

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	XIII
Tabellenverzeichnis Anhang.....	XV
Abkürzungsverzeichnis.....	XVI
1 Einleitung.....	1
2 Literatur.....	3
2.1 Genomanalyse Rind.....	3
2.1.1 Strukturelle Genomanalyse beim Rind.....	3
2.1.1.1 QTL-Kartierung.....	4
2.1.1.2 QTL-Feinkartierung.....	6
2.1.1.3 Marker-gestützte Selektion.....	7
2.1.2 Funktionelle Genomanalyse.....	8
2.1.3 Identifizierung von Kandidatengenen.....	9
2.1.3.1 Auswahl von Polymorphismen für Assoziationsstudien.....	11
2.2 Mastitis Rind.....	13
2.3 Funktion der somatischen Zellen.....	15
2.4 Genetische Parameter der Mastitis und der SCC.....	17
2.4.1 Heritabilität Mastitis / SCC.....	17
2.4.2 Genetische Korrelationen zwischen Mastitis und SCC sowie dieser mit anderen Merkmalen.....	20
2.5 SCC als indirektes Merkmal für die Eutergesundheit.....	23
2.6 Zucht auf Eutergesundheit.....	25
2.6.1.1 Merkmalerfassung und Zuchtfortschritt.....	25
2.6.1.2 Derzeit realisierte Zuchtstrategien.....	26
2.7 QTL für die somatische Zellzahl und Mastitis.....	28
2.8 Mit der Eutergesundheit zusammenhängende QTL auf BTA02.....	29
2.9 Kandidatengene für die SCC auf BTA02.....	30
2.9.1 Signal Transducer and Activator of Transcription 1.....	30
2.9.2 Interleukin-8-Rezeptor A.....	31
2.9.3 Insulin-Like-Grow-Factor -Bindungsprotein-2.....	33

2.9.4	Phosphatidylinositol-3-Phosphate /Phosphatidylinositol 5-Kinase, Type III ...	34
3	Material und Methoden	36
3.1	Material	36
3.1.1	Tiermaterial, Familienstruktur und Datenmaterial	36
3.1.1.1	QTL-Studie.....	36
3.1.1.2	Kandidatengenansatz.....	37
3.1.2	Verbrauchsmaterialien	38
3.1.3	Chemikalien	39
3.1.4	Reaktionskits	41
3.1.5	Größenstandards	41
3.1.5.1	Größenstandards für die Polyacrylamidgelelektrophorese mit dem ABI PRISM® 377 DNA Sequencer.....	41
3.1.5.2	Größenstandards zur Agarosegelelektrophorese	41
3.1.6	Enzyme.....	41
3.1.7	Oligonukleotide.....	42
3.1.8	Geräte	42
3.1.9	Referenzsequenzen.....	44
3.1.10	Computerprogramme	45
3.1.11	Datenbanken.....	45
3.2	Molekulargenetische Methoden	47
3.2.1	Kandidatengenauswahl.....	47
3.2.2	Auswahl der SNPs für Assoziationsanalysen.....	48
3.2.3	Gewinnung von Leukozyten aus Vollblut.....	49
3.2.4	Extraktion genomischer DNA aus Leukozyten.....	49
3.2.5	Extraktion genomischer DNA aus Tiefgefriersperma.....	49
3.2.6	Extraktion von mRNA aus Leukozyten	50
3.2.7	Reverse Transkription (cDNA-Synthese)	50
3.2.8	Amplifizierung ausgewählter Genbereiche mittels Polymerasekettenreaktion	50
3.2.8.1	Einzel-PCR.....	51
3.2.8.1.1	Primerauswahl.....	51
3.2.8.1.2	PCR-Bedingungen.....	54
	Tetra-Primer ARMS-PCR-Bedingungen	57
3.2.9	Amplifizierung von Mikrosatelliten.....	60
3.2.9.1	Mikrosatelliten- und Primerauswahl	60

