



Genetisk variation hos Sveriges huskatter

Karolina Lind Nilsson

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Uppsala 2024



Genetisk variation hos Sveriges huskatter

Genetic variation in Swedish random bred cats

Karolina Lind Nilsson

Handledare: Anna Johansson, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjursgenetik
Examinator: Sofia Mikko, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjursgenetik

Omfattning: 30 hp
Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E
Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin
Kurskod: EX1003
Program/utbildning: Veterinärprogrammet
Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper
Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: 2024
Omslagsbild: Privat
Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: huskatt, europé, mtDNA, genetisk variation, polycystisk njursjukdom

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Huskatten är den vanligaste tamkatten i våra svenska hushåll. Utöver huskatter finns även en mängd olika raskatter runt om i landet, bland annat europén, en raskatt som härstammar från Sveriges gamla huskatter. Medan en raskatt har en stamtavla kan en huskatt se ut nästan hur som helst. Men trots att huskatten är den vanligaste tamkatten i Sverige, har ingen hittills undersökt hur den genetiska variationen ser ut, varken inom den svenska populationen eller jämfört med kattpopulationer i andra länder. Det finns därmed många funderingar kring vår inhemska kattpopulation. För att hjälpa till att besvara några av dessa funderingar undersöker vi i detta arbete genetisk variation mellan huskatter från Norrland, Svealand och Götaland respektive mellan huskatt och europé. I arbetet jämförs även genetisk variation mellan svenska huskatter och populationer i andra länder, bland annat USA och Polen. För att kunna jämföra de svenska resultaten med dessa tidigare studier sekvenserades en del av kontrollregionen i kattens mitokondrie-DNA. I den svenska huskattpopulationen kunde elva olika mitokondriella varianter identifieras. Över 70 % av huskatterna bar på en av de två vanligaste av dessa elva genvarianter medan sex av varianterna i stället endast observerades hos enstaka individer. Alla unika varianter, utom en, var dock identiska med genvarianter som hittats hos katter utomlands. Vid jämförelse inom Sverige observerades en skillnad mellan landsdelarna. Den tredje och femte vanligaste varianterna återfanns endast i Norrland och Svealand.

Utöver genetisk variation undersöktes även den svenska kattpopulationen avseende en vanlig genetisk sjukdom, nämligen polycystisk njursjukdom, eller PKD. Sjukdomen återfinns hos framför allt rasen perser men har även påvisats hos andra raskatter. PKD orsakas av en punktmutation i Polycystin-1 genen. En individ som bär på mutationen får ett icke-funktionellt protein och föds med cystor framför allt i njurarna. Cystorna växer under kattens liv vilket leder till degeneration av njurvävnad och kronisk njursjukdom. Vid undersökning huruvida mutationen kunde påvisas i den svenska huskattpopulationen påvisades två heterozygota individer. En med känd inblandning av perserkatt, och en av okänd bakgrund. Polycystin-1 genen undersöktes även avseende genetisk variation där ingen signifikant skillnad kunde ses mellan huskatter från Sveriges olika landsdelar.

Nyckelord: huskatt, europé mtDNA, genetisk variation, polycystisk njursjukdom

Abstract

The random bred cat (RBC) is the most common amongst our Swedish domestic cats. In addition to random bred cats there are also fancy bred cats, for example the European shorthair, a breed originating from old Swedish domestic cats. Whilst a fancy bred cat has their pedigree, and a distinct look, random bred cats can have very different ancestry, and therefore have a varied appearance.

Even though the RBC is the most common of our domestic cats, no one has yet explored how the genetic diversity varies, neither within the Swedish population nor how it compares to RBC populations around the world. Therefore there are a lot of questions surrounding our domestic population. To help answer some of these questions we investigate and compare the genetic variation in mitochondrial-DNA between RBCs in Sweden's three larger regions, Norrland, Svealand and Götaland. Furthermore, we also compare the RBCs to the European shorthair.

Similar studies have been done in other countries, like the US and Poland where a mitochondrial-DNA-sequence has been analyzed, and the studied cats divided into different variants. To also be able to compare the Swedish population to RBCs in other countries, the same sequence was analyzed here. Within the Swedish RBC population 11 different variants could be identified. More than 70% of the population carried one of the two most common ones whilst six of the variants were only found in single individuals. All unique variants however, apart from one, were found to be identical to variants found in other countries. Within Sweden a difference could be observed between the regions. The third and fifth most common Swedish variants could only be found in Norrland and Svealand.

Apart from genetic diversity, our population of cats were also examined in regards to if they carried the mutation causing Polycystic kidney disease (PKD). PKD is a common genetic disease, most frequently found in the Persian cat. The disease is caused by a single nucleotide mutation in the Polycystin-1 gene and causes the formation of a non-functional protein which in turn leads to development of cysts and degeneration of renal tissue. In the RBC population two individuals carrying the mutation in heterozygous form were found. One of the individuals had a known Persian relative, whilst the other were of unknown descent. After looking at PKD we also examined the Polycystin-1 gene regarding genetic diversity. No significant difference between the Swedish regions could be found when comparing genetic diversity found in the Polycystin-1 gene.

Keywords: random bred cats, European shorthair, mtDNA, genetic variation, polycystic kidney disease

Innehållsförteckning

Förkortningar	9
1. Inledning	11
2. Litteraturoversikt.....	13
2.1 Sveriges tamkatter	13
2.2 Grundläggande genetik.....	13
2.2.1 DNA molekylen	13
2.2.2 Mitokondrie-DNA	14
2.3 Kattens genetiska variation avseende mitokondrie-DNA	15
2.3.1 Sylvesterreferenssekvensen och benämning av de vanligaste mitotyperna	15
2.3.2 Fördelning av mitotyper i olika länder	16
2.4 Polycystisk njursjukdom	18
2.4.1 Förekomst och klinisk bild.....	18
2.4.2 Etiologi	18
3. Material och metoder	20
3.1 Insamling och provtagning	20
3.2 Isolering och sekvensering av DNA	21
3.2.1 DNA-extrahering	21
3.2.2 Amplifiering av mtDNA och efterföljande sekvensering	21
Sekvensanalys	22
3.2.3 mtDNA	22
3.2.4 <i>PKD1</i> -mutationen	22
4. Resultat	24
4.1 Insamlade prover	24
4.2 Mitotyper bland Sveriges huskatter och europé	26
4.2.1 Fördelning inom Sverige.....	26
4.2.2 Fylogenetisk jämförelse med mitotyper som återfinns i andra länder	27
4.3 Förekomst av PKD-varianten g.42858112C>A	28
4.3.1 Genetisk variation inom Polycystin-1 genen.....	28
5. Diskussion	30
5.1 Insamling och provtagning	30
5.1.1 Har vi representativa populationer?	30

5.1.2	Utvärdering av insamlingen	30
5.2	Genetisk variation inom Mitokondrie-DNA	32
5.2.1	Mitotyper	32
5.3	<i>PKD1</i> -varianten	34
5.3.1	Genetisk variation inom Polycystin-1 genen och jämfört med mitokondrie-DNA	34
6.	Konklusion.....	35
	Referenser.....	36
	Populärvetenskaplig sammanfattning	38
	Bilaga 1.....	40

Förkortningar

DNA	Deoxyribonukleinsyra (Deoxyribonucleic acid)
mtDNA	Mitokondrie-DNA
PCR	Polymeraskedjereaktion (Polymerase Chain Reaction)
SRS	Sylvesterreferenssekvensen
PKD	Polycystisk njursjukdom (Polycystic kidney disease)
RBC	Random Bred Cat (huskatt)

1. Inledning

Tamkatten har funnits i Sverige i tusentals år och är idag ett av de vanligaste husdjuren, inte bara i Sverige utan i hela världen (Nationalencyklopedin u.å.). Huskatten, även kallad blandraskatt eller bondkatt, är den vanligaste förekommande (Jordbruksverket 2023) och kan vara allt från blandning av två raskatter till en katt utan rasinblandning (Nationalencyklopedin u.å.). Trots att huskatten är den vanligaste tamkatten i Sverige, har ingen hittills undersökt hur den genetiska variationen ser ut, varken inom den svenska populationen eller jämfört med kattpopulationer i andra länder. Det finns därmed många funderingar kring vår inhemska kattpopulation. Huruvida variationen skiljer sig åt, från katter i norr till söder och hur huskatternas variation skiljer sig från olika raskatter, till exempel europén. Raskatten europé som härstammar från den svenska huskatten har klassats som en ras sedan 1940-talet (Nationalencyklopedin u.å.). I den här studien utförs en första insamling av genetiskt material från huskatter och europé. Både för att försöka besvara några av funderingarna samt lägga en grund till framtida forskning inom ämnet.

