

Der besondere Bericht

DNA-Technologie – Molekulargenetische Werkzeuge für den Einsatz beim DRC

Von: Dr. Eberhard Manz, Heidelberg (www.generatio.com)

Einleitung

Jedes Lebewesen, das aus geschlechtlicher Vermehrung hervorgeht, besitzt in den Körperzellen einen zweifachen Satz an Erbinformationen. Organisatorische Einheiten der Erbsubstanz sind die Chromosomen, der molekulare Baustein ist die DNS (engl. DNA). Ein Satz an DNA-Informationen entstammt der mütterlichen Eizelle, der zweite der väterlichen Samenzelle, die bei der Befruchtung miteinander verschmelzen. Absolut einmalig und spezifisch ist die genetische ‚DNA-Komposition‘ des Einzelindividuums; nur wenn sich nach der Verschmelzung der Keimzellen der frühe Embryo noch mal teilt, entstehen genetisch identische Wesen (eineiige Zwillinge).

Mithilfe molekulargenetischer ‚Werkzeuge‘ ist es möglich, die Zusammensetzung der DNA zu untersuchen und, je nach Zielsetzung, Ausgangsmaterial und Technologie, die spezifische Ausprägung bestimmter Abschnitte der DNA zu enthüllen. Im Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses steht dabei nach wie vor die Identifizierung der Informationen und Mechanismen, die zu bestimmten Eigenschaften und/oder Krankheiten führen. Die Methoden für die Bestimmung von Identität und Abstammung mittels direkter genetischer Informationen sind ein erfreuliches Zusatzprodukt von großer Bedeutung.

Identität und Abstammung

Für die Untersuchungen zu Identität und Abstammung stützt man sich auf DNA-Abschnitte (‚Marker‘), die ausschließlich Struktur gebend, also nicht kodierend für bestimmte Merkmale sind. DNA-Marker in diesem Einsatzgebiet müssen voneinander unabhängig sein und sollten, auf die Population gesehen, möglichst viele Ausprägungen (Allele) bei gleichmäßiger Verteilung der Allele aufweisen. Die Gesamtheit der Allele der Identitäts-Marker ergibt das *DNA-Profil* ‚Identität‘. Dessen Nützlichkeit hängt damit direkt von der Anzahl UND Qualität des verwendeten Sets an Markern ab. Allein auf die Anzahl der untersuchten Marker zu verweisen ist nicht ausreichend.

Genetische Identität im Sinne von Einmaligkeit ist dann gegeben, wenn eine Referenzprobe im Vergleich mit einer Kontrollprobe gleichchar-

tige (identische) DNA-Profile aufweist und die Wahrscheinlichkeit einer zufälligen Übereinstimmung statistisch ausgeschlossen ist. Die Wahrscheinlichkeit eines solchen Zufallstreffers lässt sich exakt angeben und errechnet sich aus den Häufigkeiten mit denen die einzelnen Allele des DNA-Profiles auftreten.

Die Überprüfung einer Abstammung erfolgt über den Abgleich der DNA-Profile von Welpen und angegebenen Elterntieren. Als ‚nicht ausgeschlossen‘ gilt eine Abstammung, wenn sich die Allele eines Nachkommen aus den DNA-Profilen der als Eltern angegebenen Tiere ableiten lassen. Die Aussage ist jedoch nur dann brauchbar, wenn eine fallspezifische, statistische Beurteilung, errechnet aus den Allelfrequenzen, ergibt, dass die angegebenen Elterntiere mit hinreichender Sicherheit eher zutreffend sind als beliebige oder bestimmte andere Tiere der Population.

Korrekte Abstammungen sind die Grundlage für alle Untersuchungen zur Erblichkeit einzelner Eigenschaften und Krankheiten. Generatio DNA-Profile sind so ausgelegt, dass auch bei den am engsten gezüchteten Rassen noch eine sichere Abstammungsbeurteilung gegeben ist.

