



Molekulargenetische Aufklärung der Hüftgelenkdysplasie beim Deutschen Schäferhund

Hüftgelenkdysplasie beim Hund

Die Hüftgelenkdysplasie (HD) gehört zu den wichtigsten Skeletterkrankungen bei sehr vielen Hunderassen. Nur ganz wenige Rassen sind davon selten betroffen. Kennzeichen der HD sind eine Inkongruenz zwischen der Gelenkpfanne der Hüfte (Acetabulum) und dem Kopf des Oberschenkels (Femurkopf) sowie eine Lockerung der Bänder im Hüftgelenk. Die Folgen sind degenerative Um- und Abbauprozesse im Hüftgelenk beim noch wachsenden oder gerade erst erwachsenen Hund. Besonders bei größeren und schnell wachsenden Rassen besteht eine hohe genetische Disposition zur HD. Die Diagnose der HD wird anhand der röntgenologisch erkennbaren strukturellen Veränderungen des Hüftgelenks (Gelenkinkongruenz, Deformationen von Hüftpfanne und Oberschenkelkopf) gestellt. Nach wie vor bereitet die systematische Bekämpfung der HD erhebliche Schwierigkeiten.

Vererbung der Hüftgelenkdysplasie

Bei der HD des Hundes kann von einem multifaktoriellen Erbgang unter Beteiligung von Einzelgenen und Heritabilitäten vorwiegend im Bereich von $h^2 = 0,20$ bis $0,40$ ausgegangen werden. Bei einer multifaktoriellen Vererbung spielen umweltbedingte Ursachen und genetische Faktoren eine Rolle bei der Ausprägung der HD. Für die genetischen Faktoren sind sowohl eine geringe Zahl von Genen mit großer Wirkung auf die Ausprägung der HD als auch eine größere Anzahl von Genen mit geringer bis sehr geringer Wirkung bedeutsam. Somit entsteht die genetisch bedingte Veranlagung zu HD sowohl durch das Zusammenwirken einer bestimmten Anzahl von Genen mit geringer Wirkung und von einzelnen Genen mit einem durchschlagenden Effekt. In neueren Untersuchungen mit Tiermodellen konnte zwischen dem additiv-genetischen Effekt des Tieres sowie den permanenten Umwelteffekten des Zwingers, der Mutter und des Wurfes differenziert werden, während in älteren Untersuchungen die genetischen Komponenten teilweise mit Zwinger- und Wurfeffekten vermengt waren. So betrug die durch den Wurfeffekt erklärte Varianz nur zwischen 3 und 5% der phänotypischen Varianz und war damit deutlicher kleiner als die additiv-genetische Varianz. Alle weiteren systematischen Effekte wie Geschlecht des Hundes, Alter beim Röntgen, Röntgentierarzt, Wurfgröße, Prozentsatz der geröntgten Hunde pro Wurf, männliche und weibliche Gründertiere erklärten ebenfalls nur einen sehr geringen Anteil der Varianz, so dass nach den neueren Untersuchungsergebnissen den genetischen Faktoren die größte Bedeutung an der Ausprägung der HD zu kommt.

Mittels Erbgangsanalysen konnte beim Deutschen Schäferhund erstmals das Vorkommen eines dominanten Hauptgens neben weiteren polygenen Komponenten für HD nachgewiesen werden. Das bedeutet, dass es bereits mit statistischen Methoden möglich ist, ein Gen mit einer großen Wirkung auf das Entstehen von HD zu identifizieren. Somit ist das früher angenommene Vererbungsmodell, das von einer unendlich großen Anzahl von Genen mit äußerst geringen Effekten des einzelnen Gens ausging, zu revidieren. Beobachtungen aus der Praxis zeigen öfters ein Aufspalten eines Wurfes in HD freie Tiere und bis zu leicht oder sogar schwer HD belasteten Tieren. Dieses Phänomen kann mit einer dominanten Hauptgenwirkung wesentlich besser erklärt werden als mit dem polygenen Vererbungsmodell. Zugleich bestehen damit wesentlich verbesserte Möglichkeiten über molekulargenetische Ansätze bedeutsame Gene (Hauptgenorte mit großem Einfluss auf die Merkmalsausprägung, Quantitative Trait Loci = QTL) für HD in Familien zu identifizieren.



Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung Hannover

Für diese Familien wurden 261 hochinformativ Marker (Mikrosatelliten) genotypisiert. Diese hochpolymorphen Mikrosatelliten wurden aus den bereits publizierten Markersets für den Hund so ausgewählt, dass sie das gesamte Genom möglichst gleichmäßig abdecken. Für die Abdeckung des Genoms wurde eine mittlere Markerdichte von einem Marker pro 12 cM (entspricht etwa 12 Mio. Basenbausteinen) erreicht und der weitestmögliche Abstand eines Genes für HD beträgt dann im Mittel für flankierende Marker etwa 6 cM. Mit dieser Information ist es dann möglich, die Genombereiche (QTL) zu identifizieren, in denen die für HD verantwortlichen Gene liegen. Bei dem gewählten Stichprobenumfang sollten dann QTL für HD mit einem Vertrauensintervall von 5 bis 10 cM identifiziert werden können. Das von uns verwendete Markersets war so informativ, dass das gesamte Genom mit einer hohen Genauigkeit auf mit HD gekoppelte Genombereiche abgefragt werden konnte. Die anschließenden Auswertungen ergaben insgesamt 19 verschiedene Genomregionen, in denen mit hoher Wahrscheinlichkeit Gene mit Einfluss auf das Auftreten von HD liegen. Eine Übersicht über die Lokalisation der Genombereiche für die HD beim Deutschen Schäferhund zeigt Abb. 1.

