

Die strukturelle und funktionelle Genomanalyse – neue Wege zum Verstehen des Phänotyps - -Stand und Perspektiven-

M. SCHWERIN¹, R. FRIES, H. SIMIANER, H. SWALVE, K. WIMMERS

Die wissenschaftliche Erklärung von Leistungen des Gesamtorganismus und der Anspruch, zu innovativen Ansätzen für die Beeinflussung der Nutztierleistungen zu gelangen, erfordert die verstärkte Beachtung und Bearbeitung der Wirkung und Wechselwirkung biologischer Moleküle innerhalb des Tierorganismus und ihrer Wechselwirkung mit der Umwelt. Die Erforschung von Regulationsprozessen auf verschiedenen Ebenen der Merkmalsausprägung hat dabei besondere Bedeutung. In diesem Zusammenhang wird erwartet, dass die molekulare Genomanalyse signifikante Beiträge zur Aufklärung der der Merkmalsvariation zugrunde liegenden genetischen Variation (strukturelle Genomanalyse) und zur Erfassung der tierspezifischen und umweltbeeinflussten Genexpression (funktionelle Genomanalyse: Transcriptomics, Proteomics) als wichtiger Grundlage der Merkmalsausprägung liefern wird.

Alle Organismen sind im physikalischen Sinne ‚offene‘ Systeme, da sie in einem Stoff- und Energieaustausch mit ihrer Umgebung stehen. Es sind die Gene, in der Erbsubstanz DNA, die in der Sequenz ihrer Bausteine die Informationen für Proteine tragen und damit für den Stoffwechsel von Zellen und Geweben verantwortlich sind. Die Merkmalsausprägung ist dabei kein ‚starrer‘ Prozess. Einerseits unterliegt die DNA selbst ständig sequenzverändernden Einflüssen. Andererseits können innere und äußere Faktoren auf allen Stufen der primären und sekundären Genwirkung sowohl Struktur als auch Funktion und Wechselwirkung der biologisch wirksamen Moleküle des Organismus und damit die Merkmalsausprägung beeinflussen. Ob ein Gen oder Genprodukt für seinen Träger vorteilhaft oder nachteilig ist, hängt unter anderem von dem Kontext an Genen und Umweltfaktoren ab, in den es integriert ist.

Strukturelle Genomanalyse – Nachweis von merkmalsassoziierten Genvarianten

Allgemein wird erwartet, dass mit der Identifizierung bzw. Kartierung von quantitativen Merkmalsloci ("quantitative trait loci", QTL) mit signifikanten Effekten auf Leistungs- und Qualitätsparameter und durch die Anwendung dieses Wissens im Rahmen der Marker-gestützten

¹ Arbeitsgruppe der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde e. V. (DGfZ), Adenauerallee 174, 53113 Bonn

Selektion eine weitere Steigerung des Zuchtfortschrittes sowohl für die direkten Produktionsmerkmale als auch für die sekundären Merkmale erreicht werden kann. Für die Identifizierung der QTLs kommen zwei Ansätze zur Anwendung: erstens die Identifizierung der kausalen Gene und Genvarianten und zweitens die Lokalisierung der QTL mittels eng mit dem QTL gekoppelten Markern. In der Population weist ein Kopplungsungleichgewicht zwischen Marker und Leistungsentwicklung und in segregierenden Familien die Konsegregation von Marker und Leistungsmerkmal auf die enge Kopplung von Marker und QTL hin.

Obwohl die meisten tierzüchterisch interessanten Merkmale polygener Natur sind, gibt es eine Reihe von Eigenschaften, die von einem einzelnen Gen oder von nur wenigen Genen verursacht werden. Sequenzveränderungen in dem Gen können direkte Auswirkungen auf die Qualität und Menge des Genproduktes haben. Identifizierte kausale Genvarianten können direkt Anwendung bei der Entwicklung und Nutzung gendiagnostischer Verfahren in der Marker-gestützten Selektion finden. Für die in Tabelle 1 und 2 dargestellten Genvarianten stehen entsprechende gendiagnostische Verfahren zur Verfügung, die im Rahmen der züchterischen Verbesserung der jeweiligen tierischen Leistungen Anwendung finden können. Dabei gibt sich in einer konkreten Population die biologische Bedeutung eines Genes oder einer Genvariante oft erst im Zusammenhang mit anderen genetischen und biologischen Umständen zu erkennen. Ob ein Gen oder Genprodukt für seinen Träger vorteilhaft oder nachteilig ist, hängt unter anderem von dem Kontext an Genen und Umweltfaktoren ab, in den es integriert ist.

Tabelle 1. Gene und Genvarianten, die signifikant phänotypische Merkmale beim Rind beeinflussen

Merkmalskategorie	Locus	Phänotyp	Mutation	Referenz
Gendefekt	<i>CD18</i> (β_2 -Integrin)	BLAD	A/G Transition	KEHRLI et al., 1990
	<i>ASS</i>	Citrullinämia	C/T Transition	DENNIS et al., 1989
	<i>UMPS</i>	DUMPS	C/T Transition	SCHWENGER et al., 1993
	keto acid dehydrogenase	MSUD	T/C Transition	ZHANG et al., 1990
	<i>TG</i> (Thyroglobulin)	Kongenitaler Hypothyroidismus	C/T Transition	RICKETTS et al., 1987
	<i>CHS</i>	Chediak-Higashi-Syndrom	Punktmutation	YAMAGUCHI et al., 2000
	<i>MANA</i> (α -Mannosidase)	α -Mannosidose		HEALY et al., 1996
	<i>MANB</i> (β -Mannosidase)	β -Mannosidose		CHEN et al., 1995
	<i>PYGM</i>	McArdle-Erkrankung		TSUJINO et al., 1996
	<i>EPB3</i>	Sperocytosis		INABA et al., 1996
	<i>PRG</i> (Proteoglycan)	Dermatosparaxia		TAJIMA et al., 1999
	Pro-Kollagenase I Proteinase	Dermatosparaxia		COLIGE et al., 1999
	<i>STAT5A</i>	Roan-Erkrankung	Transition	SEITZ et al., 1999
Milchmerkmale	<i>CASK</i> (κ -Kasein)	Käseverarbeitungseigenschaften	mehrere Punktmutationen	PRINZENBERG et al., 1999
	<i>LGB</i> (β -Lactoglobulin)	allergenes Potential	mehrere Punktmutationen	KLUNGLAND et al., 1995
	<i>PRL</i> (Prolaktin)	Milchmenge		COWAN et al., 1990
	<i>DGATI</i>	Milchmengen- und -gehaltsmerkmale	K232A-Mutation	WINTER et al., 2002
Fellfarbe	<i>MC1R</i>	Rote und schwarze Fellfarbe		KLUNGLAND et al., 1995
Wachstum	<i>MH</i> (Myostatin)	Muskelhypertrophie	Deletion, Insertion	GROBET et al., 1998

Tabelle 2. Gene und Genvarianten, die signifikant phänotypische Merkmale beim Schwein beeinflussen (Auswahl)

