

Grundlagen der Genetik- Gentests beim Beagle

Dipl.-Ing. (FH) Christina Dangel,
LABOKLIN GmbH und Co. KG,
Kleindöttingen, Schweiz

25. August 2018



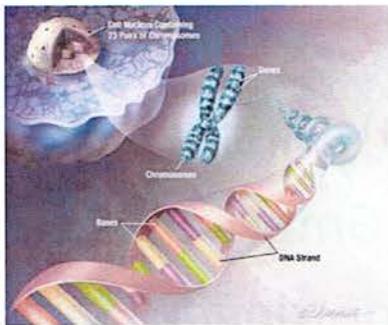
DNA-Tests

- **Teil 1:**
 - Grundlagen der Genetik
 - Erbgänge
 - DNA-Tests und Auswertung
- **Teil 2:**
 - Erbkrankheiten beim Beagle
 - Zuchtstrategien
 - Vorteile und Grenzen von DNA-Tests
- **Teil 3:**
 - Fellfarben beim Beagle
 - DNA-Profile und Abstammungsbegutachtung

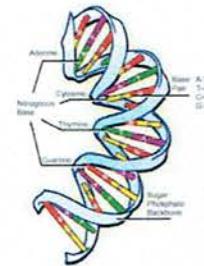
Teil 1



DNA – Der Schlüssel zu den Erbkrankheiten



Struktur der DNA



Dog Genome Project



- Genom des Hundes seit 2005 vollständig sequenziert
- 5% des Genoms identisch mit Maus und Mensch

Karyotyp des Hundes:

- Insgesamt 78 Chromosomen
 - davon sind 2 x 38 Autosomen
 - und 2 sind Gonosomen (Geschlechtschromosomen)
- Doppelter (diploider) Chromosomensatz in jeder kernhaltigen somatischen Zelle
 - D.h. 2 Kopien eines jeden Chromosoms, je eine Kopie von väterlicher und eine Kopie von mütterlicher Seite
- Einfacher (haploider) Chromosomensatz in den Spermien und Eizellen!!!

Was sind eigentlich Gene?

- DNA-Abschnitt von ca. 1000 Basenpaaren (Nukleotiden)
- Ein Gen steuert die Synthese eines bestimmten Proteins
- Die Sequenz (Abfolge) von Nukleotiden bestimmt die Struktur und Funktion eines Proteins

Definition von „Allel“:

- Mögliche Ausprägungen eines Gens, das sich an einem bestimmten Ort (Locus) auf einem Chromosom befindet
- Ein Gen kann somit in verschiedenen Variationen vorkommen und die entsprechende Eigenschaft verschieden ausprägen (z.B. Fellfarbe schwarz oder braun).
- Unterschiede der Allele sind Ursache für Unterschiede der Individuen in einer Population

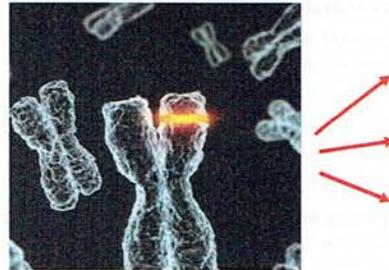


Begriffe „Homozygotie“, „Heterozygotie“

- heterozygot (mischerbig):
zwei unterschiedliche Allele eines Gens am betreffenden Genort
- homozygot (reinerbig):
zwei gleiche Allele eines Gens an einem betreffenden Genort



Veränderung von vererbaren Eigenschaften durch



Mutationen



Punktmutation



Insertion



Deletion

Auswirkungen von Mutationen

- Keine Auswirkungen
- Verbesserung im Phänotyp, Voraussetzung für die Evolution
- Erbkrankheiten: in Form von
Missbildungen
Neurologische Erkrankungen
Augenerkrankungen
.....

Vererbung: autosomal-rezessiver Erbgang

	N/N	Das Tier trägt die Mutation nicht. Es prägt phänotypisch die Mutation nicht aus. Es kann die Mutation nicht an seine Nachkommen vererben.
	N/x	Das Tier trägt die Mutation auf einem Allel, d.h. es ist ein sog. „Träger“ (mischerbig). Es prägt phänotypisch die Mutation nicht aus (rezessive Vererbung). Es kann die Mutation mit einer Wahrscheinlichkeit von 50% an seine Nachkommen vererben.
	x/x	Das Tier trägt die Mutation auf beiden Allelen (reinerbig). Es prägt phänotypisch die Mutation aus. Er kann nur die Mutation an seine Nachkommen vererben.