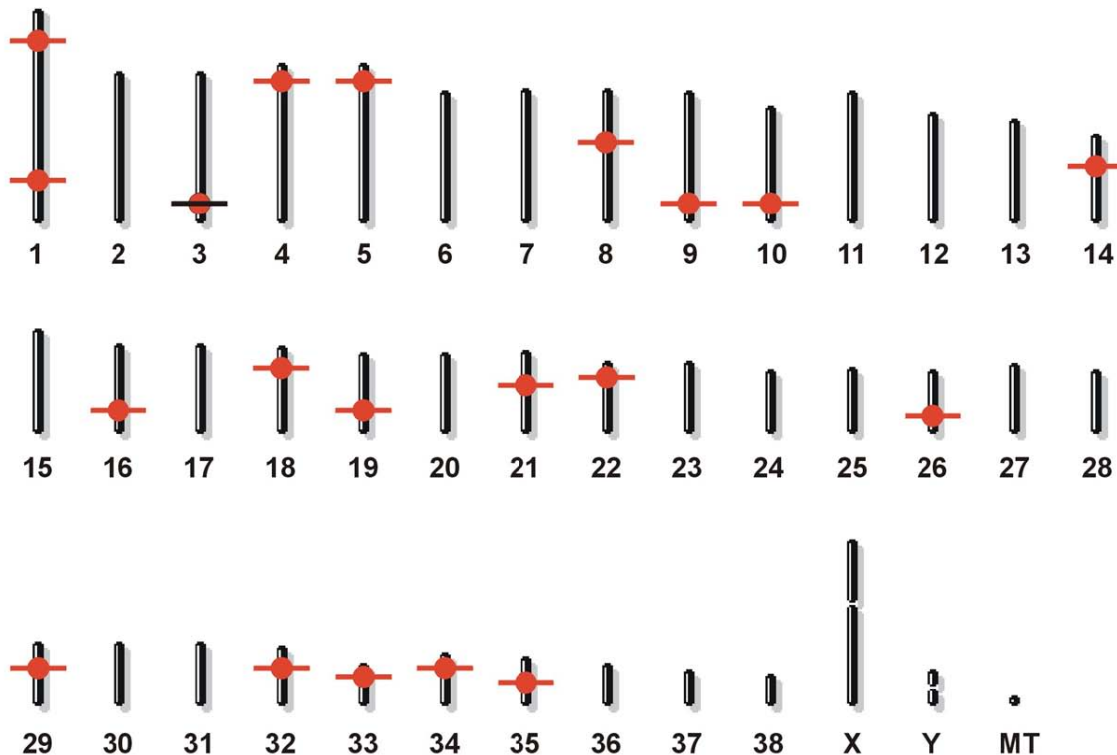


Abb. 1: Verteilung der QTL für HD beim Deutschen Schäferhund auf dem Hundegenom

Die besonders bedeutsamen QTL mit Genen für die HD des Schäferhundes liegen auf den Chromosomen 1, 3, 4, 8, 9, 16, 19, 26 und 33. Diese Bereiche konnten auf eine Größe von im Mittel 5 Mb (5 Mio. Basenbausteine) eingegrenzt werden und sind damit deutlich kleiner als wir erwartet haben. Dadurch sind wir jetzt in der Lage, diese wichtigen Genombereiche für HD nach Mutationen (Veränderungen in der Erbsubstanz, die weitervererbt werden) zu durchsuchen, die eine signifikante Beziehung (Assoziation) zur HD aufweisen.



Genomische Zuchtwerte für HD

Die Kenntnis der QTL für HD eröffnet die Möglichkeit, diese Genombereiche weiter molekulargenetisch aufzuklären und in diesen eng umgrenzten Bereichen für die Zuchtpraxis brauchbare Marker für die HD zu entwickeln. Eine wesentliche Hilfe sind hier die zahlreich im Genom vorkommenden Mutationen, die nur einen einzigen Basenbaustein betreffen und deshalb „Single Nucleotide Polymorphisms“ (SNPs, Einzelbasenaustausche) genannt werden. Diese SNPs kommen im Mittel alle 1000 Basenbausteine vor. Beim Hund wurden im Rahmen der Genomaufklärung mehr als 1 Million solcher SNPs gefunden. Diese SNPs sind über Datenbanken zugänglich. Da die meisten SNPs nur zwei Varianten (Allele) aufweisen, gibt es demzufolge dann nur drei verschiedene Genotypen für den jeweiligen SNP. Allerdings sind diese Untersuchungen sehr aufwendig und teuer, da auch in einem engen Genombereich von ca. 5 Mb eine hohe Anzahl von Genen lokalisiert ist und bei diesen 30-50 potenziellen Kandidaten solche Mutationen gefunden werden müssen, die mit dem jeweiligen kausalen Gen in enger Beziehung stehen. Diese Untersuchungen werden an umfangreichen Stichproben, die repräsentativ für die jeweilige Population sind, durchgeführt. Mit Hilfe dieser sehr eng zu einem kausalen Gen gekoppelten Markern können dann Selektionsverfahren auf der Basis von „genomischen Zuchtwerten“ für die Zuchtpraxis entwickelt werden. Mit diesen genomischen Zuchtwerten kann die bisherige Zuchtwertschätzung oder Selektion auf der Basis von Phänotypinformationen deutlich verbessert werden. Zum einen kann der genomische Zuchtwert wesentlich präziser geschätzt werden, da mögliche Effekte durch Vorselektion zum Röntgen ausgeschaltet werden. Zum anderen ist es möglich, bereits bei den Welpen den genomischen Zuchtwert für die HD zu bestimmen. Nachdem die mit den jeweiligen kausalen Genen enggekoppelten Markerinformationen vorliegen und an der jeweiligen Population verifiziert wurden, wird für die Bestimmung des genomischen Zuchtwertes lediglich eine EDTA-Blutprobe benötigt.