Mitokondrie-DNA (mtDNA) är en haploid molekyl som återfinns i mitokondrier (Pierce 2017). Genetisk variation hos huskatter, baserat på mtDNA har undersökts i flera olika länder inklusive USA, Kanada och Polen, då med syftet att bidra till forensisk medicin (Grahm *et al.* 2011, Arcieri *et al.* 2016, Glazewska & Kijewski 2017). Det finns många fördelar att använda mtDNA för att undersöka genetisk variation. Mitokondriegenomet förändras snabbt och det finns i flera kopior i en och samma cell. Vidare ärvs mtDNA maternellt, vilket medför att man kan följa hur moderslinjer divergerat. För att kunna jämföra den genetiska variationen hos svenska katter med katter från andra länder, har vi därför valt att likt tidigare författare använda mtDNA. Vidare har vi valt att fokusera på huskatter utan rasinblandning på moderns sida för att försöka komma åt de moderslinjer som härstammar från våra gamla svenska huskatter.

Utöver genetisk variation undersöks även om den punktmutation som orsakar polycystisk njursjukdom (PKD) förekommer inom den svenska kattpopulationen. PKD är en vanlig genetisk sjukdom hos katt som leder till bildning av cystor i njurvävnaden (Schirrer, Marín-García & Llobat 2021). Cystorna resulterar i kompression av njurvävnad och utveckling av kronisk njursjukdom. Punktmutationen som orsakar sjukdomen har framför allt associerats med rasen perser men

förekommer även hos andra katter. Sjukdomen ärvs autosomt dominant och det räcker därmed att katten ärver mutationen från en förälder, för att drabbas av sjukdom. I den här studien undersöks huruvida mutationen förekommer i en population av svenska huskatter eller hos raskatten europé.

2. Litteraturöversikt

2.1 Sveriges tamkatter

Jordbruksverket har sedan 2023 ett kattregister där katter enligt lag ska registreras (Jordbruksverket 2023). Bland de 336 000 katter som registrerades under första halvåret i bruk, är huskatten den vanligaste förekommande. En huskatt, blandraskatt eller ibland även kallad bondkatt, är en katt utan stamtavla. Det innebär att individen alternativt dess föräldrar inte varit registrerade i någon kattförening (Nationalencyklopedin u.å.). Motsatsen till huskatt är en raskatt. Det finns idag många olika raskatter i Sverige som förekommer i olika mängd. Från de enligt Jordbruksverket (2023) vanligaste som ragdoll, maine coon och norsk skogkatt till mindre vanligt förekommande raskatter, som europé. Raskatten europé kom att registreras först under 1940-talet och kallades från början svensk huskatt (Nationalencyklopedin u.å.).

2.2 Grundläggande genetik

2.2.1 DNA molekylen

Watson & Crick (1953) beskrev DNA-molekylen som bestående av två polynukleotider som byggs upp av monomerer. Varje monomer består av ett socker, en fosfatgrupp samt en av fyra olika baser (adenin, guanin, cytosin eller tymin). Monomererna binder till varandra på så sätt att de bildar en sekundär struktur i form av en dubbelhelix. Socker-fosfatdelen av molekylen bildar en ryggrad medan baserna binder till varandra och fäster de två polynukleotiderna till varandra via vätebindningar. Molekylens struktur begränsar vilka baser som kan binda till varandra vilket medför att adenin alltid binder till tymin och guanin till cytosin. På så sätt kan man förutse utseendet av ena polynukleotiden utifrån utseendet av den andra. I cellerna packas DNA-molekylen sedan till kromosomer vilket sammanfattas av Pierce (2017). De flesta celler i kroppen är diploida vilket innebär att de bär på två uppsättningar av kromosomer, en från modern och en från fadern. Könsceller däremot bär endast på en uppsättning kromosomer och är haploida.

Replikation av DNA

För att innehållet i DNA-molekylerna ska kunna föras vidare vid varje celledelning krävs att strukturen kan separeras så att ordningen på baserna kan kopieras och ge två nya molekyler med exakt samma ordning som originalsträngen sammanfattar Pierce (2017). Replikationen sker genom en semikonservativ process, där strängarna av redan existerande DNA agerar som mall för de nya strängarna som syntetiseras. DNA-replikationen behöver både ske snabbt och med precision för att försäkra om att varje ny molekyl som bildas är en kopia av den tidigare. Till och med små fel vid replikationen kan medföra förlust av viktig genetisk information och resulterar i mutationer summerar Fletcher & Hickey (2013).

Mutationer

DNA-sekvenser hos en gen avgör aminosyrasekvensen hos det protein som bildas sammanställer Fletcher & Hickey (2013). Det är även viktigt att DNA-sekvensen bibehålls eftersom förändringar i aminosyrasekvensen kan påverka proteinets funktion. Dessa förändringar, som benämns mutationer kan ske som följd av olika orsaker, exempelvis kemiska agens eller fel vid replikering av DNA. Om DNA-sekvensen på något sätt förändrats blir detta permanent och kommer fortsätta att ärvas av nästkommande dotterceller.

Två viktiga termer som används för att beskriva en organism som bär på en mutation är genotyp och fenotyp summerar författarna Fletcher & Hickey (2013). Genotyp beskriver mutationen av den gen där det skett, medan fenotyp beskriver påverkan hos organismen. En organism som uppvisar den vanligaste fenotypen för den arten kallas för vildtyp, medan en individ som bär på en mutation kallas mutant. Det finns både mutationer som involverar enstaka baser, så kallade punktmutationer och mutationer som involverar större delar av gener eller hela kromosomer, så kallad strukturell variation. En punktmutation är då en bas byts ut mot en annan, en insertion, där ett extra baspar tillförts sammanfattar Pierce (2017), eller en deletion om baspar i stället försvunnit. Tillsammans benämns insertioner och deletioner för indels eftersom det inte alltid går att avgöra vilken av dem som hänt.

2.2.2 Mitokondrie-DNA

Mitokondrier är membranbundna organeller som återfinns i nästan alla eukaryota celler (Osellame *et al.* 2012). De står för flera viktiga uppgifter, där energitillverkning är den mest omtalade. De bidrar även till ett antal andra processer inklusive cellulär funktion, celltillväxt och celledöd. Sammantaget är de ovärderliga för normal cellfunktion. Utöver ovannämnda funktioner har mitokondrier även ett eget genom, så kallad mitokondrie-DNA (mtDNA). Hos de flesta djur existerar mtDNA som en stängd, cirkulär molekyl som förekommer i flera kopior i samma organell, så kallad polyploid (Gray 2013). MtDNA ärvs maternellt vilket medför att upp-

sättningen blir haploid då endast genetiskt material förs vidare från modern sammanfattar Pierce (2017). Den mtDNA sekvens som förekommer hos en individ kallas ibland för mitotyp (mitokondriell haplotyp).

Hos djur muterar mtDNA i högre grad än nukleärt DNA, trots detta är nästan alla mitokondrier hos en organism identiska, eftersom endast en liten mängd överförs till nästa generation sammanfattar Fletcher & Hickory (2013). I de fall där två eller flera distinkta variationer av mtDNA förekommer i en individuell cell kallas det heteroplasmi.

2.3 Kattens genetiska variation avseende mitokondrie-DNA

Kattens mtDNA består av 17 009 baspar (Lopes, Cevario, & O'Brien 1996). Kontrollregionen (CR) inom kattens mtDNA har använts i flera studier av bland annat Tarditi *et al.* (2011) och Grahn *et al.* (2011) för att undersöka den genetiska variationen inom olika inhemska kattpopulationer.

Kontrollregionen utgörs av 1560 baspar och innehar två repetitiva regioner i varsin ände (Lopes, Cevario, & O'Brien 1996). Dessa repetitiva regioner har dock visat sig kunna komplicera sekvensering då man observerat att det de innehåller en hög förekomst av heteroplasmi. Genom att undvika att sekvensera dessa två repetitiva regioner och endast sekvensera ett område om 402 baspar inom mtDNA kontrollregionen observerade Tarditi *et al.* (2011) att man kunde erhålla tillräcklig variation samtidigt som man kunde undvika heteroplasmin (Tarditi *et al.* 2011).

2.3.1 Sylvesterreferenssekvensen och benämning av de vanligaste mitotyperna

Tarditi *et al.* (2011) sekvenserade en region på 402 baspar (bp) i mtDNA CR hos 174 olika katter i olika regioner i USA. Författarna identifierade 32 olika mitotyper varav fyra (mitotyp 1-4) representerade ca 74 % av totala populationen. Arton av de påvisade mitotyperna representerades endast av en individ. Författarna valde efter identifiering av nukleotidvarianterna ut en sekvens bland de vanligaste som de jämförde de andra mitotyperna mot. Sekvensen kom att kallas Sylvesterreferenssekvensen, eller SRS.

Studien av Tarditi *et al.* (2011) följdes av Grahn *et al.* (2011) som hade målet att dokumentera förekommande nukleotidvariation hos tamkatter i USA och utomlands. Resultaten som erhöles jämfördes med SRS och Grahn *et al.* (2011) kunde från sina totalt 1 394 provtagna individer urskilja tolv distinkta mitotyper. De valde att kalla dessa universella typer och döpte dem i alfabetisk ordning till A-L.

