dokumentere at forældreskabet til det aktuelle kuld var korrekt. Efterfølgende har det vist sig, at farvevarianten "brindle i tanpoints" også er set hos labrador i Tyskland og USA. Det er derfor ikke umuligt, at den vil dukke op igen hos danske opdrættere - og praktiserende dyrlæger - i de kommende år. I det følgende vil vi prøve at gøre rede for, hvordan farvevarianten "brindle i tanpoints" kan opstå hos labrador.

### Grundlaget for farvegenetik

Farvevariationen blandt hunderacer er

meget stor, og farvegenetikken er et område, der tidligt har været genstand for arvelighedsstudier. I mange år var "Bibelen" på området CC. Littles "The Inheritance of Coat Color in Dogs" fra 1957. Little beskrev 10 forskellige gener med betydning for pigmentdannelse hos hund og kaldte dem locus A, B, C, D, E, G, M, P, S og T.

Inden for de sidste 10-20 år er den tilgængelige viden øget betragteligt og et nyt locus, K, er kommet til.

Betegnelsen locus bruges generelt om den fysiske placering af gener på kromosomerne. Hvis et gen, der er placeret i et bestemt locus, kan forekomme i forskellige udgaver, siger man, at genet har flere alleler. Mange af de farvegener, som Little beskrev, er senere blevet karakteriseret på molekylært niveau, og deres specifikke virkning på de pigmentproducerende celler er kendt. I det følgende vil vi fokusere på de loci, der har afgørende betydning for fremkomsten af vores "stribede" labradorhvalpe, nemlig locus A, B, E og K.

### Melanin

Melanin er det vigtigste pigment i forbindelse med pelsfarve hos pattedyr.

Locus	Gen-produkt	Alleler (fænotype)
A	Agouti protein	$A^w > a^y > a^t > a$
B	TYRPI	$B > b$
E	MCI-receptoren	$E > e$
K	Ikke karakteriseret	$K > K^{br} > k$

Tabel 1. Oversigt over fire af de loci, der har betydning for pigmentdannelse hos labrador. Første kolonne angiver det bogstav, der traditionel knyttes til hvert locus. Anden kolonne angiver det protein, som genet koder for og sidste kolonne angiver de alleler, der er beskrevet hos hund. Allelerne er listet efter faldende dominans.  $A^w$ : vildtype,  $a^y$ : zobel,  $a^t$ : black & tan.  $K^{br}$ : brindle.

Melanin dannes i melanocytterne, der er placeret ved basis af selve hårfollien. Herfra afgives pigment til håret efterhånden, som det vokser frem.

Embryonalt set stammer melanocytterne fra "neural crest". Det er en cellepopsation, der ligger dorsalt for neuralrøret og som også er udgangspunkt for dannelsen af nerveceller i det perifere nervesystem. Nogle af de embryonale celler i neural crest området udvikler sig til melanoblaster og videre til melanocytter. Efter differentieringen migrerer melanocytterne i ventral og distal retning og fordeles over hele kroppen. Flere af de gener, der har betydning for differentiering, proliferation og migration af melanocytter, er i dag identificerede. Mutationer i disse gener er også velbeskrevne og giver anledning til brogede dyr med større eller mindre hvide områder der, hvor der ikke findes melanocytter. Disse gener har ikke betydning for hvalpene i den aktuelle sag og vil derfor ikke blive beskrevet nærmere.

## To forskellige pigmenttyper

I melanocytterne omdannes aminosyren tyrosin til dopaquinon ved hjælp af enzymet tyrosinase. Mutationer i det gen, der koder for tyrosinase, er velkendte og bl.a. årsag til albinisme hos mennesker og dyr. Fra dopaquinon kan der dannes to forskellige former for melanin: eumelanin, der giver sort eller brunt pigment, og phaeomelanin, der giver rødt eller gult pigment. Hver enkelt melanocyt kan producere både eumelanin og phaeomelanin - men kun

en type ad gangen. Der findes derfor en mekanisme, der kan initiere et skift immellem de to former.

Som udgangspunkt danner melanocytter phaeomelanin. For at skifte over til produktion af eumelanin kræves en stimulation af overfladereceptoren MCIR (melanocortin 1 receptor) med melanocyt stimulerende hormon (MSH). Aktivering af MCI-receptoren giver øget produktion af cAMP og herved forskubbes den intracellulære balance til fordel for omdannelsen af dopaquinon til eumelanin (Fig 1). Det sker bl.a. fordi indholdet af tyrosinaseprotein 1 og 2 (TYRP-1 og 2) øges. Melanocytstimulerende hormon cirkulerer i blodet og virkningen vil derfor som regel være ensartet fordelt over hele kroppen.