Für die Entwicklung der genomischen Zuchtwerte für HD haben wir eine sehr große Anzahl von SNPs aus den Genombereichen der QTL entwickelt. Wir haben für dieses Projekt ca. 240.000 Basenbausteine für jeweils 24 bis 48 Hunde sequenziert, um geeignete SNPs für die HD zu finden. Am Ende erwiesen sich etwas mehr als 110 SNPs als informativ für die HD beim Deutschen Schäferhund. Da wir möglichst im kausalen Gen liegende SNPs in den Genomischen Zuchtwert aufnehmen wollten, wurden letztendlich nur 17 SNPs in 11 verschiedenen QTL ausgewählt. Diese 17 SNPs sind sehr zuverlässig für ihre Aussagekraft bezüglich HD beim Deutschen Schäferhund. Diese 17 SNPs wurden an ca. 800 Hunden, die für die aktuelle Population der Deutschen Schäferhunde repräsentativ sind, verifiziert. Diese Marker eignen sich für die Schätzung von genomischen Zuchtwerten für die HD, da sie unabhängig von weiteren Informationen von verwandten Tieren eine enge Beziehung zur HD aufweisen und demnach mit den jeweils kausalen Genen in enger Kopplungsbeziehung stehen. Mittels dieser HD-Marker haben wir bereits genomische Zuchtwerte für den Deutschen Schäferhund entwickelt, die bei Welpen Vorhersagen zum Auftreten der HD im späteren Leben erlauben und die Anpaarungsplanung für die Eltern verbessern. Dazu haben wir Referenzkurven für den Zusammenhang zwischen den genomischen Zuchtwerten, die aus den individuellen Genotypen der Hunde abgeleitet werden, und dem Risiko für HD erstellt.

Siehe Abb. 2.



Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung Hannover

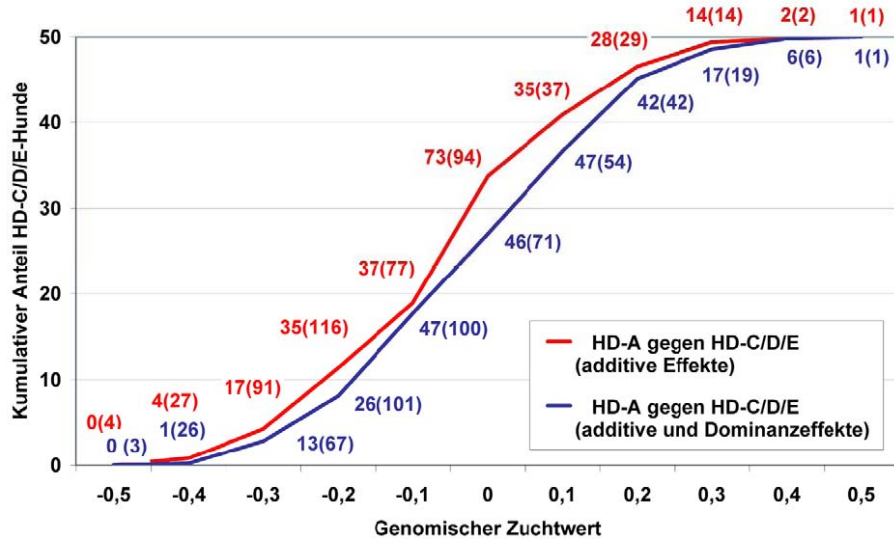


Abb. 2: Zusammenhang zwischen der Höhe der genomischen Zuchtwerte (Skala von -0,5 bis 0,5) und dem Auftreten von HD (leichte bis schwere HD, HD-C bis HD-E). Die Auswertung umfasste genau 50% von HD-C bis HD-E betroffene Hunde, weswegen der maximale kumulative Anteil von HD betroffenen Hunden 50% beträgt.

Für den Welpen kann anhand dieser Kurven das durch den individuellen Genotyp bedingte Risiko für HD auf einer Skala von -0,5 bis 0,5 bewertet werden. Für die spätere Zucht sagt der genomische Zuchtwert aus, wieviele mit HD assoziierte Genvarianten (Allele) der Hund trägt und weitervererben kann. Die genomischen Zuchtwerte können damit für die Anpaarungsplanung verwendet werden, um das mittlere Risiko für die Nachkommen wie auch den best- und schlechtestmöglichen Fall berechnen zu können. Mit einem entsprechenden Paarungspartner kann die Anzahl der mit HD-assozierten Genvarianten (Allele) deutlich vermindert werden. Wir konnten auch zeigen, dass der genomische Zuchtwert für das HD-Risiko ansteigt, wenn die Anzahl HD-assoziierter Genvarianten pro Tier zunimmt siehe [Abb. 3](#).