Merkmalsname	Locus	Phänotyp	Mutation	Referenz
Erkrankung	<i>FUT1</i>	Ödemerkrankung	Punktmutationen	MEIJERINK et al., 2000
Fellfarbe	<i>KIT</i>	weiße Fellfarbe	Duplikation	JOHANSSON MOLLER et al., 1996
	<i>MC1R</i>	schwarze Fellfarbe	Punktmutation	KIJAS et al., 1998
Stressempfindlichkeit	<i>RYR1</i>	Maligne Hyperthermie Syndrom	C/T Transition	FUJI et al., 1991
Wachstum	<i>MC4R</i>	Wachstum, Fettgehalt	Punktmutation	KIM et al., 2000
Schlachtskörperzusammensetzung und Fleischqualität	<i>H-FABP</i>	intramuskulärer Fettgehalt		GERBENS et al., 1997
	<i>PRKAG3</i>	Anstieg des Glykogengehalts	Punktmutation	MILAN et al., 2000
	<i>RYR1</i>	verminderte Fleischqualität	C/T Transition	FUJI et al., 1991
	<i>AGRP</i>	Fleischqualität und Wachstum		KIM et al., 2000
	<i>LEP</i>	Fettanteil, Magerfleischanteil		HARDGE et al., 2000
	<i>LEPR</i>	Fettanteil, Magerfleischanteil		HARDGE et al., 2000
Fruchtbarkeit	<i>RARG</i>	Wurfgröße	Punktmutation	MESSER et al., 1996
	<i>FSHB</i>	Wurfgröße	Punktmutation	ZHAO et al., 1998; Li et al., 1998
	<i>RBP4</i>	Wurfgröße	Punktmutation	MESSER et al., 1996 ; ROTHSCHILD et al., 2000
	<i>ESR</i>	Wurfgröße	Punktmutation	ROTHSCHILD et al., 1996
	<i>PRLR</i>	Wurfgröße	Punktmutation	VINCENT et al., 1998

Identifizierte kausale Genvarianten können im Gegensatz zu indirekten mit QTLs genetisch gekoppelten Markern direkt Anwendung bei der Entwicklung und Nutzung gendiagnostischer Verfahren in der Marker-gestützten Selektion finden.

Die Vorteile gendiagnostischer Verfahren bestehen insbesondere darin, dass

- eine exakte Befundung gegeben ist,
- eine sichere Erkennung auch rezessiver Anlagenträger erfolgen kann und
- die Diagnose unabhängig von der Merkmalsausprägung, vom Alter und vom Geschlecht möglich ist.

Lokalisierter QTL– günstige Voraussetzung für die züchterische Verbesserung züchterisch relevanter merkmale

Als DNA-Marker werden Polymorphismen der Erbanlagen mit bekannter Position auf den Chromosomen bezeichnet. Die meisten DNA-Marker haben eine unbekannt Funktion. Der DNA-Marker wird gemeinsam mit den Genen in der Nachbarschaft auf dem Chromosom an die Nachkommen weitervererbt. Dadurch lässt sich der Erbgang aller Gene in der Nachbarschaft des Markers verfolgen. Solche genetischen Marker können genutzt werden, um z. B. QTL zu lokalisieren, wenn eine enge Kopplung zwischen dem Marker und dem QTL besteht. Dazu sind möglichst vollständige Markerkarten, d. h. verfügbare genetische Marker, die möglichst dicht das gesamte Genom abdecken (BARENDSE et al. 1997; BISHOP et al. 1994; FERRETTI et al., 1997 und informative Familien) in denen das Merkmal segregiert, notwendig. In solchen Familien wird dann die Vererbung von Markern und QTL analysiert. Bei paralleler Vererbung (Kosegregation) kann gefolgert werden, dass beide Loci eng gekoppelt sind und über die Weitergabe der Markerallele Informationen über die Vererbung, z. B. der QTL-Allele oder des Erbdefektes, gewonnen werden können. Viele genetische Kartierungsansätze (z. B. ANDERSSON et al., 1994, DAVIS et al., 1998) haben gezeigt, dass Genorte, die komplexen Produktionsmerkmalen zugrunde liegen, erfolgreich kartiert werden können. QTL-Positionen und hochsignifikante QTL-Effekte, die in unabhängigen Untersuchungen bestätigt werden konnten, zeigen den potentiellen Wert von kartierten QTL für Marker-gestützte Selektionsprogramme (SPELMAN und BOVENHUIS, 1998; Übersicht siehe Tabelle 3).

Tabelle 3. Chromosomen mit QTL-Regionen, die Milchleistungs-, Wachstums-, Exterieur- und funktionale Merkmale bei Rind und Schwein beeinflussen (Übersicht)

Tierart	Merkmal	Chromosomen mit kartierten QTL-Regionen	Referenz
Rind	Milchleistung	BTA1, BTA2, BTA3, BTA4, BTA5, BTA6, BTA7, BTA9, BTA10, BTA11, BTA13, BTA14, BTA16, BTA17, BTA18, BTA19, BTA20, BTA23	Z. B. ARRANZ ET AL., 1998; ASHWELL ET AL., 1996; DAVIS ET AL., 1998; GEORGES ET AL., 1995;
	Wachstum	BTA1, BTA2, BTA3, BTA5, BTA6, BTA7, BTA8, BTA9, BTA12, BTA14, BTA18, BTA19, BTA21, BTA22, BTA23	HIENDLEDER ET AL., 2002; KÜHN ET AL., 1996, 1999, 2003; MÄKI-TANILA ET AL., 1998; REINSCH ET AL., 1998; RON ET AL., 1994, 1998; ZHANG ET AL., 1996
	Exterieur	BTA6, BTA27	
	Funktionale Merkmale	BTA5, BTA7, BTA18, BTA19, BTA21, BTA23	
Schwein	Fleischqualität	SSC1, SSC2, SSC3, SSC4, SSC5, SSC6, SSC7, SSC8, SSC9, SSC10, SSC11, SSC12, SSC13, SSC14, SSC15, SSC17, SSC18	Z. B. ANDERSSON ET AL., 1994; GELDERMANN ET AL., 1999, 2003; MALEK ET AL., 2000; KERR ET AL., 2000; GENET ET AL., 2000
	Schlachtkörperzusammensetzung	SSC1, SSC2, SSC3, SSC4, SSC6, SSC7, SSC8, SSC12, SSC13, SSC17, SSCX	
	Fettmerkmale	SSC1, SSC3, SSC4, SSC5, SSC6, SSC7, SSC8, SSC12, SSC13, SSC14, SSC18	

Gegenwärtig läuft auf internationaler Ebene eine Vielzahl an Projekten, um auch QTL's, welche die Qualität tierischer Produkte beeinflussen, in den verschiedenen Nutztierpopulationen genetisch zu kartieren. Bislang sind in den verschiedenen Untersuchungen weit über 100 QTL mit signifikantem Einfluss auf Merkmale der Fleischqualität, der Schlachtkörperzusammensetzung oder des Fettgehaltes kartiert worden. Die in der Tabelle 2 dargestellte Auswahl an Ergebnissen zeigt deutlich, dass dieser Ansatz sehr erfolgreich ist und in naher Zukunft zu einer großen Anzahl kartierter Loci führen wird. Die große Anzahl dieser bisher kartierten QTL bildet eine wichtige Grundlage für das positionelle Klonieren der entsprechenden Kandidatengene und für die Anwendung in der marker-gestützten Selektion.