Der findes imidlertid en naturligt forekommende antagonist - agouti protein - der kan blokere overfladereceptoren MCIR. Når receptoren er blokeret, responderer den ikke på cirkulerende MSH, og melanocytten fortsætter sin produktion af phaeomelanin. Agouti proteinet dannes lokalt af celler i selve hårpapillen, og blokeringen af MCIR kan derfor være meget afgrænset. Hos hunde med farven black and tan er MCIR receptoren blokeret af agouti protein i de brune områder.

## Loci med betydning for den aktuelle fænotype

Fire af de loci, der vides at have betydning for pigmentdannelse hos hunde, er relevante for vores stribede hvalpe. Det gælder locus A, B, E og K. De tre førstnævnte er velkarakteriserede, og deres genprodukter er kendte. Locus K er helt nyt og ikke så velkarakteriseret (Tabel 1).

### Locus A

Agouti protein er som nævnt en inhibitorisk ligand for melanocortinreceptorer på overfladen af melanocytter. Når receptoren er blokeret, dannes udelukkende rødgult pigment (phaemelanin). Proteinet er opkaldt efter en sydamerikansk gnaver, men navnet bruges også generelt til at beskrive den farve, som er knyttet til vildtype-allelen  $A^w$  (den "normale" eller oprindelige allele i et locus benævnes ofte vildtype-allelen). Vildtypeallelen giver den farve, man ser hos rådyr, harer m.m. Kigger man på hvert enkelt hår, har det stribet af hhv. phaeomelanin og eumelanin som følge af pulserende expression af agoutiprotein. Ekspressionen er desuden ofte

større ventralt på dyret, hvorved bugen bliver lysere end ryggen. Der findes en hel serie af andre alleler i locus A, og de mest aktuelle er vist i tabel 1.

Vildtype-allelen,  $A^w$ , findes også hos ulve og hunderacen siberian husky (gråtoningen er forårsaget af alleler i andre loci). Den næste allele i serien kaldes  $a^y$ , og den giver farven zobel, som ses hos f.eks. collie, shetland sheepdog og basenji (Eng: fawn eller sable). Pelsfarven er overvejende af phaeomelanin type med forskellige grader af mørke markeringer - øreranden samt spidsen af hvert enkelt hår er f.eks. ofte mørk.

Farvevarianten black and tan reguleres af den næste allele i dominans-serien for locus A, kaldet  $a^t$ . Produktionen af agouti protein er her begrænset til helt distinkte områder på kroppen - de nævnte tampoints. Farven kendes nok især fra rottweiler og dobermann, men den klassiske schæfer med mørk sadel har faktisk også black and tan-allelen.

I en canadisk undersøgelse blev en hel række hunderacer testet med hen-syn til forekomsten af alleler i locus A. Der indgik tre labrador retriever i undersøgelsen, og alle tre var homozygote for black and tan allelen. Det kan måske virke overraskende, når fænotypen ikke ses i populationen. Det skyldes imidlertid, at  $a^t$  allelen bliver skjult af den dominante allele i locus K - mere om det senere.

Endelig er der  $a$ , den mest recessive allele i locus A, hvis genprodukt er et defekt agouti protein, der ikke formår at blokere MCIR. Hunde, der er homozygote for denne allele, bliver derfor helt sorte. Allelen er årsag til sort pelsfarve hos f.eks. schæferhund, groenendael og schipperke. Dette står i kontrast til mange andre racer, hvor sort farve skyldes dominante alleler i locus B og K. Som et kuriosum kan det nævnes, at racen groenendael også har allelerne for dominant sort. Sort pelsfarve kan altså være både recessiv og dominant nedarvet hos denne race.

### Locus B

Genet i det locus, som Little kaldte B, koder for Tyrosinaserelateret protein 1 (TYRP-1), der indgår i den sidste del af processen med at omdanne dopaquinon til eumelanin. Genproduktet fra den normale, dominante allele (B) er et vel-fungerende TYRP-1, mens den muterede recessive allele (b) koder for et defekt protein. Mangel på normalt TYRP-1 giver anledning til dannelsen brunt pigment i stedet for sort. Hunde med ge-



Foto: Karen Schebye



Foto: Karen Schebye



notypen bb er derfor brune, mens hunde med genotypen BB eller Bb er sorte.