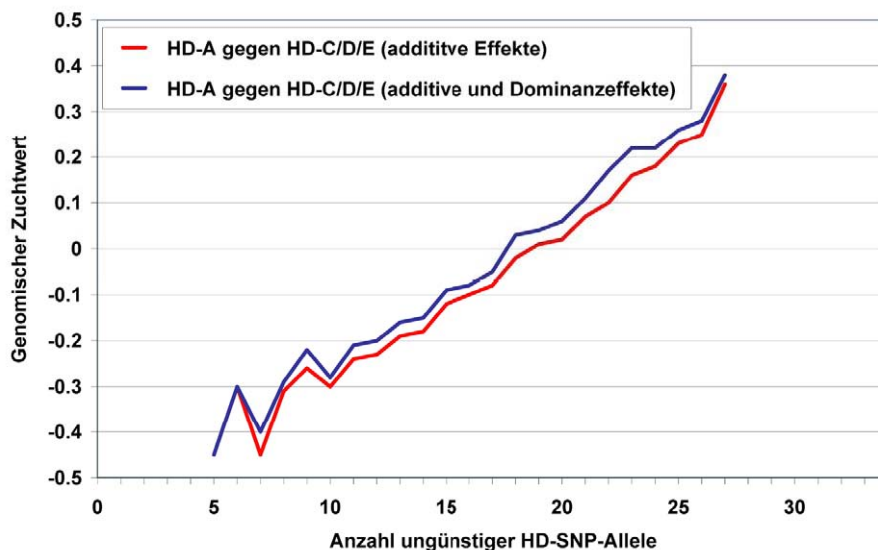


Abb. 3: Zusammenhang zwischen der Anzahl der pro Tier mit HD assoziierten Genvarianten (Allele) und der Höhe der genomischen Zuchtwerte auf einer Skala von -0,5 bis 0,5.



Unterschiede zwischen HD-Graden

Unsere Untersuchungen zeigten sehr eindeutig, dass es in den Genwirkungen keine Unterschiede zwischen den einzelnen HD-Graden gibt siehe [Abb. 4](#).

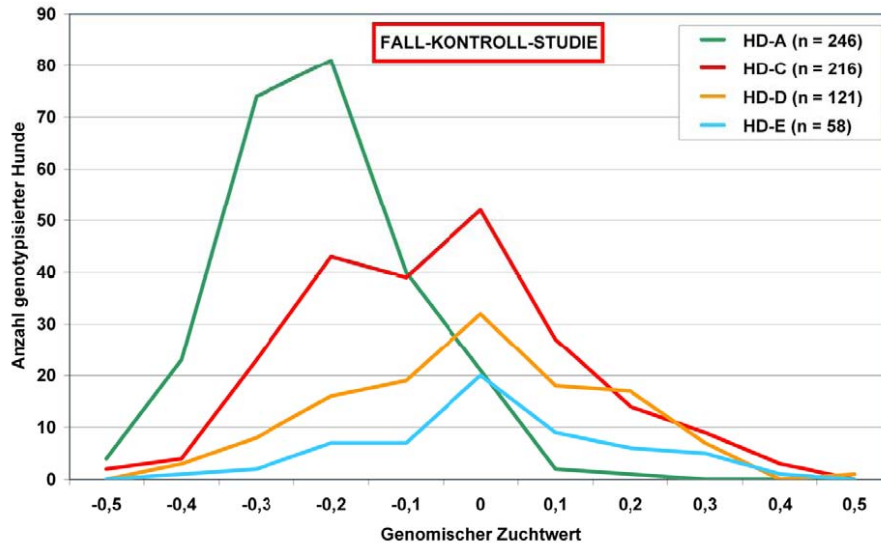


Abb. 4: Verteilung der genomischen HD-Zuchtwerte nach der phänotypischen Ausprägung der HD.

Werden die Verteilungen der genomischen Zuchtwerte nach HD-Graden getrennt dargestellt, so differenzieren sich die Verteilungen der genomischen Zuchtwerte zwischen den HD-Graden C (leichte HD) bis E (schwere HD) nicht mehr. Über statistische Berechnungen wurde dies ebenfalls nachgewiesen. Hier zeigte sich, dass nur ein geringer zusätzlicher Varianzanteil durch die Tiere mit mittlerer HD (HD-Grad D) und / oder schwerer (HD-Grad E) HD erklärt werden konnte. Hunde mit der HD-Übergangsform (HD-B) wurden nicht in die Erstellung der genomischen Referenzkurve miteinbezogen, da hier keine klare Trennung zwischen HD-frei und von HD-betroffen vorliegt. Für diese Hunde erfolgt die Bewertung anhand der genomischen Referenzwerte der HD-freien und eindeutig HD-betroffenen Tiere. Somit schafft das genomische Verfahren hier eine klare Trennung für HD-Disposition und HD-Freiheit, was bisher nicht möglich war.

Vorhersagegenauigkeit für zukünftige Welpen und neugeborene Welpen

Mit welcher Genauigkeit der HD-Befund eines Tieres anhand seines genomischen Zuchtwertes vorhergesagt werden kann, lässt sich mit statistischen Verfahren ermitteln. Für die bisher entwickelten 17 SNPs kann eine Zuverlässigkeit von 35% und damit eine Genauigkeit von 0,59 erreicht werden siehe [Tab. 2](#).



Tabelle 2. Zuverlässigkeit der genomischen HD-Zuchtwerte, ermittelt anhand der erklärten Varianz durch die genomischen HD-Zuchtwerte an der gesamten phänotypischen Varianz der HD

Genomischer HD-Zuchtwert	Anteil erklärter Varianz	
	additive Effekte	additive und Dominanzeffekte
alle HD-Befunde (C bis E)	33%	35%
nur Tiere mit HD-C (leichte HD)	30%	31%
nur Tiere mit HD-D (mittlere HD)	25%	26%
nur Tiere HD-D/E	28%	28%

Im Vergleich dazu beträgt die Heritabilität für HD beim Deutschen Schäferhund 25%. Diese Heritabilität von 25% besagt, dass mit einer Zuverlässigkeit von 25% auf den genetisch bedingten Anteil der HD geschlossen werden kann, sofern der phänotypische Merkmalswert bekannt ist. Beim genomischen Zuchtwert wird der phänotypische Merkmalswert nicht mehr benötigt, vielmehr wird hier anhand des aus den SNPs abgeleiteten genomischen Zuchtwertes auf den zukünftigen Merkmalswert der HD des jeweiligen Hundes geschlossen. Bei einem Vergleich der Vorhersagegenauigkeit für den späteren HD-Befund des Hundes war die Überlegenheit der genomischen Selektion über das konventionelle Zuchtwertschätzverfahren sehr deutlich zu sehen. Bei der konventionellen Zuchtwertschätzung können Zuverlässigkeiten für die Vorhersage in einem Bereich von 3 bis maximal 15% für zukünftige Tiere, für die noch keine HD-Befunde vorliegen, erreicht werden. Diese Werte haben wir nach Analyse mehrerer Datensätze von verschiedenen Rassen nachgewiesen. Aus diesen Analysen ergibt sich somit, dass die konventionelle Zuchtwertschätzung nur geringe Erfolgchancen in einem Zuchtprogramm bietet und von der genomischen Selektion möglichst schnell abgelöst werden sollte.