In dem von der ADR und dem BMBF geförderten **nationalen Projekt „Genomanalyse Rind“** (1995-2003) sind auf der Grundlage generierter informativer Tierstrukturen („grand daughter“-

Design: 19 Familien, 1.100 Söhne) und einer erstellten informativen das gesamte Genom abdeckenden Markerkarte (265 Marker) eine Vielzahl von QTLs mit signifikantem Einfluss auf Milchleistungs-, Exterieur- und funktionale Merkmale beim Deutschen Hostein Rind kartiert worden (REINSCH et al., 1998; KÜHN et al., 2003; HIENDLEDER et al., 2003). Durch eine weitere intensive Zusammenarbeit mit der INRA (Frankreich) konnte das experimentelle Design wesentlich vergrößert, und auf dieser Grundlage konnten neue QTLs identifiziert und bereits kartierte QTLs bestätigt werden. Die in der Nähe der QTL gelegenen Marker können wie konventionelle Selektionshilfsmittel solange zur Genotypisierung in der Zielpopulation genutzt werden, bis das eigentliche Kandidatengen identifiziert worden ist oder die zu selektierende Population an den Markergenorten homozygot ist. Dies kann aber nur in den Familien erfolgen, in denen sie kartiert wurden. Mit dem Ziel, die Typisierungsdaten populationsweit in die konventionale Zuchtwertschätzung (ZWS) einzubeziehen, wurde eine Marker-gestützte Zuchtwertschätzung (MA-BLUP-ZWS) entwickelt, wobei alle Informationen aus der konventionellen ZWS zu den typisierten Tieren (um Umwelteffekte korrigierte, zusammengefasste mittlere Leistungsabweichungen und deren Informationsgehalt) genutzt wurden. Zusammenfassend kann eingeschätzt werden, dass die entwickelte und durchgeführte MA-BLUP-ZWS trotz noch suboptimaler Datenstruktur eine genauere Vorausschätzung von Testbullenkandidaten liefert und dadurch die Voraussetzung für eine effizientere Auswahl von Testbullen bietet. Dies konnte an Einzelbeispielen und mittels Korrelation über alle Kandidaten gezeigt werden. Durch die mögliche genauere Vorhersage im Rahmen der Vorselektion von Testbullen oder Bullenmüttern kann zum einen die Erhöhung des Zuchtfortschrittes erreicht, und zum anderen können durch die möglichen gezielten Anpaarungen Ausgleichsanpaarungen erfolgreich durchgeführt werden. Neben dem Aufbau und der Etablierung der MA-BLUP-ZWS im VIT Verden wurden weitere logistische Voraussetzungen für die Marker-gestützte Selektion geschaffen wie der Aufbau und Übergabe einer Genomdatenbank, die Logistik für Probenentnahme und -lagerung sowie die Entwicklung von laborexperimentellen Voraussetzungen für die Markertypisierung im Rahmen der tierzüchterischen Praxis. Durch die Entwicklung und Einführung neuer Technologien der Feinkartierung und der Verifizierung und Feinkartierung von QTLs für Milchleistungsmerkmale und Mastitisresistenz zeichnen sich insbesondere 3 Aspekte ab, die zu einer Überlegenheit des gewählten Ansatzes über die konventionellen Zuchtverfahren führen können.

Nachdem ausgewählte QTL oder kausale Genvarianten identifiziert und lokalisiert worden sind, können die in der Nähe gelegenen Marker wie konventionelle Selektionshilfsmittel in die Zucht

einbezogen werden. Der Vorteil von DNA-Marker-gestützten Selektionstechniken besteht, wie oben ausgeführt, darin, dass eine exakte Befundung gegeben ist, eine sichere Erkennung auch rezessiver Anlagenträger erfolgen kann und die Diagnose unabhängig von der Merkmalsausprägung, vom Alter und vom Geschlecht möglich ist. Diese Marker können zur Genotypisierung in der Zielpopulation genutzt werden, bis das eigentliche Kandidatengen identifiziert worden ist oder die zu selektierende Population an den Markergenorten homozygot ist. Das letztendliche Ziel der Marker-gestützten Selektion besteht in der Anreicherung von Marker- und/oder Genvarianten mit positiven Leistungseffekten in der Population. Die strukturelle Genomanalyse wird das Verständnis der genetischen Grundlagen der Merkmalsausprägung und -variation wesentlich verbessern und über die Marker-gestützte Selektion einen signifikanten Beitrag zur züchterischen Verbesserung des Phänotyps liefern.

Allerdings ist im Regelfall die Identifizierung der kausalen Genvarianten eine wesentliche Voraussetzung für eine schnelle und effiziente züchterische Einflussnahme. Neben höheren Kosten und einer geringeren Genauigkeit ist die Anwendbarkeit identifizierter QTL-Marker-Haplotypen im Rahmen indirekter Gentests auf die Familien oder Populationen beschränkt, in welchen sie kartiert wurden, da die Kopplungsphasen zwischen den Familien variieren können. Im Gegensatz dazu können Informationen von kausalen Genvarianten im Rahmen direkter Gentests unmittelbar in der Selektion ohne Beschränkung auf Familien genutzt werden, da jede Genvariante die Leistungen in einer definierten Art und Weise beeinflusst. Voraussetzung ist allerdings, dass die entsprechende genetische Variation in der tierzüchterisch zu bearbeitenden Population vorhanden ist und die Genvariante im konkreten genetischen Kontext die erwartete Merkmalsassoziation aufweist.

Für die meisten komplexen Leistungen weist das Fehlen von starken Kopplungssignalen darauf hin, dass nicht nur ein einzelner Genort diesem Merkmal zugrunde liegt. Da Mutationen in irgendeinem einzelnen Gen weder notwendig noch ausreichend die phänotypische Varianz erklären müssen, ist die Korrelation zwischen Genotyp und Phänotyp unvollständig, und individuelle Rekombinationen können nicht für die Feinkartierung genutzt werden (ALTSHULER et al., 2000). Das bedeutet, dass die ermittelten QTL-Intervalle relativ groß sein werden und das kausale Gen nicht mit 100 %iger Sicherheit enthalten müssen (LANDER und KRUGLYAK, 1996). Darüber hinaus, ist es schwierig, wenn nicht unmöglich, diese Mutationen allein von primären Sequenzdaten zu erkennen, da Mutationen, die an komplexen Merkmalen beteiligt sind, weniger

