

# 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 Merkmalserfassung 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 Polyacrylamidgelektrophorese mit dem ABI PRISM® 377 DNA Sequencer	41
3.1.5.2	Größenstandards zur Agarosegelektrophorese	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 genomicscher DNA aus Leukozyten	49
3.2.5	Extraktion genomicscher 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	<b>CXCR1.....</b>	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	<b>IGFBP2.....</b>	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	<b>PIP5K3 .....</b>	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	<i>CXCR1 .....</i>	100
4.2.5.2.2	<i>IGFBP2.....</i>	100
4.2.5.2.3	<i>PIP5K3 .....</i>	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