Vererbung: autosomal-dominanter Erbgang

	N/N	Das Tier trägt die Mutation nicht. Es prägt phänotypisch die Mutation nicht aus. Es kann die Mutation nicht an seine Nachkommen vererben.
	N/X	Das Tier trägt die Mutation auf einem Allel (mischerbig). Es prägt phänotypisch die Mutation aus (dominante Vererbung). Es kann die Mutation mit einer Wahrscheinlichkeit von 50% an seine Nachkommen vererben. Die Nachkommen sind aber in diesem Fall erkrankt.
	X/X	Das Tier trägt die Mutation auf beiden Allelen (reinerbig). Es prägt phänotypisch die Mutation aus. Er kann nur die Mutation an seine Nachkommen vererben.

Begriffsdefinition Penetranz

- **Begriffsdefinition „Penetranz“:**
Durchschlagskraft, mit der ein Merkmal/eine Erbkrankheit tatsächlich zur Ausprägung kommt
- **Vollständige Penetranz:** Merkmal/Erbkrankheit kommt immer zur Ausprägung
- **Unvollständige Penetranz:** Merkmal/die Erbkrankheit wird trotz vorhandenen Genotyps nicht in jedem Fall phänotypisch ausgeprägt (z.B. Degenerative Myelopathie)

Begriffsdefinition Expressivität

- Ausmaß und die Art der phänotypischen Ausprägung
- variable Expressivität:

Ausprägung eines Merkmals/einer Erbkrankheit ist trotz identischen Genotyps unterschiedlich (Beispiel: Faktor VII Defizienz)

Wo sind Gentests heute möglich?

- Beim Nachweis von Merkmalen (Fellfarbe, Haarlänge, Haarstruktur) oder Erbkrankheiten, deren zugrunde liegende Mutation erforscht ist und deren Erbgang aufgeklärt ist
- DNA-Profile, Abstammungsnachweise
- Rassezuordnung

Gentest

EDTA-Blut Backenabstrich

Isolierung der DNA

PCR: Vervielfältigung des betroffenen Genabschnitts

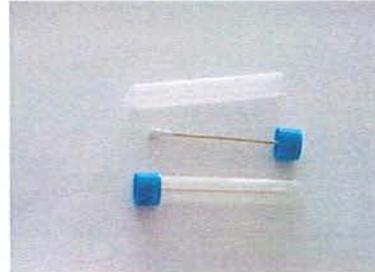
Genanalyse:
1. RFLP-Analyse
2. Sequenzierung
3. Real-Time-PCR



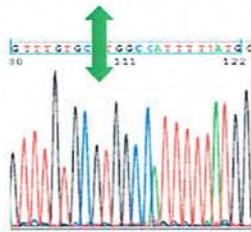
Entnahme eines Backenabstriches



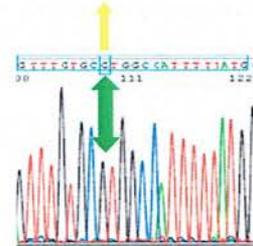
Tupfer



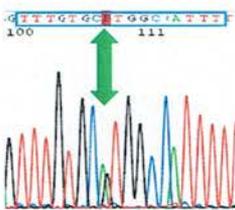
Auswertung Sequenzierung Frei/N/N: Wildtype G



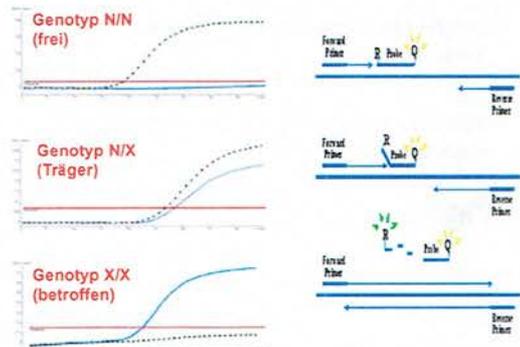
Betroffen: G zu A A



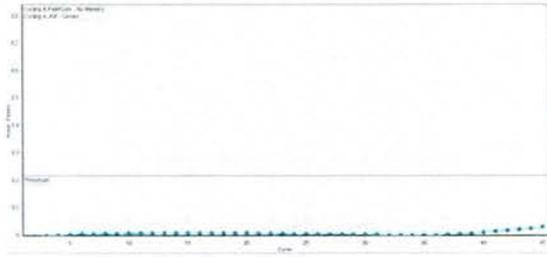
Träger: A und G



Genanalyse mittels Real-Time-PCR



Nicht ausreichend DNA



Teil 2



Musladin-Lueke Syndrom

- Erste Symptome zwischen 2-4 Wochen
- Krankheit verschlimmert sich bis zu einem Jahr, danach stabilisiert sie sich
- Ausgeprägte Fibrose der Haut und der Gelenke
- Fester Körperbau aufgrund der verstärkten/gespannte Haut/Muskeln/Sehnen