Störungen der protein-kodierenden Sequenz, als geringfügige Veränderungen der Genfunktion und -expression verursachen werden. Aus all diesen Ursachen gibt es bis heute für die bisher am besten untersuchten Spezies, den Menschen, kein Beispiel für "komplexe Krankheitsgene", die allein aufgrund ihrer identifizierten Position kloniert werden konnten (ALTSHULER et al., 2000). Entsprechend wird es in der Nutztierzucht mit Ausnahme von QTL mit sehr großen Effekten schwierig sein, QTL mit der Präzision zu kartieren, die für die positionelle Klonierung notwendig ist. Die Hauptursachen liegen insbesondere darin, dass der Genotyp an einem QTL aufgrund seiner Interferenz mit anderen QTL und Umweltfaktoren nicht direkt mit dem Phänotyp in Beziehung gebracht werden kann. In den vergangenen Jahren sind im Bereich der Nutztierzucht lediglich drei Genorte mit Hauptgeneffekten erfolgreich kloniert worden. Eine Deletion im bovinen Myostatin-Gen verursacht den "Doppellender"-Phänotyp beim Rind (GROBET et al., 1998), eine Mutation in der porcinen Andenosinmonophosphat-aktivierenden Proteinkinase ist assoziiert mit einem gesteigerten Glykogengehalt im Skelettmuskel des Schweines (MILAN et al., 2000), und eine K232A-Substitution im bovinen AcylCoA-Diacylglycerol-acyltransferase 1 (DGAT1)-Gen zeigt Hauptgeneffekte auf den Milchfettgehalt beim Rind (WINTER et al., 2002; GRISART et al., 2002). Allen drei Ansätzen ist gemein, dass sie erfolgreich die QTL-Feinkartierung unter Einbeziehung vergleichender Genkarten und der Kenntnisse über die physiologische Funktion homologer positioneller Kandidatengene nutzen konnten. Dies kann generell für alle kartierten Loci mit relativ überschaubarem Erbgang angewendet werden. Es ist zu erwarten, dass in Verbindung mit der Lokalisation merkmalsbeeinflussender Loci und unter Nutzung hochauflösender vergleichender Genkarten die funktionelle Genomanalyse einen Durchbruch bei der Identifizierung und Klonierung kausaler Genvarianten bewirken wird.

Im Rahmen eines weiteren vom BMBF und FBF geförderten nationalen Projektes "Entwicklung von Techniken und Methoden zur Kartierung von Defektgenen beim Schwein" wurde für vier Anomaliekomplexe - Afterlosigkeit, Gesäugeanomalien, Hodenbrüchen sowie Spreizer - Kartierungen ätiologisch verantwortlicher Genbereiche durchgeführt. Durch erblich bedingte Defekte entstehen in der Schweineproduktion durch den Ausfall von Zuchttieren, Ferkelverluste, Behandlungskosten und sekundäre Erkrankungen hohe Verluste; sie haben zudem Tierschutzrelevanz. Die Identifizierung von Trägern von Allelen der Gene, die die Ausprägung der Defekte steuern, wird auf der Ebene des Phänotyps erschwert durch das Auftreten von Phänokopien. Die Vererbung der Defekte folgt - wie auch durch die eigenen Vorarbeiten belegt -

komplexen Modi unter der Beteiligung mehrere Loci sowie unvollständiger Penetranz und möglicherweise anderen epigenetischen Phänomenen. Daher stellt gerade hier die Analyse der genetischen Ursachen der Anomalien die Voraussetzung für die Entwicklung effizienter Selektionsmaßnahmen gegen die Defekte dar. DNA-basierte Selektionsmaßnahmen greifen unmittelbar an der betrachteten Generation – ein Defekttträger wird erkannt, bevor man erst nach Verbreitung des Defektallels mit Verspätung aufgrund der Phänotypen der Nachkommengeneration zur Erkenntnis gelangt, dass ein Tier von der Zucht ausgeschlossen werden sollte. Zur Identifizierung von QTL-Bereichen wurde jeweils ein geeignetes umfangreiches Familienmaterial mit erhöhter Anomalienfrequenz gesammelt. In den geeigneten Teilmaterialien wurde daraufhin jeweils ein 'Genom-Scan' auf der Basis eines alle Chromosomen gleichmäßig abdeckenden Sets von Mikrosatelliten-Markern durchgeführt. Zum Teil wurden gezielt bekannte Kandidatengene bzw. eng zu diesen gekoppelte Marker zusätzlich typisiert. Die genomweiten nichtparametrischen Kopplungsanalysen betroffener Halbgeschwistergruppen haben für alle vier Defektkomplexe zur Identifizierung von Genomregionen geführt, die Defektgene enthalten. Damit haben die Untersuchungen auch bestätigt, dass an der Entstehung der Anomalien mehrere Genorte beteiligt sind. Die Ergebnisse bisheriger Untersuchungen mit der Identifizierung von QTL-Regionen haben bereits zu Patentanmeldungen geführt. Aufgrund der gegebenen Struktur und des Umfangs des Materials haben die dargestellten Kartierungsergebnisse für die vier Erbdefekte einen erheblichen Standardfehler. Hinsichtlich der Position ist mit einem 95 % Vertrauensbereich von 20 bis 30 cM zu rechnen. Daher werden an umfangreichem Tiermaterial Feinkartierungen der QTL vorgenommen. Pathogenetisch liegen den vier Anomalien übereinstimmend Störungen prä- und perinataler Entwicklungsprozesse bestimmter anatomischer Strukturen zugrunde. Die bisherigen Analysen werden ergänzt durch die Darstellung Merkmals-abhängiger Expressionsprofile in relevanten Geweben zu relevanten Entwicklungszeitpunkten. Ziel ist es, durch die Integration struktureller und funktioneller Genomanalysen die ursächlich an der Defektausprägung beteiligten Gene zu identifizieren und charakterisiert um direkte DNA-Tests zu entwickeln. Diese sind effiziente populationsunabhängig nutzbare Selektionswerkzeuge für die gezielte Eindämmung von genetischen Anomalien in der Schweinezucht und stellen einen wertvollen Beitrag für die Verbesserung der Wirtschaftlichkeit der Schweineproduktion sowie zu übergeordneten Zielen dar, wie sie im Tierzucht- und Tierschutzgesetz formuliert sind.

Funktionelle Genomanalyse – Beiträge für das bessere Verstehen der Merkmalsausprägung

Um komplexe physiologische Vorgänge im Organismus zu verstehen, reicht die Kenntnis des Genoms allein nicht aus. Es ist notwendig, die Proteine in ihrer Gesamtheit zu erfassen. Die Biosynthese von Proteinen ist gewebs- bzw. zellspezifisch. Auf die Menge und Qualität der gebildeten Proteine haben neben Transkription und Translation verschiedene posttranslationale Modifikationen wie z. B. die Phosphorylierung Einfluss. In Abhängigkeit von der Untersuchungsebene unterscheiden wir das Transkriptom, das die Gesamtheit der mRNA bezeichnet, bzw. das Proteom, das die Gesamtheit der Proteine bezeichnet, die durch das Genom einer Zelle oder eines Gewebes kodiert werden. Entsprechend wird von „Transcriptomics“ und „Proteomics“ gesprochen. „Transcriptomics“ bzw. „Proteomics“ ist die Analyse der gesamten mRNA- bzw. Proteinmenge, die von einem Genom unter bestimmten Bedingungen exprimiert werden. Zentrale Verfahren der funktionellen Genomanalyse sind die DNA- und Protein-Array-Techniken.

DNA-Chips, auch Gen-Chips genannt, sind miniaturisierte Träger, auf deren Oberfläche z. T. Tausende DNA-Moleküle bekannter Sequenz in einem geordneten Raster immobilisiert oder synthetisiert sind. Die gebundenen DNA-Moleküle werden mit komplementären markierten Nukleinsäuren hybridisiert (HÄNEL und SALUZ, 1999). Weltweit sind mehr als achtzig Firmen unmittelbar an der Entwicklung und Vermarktung von entsprechenden Geräten, Reagenzien und Computerprogrammen beteiligt. Gen-Chips werden bisher insbesondere in der klinischen Diagnostik von Infektions-, Krebs- und Erbkrankheiten eingesetzt. Bei den Protein-Arrays sind, analog zu den Gen-Chips, Proteine oder Peptide auf Kunststoffmembranen angeordnet. Gemessen wird die wechselseitige Bindung von Proteinen, z. B. Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen, Intrazelluläre Proteinkomplexe, DNA-Protein-, RNA-Protein- oder Protein-Antikörper-Wechselwirkungen zur Proteinidentifizierung (MAURER, 2000).