Der er beskrevet flere forskellige mutationer i TYRP-1 genet, som forårsager brun pelsfarve hos hunde. De to hyppigst forekommende mutationer giver anledning til hhv. indsættelse af et præmaturt stopcodon eller til deletion af tre nukleotider, hvilket betyder, at aminosyren prolin mangler i det færdige protein. Sjældnere ses en substitution med indsættelse af aminosyren serin i stedet for cystein. I 2002 undersøgte en Canadian forskergruppe TYRP-1 genet hos 8 brune labrador retrievere. To af dem var homozygote for den mutation, der giver indsættelse af et stop-codon, 2 var homozygote for prolin-deletionen og 3 var heterozygote med én prolin-deletion og ét stop-codon. Den sidste brune labrador var homozygot for Serin-substitutionen. En labrador bliver altså brun, hvis den har mutationer i begge alleler i locus B, men det behøver ikke nødvendigvis at være den samme mutation. Fænomenet med forskellige mutationer i et gen, der resulterer i samme fænotype, kaldes allel heterogenitet, og det har stor betydning i forbindelse med genetisk testning. Firmaet VetGen ([www.vetgen.com](http://www.vetgen.com)) udbyder f.eks. en test for, om sorte eller gule labrador retrievere er bærere af allelen for brun farve. På grund af heterogeniteten i locus B må firmaet teste for flere forskellige mutationer i TYRP-1 genet.

#### Locus E

Genproduktet for locus E er selve MC1-receptoren på melanocyternes

overflade. Den dominante E-allel koder for en normal, funktionsdygtig receptor. Den muterede e-allel har en såkaldt "loss-of-function"-mutation, derindsætter et prematurt stopcodon i MC1R genet. Resultatet bliver, at der ikke dannes funktionelle receptorer på melanocyternes overflade. Dyret kan derfor udelukkende producere phaeomelanin. Den samme mutation i MC1R genet er identificeret hos gul labrador retriever, golden retriever, irsk setter og spaniels. Der er altså tilsyneladende ikke allel heterogenitet i locus E hos hunde. Homozygoti for andre mutationer i MC1R-genet er imidlertid beskrevet hos røde heste og rødhårede mennesker. Hos retrieverracerne kan farven variere fra rødlig til lys gul eller cremefarvet, hvilket skyldes en afblegende effekt fra andre gener.

Locus E udviser recessiv epistasi hvilket vil sige at e-allelen i locus E kan dække over effekten af andre loci. Rent praktisk betyder det at en labrador med genotypen ee i locus E bliver gul uanset om den er BB, Bb eller bb i locus B. Hos VetGen er det muligt at få testet om en brun eller sort labrador er bærer af en e-allel.

#### Locus K

Dette locus er helt nyt inden for beskrivelsen af pelsfarver hos hunde. Det udløser formentlig en form for konstant aktivering af MC1R - uafhængigt af MSH niveauet - hvorved melanocytterne udelukkende producerer eumelanin. Der refereres ofte til Locus K som "dominant black" og det er ikke assosieret med hverken locus E eller A.

Der er foreløbig beskrevet tre alleler i locus K. Den mest dominante allel er K, som giver sort farve og som dækker over alle alleler i locus A. Labrador er normalt homozygote for K-allelen, som altså dækker over, at de fleste labradors også er homozygote for a<sup>t</sup> allelen i locus A.

Den anden allel i locus K er brindle allelen, K<sup>br</sup>, der giver sorte striber på en phaeomelanin baggrund. Det er en far-

Farve	Genotype
Sort	a <sup>t</sup> a <sup>t</sup> B- E- K-
Brun	a <sup>t</sup> a <sup>t</sup> bb E- K-
Gul	a <sup>t</sup> a <sup>t</sup> B-/bb ee K-
Brindle i tanpoints	a <sup>t</sup> a <sup>t</sup> B- E- K <sup>br</sup> K <sup>br</sup>

Tabel 2. Genotypen i locus A, B, E og K hos 4 farvevarianter af labrador. Genotypen angivet som B- betyder, at hunden enten kan være BB eller Bb.

ve, der bl.a. kendes fra den tigerstribede grand danois eller boxer. Endelig er der den recessive allel, k, der tilsyneladende ikke har nogen direkte effekt på MC1R, og derfor lader andre loci være bestemmende for farven.