Musladin-Lueke Syndrom

- Verkürzte äußere Zehen
- Typisch flache Kopfform, größere Ohren und schräge Augen
- Hunde laufen auf den vorderen Ballen (Ballerina-ähnlicher Gang)
- Hunde leiden unter Atrose und Steifheit

Musladin-Lueke Syndrom

- Zeigen ein ungewöhnliches "freundliches" Wesen
- Häufiger in britischen/australischen Population
- Erbgang: autosomal rezessiv

Musladin-Lueke Syndrom



Primäres Weitwinkelglaukom (POAG)

- Beginn zwischen 8-16 Monaten
- Bindegewebstörung im Auge → Kammerwasser kann nicht richtig abfließen → Druck im Auge erhöht sich
- Sehnerv und Netzhaut wird beeinflusst, was später zu Sehausfällen und letztlich zu Blindheit führt

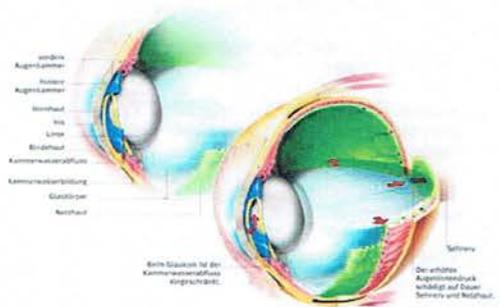
Primäres Weitwinkelglaukom (POAG)

- Erste Symptome: geweitete Pupillen, rote Augen, trübe Hornhaut
- Druck nimmt immer mehr zu → Schmerzen, Fressunlust, Kratzen am Auge, Reiben des Kopfes an Gegenstände, erhöhte Aggressivität
- Teilweise auch Linsenluxation möglich

Primäres Weitwinkelglaukom (POAG)

- Bei frühzeitiger Diagnose: Schädigung des Sehnerv und der Netzhaut kann durch Senkung des Augeninnendrucks vermieden werden
- Erbgang: autosomal rezessiv

Primäres Weitwinkelglaukom (POAG)



Imlerslund-Gräsbeck-Syndrom (IGS)

- Beginn der Erkrankung ab 6 bis 12 Woche
- Malabsorption von Vitamin B12 aus der Nahrung
- Chronischer Cobalamin (Vit B 12)-Mangel
- Vit B12 wird für Zellvermehrung/Zellerneuerung benötigt; ist wichtig für Funktion des Nervensystems und gesunde Blutbildung

Imlerslund-Gräsbeck-Syndrom (IGS)

- Veränderungen im Blutsystem (Anämie)
- Neurologische Ausfälle aufgrund einer irreversiblen Schädigung des Gehirns und Nervensystems, viele Organe sind betroffen
- Unbehandelte Hunde sterben vorzeitig
- Therapie durch frühzeitige und regelmäßige Substitution von Vitamin B12
- Erbgang: autosomal rezessiv

Pyruvatkinasedefizienz (PK)

- Beginn der Erkrankung ca. 4 Monat
- Chronische, regenerative, hämolytische Anämie (Blutarmut) verursacht durch beschleunigten Abbau der Erythrozyten (roten Blutkörperchen)
- Das Enzym Pyruvatkinase in den Erythrozyten wird nicht produziert
- Beeinträchtigte Glykolyse in den Erythrozyten, dadurch verminderte Lebensdauer der Erythrozyten

Pyruvatkinasedefizienz (PK)

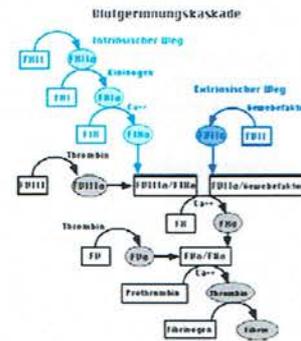
Symptome der Anämie (variabel):

- Blasse Schleimhäute
- Schwäche und Apathie
- Schwere hämolytische Krisen mit Fieber und Ikterus
- Gelegentlich vergrößerte Milz tastbar
- Erbgang: autosomal rezessiv

Neonatale Cerebelläre Abiotrophie (NCCD)