DNA- und Protein-Arrays repräsentieren einen neuen Meilenstein in der Genomforschung, wo Tausende von Molekülen gleichzeitig analysiert werden können (MARRA et al., 1998). Die "Power" des funktionellen Genomansatzes wird aus der Tatsache abgeleitet, dass in einer gegebenen Zelle nur ein Teil des Genoms aktiv transkribiert und translatiert wird. Durch die Isolierung der entsprechenden mRNAs bzw. Proteine ist die Analyse des Anteils aller aktiven Gene einer Zelle möglich. Gene, die unterschiedlich exprimiert sind, in einem Gewebe, das durch eine Krankheit oder eine abweichende Leistung beeinflusst ist, sind von besonderem

Interesse. Sie können zu neuen Einsichten in die Prozesse der Krankheitsentwicklung bzw. Leistungsausprägung führen. Mit Expressionsprofilen einer ausreichend großen Zahl von Geweben können statistisch signifikante Korrelationen zwischen gewebsspezifischen Informationen (wie Krankheitsstatus, Behandlungs- oder Umwelteffekte oder Genotypen) und dem Expressionsniveau von ausgewählten Genen oder Gruppen von Genen abgeleitet werden (BOGUSKI und SCHULER, 1995).

Korrelationen von Expressionsniveaus zwischen unterschiedlichen Genen werden es ermöglichen, Gene bestimmten allgemeinen Stoffwechselwegen und funktionellen Gruppen zuzuordnen. In diesem Zusammenhang wird die funktionelle Genomanalyse die Identifizierung funktioneller Kandidatengene erlauben und in Verbindung mit Ansätzen zur Identifizierung positioneller Kandidatengene einen Beitrag zur Identifizierung der der kausalen QTL zugrunde liegenden Gene liefern. Darüber hinaus ist zu erwarten, dass die funktionelle Genomanalyse bei der Aufklärung von Gen-Gen-Wechselwirkungen helfen kann. Aus Modellexperimenten zur Kartierung von QTL für Wachstumsmerkmale bei Labortieren ist bekannt, dass Gen-Gen-Interaktionseffekte bis zu 50 % der Gesamt-QTL-Effekte und etwa 30 % der phänotypischen Varianz in der F2-Population erklären (ref. SCHWERIN, 2001). Die Kenntnis von Gen-Gen-Interaktionen als einer wesentlichen Komponente der Merkmalsausprägung ist eine wichtige Voraussetzung für das Verständnis der und die züchterische Einflussnahme auf die Merkmalsausprägung.

Ausblick

Der Zugang zu den und die Verknüpfung dieser vielfältigen Informationen über Genom, Stoffwechsel und Umweltfaktoren lässt wesentliche Beiträge für die Aufklärung der genetischen Grundlagen der Merkmalsausprägung (Identifizierung funktioneller Kandidatengene, Aufklärung von Gen-Gen-Wechselwirkungen) und damit für die Entwicklung effizienter gendiagnostischer Verfahren für die effiziente Anwendung der Ergebnisse der strukturellen Genomanalyse in der Marker-gestützten Selektion erwarten. Darüber hinaus wird eine sichere Erkennung tierspezifischer Anforderungen an Haltungsbedingungen durch die Aufklärung von Gen-Umwelt-Wechselwirkungen anhand objektiver Bewertungskriterien möglich. Die Gestaltung tiergerechter Haltungsbedingungen stellt nicht nur eine günstige Bedingung zur Ausschöpfung des genetischen Leistungspotentials der Tiere dar, sondern entspricht auch in hohem Maße dem genuinen Interesse der Tierzüchter an Tierschutz und Tiergesundheit. Weitere Anwendungsmöglichkeiten der funktionellen Genomanalyse ergeben sich im Bereich der

Veterinärmedizin und Landwirtschaft bei der Identifizierung von Krankheitserregern und Krankheitsgenen, der Bestimmung von Medikamentenresistenz, der Analyse von mikrobieller Kontamination von Grundwasser, Böden oder Futtermitteln sowie bei der Identifizierung von gentechnisch veränderten Nahrungs- und Futtermitteln.

Zusammenfassung

Molekulare Ansätze der Genomanalyse in der Nutztierzucht werden anhand der Beiträge der molekularen Genomanalyse zur Identifizierung der Veränderungen des Phänotyps zu Grunde liegenden genetischen Variation (strukturelle Genomanalyse) und der Definition von Merkmalsassoziierter und Umweltbeeinflusster Genexpression (funktionelle Genomanalyse), als wichtige Voraussetzung für das Verstehen der phänotypischen Merkmalsausprägung, dargestellt. Die Ergebnisse der Deutschen Genomanalyseprojekte bei Rind und Schwein werden zusammengefasst und die Möglichkeiten und Grenzen der Anwendung kartierter 'quantitativer Merkmalsloci' (QTL) in Zuchtprogrammen und die letztendliche Identifizierung der entsprechenden Kandidatengene diskutiert. Die Voraussetzungen, der gegenwärtige Stand und zukünftige Herausforderungen der Anwendung der funktionellen Genomanalyse bei der Identifizierung von funktionellen Kandidatengenen, der funktionellen Kartierung von Genen für komplexe Merkmale und der Erfassung von Umwelteffekten werden erörtert.

Schlüsselwörter: Strukturelle und funktionelle Genomanalyse, QTL, Kandidatengene, Nutztiere

Literatur

- ALIZADEH A.A., EISEN M.B., DAVIS R.E., MA C., LOSSOS I.S., ROSENWALD A., BOLDRICK J.C., SABET H., TRAN T., YU X., POWELL J.I. et al. (2000). Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* **403**: 503-511.
- ANDERSSON L., HALEY C.S., ELLEGREN H., KNOTT S.A., JOHANSSON M., ANDERSSON K., ANDERSSON-EKLUND L., EDFORS-LILJA I., FREDHOLM M., HANSSON I. (1994). Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science* **263**: 1771-1774.
- ARCHIBALD A.L., HALEY C.S., BROWN J.F., COUPERWHITE S., MCQUEEN H.A., NICHOLSON D. et al. (1995). The PiGMap consortium linkage map of the pig (*Sus scrofa*). *Mamm. Genome* **6**: 157-175.
- ARRANZ J.J., COPPIETERS W., BEZI P., CAMBIZANO N., GRISART B., KARIM L., RIQUET J., SIMON P., VANNANSHOVEN P., GEORGES M. (1998). Confirmation of a QTL affect milk production in bovine chromosome 20. *Anim. Genet.* **29**: 107-115.
- ASHWELL M.S., REXROAD JR C.E., MILLER R.H., VAN RADEN P.M. (1996). Mapping economic trait loci for somatic cell score in Holstein cattle using microsatellite markers and selective genotyping. *Anim. Genetics* **27**: 235-242.