#### Genotypen hos de stribede labrador hvalpe

Brindle allelen må nødvendigvis findes i bestemte linier inden for labrador - ellers kunne de stribede hvalpe ikke være opstået. Som sagt er den samme fænony-



Foto: Sønderup



Labrador hvalpe med farvevarianten brindle i tanpoints.

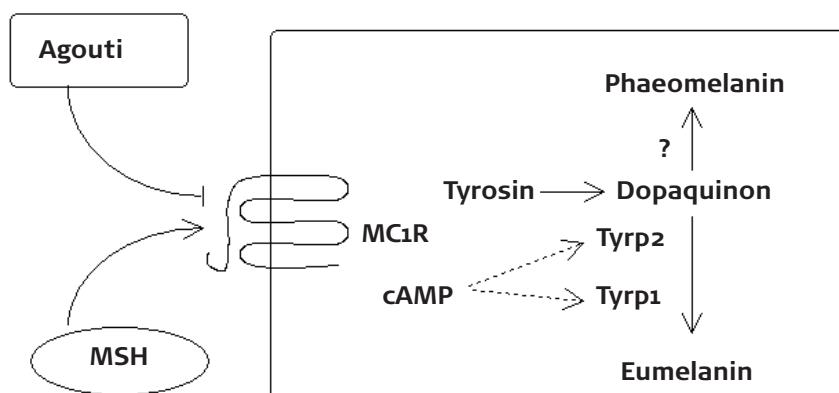
pe rapporteret fra labradors i både Tyskland og USA. En nøje gennemgang af forældredyrenes stamtavler afslørede, at de begge kunne føres tilbage til disse udenlandske linier. Fænotypen brindle kommer desuden kun frem, hvis hvalpene er homozygote for  $K^b$ . Begge forældre til de stribede hvalpe må altså have været heterozygote bærere af  $K^b$ -allelen. Endelig fremgår det tydeligt, at brindle allelen ikke formår at dække over locus A, sådan som K-allelen gør det. Derfor bliver det pludselig synligt, at labrador hvalpene også er homozygote for  $a^t$  allelen. Striberne fra brindle allelen er nemlig kun til stede, der hvor pigmenteringen er phaeomelanin – og det vil sige de tan-farvede områder hos en hund, der er black and tan.

Rent statistisk vil man forvente at 25 % af afkommet efter to  $K^b$ -bærere bliver brindle i tanpoints. Umiddelbart lyder 4 hvalpe ud af 9 som mange, men tager man de 8 hvalpe med fra det forrige kuld, har de to forældredyr til sammen produceret 17 hvalpe. Femogtyve procent af 17 er 4,25, så de 4 hvalpe der var brindle i tanpoints svarer fint med det forventede.

Tabel 2 opsummerer genotyperne for de fire beskrevne loci hos forskellige farvevarianter af labrador.

#### Hvad skal man gøre ved de fejlfarvede hvalpe?

I principippet er de "stribede" hvalpe sunde og raske og fuldstændig ligesom andre labrador. De kan sælges som familiehunde, men bør ikke bruges iavl inden for populationen af normalfarve-



Figur 1. Regulatorisk kontrol af melanogenese (modificeret figur efter Barsh 1996). Agouti og MSH er ekstracellulære proteiner der, ved binding til receptoren MC1R på cellemembranen henholdsvis nedsætter (agouti) eller øger (MSH) det intracellulære niveau af cAMP. Stigende mængder af cAMP stimulerer blandt andet expressionen af proteinerne TYRP-1 og 2, der katalyserer oxydative processer i omdannelsen af dopaquinon til eumelanin. De enzymatiske processer i forbindelse med dannelsen af phaeomelanin er endnu ikke identificeret.

de labradors, hvis man ønsker at komme af med  $K^b$  allelen. Forældredyrene til brindle hvalpene er begge obligate bærere af  $K^b$  allelen. Hvis man vælger at bruge dem iavl igen, skal man derfor vælge en avlspartner uden tilknytning til de udenlandske linier med kendt forekomst af brindle.

Der er på nuværende tidspunkt ikke nogen kommersiel test tilgængelig for brindle allelen, men det er sandsynligvis noget, der kommer inden for en overskuelig fremtid. ■