- Beginn der Erkrankung ca. 3 Wochen
- Fortschreitende Degeneration von Kleinhirnzellen
- Ataxie, Zittern, Gleichgewichtsstörungen, unsymmetrischer Gang, breitbeinige Stellung, spastische Lähmungen
- Betroffene Welpen werden meist eingeschlafert
- Erbgang: autosomal rezessiv

Faktor-VII-Defizienz



Faktor-VII-Defizienz

- Mangel an Faktor VII führt zu einer leichten bis moderaten Blutungsneigung
- Kann zu Probleme bei Trächtigkeit, Verletzungen und Operationen führen
- Ausprägung variiert von Hund zu Hund
- Erbgang: Autosomal rezessiv

Glasknochenkrankheit

- Beginn der Erkrankung im Welpenalter
- Defekt der Kollagen-Gene
- Kollagen ist das häufigste Protein im tierischen Körper und verleiht den Knochen Ihre Elastizität
- Extrem zerbrechliche Knochen und Zähne
- Erbgang: autosomal rezessiv



Lafora

- Durch Mutation → Umwandlung von löslichem Glykogen zu unlöslichem Polyglukosan → dieses reagiert zu den sog. Lafora-Körperchen, welche sich im Gehirn, aber auch in Muskeln, Herz, Leber, Haut einlagern
- Erste Symptome ab ca. 7 Jahren
- Symptome entweder spontan oder durch Auslöser (Lichteinflüssen, plötzliche Bewegungen, Geräusche)

Lafora- Symptome

- Progressiv verlaufende myoklonische Epilepsie
- Rasche, unwillkürliche Muskelzuckungen/Krampfanfälle-Hund fällt um
- Verstärktes Blinzeln
- Verhaltensänderung (Panik-Attacken, Aggressivität)
- Blindheit und Taubheit
- Inkontinenz
- Demenz
- Symptome werden nach und nach immer schlimmer
- Erbgang: Autosomal rezessiv

Relevanz

Krankheit	Anzahl (N)	%Genotyp H/H (bei)	%Genotyp H/MLUT (10agen)	%Genotyp MLUT/MLUT (neozellen)
Faktor VII Defizienz	> 500	65	28,5	6,5
MLS	> 400	96,9	1,9	1,2
Lafora	> 150	85,4	22,4	12,2
IGS	> 200	78,6	17,5	2,9
NCCD	> 200	93	6	1

Erbkrankheiten-Paket Beagle

- Glasknochenkrankheit (Osteogenesis imperfecta)
- Faktor VII Defizienz
- Imerslund-Gräsbeck Syndrom (IGS)
- Musladin-Lueke Syndrom (MLS)
- Neonatale cerebelläre Abiotrophie (NCCD)
- Pyruvatkinase-Defizienz (PK)
- Primäres Weitwinkel-Glaukom (POAG)

Kosten: 123,96 CHF inkl. MwSt

Dauer ca. 1-2 Wochen

Lafora DNA-Test

- Dauer ca. 1-2 Wochen
- Preis generell: 104,90 CHF inkl. MwSt
- Preis für Mitglieder Beagle Club Schweiz (extra Zuchtverbandsantrag notwendig)

76,47 CHF inkl. MwSt

Züchterseminar-Preis:

- Erbkrankheiten-Paket:

110 CHF inkl. MwSt

- Lafora:

70 CHF inkl. MwSt

Fellfarbe

A-Locus:

Ay (Dominantes Gelb. Mit schwarzen Haarspitzen: pied;
ohne schwarze Haarspitzen: red, tan, lemon)
aw (wolfofarben, Vorkommen beim Beagle: ?)
at (Tricolour)
a (Rezessives schwarz)

B-Locus:

B (Eumelanin schwarz)
b (Eumelanin leberbraun)

Fellfarbe

C-Locus:

C (intensives Phäomelanin, entspricht Red)
cch (aufgehelltes Phäomelanin, entspricht lemon)
cW (extrem aufgehelltes Phäomelanin, entspricht weiss)

Dieser Locus mit seinen Allelen ist nicht molekulargenetisch nachgewiesen, es handelt sich also um einen aufgrund von Erfahrungswerten vermutlich in dieser Form existenten Genort

Fellfarbe

D-Locus:

D (Eumelanin kräftig gefärbt (schwarz oder braun))
d (Eumelanin aufgehellt (blau oder lilac) sehr selten!)