- BAND M.R., LARSON J.H., REBEIZ M., GREEN C.H.A., HEYEN D.W., DONOVAN J., WINDISH R., STEINING C.H., MAHYUDDIN P., WOMACK J.E., LEWIN H.A. (2000). An ordered comparative map of the cattle and human genomes. *Genome Res.* **10**: 1359-1368.
- BARENDSE W., ARMITAGE S.M., KOSSAREK L.M., SHALOM A., KIRKPATRICK B.W., RYAN A.M. et al. (1994). A genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genet.* **6**: 227-235.
- BISHOP M.D., KAPPES S.M., KEELE J.W., STONE R.T., SUNDEN S.L.F., HAWKINS G.A., SOLINAS-TOLDO S., FRIES R., GROSZ M.D., YOO J., BEATTIE C.W. (1994). A genetic linkage map for cattle. *Genetics* **136**: 619-639.
- BOGUSKI S., SCHULER G.D. (1995). ESTablishing a human transcript map. *Nature Genet.* **10**: 369-371.
- BOWTELL D.D. (1999). Options available – from start to finish – for obtaining expression data by microarray. *Nature Genet.* **21**: 25-32.
- BROCKMANN G.A., KRATZSCH J., HALEY C.S., RENNE U., SCHWERIN M., KARLE S. (2000). Single QTL effects, epistasis, and pleiotropy account for two-thirds of the phenotypic F2 variance of growth and obesity in DU6i x DBA/2 mice. *Genome Res.* **10**: 1941-1957.
- CHEN, H., LEIPPRANDT J.R., TRAVISS C.E., SOPHER B.L., JONES M.Z., CAVANAGH K.T., FRIDERICI K.H. (1995). Molecular cloning and characterization of bovine beta-mannosidase. *J. Biol. Chem.* **270**: 3841-3848.
- COLIGE, A., SIERON A.L., LI S.W., SCHWARZE U., PETTY E., WERTELECKI W., WILCOX W., KRAKOW D., COHN D.H., REARDON W., BYERS P.H., LAPIERE C. M., PROCKOP D. J., NUSGENS B. V. (1999). Human Ehlers-Danlos syndrome type VII C and bovine dermatosparaxis are caused by mutations in the procollagen I N-proteinase gene. *Am. J. Hum. Genet.* **65**: 308-317.
- COWAN, C. M., DENTINE M.R., AX R.L., SCHULER L.A. (1990). Structural variation around prolactin gene linked to quantitative traits in an elite Holstein sire family. *Theor. Appl. Genet.* **79**: 577-582.
- CRAWFORD A.M., DODDS K.G., EDE A.J., PIERSON C.A., MONTGOMMERY G.W., GARMONSWAY H.G., BEATTIE A.E. et al. (1995). An autosomal genetic linkage map of the sheep genome. *Genetics* **140**: 703-724.
- DARVASI A. (1998). Experimental strategies for genetic dissection of complex traits in animal models. *Nature Genet.* **18**: 19-24.
- DAVIS G.P., HETZEL D.J.C., CORBET N.J., SCACHERI S., LOWDEN S., RENAUD J., MAYNE C., STEVENSON R., MOORE S.S., BYRNE K. (1998). The mapping of quantitative trait loci for birth weight in tropical beef herd. *Proc. 6. WCGLAP* **26**: 441-444.
- DENNIS J.A., HEALY P.J., BEAUDET A.L., O'BRIEN W.E. (1989). Molecular definition of bovine argininosuccinate synthetase deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **86**: 7947-7951.
- DIEHN M., EISEN M.B., BOTSTEIN D., BROWN P.O. (2000). Large-scale identification of secreted and membrane-associated gene products using DNA microarrays. *Nature Genet.* **25**: 58-62.
- FERGUSON J.A., BOLES T.C., ADAMS C.P., WALT D.R. (1996). A fiber-optic DNA biosensor microarray for the analysis of gene expression. *Nature Biotechnol.* **14**: 1681-1684.
- FERRETTI L., URQUHART B.G.D., EGGEN A., OLSAKER I., HARLIZIUS B., CASTIGLIONI B., MEZZELANI A., SOLINA-TOLDO S., THIEVEN W., ZHANG Y., MORGAN A.L.G., TERES V.M., SCHWERIN M., MARTIN-BURRIEL I., CHOWDHARY B.P., ERHARDT G., NIJMAN I.J., CRIBIU E.P., BARENDSE W., LEVEZIEL H., FRIES R., WILLIAMS J.L. (1997). Cosmid-derived markers anchoring the bovine genetic map to the physical map. *Mamm. Genome* **8**: 29-36.
- FUJII J., OTSU K., ZORZATO F., DE LEON S., KHANNA V.K., WEILER J.E., O'BRIEN P.J., MACLENNAN D.H. (1991). Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science* **253**: 448-451.

- GELDERMANN H., MOSER G., MÜLLER E., BEEKMANN P., YUE G. DRAGOS M., BARTENSCHLAGER H., CEPICA S., STRATIL A., SCHRÖFFEL J. (1999). Status of genome and QTL mapping in pigs – data of Hohenheim F2 families. *Arch. Tierz.* **42**: 67-81.
- GENET C., BIDANEL J.P., RENARD C., IANNUCELLI N., CARITEZ J.C., GRUAND J., BOURGEOIS F., AMIGUES Y., ROGEL-GAILLARD C., RIQUET J., MOUROT J., BARBOSA A., CHEVALET C., OLLIVIER L., GELLIN J., MILAN D. (2000). Mapping of QTL involved in growth, backfat thickness and intramuscular fat content in pigs. Regional RH mapping in the QTL region identified on chromosome 7. *Proc. 27th Int. Conf. Anim. Genet.*, D040.
- GEORGES M., NIELSEN D., MACKINNON M., MISHRA A., OKIMOTO R., PASQUINO A.T., SARGEANT L.S., SORENSEN A., STEELE M.R., ZHAO X. (1995). Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics* **139**: 907-920.
- GEORGES M., ANDERSSON L. (1996). Livestock genomics comes of age. *Genome Res.* **6**: 907-921.
- GERBENS F., RETTENBERGER G., LENSTRA J. A., VEERKAMP J. H., TE PAS M. F. (1997). Characterization, chromosomal localization, and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene. *Mamm. Genome* **8**: 328-332.
- GOLDAMMER T., WEIKARD R., BRUNNER R.M., SCHWERIN M. (1996). Chromosome fragment specific bovine DNA sequences by microdissection and DOP-PCR. *Mamm. Genome* **7**: 291-296.
- GROBET L., ROYO MARTIN L.J., PONCELET D., PIROTTIN D., BROUWERS B., RIQUET J., SCHOEBERLEIN A., DUNNER S., MENISSIER F., MASSABANDA J., FRIES R., HANSET R., GEORGES M. (1997). A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscled phenotype in cattle. *Nature Genet.* **17**: 71-74.
- HARDGE T., SIEBEL K., KOEPKE K., WIMMERS K. (2000). Association between Leptin (LEP) / Leptin receptor (LEPR) polymorphisms and fatness related traits in a porcine resource family. *Proc. 27th Int. Conf. Anim. Genet.*, C027.
- HEALY P. J. (1996). Testing for undesirable traits in cattle: an Australian perspective. *J. Anim. Sci.* **74**: 917-922.
- HIENDLEDER, S., H. THOMSEN, N. REINSCH, J. BENNEWITZ, B. LEYHE-HORN, C. LOOFT, N. XU, I. MEDJUGORAC, I. RUSS, CH. KÜHN, G.A. BROCKMANN, J. BLÜMEL, B. BRENIG, F. REINHARDT, R. REENTS, G. AVERDUNK, M. SCHWERIN, M. FÖRSTER, E. KALM and G. ERHARDT (2003): Mapping of QTL for body conformation and behavior in cattle. *J. Hered.* **94**(6), 496-506.
- INABA M., YAWATA A., KOSHINO I., SATO K., TAKEUCHI M., TAKAKUWA Y., MANNO S., YAWATA Y., KANZAKI A., SAKAI J., BAN A., ONO K., MAEDE Y. (1996). Defective anion transport and marked spherocytosis with membrane instability caused by hereditary total deficiency of red cell band 3 in cattle due to a nonsense mutation. *J. Clin. Invest.* **97**: 1804-1817.
- JOHANSSON MOLLER M., CHAUDHARY R., HELLMEN E., HOYHEIM B., CHOWDHARY B., ANDERSSON L. (1996). Pigs with the dominant white coat color phenotype carry a duplication of the KIT gene encoding the mast/stem cell growth factor receptor. *Mamm. Genome* **7**: 822-830.
- KEHRLI JR, M. E., SCHMALSTIEG F.C., ANDERSON D.C., VAN DER MAATEN M.J., HUGHES B.J., ACKERMANN M.R., WILHELMSSEN C.L., BROWN G.B., STEVENS M.G., WHETSTONE C.A. (1990). Molecular definition of the bovine granulocytopeny syndrome: identification of deficiency of the Mac-1 (CD11b/CD18) glycoprotein. *Am. J. Vet. Res.* **51**: 1826-1836.
- KERR R.J., CHEN Y., HENSHALL J.M., LUXFORD B.G., MORAN C. (2000). Mapping QTL for meat quality, carcass traits and growth in commercial pigs in Australia. *Proc. 27th Int. Conf. Anim. Genet.*, B072.