Författarna identifierade också ytterligare 30-tal mitotyper de valde att kalla subtyper. Dessa kom att döpas efter den universella mitotyp som var fylogenetiskt närmast t.ex. A1, och A2. Författarna beskriver också att de mitotyper som identifierades av Tarditi *et al.* (2011) överensstämmer med dessa. Författarna fann även att 7,5 % av alla individer i undersökningen bar på en unik mitotyp, dessa identifierades som "U". Efterföljande studier av bland annat Wesselink *et al.* (2015) samt Arcieri *et al.* (2016) har följt Grahn *et al.* (2011) i deras alfabetiska benämning, med en förkortning av landet följt av universell mitotyp eller subtyp.

2.3.2 Fördelning av mitotyper i olika länder

Vid undersökning av vilka mitotyper som förekommer i olika länder har man observerat att fördelningen både verkar variera mellan olika världsdelar, och mellan näralliggande länder som USA och Kanada (Arcieri *et al.* 2016).

Nordamerika

Grahn *et al.* (2011) använde sig utav de 174 individer Tarditi *et al.* (2011) provtagit och utökade population till totalt 1 394 huskatter från olika länder, varav 493 individer från sju olika stater i USA. De observerade elva av tolv universella mitotyper (alla förutom J) i USA. Mitotyp B var den vanligaste i USA och representerade enligt författarna 28,4 % av huskattpopulationen. Mitotyp A var näst vanligast och påvisades hos 111 (22,5 %) huskatter. Författarna observerade dock att mitotyp B är ovanligare och verkar inte förekomma alls i andra delar av världen. Exempelvis hittades mitotyp B inte alls i prover från Irak eller Iran.

Arcieri *et al.* (2016) undersökte fördelningen av mitotyper i Kanada med syftet att undersöka huruvida en lokal databas behövdes eller om en nordamerikansk databas var tillräcklig för att beskriva fördelningen av mitotyper inom världsdelen. Totalt undersöktes 96 katter och femton mitotyper kunde identifieras. Runt 76 % av undersökt population bar på en av mitotyperna A-C samt F-I. Den vanligaste förekommande mitotypen var C. Fördelningen liknade den som observerats i USA, med ett undantag. I Kanada sågs en hög förekomst av mitotyp B6, som endast påvisats hos 0,4 % av individerna i USA, jämfört med 28,6 % i Kanada. Detta talar för att fördelningen av mitotyper kan skilja sig signifikant, även mellan två gränsande länder.

Europa

I Nederländerna undersökte Wesselink *et al.* (2015) fördelningen och baserat på den 402 bp sekvens som tidigare författare studerat observerades mitotyp A som den vanligast förekommande, följt av B, U och C.

I Polen undersöktes 181 katter från sju olika städer (Glazewska & Kijewski 2017). Totalt kunde 21 mitotyper (PL01-PL21) identifieras varav tolv var identiska med de universella typer som beskrivits tidigare av Grahn *et al.* (2011). Den vanligaste förekommande mitotypen i Polen var PL01 (identisk med A). Variant A förekom i samtliga städer. Mitotyp I (identisk med PL02) som endast påvisats hos fåtalet katter i andra länder kunde påvisas hos ca 10 % av provtagna katter i polska populationen (Glazewska & Kijewski 2017).

Hur stort prov behövs för att hitta alla mitotyper?

Grahn *et al.* (2011) observerade att antalet katter som bär på en unik mitotyp inom en population vanligtvis är runt 10 %, förutom i två populationer i Tyskland och Italien, där över 50 % av alla katter bar på en unik mitotyp. Författarna diskuterar att detta dock troligtvis beror på att populationerna som undersöktes var för små. Den tyska populationen bestod av 21 individer och den italienska 23 huskatter. Författarna teoretiserar att de ”unika” mitotyper som påträffats troligtvis skulle observeras hos flera individer inom länderna vid provtagning av en större population. Detta stöds av observationen av Wesselink *et al.* (2015) som provtog en population på 113 blandraskatter i Nederländerna, där färre än 10 % bar på en unik mitotyp.

Grahn *et al.* (2015) undersökte i sin studie hur stor population som behöver provtas i en region för att hitta alla mitotyper. Till sin hjälp använde dem de populationer som Grahn *et al.* (2011) samt Tarditi *et al.* (2011) provtagit i tidigare studier. De undersökte en population de gradvis ökades med tio individer för varje analys och letade efter brytpunkter där antalet nya mitotyper som hittades var 5 % respektive 1 %. Hur stor population som behövdes för att nå dessa brytpunkter varierade stort mellan olika populationer. Exempelvis nådde man 1 % brytpunkten vid provtagning av <40 individer i vissa asiatiska regioner medan andra regioner krävde provtagning av 170 katter för att nå samma brytpunkt. Baserat på den data Grahn *et al.* (2015) kom fram till drog de slutsatsen att provtagning av 50-150 individer är tillräckligt för att erhålla en lokal databas över regionens mitotyper.

Raskattens mitotyper

Hittills har forskare inte kunnat observera någon skillnad avseende mtDNA mellan blandraskatter och raskatter med ett undantag för mitotypen C2 som endast observerats hos raskatten maine coon (Grahn *et al.* 2011). Wesselink *et al.* (2015) observerade att dock mitotypernas fördelning varierade signifikant mellan olika raskatter. Författarna betonar dock att inga slutsatser bör dras baserat på detta resultat eftersom endast tre olika raskatter deltog i studien (maine coon, norsk skogkatt och siames). Författarna diskuterar vidare hur deras fynd dock stödjer beskrivningen av domesticering av tamkatten, som talar för att avel av raskatter är

relativt nytt och att de flesta raser tillkommit under de senaste 50-100 åren. Grahn *et al.* (2011) diskuterar också kattavelns utveckling och hur arkeologiska bevis tyder på att samtliga mitotyper vi ser idag utvecklats från fem moderslinjer som fanns för 9 000 år sedan.

2.4 Polycystisk njursjukdom

Som tidigare beskrivet kan det bli fel vid replikationen av DNA och då bildas mutationer. Många mutationer är tysta och ger ingen förändring av det protein som genen kodar för (Fletcher & Hickey 2013). En del mutationer kan dock medföra så pass stora förändringar att proteinets funktion förändras eller störs, och individen kan då utveckla sjukdom som följd. Flera sjukdomar hos katt ses som följd av mutationer i genomet. En av dessa är PKD.

2.4.1 Förekomst och klinisk bild

Polycystisk njursjukdom förekommer framför allt hos perserkatter men har även rapporterats hos andra katttraser (Malik 2001). Lyons *et al.* (2004) påvisade i sin undersökning att sjukdomen förekommer hos 38 % av perserkatter i världen.

Vid polycystisk njursjukdom utvecklas vätskefyllda cystor i njurens bark och märg (Malik 2001), och kan även hos vissa individer ses i andra organ, som lever och bukspottkörtel (Schirrer, Marín-García & Llobat 2021). Cystorna finns redan från födseln och växer långsamt i takt med att katten åldras och leder till en komprimering av omkringliggande vävnad och progressiv förlust av njurens funktion.

Kliniska tecken utvecklas i olika åldrar beroende på individ (Malik 2006). Medelåldern för uppvisande av kliniska tecken är sju år, men symptom kan observeras hos individer i olika åldrar från 3-10 år (Schirrer, Marín-García & Llobat 2021). Kliniska tecken som ses är de samma som vid annan orsak till kronisk njursjukdom och inkluderar bland annat viktnedgång, mag- och tarmpåverkan, ökad urinering samt ökad törst.

2.4.2 Etiologi

Polycystisk njursjukdom är en autosomalt dominant nedärvd sjukdom och den vanligaste genetiska sjukdomen bland katter (Helps, Tasker & Harley 2007).

Sjukdomen har hos perserkatt förknippats med en mutation i exon 29 vid den så kallade polycystin-1 (*PKDI*) genen som är lokaliserad till kromosom E3 (Bilgen *et al.* 2020). Forskare har inom *PKDI*-genen observerat en transversion av C>A hos drabbade katter som leder till transkription av ett för tidigt stoppkodon (Helps,

Tasker & Harley 2007). Det protein som polycystin-1 genen kodar för misstänks ha en viktig roll i proliferation och celldifferentiering av tubulärt epitel (Bilgen *et al.* 2020). Hos katter med mutationen ses en obalans mellan regeneration och aktivering av apoptos och nekros vilket leder till utveckling av de cystor som ses vid sjukdomen.