E-Locus:

E (Einlagerung von schwarzem Pigment möglich)
e (Rezessives Gelb; keine Einlagerung von schwarzem Pigment ins Haar möglich; Red, tan oder lemon bereits bei Geburt erkennbar)

Fellfarbe

K-Locus:

KB (dominantes schwarz, beim Beagle wahrscheinlich ausgestorben)
ky (erlaubt die Expression der Allele des A-Lokus)

S-Locus:

S (keine Piebald-Scheckung)
s (Piebald-Scheckung; evtl. Auch pseudo-irische Scheckung)

Fellfarbe

T-Locus:

T (mottle)
t (kein mottle)
Kein Gentest verfügbar

M-Locus:

Merle-Zeichnung, wird in den USA ausserhalb des offiziellen Verbandes gezüchtet, ist keine typische Beaglefarbe und sollte aus gesundheitlichen Erwägungen keinen Eingang in die Beaglezucht finden!

DNA-Profil

- Identifizierung von Tieren
- Betrachtung hochvariabler Genabschnitte
- individuelles Muster:
 - nicht veränderbar (über Tod hinaus)
 - fälschungssicher
 - extrem spezifisch
 - DNA-Profil nach ISAG-Standard (International anerkannt und vergleichbar)
- Alternative Methoden: Tätowierung, Ohrenmarken, Microchip

Verpaarungen/DNA-Test

- Paarung frei N/N x frei N/N → 100 % freie Nachkommen
- Paarung frei N/N x Träger N/Laf → Nachkommen DNA-Test
- Paarung Träger x Träger ist gefährlich: 25% der Nachkommen können erkranken
- Paarung betroffen x frei gibt 100 % Träger

Vorteile von DNA-Tests

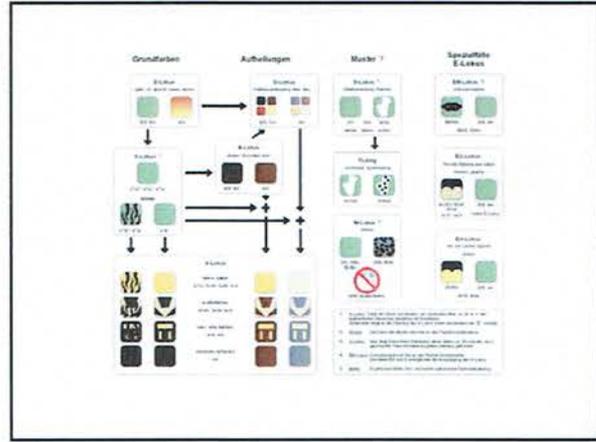
- Extrem genau, schnell
- Kontrollen im Lauf, Auswertung von 2 Personen
- DNA Tests sind unabhängig vom Alter des Hundes
- Der genetische Status eines Hundes wird ermittelt, bevor eine klinische Diagnose möglich ist
- Das Testergebnis bleibt lebenslang gleich

Vorteile von DNA-Tests

- Frühe Zuchtentscheidungen, gezielte Verpaarungen
- Klinisch unauffällige Anlageträger können über DNA-Test erlannt werden
- Züchter können eine Krankheit sogar gänzlich aus ihrem Genpool eliminieren.
- **Aber Vorsicht:** Um eine Verarmung des Genpools zu vermeiden → Träger nicht von der Zucht ausschließen
- Geringe Anforderungen an die Proben (Transport, Zeit)

Grenzen von Gentests

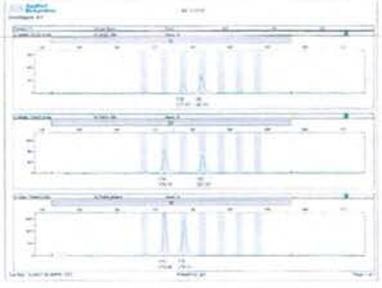
- Bisher unbekannte Mutationen können auftreten und ähnliche Erkrankungen auslösen.
- Es ist schwierig zu wissen, wie viele Mutationen einer Krankheit in der jeweiligen Rasse existieren.
- Gentest sind immer rassespezifisch
- Gentest lässt keine Aussage über den Zeitpunkt des Auftretens oder den Schweregrad der Erkrankung zu
- Bei polygenen und multifaktoriellen Erbkrankheiten ist der Einsatz von Gentests bislang noch nicht möglich (Bsp: HD)



Abstammungsnachweis

- DNA Profile von Nachkomme, Vater und Mutter werden verglichen
- Ausschluss oder Bestätigung der Vaterschaft
- Wahrscheinlichkeitsberechnung, wenn nur ein Elternteil oder Geschwister verfügbar sind
- Extrem genaue Methode

Abstammung



Abstammung



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit



Fragen ??????????