3.2.9.2	Bedingungen Multiplex-PCR.....	62
3.2.10	Sequenzanalyse	65
3.2.10.1	Aufreinigung der PCR-Produkte	65
3.2.10.2	Sequenzierung spezifischer Genbereiche	65
3.2.11	Restriktionsspaltung	66
3.2.12	Gelelektrophorese.....	67
3.2.12.1	Agarosegelelektrophorese	67
3.2.12.2	Polyacrylamidgelelektrophorese	68
3.2.13	Statistische Methoden	69
3.2.13.1	Genotypen	69
3.2.13.2	Allel- und Genotypfrequenz.....	69
3.2.13.3	Markerkarte	69
3.2.13.4	QTL-Analyse.....	69
3.2.13.4.1	Kopplungsgleichgewicht.....	69
3.2.13.4.2	Kopplungsungleichgewicht.....	70
3.2.13.5	Assoziationsanalyse	70
3.2.13.5.1	Assoziationsanalyse in einem 20 cM großen, den SNP umschließenden, Fenster	70
3.2.13.5.2	Einfluss des Genotyps nach Laktationen getrennt	71
3.2.13.5.3	Interaktion zwischen Genotyp und Familie in den heterozygoten Familien.....	71
4	Ergebnisse	72
4.1	Mikrosatellitenanalyse	72
4.1.1	Typisierbarkeit der Mikrosatelliten	72
4.1.2	Allelfrequenz der Mikrosatelliten	73
4.1.3	Genotypen der Väter	73
4.1.4	Karten- und Markerinformation.....	73
4.1.5	QTL-Analyse.....	75
4.1.5.1	Kopplungsgleichgewicht mittels Varianzkomponentenschätzung.....	75
4.1.5.2	Kopplungsungleichgewicht mittels Varianzkomponentenschätzung.....	75
4.1.5.3	Kombinierte LDLA-Varianzanalyse.....	75
4.1.5.4	Kombinierte LDLA-Regressionsanalyse	77
4.2	Kandidatengene	79
4.2.1	STAT1	79

4.2.1.1	PCR und Sequenzierung.....	79
4.2.1.2	Darstellung des SNPs <i>STAT1/3`UTR</i> mittels RFLP.....	79
4.2.2	CXCR1.....	81
4.2.2.1	PCR und Sequenzierung.....	81
4.2.2.2	Darstellung des SNPs <i>CXCR1/5`UTR/-96</i> mittels RFLP.....	82
4.2.2.3	Darstellung des SNPs <i>CXCR1/5`UTR/-1768</i> mittels Tetra-Primer ARMS PCR.....	83
4.2.2.4	Darstellung des SNPs <i>CXCR1/Ex1/+199</i> mittels RFLP.....	85
4.2.2.5	Darstellung des SNPs <i>CXCR1/+777</i> mittels RFLP.....	86
4.2.3	IGFBP2.....	87
4.2.3.1	Sequenzierung.....	87
4.2.3.2	Darstellung des SNPs <i>IGFBP2/Int1/+55</i> mittels Tetra-Primer ARMS PCR.....	91
4.2.4	PIP5K3.....	93
4.2.4.1	Sequenzierung.....	93
4.2.4.2	Darstellung des SNPs <i>PIP5K3/Int18/-112</i> und des SNPs <i>PIP5K3/Ex19/+58</i> mittels Doppel-RFLP.....	94
4.2.4.3	Darstellung des SNPs <i>PIP5K3/Ex19/+792</i>	96
4.2.4.4	Darstellung des SNPs <i>PIP5K3/Ex26/+69</i>	98
4.2.5	Ergebnisse der Auswahlkriterien für die SNPs.....	99
4.2.5.1	Allelfrequenzen im unverwandten Material.....	99
4.2.5.2	Lage und Scores der SNPs.....	100
4.2.5.2.1	CXCR1.....	100
4.2.5.2.2	IGFBP2.....	100
4.2.5.2.3	PIP5K3.....	102
4.3	Genotyp- und Allelfrequenzen.....	103
4.4	Assoziationsanalyse.....	104
5	Diskussion.....	108
5.1	Tiermaterial.....	108
5.2	Nutzung der DYDs für SCC als Merkmal.....	108
5.3	QTL-Kartierung.....	109
5.4	Auswahl und Untersuchung der Kandidatengene.....	113
5.5	Assoziationsanalyse der Kandidatengene.....	119
6	Zusammenfassung.....	128

7	Summary	130
8	Literatur	132
9	Anhang	152