Flera författare har undersökt prevalensen av mutationen, både inom populationer av perserkatt och bland andra raser. Bilgen *et al.* (2020) undersökte prevalensen bland totalt 310 katter. I den provtagna populationen hade sexton av katterna kliniska tecken förenliga med kronisk njursjukdom och tolv bar på mutationen. Hos de 294 katter som var asymtomatiska kunde mutationen påvisas hos två katter, varav en av rasen perser och en *british fold*. Lyons *et al.* (2004) provtog 48 katter med kliniska tecken förenliga med kronisk njursjukdom samt 33 friska katter. De kunde påvisa mutationen hos samtliga sjuka individer, varav 41 av rasen perser. Samtliga friska individer bar på vildtypen. Varken Bilgen *et al.* (2020) eller Lyons *et al.* (2004) kunde påvisa katter som var homozygota för mutationen. En teori är att de individer som är homozygota för mutationen dör under embryonal utveckling eller i väldigt ung ålder (Malek 2006).

3. Material och metoder

3.1 Insamling och provtagning

Prover samlades in från huskatter från olika delar av Sverige samt katter av rasen europé. Inkomna prover fördelades baserat vilken landsdel de inkom från, alternativt i kategorin ”europé”. Målet var att samla in minst 20-30 huskatter från respektive landsdel samt 20-30 katter av rasen europé.

Djurägare informerades om studien via sociala medier. Inlägg gjordes som berättade om arbetet och vilka katter som eftersöktes samt hur provtagningen skulle gå till. Provtagning utfördes med munsvabbar från Norgen biotek corporation (Norgen Biotek Corp., Thorold, Ontario, Canada) där djurägare själva fick hem provtagningskit innehållande munsvabb och provrör, tillsammans med instruktioner och djurägarformulär (Bilaga 1). I djurägarformuläret fick djurägarna besvara var deras katt var född, kattens pälsfärg och -teckning samt annan information om kattens bakgrund t.ex. släktskap. Insamling gjordes i två omgångar, våren respektive hösten 2023.

För att avgöra hur lång tid som provtagningen behövde utföras för att en tillräcklig mängd DNA skulle erhållas, utfördes provtagning på fem testkatter som kindsvabbades under 1, 3, 5, 10 respektive 15 sekunder. Provtagning påvisade att tillräcklig mängd DNA kunde erhållas redan vid provtagning under 1 sekund men för att försäkra att tillräckligt med material erhöles sattes önskad provtagningstid till 10 sekunder i instruktionerna.

Vid insamling samlades prover in även från besläktade individer t.ex. syskon samt moder och barn, för att öka chansen att tillräckligt med DNA kunde extraheras från minst ett av proven. Djurägaren ombads notera släktskap i djurägarformuläret. Om båda prover erhållit tillräcklig mängd DNA användes endast ett av proverna från kända besläktade individer vid efterföljande sekvensanalys.

3.2 Isolering och sekvensering av DNA

3.2.1 DNA-extrahering

Från majoriteten av proverna extraherades DNA med hjälp av Saliva DNA Isolation Kit (Norgen Biotek Corp., Thorold, Ontario, Canada) och medföljande metod. Ett fåtal prover extraherades med hjälp av Saliva DNA Isolation Kit (Magnetic Bead System) (Norgen Biotek Corp., Thorold, Ontario, Canada).

De prover som extraherats på DNA undersöktes med Qubit® 2.0 Fluorometer (Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA) för att fluorometriskt kvantifiera koncentration av DNA i provet. Beroende på koncentration gjordes sedan en spädning med sterilt vatten av provet för att uppnå en ungefärlig koncentration på 4 ng/uL. Prover som hade en koncentration på <4ng/uL- 7ng/uL späddes inte utan användes till sekvensering i sin ursprungliga koncentration.

Ej extraherade prover

Individer som enligt djurägarformulär hade en känd eller starkt misstänkt rasinblandning på moderns sida extraherades ej för att eftersträva vår ursprungliga målpopulation.

3.2.2 Amplifiering av mtDNA och efterföljande sekvensering

Kontrollregionen av mtDNA som eftersöktes amplifierades med hjälp av *forward* 5'-TGTAACGACGGCCAGTTAATAGTGCTTAATCGTGCA-3' samt *reverse primer* 5'-CAGGAAACAGCTATGACCGTCCTGTGGACCAATAGG-3' som använts i tidigare studier. För att kunna jämföras med haplotyper som identifierats av bland annat Grahn *et al.* (2011). Både *forward* och *reverse* primersekvens innehåller en M13-linker som utgörs av de första arton baserna (fetstil) i primersekvensen. PCR amplifiering utfördes på en Proflex Thermal Cycler (Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA) och följde protokoll: 95 °C i 10 minuter för initial denaturation följt av 35 cykler av 96 °C i 3s, 60 °C i 15s samt 68 °C i 30s, följt av en avslutande förlängning under 2 min vid 72 °C. Produkterna lagrades därefter i 4 °C tills vidare hantering.

Sekvenserings PCR följde protokoll: 37 °C i 15 min följt av 80 °C i 2 min, 96 °C i 1 min följt av 25 cykler av 96 °C i 10s, 50 °C i 5s och 60 °C i 75s. Proverna lagrades i 4 °C tills vidare hantering.

Proverna renades med X-terminator Purification Kit (Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA) och visualiserades via kapillär elektrofores med hjälp av 3500xL Genetic Analyzer (Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA).

Amplifiering av PKD1-genen

Vid amplifiering av *PKD1*-genen användes *forward primer*

5'-TGTA~~AA~~ACGACGGCCAGTCAGGTAGACGGGATAGACGA-3'

samt *reverse*

5'-CAGGAAACAGCTATGACCTTCTTCCTGGTCAACGACTG-3'

baserat på andra studier. Precis som för mtDNA primers utgörs de första arton baserna i primersekvensen av en M13-linker (se fetstil). Amplifiering av *PKD1*-genen följde protokollet: 95 °C i 10 min följt av 35 cykler av 95 °C i 15s, 58 °C i 30s och 72 °C i 45s. Avslutningsvis 5 min vid 72 °C för slutdenaturering innan proverna lagrades vid 4 °C. I övrigt var metoden samma som vid sekvensering av mtDNA.

Ej sekvenserade prover

Prover där DNA koncentrationen var för låg, sekvenserades inte. Ytterligare försök till extrahering gjordes för sex prover med Saliva DNA Isolation Kit (Magnetic Bead System) (Norgen Biotek Corp., Thorold, Ontario, Canada) men koncentrationen förblev för låg för sekvensering. Ny provtagning utfördes för ett av de sex proverna varpå tillräcklig mängd DNA kunde extraheras och efterföljande sekvensering kunde utföras. Samtliga prover från individer som var syskon eller mor och barn sekvenserades.

Sekvensanalys

3.2.3 mtDNA

Sekvenserna redigerades i Bioedit, 7.7.1.0 (Hall 2021). Sylvesterreferenssekvensen (Genbank accessionsnummer: U20753.1: 16814-206) användes som referenssekvens vid redigering. Detta för att erhålla rätt längd på sekvenserna, vid jämförelse vid andra studier, och togs bort innan FASTA filen exporterades. Fylogenetisk analys gjordes därefter i MEGA 11 (Tamura, Stecher & Kumar 2021), båda bland provtagna svenska individer samt vid jämförelse med haplotyper A-L som beskrivs av Grahn *et al.* (2011) samt haplotyper PL01-PL21 från Glazewska & Kijewski (2017). Vid de fall där två sekvenser erhöles från individer av samma moderslinje, valdes en av sekvenserna ut till analys.

3.2.4 *PKD1*-mutationen

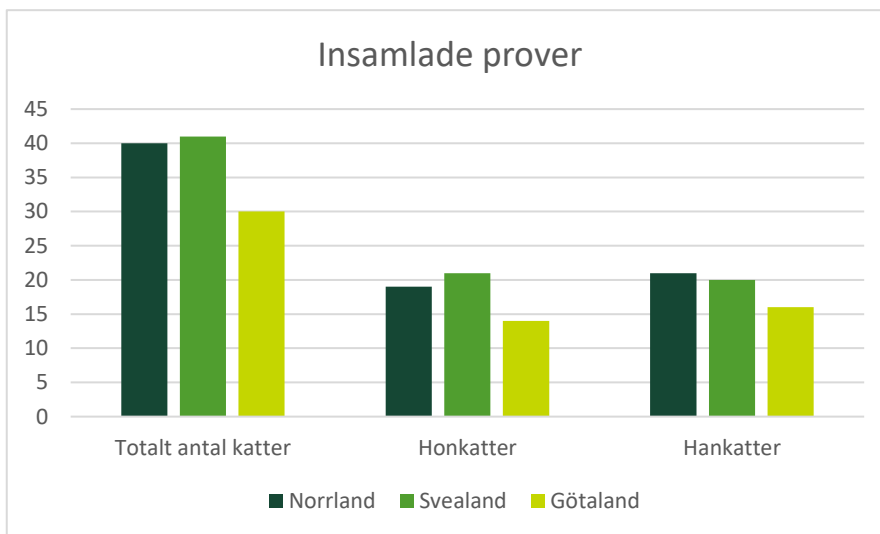
Analys av DNA-sekvenserna för undersökning av förekomst av g.42858112C>A transversionen utfördes i Bioedit. Sekvenserna jämfördes med Polycystin-1 genen hos en individ som bar på *PKD1*-varianten (Genbank accessionsnummer:

AH014595.2 1934-2334). Samtliga sekvenser undersöktes huruvida de bar på varianten eller inte. De prover som hade en eller flera indels vidare analyserades med hjälp av CodonCode Aligner (CodonCode Corporation 2023).

