

## MOLEKULARE GENETIK IN DER ERHALTUNG VON HAUSTIEREN

K. Schellander, G. Brem

Rassen sind Gruppen von Tieren, die sich aufgrund züchterischer Eingriffe durch einen einheitlichen vererbbaeren Phänotyp von Tieren derselben Spezies unterscheiden. Dieser phänotypischen Zusammengehörigkeit liegt ein distinktiver Genotyp zugrunde, der durch ein spezifisches DNA Muster charakterisiert ist. Als Folge der Änderung des qualitativen und quantitativen Anforderungsprofils an die Leistungskapazität (vor allem bei Nutztieren) war es in der Vergangenheit ökonomisch sinnvoller, autochtone Rassen zu ersetzen oder zu verdrängen, als innerhalb der existierenden Rassen durch Zuchtmaßnahmen sich an die geänderten Anforderungen (meist höhere Leistungen) anzupassen. Neben kulturellen und sozialen Gründen sprechen rein ökonomische Aspekte für die Erhaltung der genetischen Komponenten wichtiger Merkmale (z.B. Krankheitsresistenz, Langlebigkeit, etc.).

Um dem dynamischen Entwicklungsgeschehen in der Tierzucht und Tierproduktion Rechnung zu tragen, ist aus molekulargenetischer Sicht die Aufrechterhaltung der Kontinuität der genetischen Rekombination (Fortpflanzung) die Grundlage für eine Strategie, die die besonderen genetischen Merkmale seltener Rassen für Leistungszucht auch innerhalb anderer Rassen interessant machen. Dazu ist es notwendig, zunächst das Genom in ausreichender Schärfe zu charakterisieren, dann funktionelle Genbibliotheken anzulegen und letztlich Methoden zu entwickeln, mit denen benötigte Merkmale in Leistungspopulationen eingebracht werden können.

### *Genomanalyse*

Das Säugetiergenom ist etwa  $3 \times 10^9$  bp groß. Die Größe eines einzelnen Gens liegt im Bereich von  $10^3 - 10^6$  bp; ein Genkomplex ist etwa 50 - 5000 kb groß, ein einzelnes Chromosom hat etwa 100 cM (1 cM entspricht ungefähr 1000 bp). Für die Kartierung des Genoms werden Kopplungsstudien, somatische Zellhybridisierung und die in situ Hybridisierung eingesetzt.

---

This article was enclosed on the 3rd International DAGENE- symposium, Zagreb-Pag, 27.-30.09.1994. (See journal "Stočarstvo", vol. 48:273-432).

Ovaj članak je priložen "Trećem međunarodnom DAGENE- simpoziju", Zagreb-Pag, 27-30.09.1994. (povezan je sa zbornikom radova ovoga skupa u časopisu "Stočarstvo", vol. 48:273-432).

Karl Schellander, Gottfried Brem, Veterinärmedizinische Universität Wien Institut für Tierzucht und Genetik, 1030 Wien, Linke Bahngasse 11, Austria

### *Genkartierung mittels somatischer Zellhybridisierung*

Durch Fusion primärer Zellen mit immortalen Hamster- oder Mauszellen entstehen Hybriden, die während ihrer Teilung vorzugsweise die Nicht-Nager Chromosomen verlieren. Durch molekulare Analyse solcher Hybridzellen können Gene identifiziert werden, die Gemeinsam auf einem Chromosom sitzen (Synteniengruppen). Die Synteniengruppen (Auflösungsschärfe  $10^6 - 10^8$  bp) stellen die Grundlage für detaillierte Genomanalyse dar.

### *Genkartierung mittels in situ Hybridisierung*

Markierte genetische Sonden (Fluoreszenzmarkierung) werden in situ an Metaphasenchromosomen hybridisiert. Damit kann die Lokalisation eines Gens am Chromosom ermittelt werden (Auflösungsschärfe  $10^6 - 10^8$  bp).

### *Erstellung genetischer Mappen mittels Kopplungsanalysen*

Segregieren Allele von zwei Loci gemeinsam in der Nachkommenschaft, so sind sie wahrscheinlich gekoppelt (dh. auf einem Chromosom). Je größer die Distanz dieser beiden Loci ist, desto mehr Rekombinationsereignisse werden beobachtet. Die genetische Distanz wird in "cross over units" (oder cM) angegeben.

Für eine effiziente Analyse werden hier hoch polymorphe Markerloci benötigt (im Idealfall nicht weniger als 40 cM voneinander entfernt), da die Eltern an beiden Markerloci heterozygot sein müssen. Geeignete Markerloci stellen Microsatelliten dar. Microsatelliten sind DNA Sequenzen, die durch Tandemwiederholungen kurzer DNA Motive in variabler Anzahl entstehen. Sie durchziehen das gesamte Genom, durch die variable Anzahl der Wiederholungen sind sie hoch polymorph. Mittels der effizienten Polymerasekettenreaktionsmethode kann der Microsatellitenpolymorphismus ermittelt werden, und damit steht ein umfangreiches Markerprogramm zur Verfügung.