Die Robustheit der HD-Befunde haben wir mehrfach überprüft. So konnten wir an mehreren unabhängigen Datenmaterialien zeigen, dass wir identische Ergebnisse für die genomischen Zuchtwerte erhielten, unabhängig von der Auswahl unterschiedlicher Stichproben von Hunden. Weiterhin waren alle Ergebnisse der Kopplungsanalyse mittels der Assoziationsanalysen anhand der SNPs wiederholbar. Für die Kopplungsanalyse wurden 11 väterliche Halbgeschwisterfamilien verwendet, während für die Entwicklung der genomischen Zuchtwerte eine Stichprobe von Hunden aus der gesamten Population gezogen wurde, die möglichst geringe Verwandtschaftsgrade aufwiesen. An früheren Analysen konnte bereits gezeigt werden, dass der Einfluss des Röntgentierarztes sehr gering ist und die Zwischen-Beurteiler Varianz gegen Null geht.

Das von uns entwickelte Verfahren ist nicht mehr abhängig von der Anzahl der geröntgten Nachkommen und der zum Röntgen ausgewählten Tiere. Daraus ergibt sich ein weiterer wichtiger Gesichtspunkt. Der genomische Zuchtwert für HD hat bei allen Tieren die gleiche Genauigkeit und kann sofort nach der Geburt bestimmt werden, da sich der genomische Zuchtwert direkt aus den HD-assozierten Genvarianten ergibt. Dieses Verfahren stellt einen



Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung Hannover

Quantensprung in der HD-Bekämpfung dar. Aus diesen Gründen wurde dieses Verfahren zum Patent angemeldet.

Die genomische Aufklärung der HD beim Deutschen Schäferhund ist ein wesentlicher Schritt zur Vereinfachung der Bekämpfung der HD und eröffnet auch die Perspektive, die Häufigkeit dieser Gelenkerkrankung in kürzerer Zeit, als dies bisher jemals möglich war, deutlich zu vermindern. Weiterhin können diese Erkenntnisse beim Deutschen Schäferhund auf ihre Übertragbarkeit und Gültigkeit für andere Rassen mit nicht allzu großem Aufwand überprüft werden, wenn die erforderlichen Daten und Blutproben zur Verfügung gestellt werden. Hierfür werden zunächst ca. 200 bis 500 Hunde mit Pedigree, HD-Befunden und Blutproben benötigt. Pro Hund sollten 3-5 ml EDTA-Blut zur Verfügung gestellt werden. Die Auswahl der Tiere erfolgt aufgrund der Pedigrees und sollte möglichst repräsentativ für die jeweilige Rasse bzw. Population sein. Diese Stichprobe sollte ca. 50 % HD-freie und ca. 50 % Hunde mit leichter bis schwerer HD umfassen. Die erfolgreichen Arbeiten beim Deutschen Schäferhund machen es den anderen Rassen auch wesentlich leichter, ein derartiges genomisches HD-Bekämpfungsverfahren zu entwickeln, da sie auf einem bewährten Modell aufbauen und diese Vorkenntnisse auch für ihre Rasse einsetzen können.

Danksagung

An dieser Stelle danken wir der Gesellschaft zur Förderung kynologischer Forschung e.V. GKF), Bonn, und dem Verein für Deutsche Schäferhunde (SV), Augsburg, sehr herzlich für die Unterstützung unserer Forschungsarbeiten und hoffen, dass wir mit den hier vorgelegten Ergebnissen unserer Arbeit die Hundezucht unterstützen können.

Literatur

- Hamann H, Kirchhoff T, Distl O. 2003: Bayesian analysis of heritability of canine hip dysplasia in German shepherd dogs. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 120, 258-268.
- Janutta V, Hamann H, Distl O. 2006: Complex segregation analysis of hip dysplasia in German shepherd dogs. *Journal of Heredity* 97, 13-20.
- Marschall Y, Distl O. 2007: Mapping quantitative trait loci for canine hip dysplasia in German shepherd dogs. *Mammalian Genome* 18, 861-870.

Prof. Dr. Ottmar Distl, Dr. Kathrin Friederike Stock, Dr. Yvonne Marschall
Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17p
30559 Hannover

Korrespondenz:

Prof. Dr. O. Distl

Tel.: 0511-953-8875

FAX: 0511-953-8582

E-mail: ottmar.distl@tiho-hannover.de



Genomische Selektion gegen die Hüftgelenkdysplasie des Hundes

Das Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover hat in Zusammenarbeit mit dem Verein für Deutsche Schäferhunde, Gesellschaft zur Förderung kynologischer Forschung (GKF) und dem Verband für das Deutsche Hundewesen (VDH) ein vollkommen neues molekulargenetisches Testverfahren für die Zucht gegen Hüftgelenkdysplasie beim Deutschen Schäferhund entwickelt.