4. Resultat

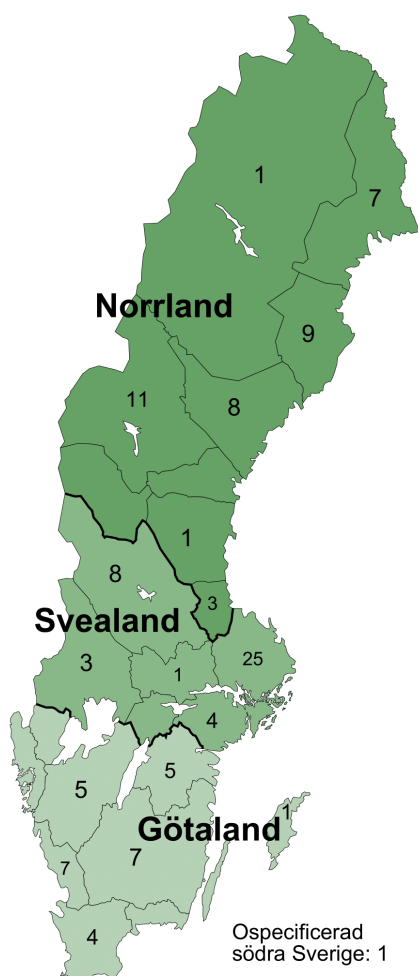
4.1 Insamlade prover

Totalt inkom 115 prover under insamlingsperioderna. Av samtliga prover var 111 huskatter, varav 102 ej hade någon känd eller starkt misstänkt rasinblandning på moderns sida. Totalt insamlades fyra prover från katter av rasen europé, varav tre honkatter och en hankatt. Figur 1 visar totalt antal katter från respektive landsdel samt fördelningen av hon- och hankatter.



Figur 1. Stapeldiagram som visar antalet prover från huskatter som inkommit från respektive landsdel samt könsfördelningen.

Totalt samlades det in 40 huskattprover från olika delar av Norrland, 43 prover från Svealand samt 32 prover från Götaland. Honkatter representerade 49,6 % och hankatter 50,4 % av populationen. I figur 2 har antalet insamlade prover fördelats efter det landskap individen kommer från.



Figur 1. Bild av en karta över Sverige. med fördelning över prover från respektive landskap. Modifierad bild där antal kattprover per landskap är tillfört originalbilden ("Sverigekarta-Landsdelar, namn och landskap" av Lapplänning [CC BY-SA 2.5]).

På kartan över Sverige är antal huskattprover från respektive landskap utskrivet. Insamlade prover från europé är inte utskrivna. Siffrans placering inom landskapen har ingen betydelse över var inom landskapet proverna härrörde från. Flest antal prover från Norrland kom från Jämtland (n=11). Flest antal prover från Svealand kom från Uppland (n=25) och störst antal prover från Götaland insamlades från Halland respektive Småland, med sju prover per landskap. En individ beskrevs endast komma från södra Sverige. Inga prover inkom från landskapen Medelpad, Härjedalen, Närke, Dalsland, Bohuslän samt Blekinge och Öland.

4.2 Mitotyper bland Sveriges huskatter och europé

Totalt insamlades prover från 115 olika individer. Endast fyra prover samlades dock in från europé, varav två delade moderslinjer, vilket innebar potentiellt tre olika mitotyper. Av 111 prover från huskatter, fanns totalt 84 prover med tillräcklig DNA-koncentration samt som var från individer som inte delade moderslinje samt utan känd rasinblandning på moderns sida.

4.2.1 Fördelning inom Sverige

Bland totalt 84 individer kunde elva olika mitotyper identifieras. De olika mitotyperna benämndes SE01-SE11 (Tabell 1).

Tabell 1. Fördelningen av de olika mitotyperna bland europé samt huskatter, fördelat efter respektive landsdel.

	Identisk mitotyp	Huskatter Norrland	Huskatter Svealand	Huskatter Götaland	Europé	Totalt (st)	Totalt (%)
SE01	A, PL01	15	17	16	1	49	58,3 %
SE02	B, PL04	3	7	1	2	13	15,5 %
SE03	I, PL02	3	3	-	-	6	7 %
SE04	F, PL03	3	1	1	-	5	6 %
SE05	C, PL05	2	3	-	-	5	6 %
SE06	G	-	-	1	-	1	1,2 %
SE07	PL19	1	-	-	-	1	1,2 %
SE08	-	-	-	1	-	1	1,2 %
SE09	PL13	-	-	1	-	1	1,2 %
SE10	PL08	-	1	-	-	1	1,2 %
SE11	A3	1	-	-	-	1	1,2 %

SE01 och SE02 var de vanligaste mitotyperna och representerade tillsammans 73,8 % av populationen. SE01, SE02 samt SE04 kunde identifieras hos huskatter från samtliga landsdelar och provtagna européer bar också på antingen SE01 eller SE02. Mitotyp SE03 samt SE05 kunde endast hittas hos huskatter från Norrland samt Svealand medan SE06-SE11 endast kunde identifieras hos enstaka individer från olika landsdelar.

skiljde sig SE11 från haplotyp A med endast en nukleotid vid position 382 vilket Grahn *et al.* (2011) beskrivit som en subtyp till haplotyp A, nämligen A3. Haplotyper SE07, SE09 samt SE10 var identiska med tre olika polska haplotyper; PL19, PL13 respektive PL08. SE08 var vid fylogenetisk analys inte identisk med någon beskriven haplotyp, men skiljde sig endast med en nukleotid från både haplotyp B (255T>C) respektive J (365T>C). Förhållande mellan de svenska mitotyperna samt ovan beskrivna utländska varianter beskrevs även i tabell 1 ovan.

4.3 Förekomst av PKD-varianten g.42858112C>A

Polycystin-1 genen sekvenserades i 93 prover. Av dessa kunde 89 vidare analyseras. Alla prover även från besläktade individer användes vid analys av PKD-varianten. Tabell 2 visar vilken genotyp huskatter respektive europé bar på vid position g.42858112C>A.

Tabell 2. Förekomst och frekvens av *PKDI*-mutationen (g.42858112C>A) hos huskatter samt europé från olika landsdelarna.

Genotyp	Norrland	Svealand	Götaland	Europé
C/C	28	29	23	4
C/A	-	2	-	-
A/A	-	-	-	-
Okänt	2	1	-	-

Bland 89 DNA-sekvenser kunde g.42858112C>A mutationen identifieras hos två heterozygota individer. Ingen individ var homozygot A/A. Hos tre DNA-sekvenser kunde en indel (Tabell 3, indel 1) identifieras som medförde att det ej gick att urskilja vilken genotyp individen bar på och hamnade därför i kategorin ”okänt”.

4.3.1 Genetisk variation inom Polycystin-1 genen

Vid analys av *PKDI*-genen undersöktes även förekomst av annan genetisk variation än vid g.42858112C>A. Baserat på den jämförda sekvensen (GenBank accessionsnummer: AH014595,2, 1934-2334) kunde variation hos flertalet individer identifieras vid g.42857937 samt vid g.42858046. För variation vid g.42857937, se Tabell 3. Vid g.42858046 sågs variation hos två individer från Svealand, där den ena bar på genotyp G/G och den andra G/A. Resten av populationen bar på genotyp A/A. Ytterligare genetisk variation i form av punktmutationer kunde identifieras för enstaka individer vid flertalet positioner men diskuteras inte vidare i detta arbete.

Utöver ovan nämnd diversitet sågs även två indels, 1 och 2. Två individer från Norrland samt en huskatt från Svealand bar på indel 1 i heterozygot form. Det gick

ej från analys att avgöra hur många baser indel 1 innefattade eller huruvida dessa individer bar på mer än ovan beskrivna indels. Ingen europé och inga huskatter från Götaland bar på indel 1. Resterande n=26 huskatter från Norrland, n=30 från Svealand, n=23 från Götaland samt samtliga provtagna européer bar inte på indel 1 i någon form. Variation vid g.42857937 samt avseende indel 2 är beskrivna i tabell 3.

Tabell 3. Genetisk variation inom PKD1-genen, fördelat mellan huskatter från Sveriges olika landsdelar samt europé.

	Norrland	Svealand	Götaland	Europé
g.42857937				
G/G	9	11	5	1
G/A	9	13	13	3
A/A	10	7	5	0
<i>Allelfrekvens: G</i>	48,2 %	56,5 %	50 %	62,5 %
Indel 2				
GGGGGGCCCCGA/ GGGGGGCCCCGA	12	14	6	
GGGGGGCCCCGA/-	10	11	12	3
-/-	6	6	5	1
<i>Allelfrekvens</i>	60,7 %	62,9 %	52,5 %	37,5 %
GGGGGGCCCCGA				

Allelfrekvensen för G vid g.42857937 varierade från 48,2 %-56,5 % hos huskatter från olika landsdelar medan den var 62,5 % hos europé. Indel 2 är 11 bp lång (GGGGGGCCCCGA) och identifierades i slutet av genen. Allelfrekvensen för indel 2 var 37,5 % för européer. Hos huskatter varierade allelfrekvensen för GGGGGGGCCCCGA mellan 52,5-62,9 % från huskatter mellan olika landsdelar.