### *Genbibliotheken und Genkartierung*

Genomische DNA kann aus allen kernhaltigen Zellen gewonnen werden. Sie ist nach der Isolierung stabil und kann über Jahre gelagert werden. Um Gene aus dem Gesamtgenom zu isolieren und zu identifizieren, wird häufig eine sogenannte "DNA-Bibliothek" angelegt. Dazu wird die isolierte DNA mit Restriktionsenzymen partiell geschnitten und die entstandenen Fragmente in Vektoren kloniert. Über das Phagensystem werden die Vektoren in Bakterien vermehrt (= Genbank). Die Bakterienklone werden mit einer Probe durchgemustert und positive Klone identifiziert, amplifiziert und die gewonnene DNA sequenziert. Damit kann die Gensequenz bis auf ein Basenpaar exakt definiert werden. Die Größe der DNA Bank, die notwendig ist, um eine bestimmte Frequenz zu erhalten, hängt von der Größe der Fragmente und der Genomgröße ab (etwa 700 000 bei einem 20 kb Fragment). Identifizierte Gene können mit Standardmethoden sequenziert werden. Damit ist die Struktur des Einzelgens aufgeklärt. Genpolymorphismen werden dadurch identifiziert und können Grundlage

für Selektionsentscheidungen sein. Mittels der Polymerasekettenreaktionsmethode können bekannte DNA- Abschnitte amplifiziert (vermehrt) werden. Als Ausgangsmaterial werden nur wenige DNA-Kopien benötigt. Diese Methode eignet sich auch zur genetischen Analyse von wenigen Zellen (z.B. Blastomeren von Embryonen). Amplifiziert man jene Abschnitte, innerhalb derer sich Polymorphismen befinden, können die Allele auf DNA-Ebene identifiziert werden. Sind nun sehr viele informative Marker über das gesamte Genom identifiziert, so kann die Suche nach gekoppelten Loci stattfinden, die für die Ausprägung quantitativer Leistungsmerkmale oder auch qualitativer Merkmale verantwortlich sind (QTL). Bei positiver oder negativer Korrelation kann die Selektion dann auf markergestützte Daten zurückgreifen. Sind Erbfehler (häufige monogen oder majorgen) mit genetischen Markern gekoppelt (z.B. Weaver), so läßt sich eine Selektion auch in diese Richtung vornehmen.

#### *Nutzung von Genen seltener Rassen*

Sind die Gene sequenziert und auf ihre Funktionsfähigkeit *in vitro* getestet, so können sie mit mikrochirurgischen Techniken wieder in die Keimbahn von Tieren integriert werden. Dieses Verfahren hat große Bedeutung für die Aufklärung von Genwirkungen (Wachstum, Zellteilung, Differenzierung, Zelltod). In der Landwirtschaft erscheint es ökonomisch derzeit nur in wenigen Fällen (z. B. Pharmaceutical farming) anwendbar zu sein. Der Hauptnachteil dieses Verfahrens liegt darin, daß die transferierten Gene nicht gezielt in gewünschte Genorte plaziert werden können und daher die Vorhersage der Genwirkung eingeschränkt ist. Weiters ist der Aufwand groß bis transgene Tierlinien hergestellt sind, sodaß der Effekt des Transgens einiges über den jährlichen Zuchtfortschritt liegt muß, um mit konventioneller Tierzucht kompetitieren zu können.

#### *Velogenetik*

Trotzdem bieten verschiedene (oft zum Teil seltene) Rassen Eigenschaften für die auch in "modernen" Nutztierassen hoher Bedarf vorhanden ist (Die israelische Holsteinkuh hat z.B. durchschnittlich in ihrem Leben 2,3 Kälber). Hier ist eine Introgression von Genen über Kreuzungsverfahren dann möglich, wenn das Kreuzungsprogramm so konzipiert ist, daß innerhalb kurzer Zeit nur der gewünschte Genkomplex etabliert wird. Dieses Verfahren wird als Velogenetik bezeichnet. Es eröffnet die Möglichkeit, gezielt definitive Gene oder Genabschnitte aus Genomreserven in aktive Populationen einzubringen. Dazu benutzt man reproduktionsbiotechnologische Methoden mit gezielter *in vitro* Erzeugung von Embryonen. Mit Hilfe molekularer Embryogenotypisierung kann die Selektion auf das einzukreuzende Merkmal präimplantativ erfolgen. Die nächste Oocytengeneration wird im juvenilen Alter der Nachkommen genommen. Durch ständige "in-vitro Rückkreuzungen" mit molekularer Analyse des einzubringenden Merkmals in den Nachkommens-embryonen wird die Ausgangspopulation wieder erreicht, die aber um das aus dem Genpool stammende Merkmal polymorpher geworden ist.

*Schlußfolgerung*

Aus molekulargenetischer Sicht ist die Analyse und Typisierung des Genoms der vom Aussterben bedrohten Haustiere auf DNA Ebene eine wesentliche Voraussetzung zur Erhaltung dieser Rassen. Kombinierte biotechnologische und molekularanalytische Techniken erlauben den Einsatz des Genpools für die kontemporäre Tierzucht und Tierproduktion.