Dieses Testverfahren beruht auf genetischen Markern und Referenzwerten, um aus diesen Markern einen genomischen Zuchtwert zu erstellen. Die genetischen Marker und Referenzwerte wurden spezifisch für den Deutschen Schäferhund entwickelt, während das Verfahren für die Erstellung eines genomischen HD-Zuchtwertes anhand dieser genetischen Marker auf alle Rassen übertragbar ist. Der genomische HD-Zuchtwert kann bereits für Welpen des Deutschen Schäferhundes bestimmt werden, da die genetischen Marker und Referenzwerte bekannt sind. Die Genotypisierung der Marker erfolgt anhand einer EDTA-Blutprobe. Der genomische HD-Zuchtwert ermöglicht eine Anpaarungsplanung und eine Auswahl der Welpen nach ihren genetischen Anlagen für Hüftgelenkdysplasie. Zugleich gestattet das Verfahren eine Vorhersage für die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Hüftgelenkdysplasie (HD) im späteren Leben des Hundes. Ein wesentlicher Punkt ist hierbei, dass das neue molekulargenetische Verfahren nicht auf Verwandteninformationen beruht, sondern die Erbanlagen des jeweiligen Hundes den genomischen HD-Zuchtwert bestimmen. Für den Deutschen Schäferhund bedeutet die Einführung des genomischen HD-Zuchtwertes einen wesentlichen Schritt zur Vereinfachung der Bekämpfung der HD.

Dieser große Erfolg für den Deutschen Schäferhund veranlasst uns, die Anwendbarkeit des genomischen HD-Zuchtwertes auch für andere Rassen zu überprüfen. Wir würden es daher sehr begrüßen, wenn weitere Rassehundezuchtvereine sich an der Entwicklung eines entsprechenden genomischen HD-Zuchtwertes beteiligen würden. Für die Weiterentwicklung des genomischen HD-Zuchtwertes für weitere Hunderassen müssen wir Untersuchungen an den jeweiligen Rassen durchführen. Dafür werden EDTA-Blutproben einer repräsentativen Stichprobe der jeweiligen Hunderasse benötigt. Für die Auswahl einer repräsentativen Stichprobe benötigen wir die Zuchtbuchdaten und Ahneninformationen der jeweiligen Populationen und Rassen. Umso präziser die Struktur der jeweiligen Population und die Verteilung der HD-Befunde entsprechend dieser Populationsstruktur erfasst werden können, desto höher ist die Qualität der Stichprobe und desto weniger Tiere werden benötigt, um die genomische Selektion für eine Rasse zu etablieren.

Um zu ersten Aussagen für einen molekulargenetischen Test bei weiteren Hunderassen zu kommen, werden ca. 200-300 Tiere von Rassen mit kleinerem Populationsumfang und ca. 300-500 Tiere von Rassen mit größerem Populationsumfang benötigt. Jeweils 50% der Hunde sollen HD frei sein und 50% leichte bis schwere HD aufweisen. Aus dieser Stichprobe nehmen wir zunächst 50 bis 100 Hunde für einen ersten Testlauf. Von diesen 50-100 Hunden müssen ebenfalls 50% der Tiere HD-frei sein und 50% der Tiere HD-Befunde (leichte-schwere HD) aufweisen. Die weiteren ca. 200 - 400 Hunde werden zur Bestätigung und eventuellen weiteren verfeinerten Markerauswahl benötigt. Der Zeitrahmen für diese Untersuchungen wird bei ca. ½ bis 1 Jahr liegen, nachdem die Proben und Daten bereitgestellt wurden. Je mehr Rassen sich beteiligen, desto schneller werden wir das Ziel erreichen, einen möglichst umfassenden genomischen HD-Zuchtwert für viele Hunderassen entwickeln zu können.



Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung Hannover

Die allgemeine Vorgehensweise für Rassehunde-Vereine ohne DNA- und Datenbank oder mit DNA- und Datenbank finden sie hier in einem kurzen Überblick.

Das Merkblatt für die Einsendung der Blutproben finden sie hier. Die Proben schicken Sie bitte an die unten aufgeführte Adresse.

Bei Fragen wenden Sie sich bitte an:

Prof. Dr. Ottmar Distl

Mitarbeiter: Dr. Yvonne Marschall und Dr. Kathrin F. Stock

Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Bünteweg 17 p

30559 Hannover

Tel.: 0511/953-8876; Fax: 0511/953-8582

E-Mail: ottmar.distl@tiho-hannover.de



Vorgehen für die Genomische Selektion bei anderen Hunderassen

1. Vereine ohne Datenbank und DNA-Bank

Schritt 1: Aufbau einer Datenbank und DNA-Bank

Datenbank

- Die Datenbank soll alle für eine Zuchtuntersuchung oder bei einer Zuchtzulassung vorgestellten Hunde enthalten. Ideal wäre es, wenn die Datenbank alle im Rassehundezuchtverein registrierten Welpen einschließlich der insgesamt verfügbaren Ahneninformation enthalten würde.
- Nach Möglichkeit sollten alle zuchtrelevanten Daten für das jeweilige Tier erfasst werden, also die Stammdaten, Abstammungsinformation, Körpermerkmale, Fellfarbe, Augenfarbe, Ergebnisse der Zuchtzulassung und Untersuchungsbefunde aus speziellen Programmen.
- Erfassung **der verfügbaren Daten** mit einem Tabellenkalkulationsprogramm (z.B. MS Excel) oder anderen Programmen (Unterstützung durch Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung möglich)
- **Nicht** das Programm Works verwenden!
- Bereitsellung der Dateien als **.txt**, **.csv** oder **.xls**
- **Angaben zu den erfassten Tieren:**
 - Zuchtbuchnummer des Hundes!
 - Name des Hundes
 - Zwingername des Hundes
 - Geburtsdatum des Hundes
 - Geschlecht des Hundes
 - Chip-Nummer und/ oder Tätowiernummer des Hundes
 - Zuchtbuchnummer des Vaters
 - Name des Vaters
 - Zwingername des Vaters
 - Zuchtbuchnummer der Mutter
 - Name der Mutter
 - Zwingername der Mutter
 - HD-Befund des Hundes (nach Möglichkeit detaillierte Befunde)
 - Gutachter
 - Röntgen-Tierarzt
 - PLZ und Ort des Röntgen-Tierarztes
 - Röntgen-Datum
 - Blutprobe vorhanden (ja/nein)
 - Weitere Angaben, falls verfügbar: ED-Befund, OCD-Befund, PL-Befund und weitere Befunde am Skelett des Hundes
 - Angaben zu dem Exterieur des Hundes soweit verfügbar: Fellfarbe, Augenfarbe, Größe, Gewicht, Körpermerkmale
 - Teilnahme an Untersuchungsprogrammen des DOK, CC, zur Taubheit