5. Diskussion

5.1 Insamling och provtagning

5.1.1 Har vi representativa populationer?

Från de olika landsdelarna samlades prover in från 21-32 huskatter medan endast fyra prover samlades in från katter av rasen europé. Samtliga svenska uppfödare av rasen europé kontaktades via epost men tyvärr erhöles endast svar från två, varav prover endast hann insamlas från den ena. En längre insamlingstid hade därmed kunnat öka insamlingsantalet. En annan viktig faktor är att det helt enkelt finns betydligt färre katter av rasen europé i Sverige, jämfört med huskatter. Enligt kattregistret från Jordbruksverket (2023) registrerades 2259 katter av rasen europé under 2023. Antalet huskatter var fler än 300 000. Då är inte heller antalet katter som delar moderslinje beräknat, vilket skulle minska antalet vidare. Vidare skulle bristen på antalet prover från europé även kunna tyda på att dessa djurägare helt enkelt inte har samma intresse i undersökning av kattens genetiska bakgrund. Medan många huskatter har okänd bakgrund kan släkträd hos en europé följas tillbaka via dess stamtavla. Målet som var att få in minst 20 huskattprover från samtliga landsdelar nåddes därmed, medan målet att även få in minst 20 prover från europé ej nåddes. Proverna från huskatterna är därmed betydligt mer representativa för den riktiga populationen. Därmed kan bättre slutsatser dras hos huskatterna jämfört med europépopulationen. Det är inte alls säkert att dessa fyra individer är representativa för hela rasen och vid provtagning av fler individer kan resultatet i teorin förändras drastiskt.

5.1.2 Utvärdering av insamlingen

Bortfall

Populationen bestod efter genomgång av prover och extrahering av DNA, av 81 huskatter vars mtDNA-sekvens analyserades. Detta innebar ett bortfall på 30 huskatter, d.v.s. 27 % av provtagen population. Bortfallet orsakades av flera faktorer. Ett antal katter togs bort eftersom de hade känd rasinblandning på moderns sida.

Vidare var ett antal syskon eller mor och barn vilket medförde att de representerade samma moderslinje. Flera faktorer påverkade detta och åtgärder hade kunnat tas för att förhindra ett så pass stort bortfall. Genom en insamling med t.ex. tydligare betoning på att endast en katt i en kull provtas skulle bortfall av katter som delar moderslinje kunnat undvikas. Vidare skulle en tydligare kommunikation med djurägare innan provtagning kunnat minska att katter med rasinblandning hade samlats in. Ytterligare en faktor som bidrog till bortfall var för låg DNA-koncentration. Exempelvis hade en åtgärd där kunnat var att provtagning utförs av en person som är mer van, i stället för varje enskild djurägare. Däremot skulle det innebära större svårigheter att samla in katter från hela landet. Det är inte heller säkert att en för låg DNA-koncentrationen i alla situationer orsakades som följd av bristfällig provtagning.

Fenotyper

Djurägare som bidrog i arbetet fick utöver att ta en munsvabb på sin katt även fylla i ett djurägarformulär. Det var även frivilligt att skicka en bild på sin katt. Det hade varit intressant att titta närmre även på fenotypfördelningen mellan de svenska huskatterna. Dock samlades inte bilder in från samtliga katter, eftersom det var frivilligt. Det skulle därmed vara svårt att med säkerhet säga att en katt som beskrivits på ett sätt av en person inte skulle beskrivas på ett annat sätt av någon annan. För att med säkerhet veta om det är en slump eller inte behövs vidare undersökning av populationen och bilder på samtliga katter. Genom att låta en och samma person beskriva pälsfärg och -teckning skulle fördelningen bli mer konsekvent.

Landsdel eller landskap

Insamlingen i detta arbete gjordes på landsdelsnivå för att förhoppningsvis kunna samla in ett tillräckligt stort antal katter, på ganska kort tid. Detta medförde att katterna fördelades till sin landsdel, utan hänsyn till t.ex. vilket landskap de kom från. Det hade varit intressant att titta ännu mer specifikt dock, på landskapsnivå. Det gick inte att fördela katterna i efterhand efter landskap eftersom antalet katter från respektive landskap var väldigt ojämn, t.ex. att 27 prover samlades in från Uppland, men endast ett prov från Lappland. Landsdelarna ger en grov vy över hur genetiska diversiteten varierar inom landet t.ex. kunde vi se att ett antal mitotyper inte kunde hittas i Götaland. Det är dock inte optimalt. Katter kan t.ex. komma från norra Dalarna eller södra Härjedalen men då klassas som olika landsdelar även om de inte härrör från mer än ett par mil från varandra. Det är mycket möjligt att huskatter rört sig mellan två näraliggande landskap. Om detta skett mellan två landskap inom samma landsdel skulle inte det ha betydelse för arbetet men om liknande skett t.ex. mellan Dalarna Gästrikland skulle det innebära att mitotyper som kanske inte finns i Lappland eller Norrbotten existerar i Gästrikland, vilket då

ger ett falskt intryck av variationen i norra Sverige. Då behövs dock också ett representativt antal katter insamlade, från respektive landskap, vilket ej var möjligt under detta arbete.

5.2 Genetisk variation inom Mitokondrie-DNA

5.2.1 Mitotyper

Svenska mitotyper

Flera mitotyper visade på variation mellan Sveriges olika landsdelar. SE02 var bland annat vanligare i Svealand där >50 % som bar på mitotypen kom från just den regionen. Även SE03 och SE05 hittades endast hos individer från Norrland och Svealand. Samtliga fynd skulle kunna tala för att vi har en skillnad i mitotypfördelningen mellan våra svenska landsdelar. Vidare var antalet katter i populationen som bar på en unik mitotyp 7,1 %. Dessa unika mitotyper, SE06-SE11, förekom i olika landsdelar. Med tanke på att så pass många mitotyper var unika ökar sannolikheten att de troligtvis förekommer hos fler individer, antingen i samma landsdel eller i någon annan region. Det är dock svårt att dra några slutsatser huruvida mitotyperna endast existerar i vissa landsdelar, eller hur vanliga eller ovanliga de är, baserat på detta resultat. För att kunna dra fler slutsatser krävs ytterligare provtagning av en större population för att se om mitotyperna dyker upp hos fler individer, eller förblir unika, samt om de håller sig till en region eller även kan ses i någon annan del av landet.

Har alla svenska mitotyper hittats?

Det är svårt att avgöra huruvida samtliga mitotyper som finns i landet hittats vid denna provtagning. Troligtvis finns det fler och det är möjligt att provtagning av 10-20 fler katter i Sverige skulle medföra att man hittar ytterligare en eller fler varianter. Något som talar för detta är till exempel att sex av de svenska mitotyperna endast påvisades hos enstaka individer. Om endast en av de individerna inte provtagits hade en hel mitotyp missats. Provtagning av endast en individ till skulle därmed teoretiskt kunna påvisa ytterligare en mitotyp. Det är däremot också möjligt att provtagning av fåtalet fler individer inte ger fler mitotyper. Eftersom SE01 är väldigt vanlig finns risken att provtagning av t.ex. tio individer till, endast påvisar fler individer bärande den mitotypen. Detta skulle dock inte utesluta att fler mitotyper inte finns i landet, utan endast att man missat dem vid insamling. Det är på så sätt svårt att med säkerhet säga att man i ett land identifierat samtliga mitotyper. Vidare är det därför också svårt att avgöra hur många katter som behöver provtas för att åstadkomma detta.

Jämfört med andra länder

Sannolikheten att de unika svenska mitotyperna SE06-SE11 finns hos fler individer i Sverige samt troligtvis även i fler delar av landet stärktes ytterligare vid fylogenetisk jämförelse med mitotyperna A-L samt PL01-PL21. Den enda mitotyp som hittades i den svenska populationen som inte var identisk med någon av ovan nämnda haplotyper var SE08. Mitotypen återfanns dock endast hos en individ och det går därför inte att säga något i nuläget om dess utbredning i Sverige utan där krävs vidare provtagning.