Eigenschaften und Erbkrankheiten

Tritt ein bestimmter Phänotyp in 25% aller Nachkommen eines Elternpaares auf, so wäre das typisch für einen monogenen, dominant-rezessiven Erbgang des beobachteten Phänotyps, bei dem die beiden Elterntiere im Phänotyp vom Normaltyp, jedoch Träger der rezessiven Anlage sind. Dieser einfach zu beobachtende Erbgang gilt jedoch nur, wenn der normale und der abweichende Phänotyp allein durch die Unterschiede in einem einzelnen Gen bewirkt werden. Die Regel sind jedoch komplexe Merkmale, an denen eine Vielzahl von Genen zusammenwirkt.

Dank der technischen Fortschritte, insbesondere der Entschlüsselung der Gesamt-DNA des Hundes, ist es heute bei *monogenen Merkmalen* relativ einfach, die ursächliche Mutation einer Erkrankung zu identifizieren. Entscheidend für den Erfolg ist im Vorfeld das Untersuchungsmaterial bestmöglich auszuwählen, damit keine unnötigen Kosten durch die Untersuchung ungeeigneter Proben verursacht werden. Zum Ziel führend sind gesicherte Abstammungslinien, in denen das Merkmal familiär gehäuft auftritt sowie als Kontroll-

gruppe eine Linie, in der das Merkmal nicht beobachtet wurde. Über Genom-Assoziationsstudien wird dann ermittelt, welche bekannten DNA-Marker in diesen Tieren mit dem gesuchten Phänotyp gekoppelt sind. Ist auf diese Weise die chromosomale Lokalisation des Gens oder gar das Gen selbst ermittelt, ist die auslösende Veränderung schnell gefunden. Beispiele sind PRA (Progressive Retinaatrophie) und EIC (Exercise Induced Collapse). Eine Mutation an einer einzelnen DNA-Base des PRCD-Gens ist Auslöser des Krankheitsbildes der PRA bei Retrievern (Labrador R., Chesapeake Bay R. und Nova Scotia Duck Tolling R.). Auch für die EIC ist eine Einzelbasenmutation (im DNM1-Gen) verantwortlich.

Ist eine solche Mutation erst gefunden, kann mittels eines einfachen, sehr sicheren Tests, jedes Tier darauf untersucht werden, welche Erbinformationen es trägt. Mit Tieren, die heterozygote Träger der (unerwünschten) Mutation sind, kann, sofern die Anlage rezessiv ist, bedenkenlos gezüchtet werden, wenn Träger/Träger-Paarungen vermieden und die Nachkommen auf ihren Status getestet werden. In einem DNA-Programm erweitern die Informationen zu den Eigenschaften das individuelle DNA-Profil der Identität um das *DNA-Profil* ‚Anlagen‘.

Bei *komplexen Krankheitsbildern*, wie z.B. der Hüftgelenksdysplasie, sind zahlreiche, im Genom verteilte Gene, involviert, die mit unterschiedlicher Stärke, in Wechselwirkung mit Umweltfaktoren, zum Gesamtbild beitragen. Um hier den beteiligten Genen auf die Spur zu kommen, müssen DNA-gesicherte Abstammungen über mehrere Generationen vorliegen und zahlreiche Tiere auf die Verteilung der verschiedenen Ausprägungen untersucht werden. Wie bei den monogenen Erkrankungen erfolgen die Genom-Assoziationsstudien. Als Erfolg ist zu werten, wenn sich in Korrelation mit dem Krankheitsbild messbare Häufungen bestimmter Markerallele ergeben. Das Auftreten eines einzelnen assoziierten Markerallels bedeutet dabei noch nicht, dass die Krankheit auch manifestiert. Es gibt also keine Ja/Nein-Aussage wie bei den monogenen Erbkrankheiten, sondern die Gesamtheit aller, als beteiligt eingestuft Marker, muss berücksichtigt werden. Kann man feststellen, welchen Beitrag die einzelnen Marker zum Gesamtbild leisten, ist es möglich, daraus anhand des individuellen Allelmusters im Genotyp einen (genomischen) Zuchtwert abzuleiten.