- Verhaltenstests
- Bereitstellung der Röntgenaufnahmen und/oder Befundbögen zu den jeweiligen Befunden
- Bei Vereinen, die sich in Landesverbände unterteilen oder bei denen Hunde aus dem Ausland relevant sind oder bei Hunderassen mit mehreren Vereinen sollten auch zu diesen Punkten die Angaben möglichst detailliert in der Datenbank erfasst werden.

DNA-Bank

- Zentrale Sammlung von Blutproben
- Wichtige Punkte bei der **Blutentnahme**:
 - Die Entnahme des Blutes soll möglichst steril erfolgen
 - Das Probenröhrchen muss einen Gerinnungshemmer, und zwar **EDTA**, enthalten. Sehr günstig ist die Verwendung von **EDTA-K Monovetten**.
 - Die Blutentnahme sollte entweder im Anschluss an die **Röntgenuntersuchung auf HD** oder bereits beim Welpen erfolgen. Die Welpen müssen vor der Blutabnahme eindeutig gekennzeichnet werden (Chip oder Tätowierung). Der Hund muss identifiziert werden.
 - Bei Welpen sollten mindestens 3 ml und bei älteren Tieren mindestens 5 ml Blut vom Tierarzt entnommen werden.
 - Bitte die Monovette mit der Identität des Hundes (Name, Zuchtbuchnr.) beschriften und das dazugehörige Merkblatt **vollständig** ausfüllen.
 - Der Versand sollte möglichst **umgehend** erfolgen. **Keinesfalls** jedoch am Freitag oder Samstag. In diesem Fall bitte das Blut bis Montag im Kühlschrank (ca. 4° C) lagern und erst dann versenden.
- **Begleitschreiben** zu der Blutprobe:
 - Dieses können sie sich von unserer Homepage www.tierzucht-hannover.de herunterladen.
 - Inhalt:
 - Rasse des Hundes
 - Zuchtbuchnummer des Hundes
 - vollständiger Name des Hundes
 - Geburtsdatum des Hundes
 - Geschlecht des Hundes
 - Zuchtbuchnummer des Vaters
 - Zuchtbuchnummer der Mutter
 - Datum der Blutentnahme
 - Besitzer mit Anschrift
 - Tierarzt mit Anschrift
- Die Blutprobe mit dem Begleitschreiben schicken sie bitte unter Beachtung der üblichen Vorschriften zur Versendung biologischen Materials an:

Prof. Dr. Ottmar Distl
Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17 p
30559 Hannover



Tel.: 0511/953-8876; Fax: 0511/953-8582

E-Mail: ottmar.distl@tiho-hannover.de

- Kosten pro Blutprobe: einmalig 7,00 €
- Diese Kosten schließen die Lagerung der Proben, DNA-Isolierung und Verwaltung des Probenmaterials ein. Es werden keine weiteren jährlichen Gebühren erhoben.

Schritt 2:

siehe Schritt 1 bei Vereinen mit Datenbank und DNA-Bank im Aufbau

2. Vereine mit Datenbank und DNA-Bank im Aufbau

Schritt 1: Überprüfung der Datenbank und DNA-Bank auf Eignung als Lernstichprobe für die Genomische Selektion

- Übersendung der **auf EDV verfügbaren Daten** (Zuchtbuchdaten, Ahnentafeln, HD-Befunde, weitere Angaben zu tierärztlichen Befunden, Exterieur, Verhalten) an das Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung der Tierärztlichen Hochschule Hannover
 - bei kleineren Dateien (bis 5 MB) per e-mail an ottmar.distl@tiho-hannover.de
 - bei größeren Dateien (ab 5 MB) per CD an:
Prof. Dr. Ottmar Distl
Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17 p
30559 Hannover
- Mindestanforderungen an die zur Verfügung stehenden Proben und Daten
 - Pedigree-Daten sollten **mindestens über 2 Generationen** reichen, d.h. die vollständigen Angaben zu den Eltern und zu den Großeltern sollten enthalten sein
 - **EDTA-Blutproben** sollten für **mindestens 200 Hunde** der Rasse verfügbar sein, wobei mindestens 100 Hunde mit dem **HD-Befund A** und mindestens 100 Hunde mit dem **HD-Befund C bis E** dabei sein sollten
- Überprüfung der DNA- und Datenbank auf Eignung für die Entwicklung der Genomischen Selektion bei dieser Hunderasse
 - ob die Voraussetzungen für eine erforderliche molekulargenetische Untersuchung ausreichend sind, d.h. eine ausreichend repräsentative Stichprobe von HD-freien und HD-betroffenen (HD-leicht bis schwer) vorhanden ist
- Falls die DNA- und Datenbank **nicht ausreichend** ist:
 - Zusammenstellung einer Liste der fehlenden Daten und gezielte Anfrage nach Blutproben von bestimmten Hunden, die in der DNA-Bank für die Untersuchung fehlen
- Falls die DNA- und Datenbank **ausreichend** ist: siehe Schritt 2