Resultatet i denna undersökning stödjer delvis de fynd som Arcieri *et al.* (2016) gjorde i sin undersökning mellan USA och Kanada. Det vill säga både likheter och skillnader observerades mellan länder som låg geografiskt sett nära varandra. Det som behöver tas hänsyn till vid denna diskussion är dock att varken Polen, Sverige eller Nederländerna är grannländer. För att undersöka förhållandet närmre krävs därmed vidare undersökning hos t.ex. Norge. Vissa slutsatser kan dock ändå dras baserat på detta resultat och tidigare studier. Polen, Sverige och Nederländerna är geografiskt länder som ligger relativt nära varandra. Vissa delar av resultatet talar t.ex. för att näraliggande länder har större likheter avseende katternas mitotypfördelning. Till exempel var mitotyp A vanligast, både i Sverige, Polen (Glazewska & Kijewski 2017) och Nederländerna (Wesselink *et al.* 2015). Å andra sidan var mitotyp A även vanlig i USA och Kanada. Dock representerade mitotypen betydligt högre andel av populationen i de europeiska populationerna medan andelen i t.ex. USA var runt 20 %. Vidare fanns mitotyp C som är vanligast i Kanada (Arcieri *et al.* 2016) endast hos fåtalet individer i de svenska och polska populationerna. Ytterligare resultat som talar för teorin är förekomsten av mitotyp I. Denna variant som tidigare endast hittats hos fåtalet individer i världen, representerade över 10 % av den polska populationen (Glazewska & Kijewski 2017) och 7 % av de svenska huskatterna. Precis som Arcieri *et al.* (2016) kom fram till ses dock även signifikanta skillnader mellan näraliggande länder. Resultatet från denna undersökning visar antydning till att länder som ligger längre bort från varandra kan ha fler likheter jämfört med geografiskt näraliggande länder. Det fanns exempelvis mitotyper i Polen och USA som inte sågs i Sverige överhuvudtaget, bland annat D, H och E. Dessa representerade dock endast en liten procent av den polska populationen. Möjligheten finns därmed att mitotyperna förekommer i Sverige, men inte har påvisats vid denna provtagning. Vidare var mitotyp B som var vanligast i USA, näst vanligast i Sverige, men endast fjärde vanligast i Polen. Utan att ha provtagit katter från Norge och Finland kan därmed inga slutsatser dras avseende de katternas mitotypfördelning. För att få en korrekt uppfattning krävs en egen undersökning för det landet. Det är dock troligt att mitotyp A skulle vara vanligast i Norge och Finland, eftersom den är vanligast i både Sverige, Polen och Nederländerna. Därefter blir det dock svårare att dra slutsatser om fördelningen av resterande mito-

typer. En fundering är t.ex. om I är fortsatt vanlig även i de populationerna samt hur vanliga t.ex. B och C är.

Mitotyper hos europén

Antalet européer som deltog i arbetet var för få för slutsatser ska kunna dras avseende rasens genetiska variation. De européer som provtogs i undersökningen bar på en av de två vanligaste mitotyperna i populationen, SE01 eller SE02. Det enda som egentligen går att säga utifrån detta resultat är dock att katter av rasen europé finns som bär på samma mitotyper som identifieras hos många huskatter i Sverige. Med tanke på de fynd som tidigare gjorts av Grahn *et al.* (2011) och Wesselink *et al.* (2015) är dock det inte särskilt överraskande. För att kunna dra fler slutsatser, om det t.ex. finns en skillnad i mitotyperfördelning mellan huskatt och europé eller vilka mitotyper som existerar inom rasen krävs vidare provtagning.

5.3 *PKD1*-varianten

Den punktmutation, g.42858112C>A (c.10063C>A), som orsakar polycystisk njursjukdom, kunde påvisas i en population av huskatter, om än i väldigt låg anlagsbärfrekvens (2,3 %). Likt tidigare studier kunde ingen individ som var homozygot för mutationen identifieras, utan de två huskatter som bar på mutation var C/A. Vidare hade den ena individen känd inblandning av renrasig perser vilket skulle kunna tala för att mutationen härrör från den släktingen. Det kan dock inte uteslutas att individen erhållit mutationen från någon annan släkting. Den andra individen däremot var av okänd genetisk bakgrund vilket medför att det är svårare att avgöra var ifrån mutationen härrör. Möjligheten är såklart stor att även denna individ har renrasig perser i sig eller, till exempel *british fold*, en annan ras där man påvisat mutationen (Bilgen *et al.* 2020). Utan vidare undersökning av individens genetiska härkomst går det dock inte att med säkerhet utesluta att mutationen erhållits på annat sätt än arv från raskatt.

5.3.1 Genetisk variation inom Polycystin-1 genen och jämfört med mitokondrie-DNA

Utöver att undersöka om population bar på g.42858112C>A varianten eller ej, undersöktes även annan genetisk variation i den sekvenserade delen av *PKD1*-genen. Inga större skillnader kunde ses mellan huskatter från olika landsdelar. Skillnad observerades dock mellan allelfrekvenserna hos européerna jämfört med allelfrekvenserna inom huskattpopulationen. Detta resultat skulle kunna visa på en genetisk skillnad mellan huskatt och europé, men som tidigare nämnts är det svårt att dra slutsatser baserat på resultatet från en så pass liten population och vidare provtagning behövs.

6. Konklusion

I detta arbete har den genetiska variationen undersökts bland huskatter, samt raskatten europé. Diversiteten har både undersökts inom Sverige samt med andra länder. Vidare har kattpopulationen undersökts avseende den mutation som orsakar PKD och annan genetisk diversitet inom den genen.

Inom Sverige observerades en skillnad avseende vilka mitotyper som förekommer hos katter från olika landsdelar, där den tredje och femte vanligaste mitotyperna endast sågs i Norrland och Svealand. För att kunna dra fler slutsatser behövs vidare undersökning i form av mer provtagning samt undersökning på t.ex. landskapsnivå. Det kunde inte observeras någon signifikant skillnad över hur många mitotyper observerades i respektive landsdel. Antalet européer i undersökningen var för få (n=4) för att dra några slutsatser om deras genetiska variation. De mitotyper som förekommer i Sverige har även observerats i tidigare studier, i andra länder, med undantag för SE08 som inte var identisk med varken någon universal mitotyp A-L eller någon subtyp.

Två huskatter i populationen bar på g.42858112C>A som leder till utveckling av sjukdomen PKD. Vid jämförelse mellan variation inom *PKDI*-genen och mtDNA visade mtDNA-variation på större skillnader mellan huskatter från olika landsdelar. Variationen inom *PKDI*-genen påvisade dock större skillnader mellan huskatt och europé, jämfört med mtDNA. För att vidare undersöka likheter och skillnader mellan genetiska variation mellan huskatt och raskatt krävs dock också vidare provtagning och analys av flera delar av genomet.

Referenser

- Arcieri, M., Agostinelli, G., Gray, Z., Spadaro, A., Lyons, L.A. & Webb, K.M. (2016). Establishing a database of Canadian feline mitotypes for forensic use. *Forensic Science International: Genetics*. 22, 169-174. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.02.013>
- Bilgen, N., Türkmen, M.B., Çınar Kul, B., Isparta, S., Şen, Y., Akkurt, M.Y., Çıldır, Ö.Ş. & Bars, Z. (2020). Prevalence of PKD1 gene mutation in cats in Turkey and pathogenesis of feline polycystic kidney disease. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 32, 549-555. <https://doi.org/10.1177/1040638720935433>
- CodonCode Corporation (2023). *CodonCode Aligner* (11.0) [Programvara]. <https://www.codoncode.com/index.htm>
- Fletcher, H. & Hickey, I. (2013). *Genetics*. 4th ed. Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC.
- Glazewska, I. & Kijewski, T. (2017). A new view on the European feline population from mtDNA analysis in Polish domestic cats. *Forensic Science International: Genetics*. 27, 116-122. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2016.12.010>
- Grahn, R.A., Kurushima, J.D., Billings, N.C., Grahn, J.C., Halverson, J.L., Hammer, E., Ho, C.K., Kun, T.J., Levy, J.k., Lipinski, M.J., Mwenda, J.M., Ozpinar, H., Schuster, R.K., Shoorijeh, S.J., Tarditi, C.R., Waly, N.E., Wictum, E.J. & Lyons, L.A. (2011). Feline non-repetitive mitochondrial DNA control region database for forensic evidence. *Forensic Science International: Genetics*. 5, 33-42. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2010.01.013>
- Grahn, R.A., Alhaddad, H., Alves, P.C., Randi, E., Waly, N.E. & Lyons L.A. (2015). Feline mitochondrial DNA sampling for forensic analysis: When enough is enough! *Forensic Science International: Genetics*. 16, 52-27. <https://doi.org/10.1016%2Fj.fsigen.2014.11.017>
- Gray, M.W., (2013). Mitochondrial DNA. I: Maloy, S. & Hughes, K. (red.) *Brenner's Encyclopedia of Genetics*. 2nd ed. Dalhousie University, Halifax, NS, Canada. 436-438. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00958-X>
- Hall, T. (2021). *Bioedit* (v7.7.1.0) [Programvara]. <https://thalljiscience.github.io/>
- Helps, C., Tasker, S. & Harley, R. (2007). Correlation of the feline PKD1 genetic mutation with cases of PKD diagnosed by pathological examination. *Experimental and Molecular Pathology*. 83, 264-268. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2007.04.002>