Schritt 2: siehe Schritt 1 bei Vereinen mit etablierter Datenbank und DNA-Bank

3. Vereine mit etablierter Datenbank und DNA-Bank

Schritt 1: Auswahl einer repräsentativen Lernstichprobe aus der Datenbank und DNA-Bank für die molekulargenetische Untersuchung

- Der Mindestumfang an Blutproben sollte bei 200-500 Tieren liegen.
- Die Anzahl der zu testenden Hunde kann je nach Rasse variieren. Der genaue Umfang der Stichprobe kann erst nach Analyse der Populationsstruktur festgelegt werden, da alle wesentlichen Gründertiere und Ahnen in den zu untersuchenden Hunden repräsentiert sein sollten. Nach unseren bisherigen Erfahrungen beim Deutschen Schäferhund und vielen weiteren Hunderassen wird sich der Umfang der ersten Lernstichprobe bei ca. 50-200 Tieren bewegen.
- Berechnung der Verwandtschaftsbeziehungen, Gründertieranteile und Linienbeziehungen der Hunde zur Überprüfung der Repräsentativität
- Heraussuchen der Hunde mit HD-Befund und EDTA-Blutprobe
- Auswahl von einer Gruppe von ca. 50-100 möglichst wenig verwandten und für die Population repräsentativen Hunden, die zur Hälfte den HD-Befund A (HD-frei) und zur anderen Hälfte den HD-Befund C bis E (leichte bis schwere HD) haben

Schritt 2: Molekulargenetische Untersuchung zur Identifizierung eines Markersets für die Genomische Selektion

- Testen eines umfassenden genetischen Markersets auf einen Zusammenhang mit HD und Überprüfung auf korrelierte Effekte mit anderen Merkmalen
- Zusammenstellung eines Markersets für die Genomische Selektion

Schritt 3: Überprüfung (Verifizierung) des Markersets für die Genomische Selektion anhand einer zweiten Stichprobe

- Auswahl weiterer 100-300 Hunde zur Überprüfung des Markersets (siehe Schritt 1) in Abhängigkeit der Populationsstruktur
- Bestimmung der Varianten der genetischen Marker für alle Hunde
- Berechnung der genomischen Zuchtwerte

Schritt 4: Etablierung der Genomischen Selektion

- Integrierung der Genomischen Selektion in die Zuchtprogramme des Vereins
- Laufende Weiterentwicklung und Verfeinerung des Verfahrens und Anpassung an neue Entwicklungen

Merkblatt für die Blutentnahme für die DNA-Bank zur Erforschung der HD

An dem Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung der Tierärztlichen Hochschule Hannover wird eine DNA-Bank für reinrassige Hunde mit dem Ziel aufgebaut, eine molekulargenetische Untersuchung auf erbliche HD-Disposition durchzuführen. Dieses Probenmaterial steht ausschließlich dem Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung zur Verfügung. Eine Abgabe von DNA durch unser Institut an Dritte erfolgt nur, wenn ein Auftrag des Besitzers des Hundes bzw. des einsendenden Tierarztes vorliegt.

Die Isolierung von DNA erfolgt aus Blutzellen. Deshalb ist es **wichtig**, bei der Entnahme und Versendung folgende Punkte zu beachten:

1. Die Entnahme des Blutes soll möglichst steril erfolgen
2. Das Probenröhrchen muss einen Gerinnungshemmer, und zwar **EDTA**, enthalten. Sehr günstig ist die Verwendung von **EDTA-K Monovetten**.
3. Bei Blutentnahmen von Welpen müssen die Tiere wegen ihrer Identität vorher gechipt werden. Es sollte mindestens 3 ml (5 ml bei großen Hunden) Blut vom Tierarzt entnommen werden.
4. Bitte die Monovette mit der Identität des Hundes (Name, Zuchtbuchnr.) beschriften und das dazugehörige Merkblatt **vollständig** ausfüllen und mit Unterschrift die Richtigkeit der Angaben bestätigen.
5. Der Versand sollte entweder möglichst **umgehend** erfolgen oder nach Sammlung der Proben über eine längere Zeit. **Keinesfalls** Proben am Freitag oder Samstag versenden. Bei frischgenommenen Proben diese bitte bis Montag im Kühlschrank bei ca. 4°C zwischenlagern und erst dann versenden.

Folgende Angaben sind erforderlich:

Name und Anschrift des Besitzers:

Name und Anschrift des Tierarztes:

Geschlecht: Rüde Hündin Rasse:

Geburtsdatum: Name Tier:

HD-Röntgendatum:

HD-Befund: A (frei) B (Verdacht) C (leicht) D (mittel) E (schwer)

Zuchtbuchnummer Tier: Chip-/Tätowiernr. Tier:

Zuchtbuchnummer Vater: Zuchtbuchnummer Mutter:

Tag der Blutentnahme:

Bemerkungen:

Die Untersuchungen schließen eine wissenschaftliche Verwertung der Ergebnisse mit ein. Bei Verwendung der Daten für wissenschaftliche Zwecke werden alle Angaben anonymisiert, so dass keine Rückschlüsse auf die Identität des Hundes, des Besitzers, Züchters und das Herkunftsland möglich sind.

Datum und Unterschrift:

Blutproben bitte schicken an: Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung
der Tierärztlichen Hochschule Hannover
z.Hd. Prof. Dr. Ottmar Distl
Bünteweg 17 p
30559 Hannover
Tel.: 0511/953-8876; Fax: 0511/953-8582
E-Mail: ottmar.distl@tiho-hannover.de