- Jordbruksverket (2023). *Statistik ur kattregistret*. <https://jordbruksverket.se/e-tjanster-databaser-och-appar/e-tjanster-och-databaser-djur/kattregistret/statistik-ur-kattregistret> [2023-10-30]
- Lyons, L.A., (2012). The Feline Genome and Clinical Implications. I: Little, S.E. *The Cat – Clinical Medicine and Management*. 1263-1269. <https://doi.org/10.1016%2FB978-1-4377-0660-4.00043-0>
- Lyons, L.A., Biller, D.S., Erdman, C.A., Lipinski, M.J., Young, A.E., Roe, B.A., Qin, B. & Grahn R.A. (2004). Feline polycystic kidney disease mutation identified in PKD1. *Journal of the American Society of Nephrology*. 15, 2548-2555. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000141776.38527.bb>
- Malik,R. (2001). Genetic diseases of cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2, 109-13. <https://doi.org/10.1053/jfms.2001.0121>
- Nationalencyklopedin (u.å). *Huskatt*. <https://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/enkel/huskatt> [2023-10-30]
- Nationalencyklopedin (u.å). *Europé*. <https://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/1%C3%A5ng/europe> [2023-10-30]
- Nationalencyklopedin (u.å). *Katt*. <https://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/enkel/katt> [2024-01-21]
- Osellame, L.D., Blacker, S.t. & Duchon, M.R. (2012). Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 26, 6. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2012.05.003>
- Pierce, B.A. (2017). *Genetics: A Conceptual Approach*. 6th ed. W. H. Freeman and Company.
- Schirrer, L., Marín-García, P.J., Llobat, L. (2021). Feline polycystic kidney disease: An update. *Veterinary Sciences*. 8, 269. <https://doi.org/10.3390/vetsci8110269>
- Tamura, K., Stecher, G & Kumar, S. (2021). *MEGA 11* (11.0.13) [Programvara] <https://www.megasoftware.net/>
- Tarditi, C.R., Grahn, R.A., Evans, J.J., Kurushima, J.D. & Lyons L.A. (2011). Mitochondrial DNA sequencing of the cat hair: An informative forensic tool. *Journal of Forensic Sciences*. 56, 36-46. <https://doi.org/10.1111%2Fj.1556-4029.2010.01592.x>
- Watson, J.D., & Crick, F.H.C. (1953) Molecular structure of nucleic acids. *Nature*. 171, 737-738. <https://www.nature.com/scitable/content/Molecular-Structure-of-Nucleic-Acids-16331/>
- Wesselink, M., Bergwerff, L., Hoogmoed, D., Kloosterman, A.D. & Kuiper, I. (2015). Forensic utility of the feline mitochondrial control region – A Dutch perspective. *Forensic Science International: Genetics*. 17, 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.03.004>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Katten är ett av de vanligaste husdjuren i våra hem och bland svenska katter är den så kallade huskatten den vanligaste förekommande. En huskatt, blandraskatt eller ibland även kallad bondkatt, är en katt utan stamtavla. Det innebär att individen alternativt dess föräldrar inte varit registrerade i någon kattförening. Motsatsen till huskatt, är en raskatt. Ett exempel på en av de raskatter som förekommer i Sverige är europén, en raskatt som härstammar från våra gamla bondkatter.

Kattens genetiska information återfinns, precis som människans, i det vi kallar för DNA. En molekyl som till största del återfinns i kärnan i våra celler. DNA återfinns dock även på andra ställen än i cellkärnan till exempel hos mitokondrier, en organell som är mest känd för att fungera som cellens energikraftverk. Det DNA som återfinns i mitokondrier, ärvs endast från modern, till skillnad från det mesta av vårt DNA där man ärver en kopia från vardera föräldern. Genom att undersöka hur mitokondrie-DNA skiljer sig mellan olika individer i en population kan man få en överblick över populationens genetiska variation. Om en population har många olika genvarianter är variationen stor. Detta arbete gick ut på att studera genetiska variation bland Sveriges huskattpopulation och jämföra den med variationen hos raskatten europé. Vi eftersträvade att undersöka en population av huskatter, utan känd rasinblandning på moderns sida. Den genetiska variation man sett i liknande kattpopulationer i andra länder användes också vid jämförelse.

Målet var att samla in prover från 20-30 huskatter från respektive landsdel samt 20-30 katter av rasen europé. Totalt inkom 115 prover, varav endast fyra från europé. Målpopulationen för arbetet var en huskattpopulation utan känd rasinblandning på moderns sida. Ett antal faktorer ledde till bortfall av de insamlade proverna. Detta inkluderar att vissa prover innehöll för liten mängd DNA för analys, att det fanns en tydlig rasinblandning på moderns sida samt att vissa katter delade samma moderslinje. Inom den svenska huskattpopulationen blev det i slutändan 81 provtagna katter vars DNA analyserades.

Inom populationen hittades 11 olika varianter av mitokondrie-DNA som benämndes SE01-SE11. För jämförelse har tidigare studier till exempel i Polen påvisat 21 olika varianter och i Kanada 15 varianter. I samtliga länder representerades majoriteten av populationen av en, två eller tre varianter som var betydligt

vanligare. I Sverige representerades exempelvis >70 % av provtagen population av de två vanligaste genvarianterna SE01 och SE02. Flera andra varianter, i vårt fall SE06-SE11, kunde däremot endast ses hos enstaka individer. Vid jämförelse mellan huskatter från Norrland, Svealand och Götaland sågs en viss skillnad. Till exempel återfanns två av de svenska varianterna endast i Norrland och Svealand. Bland de 4 prover från europé var två individer släkt på moderns sida och totalt undersöktes därmed 3 individer. Samtliga provtagna européer bar på antingen SE01 eller SE02.

Antalet huskatter ansågs troligtvis vara tillräckligt för att hitta de flesta varianter vi har i landet. Möjligheten finns dock att provtagning av ytterligare 10-20 individer skulle kunna påvisa fler. Antalet provtagna européer i arbetet var för lite för att några stora slutsatser kunde dras kring deras genetiska variation.

För att DNA ska kunna föra vidare vår genetiska information till nästa generation behöver molekylerna kunna replikera sig. Vid denna replikation blir det ibland fel, och den nya DNA-molekylen blir då annorlunda från originalet. Detta kallas för mutationer. Mutationer leder ibland till sjukdom. En sådan sjukdom som orsakas av en mutation är polycystisk njursjukdom, eller PKD. Sjukdomen förknippas framförallt med rasen perser. Katter som drabbas utvecklar kronisk njursjukdom. PKD kan ärvas både från modern och fadern. Det räcker att katten får muterat DNA från ena föräldern för att utveckla sjukdom. Utöver genetisk variation undersökte arbetet även om någon av katterna i populationen bar på den mutation som orsakar PKD. Bland huskattpopulationen återfanns mutationen och därmed sjukdomen hos två individer. Ingen provtagen europé bar på mutationen.

Inom den gen där PKD-mutationen finns, sågs även genetisk variation mellan provtagna katter. De observationer som gjordes påvisade inga stora skillnader mellan huskatter från olika landsdelar. Skillnad kunde dock ses mellan huskatt och europé. På grund av storleken av provtagen europépopulation kunde inga större slutsatser dras. För att vidare studera genetisk variation inom dessa populationer krävs vidare undersökning och provtagning. Större populationer ger mer representativa data. Dessutom kan vidare analys hjälpa till att utröna om vi hittat de mitokondriella genvarianter som finns i Sverige, eller om det finns fler.

Bilaga 1

Bild på djurägarformulär som djurägare fick fylla i med information kring sin katt.

Formulär för djur och djurägare	
<i>Jag har blivit informerad om projektets syfte och genomförande samt hur personuppgifter hanteras. Jag godkänner att prov tas från nedan nämnda djur och används för genetiska studier samt att resultat från projektet får publiceras i oidentifierad form.</i>	
<input type="checkbox"/> Ja	
Djurägaruppgifter (namn, e-post):	Kattens namn:
Datum för provtagning:	Kattens ID-nummer/registreringsnummer (om ni vet):
Kattens ålder/födelsedatum:	Var är katten född (stad, län):
Inne-/utekatt:	Ras (blandras/Europé):
Pälsfärg och teckning:	Kön (om honkatt, kullar ja/nej, vet ni antal ungar?):
Lång-/korthårig:	Ögonfärg:
Det här vet jag om min katt (hur länge ni haft den, sjukdomshistorik, information om tidigare generationer, syskon etc. Om du provtar flera katter som på något sätt är släkt, beskriv hur, t ex katt X syskon eller förälder till katt Y. Om rutan ej är tillräcklig, skriv på baksidan av pappret):	
Jag vill skicka bild på min katt (som kan komma att vara med i slutlig presentation) ja/nej:	Fullständig provtagning (minst 10 sekunder): Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. **Som student äger du upphovsrätten** till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

- <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag ger härmed min tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag ger inte min tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.