- KIJAS J. M., WALES R., TORNSTEN A., CHARDON P., MOLLER M., ANDERSSON L. (1998). Melanocortin receptor 1 (MC1R) mutations and coat color in pigs. *Genetics* **150**: 1177-1185.
- KIM, K.S., LARSEN N., SHORT T., PLASTOW G., ROTHSCHILD M.F. (2000). A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits. *Mamm. Genome* **11**: 131-135.
- KLUNGLAND H., VAGE D.I., GOMEZ-RAYA L., ADALSTEINSSON S., LIEN S. (1995). The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. *Mamm. Genome* **6**: 636-639.
- KONONEN J., BUBENDORF L., KALLIONEMI A., BÄRLUND M., SCHRAML P., LEIGHTON S., TORHORST J., MIHATSCH M.J., SAUTER G., KALLIONEMI O.-P. (1998). Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nature Med.* **7**: 844-847.
- KUEHN CH., WEIKARD R., GOLDAMMER T., GRUPE S., OLSAKER I., SCHWERIN M. (1996). Isolation and application of chromosome 6 specific microsatellite markers for detection of QTL for milk-production traits in cattle. *J. Anim. Breed. Genet.* **113**: 355-362.
- KUEHN CH., FREYER G., WEIKARD R., GOLDAMMER T., SCHWERIN M. (1999). Detection of QTL for milk production traits in cattle by application of a specifically developed marker map of BTA6. *Anim. Genet.* **30**: 333-340.
- KUEHN, CH., J. BENNEWITZ, N. REINSCH, N. XU, H. THOMSEN, C. LOOFT, G. A. BROCKMANN, M. SCHWERIN, C. WEIMANN, S. HIENDLEDER, G. ERHARDT, I. MEDJUGORAC, M. FÖRSTER, B. BREINIG, F. REINHARDT, R. REENTS, I. RUSS, G. AVERDUNK, J. BLÜMEL and E. KALM, (2003): Quantitative trait loci mapping of functional traits in the German holstein cattle population. *J. Dairy Sci.* **86**, 360-368.
- LANDER E., KRUGLYAK L. (1995). Genetic dissection of complex traits: guideline for interpreting and reporting linkage results. *Nature Genet.* **11**: 241-247.
- LEEB T., RETTENBERGER G., HAMEISTER H., BREM G., BREINIG B. (1995). Construction of a porcine YAC library and mapping of the cardiac-muscle ryanodine receptor gene to chromosome 14q22-23. *Mamm. Genome* **6**: 37-41.
- LEGARE M.E., BARTLETT II F.S., FRANKEL W.N. (2000). A major effect QTL determined by multiple genes in epileptic EL mice. *Genome Res.* **10**: 42-48.
- LI N., ZHAO Y.F., XIAO L., ZHANG F.J., CHEN Y.Z., DAI R.J., ZHANG J.S., SHEN S.Q., CHEN Y.F., WU CH.X. (1998). Candidate gene approach for identification of genetic loci controlling litter size in swine. *Proc. 6th. World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod.* **26**: 403-408.
- LIANG P., PARDEE A.B. (1992). Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction. *Science* **257**: 967-971.
- LIBERT F., LEFORT A., OKIMOTO R., GEORGES M. (1993). Construction of a bovine genomic library of large yeast artificial chromosome clones. *Genomics* **18**: 270-276.
- LOCKHART D.J., WINZELER E.A. (2000). Genomics, gene expression and DNA arrays. *Nature* **405**: 827-836.
- MÄKI-TANIILA A., DE KONING D.J., ELO K., MOISIV S., VELMALA R., VILKKI J. (1998): Mapping of multiple quantitative trait loci by regression in half-sib designs. *Proc. 6. WCGLAP* **26**: 269-272.
- MALEK M., DEKKERS J.C.M, LEE H.K., BAAS T.J. PRUSA K. HUFF-LONERGAN E., ROTHSCHILD M.F. (2000). A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing meat quality in the pig. *Proc. 27th Int. Conf. Anim. Genet.*, B081.
- MANN M. (1999). Quantitative proteomics? *Nature Biotechnol.* **17**: 954-955.
- MARRA M.A., HILLIER L., WATERSTON R.H. (1998). Expressed sequence tags - ESTablishing bridges between genomes. Elsevier Science Ltd., pp. 4-7.
- MEIJERINK E., FRIES R., VOGELI P., MASABANDA J., WIGGER G., STRICKER C., NEUENSCHWANDER S., BERTSCHINGER H.U., STRANZINGER G. (1997). Two alpha(1,2)

- fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and *Escherichia coli* F18 receptor (ECF18R) loci. *Mamm. Genome* **8**: 736-741.
- MESSER L., WANG L., LEGAULT C., ROTHSCHILD M. F. (1996). Mapping and investigation of candidate genes for litter size in French Large White pigs. *Anim. Genet.* **27** [Suppl.2], 114.
- MESSER L., WANG L., YELICH J., POMP D., GEISERT R. D., ROTHSCHILD M. F. (1996). Linkage mapping of the retinol-binding protein 4 (RBP4) gene to porcine chromosome 14. *Mamm. Genome* **7**, 396.
- MILAN D., JOEN J.-T., LOOFT C., AMARGER V., ROBIC A., THELANDER M., ROGEL-GAILLARD C., PAUL S., IANNUCELLI N., RASK L., RONNE H., LUNDSTRÖM K., REINSCH N., GELLIN J., KALM E., LE ROY P., CHARDON P., ANDERSSON L. (2000). A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science* **288**: 1248-1251.
- O'BRIEN S.J., WOMACK J.E., LYONS L.A., MOORE K.J., JENKINS N.A., COPELAND N.G. (1993). Anchored reference loci for comparative genome mapping in mammals. *Nature Genet.* **3**: 103-112.
- ODA Y., HUANG K., CROSS F.R., COWBURN D., CHAIT B.T. (1999). Accurate quantification of protein expression and site-specific phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**: 6591-6596.
- PRINZENBERG E.M., KRAUSE I., ERHARDT G. (1999). SSCP analysis at the bovine CSN3 locus discriminates six alleles corresponding to known protein variants (A, B, C, E, F, G) and three new DNA polymorphisms (H, I, A1). *Anim. Biotechnol.* **10**: 49-62.
- REINSCH N., XU N., THOMSEN H., LOOFT C., KALM E., GRUPE S., KÜHN CH., SCHWERIN M., LEYHE B., HIENDLER S., ERHARDT G., MEDJUGORAC I., RUSS I., FÖRSTER M., BREINIG B., REENTS R., AVERDUNK G. (1998). First results on somatic cell count loci from the ADR bovine mapping project. *Proc. 6. WCGLAP* **26**: 426-428.
- RICKETTS M.H., SIMONS M.J., PARMA J., MERCKEN L., DONG Q., VASSART G. A. (1987). A nonsense mutation causes hereditary goitre in the Afrikaner cattle and unmasks alternative splicing of thyroglobulin transcripts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **84**: 3181-3184.
- ROHRER G.A., ALEXANDER L.J., KEELE J.W., SMITH T.P., BEATTIE C.W. (1996). A comprehensive map of the porcine genome. *Genetics* **136**: 231-245.
- RON M., HEYEN D.W., WELLER J.I., BAND M., FELDMESSER E., PASTERNAK H., DA Y., WIGGANS G.R., VANRADEN P.M., EZRA E., LEWIN H.A. (1998). Detection and analysis of a locus effecting milk concentration in the U. S. and Israeli dairy cattle population. *Proc. 6. WCGLAP* **26**: 422-428.
- RON M., YOFFE O., EZRA E., MEDRANO J.F., WELLER J.I. (1994). Determination of effects of milk protein genotype on production traits of Isrealian Holsteins. *J. Dairy Sci.* **77**: 1106-1113.
- ROSS-MACDONALD P., SHEENAN A., ROEDER G.S., SNYDER M. (1997). A multipurpose transposon system for analysing protein production, localization, and function in *Scharyomyces cerevisiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 190-195.
- ROTHSCHILD M.F., MESSER L., DAY A., WALES R., SHORT T., SOUTHWOOD O., PLASTOW G. (2000). Investigation of the retinol-binding protein 4 (RBP4) gene as a candidate gene for increased litter size in pigs. *Mamm. Genome* **11**: 75-77.
- ROTHSCHILD M.F., JACOBSON C., VASKE D., TUGGLE C., WANG L., SHORT T., ECKARDT G., SASAKI S., VINCENT A., MCLAREN D., SOUTHWOOD O., VAN DER STEHEN H., MILEHAM A., PLASTOW G. (1996). The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **93**. 201-205.
- SCHWENGER B., SCHOBER S., SIMON D. (1993). DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene. *Genomics* **16**: 241-244.
- SCHWERIN, M. (2001): Structural and functional genomics in domestic animals: the way to understand the phenotype. *J. Appl. Genet.* **42**: 293-308.

- SEITZ J.J., SCHMUTZ S.M., THUE T.D., BUCHANAN F.C. (1999). A missense mutation in the bovine MGF gene is associated with the roan phenotype in Belgian Blue and Shorthorn cattle. *Mamm. Genome* **10**: 710-712.
- SPELMAN R.J., BOVENHUIS H. (1998). Moving from QTL experimental results to the utilisation of QTL in Breeding Programmes. *Anim. Genet.* **29**: 77-84.
- TAJIMA M., MIYAKE S., TAKEHANA K., KOBAYASHI A., YAMATO O., MAEDE Y. (1999): Gene defect of dermatan sulfate proteoglycan of cattle affected with a variant form of Ehlers-Danlos syndrome. *J. Vet. Intern. Med.* **13**: 202-205.
- TOUCHMAN J.W., BOUFFARD G.G., WEINTRAUB L.A., IDOL J.R., WANG L., ROBBINS C.H.M., NUSSBAUM J.C., LOVETT M., GREEN E.D. (1997). 2006 Expressed-Sequence Tags Derived from Human Chromosome 7-Enriched cDNA Libraries. Cold Spring Harbor Laboratory, 1997, p. 281.
- TSUJINO S., SHANSKE S., VALBERG S.J., CARDINET G.H., SMITH B.P., DIMAURO S. (1996): Cloning of bovine muscle glycogen phosphorylase cDNA and identification of a mutation in cattle with myophosphorylase deficiency, an animal model for McArdle's disease. *Neuromuscul. Disord.* **6**: 19-26.
- VAIMAN D., SCHIBLER L., OUSTRY-VAIMAN A., PAILHOX E., GOLDAMMER T., STEVANOVIC M., FURET J.-P., SCHWERIN M., COTINOT C., FELLOUS M., CRIBIU E.P. (1999). High resolution human/goat comparative map of the goat polled/intersex syndrome (PIS): The human homologue is contained in a human YAC from HSA3q23. *Genomics* **56**: 31-39.
- VINCENT A.L., G. EVANS, T. H. SHORT, O. S. SOUTHWOOD, G. S. PLASTOW, C. K. TUGGLE U. M. F. ROTHSCHILD (1998): The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. Proc.of 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale, **26**, 15-18
- WEIKARD R., GOLDAMMER T., KÜHN CH., BARENDSE W., SCHWERIN M. (1997). Targeted development of microsatellite markers from defined region of bovine Chromosome 6q21-31. *Mamm. Genome* **8**: 836-840.
- Winter A., Kramer W., Werner F. A., Kollers S., Kata S., Durstewitz G., Buitkamp J., Womack J.E., Thaller G., Fries R. (2002). Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proc. Nat. Acad. Sci. U S A.* **99**:9300-9305.
- WOMACK J.E., JOHNSON J.S., OWENS E.K., REXROAD C.E., SCHLAPFER J., YANG Y.P. (1997). A whole-genome radiation hybrid panel for bovine gene mapping. *Mamm. Genome* **8**: 854-856.
- ZHANG B., HEALY P.J., ZHAO Y., CRABB D. W., HARRIS R. A. (1990). Premature translation termination of the pre-E1 alpha subunit of the branched chain alpha-ketoacid dehydrogenase as a cause of maple syrup urine disease in Polled Hereford calves. *J. Biol. Chem.* **265**: 2425-2427.
- ZHANG Q., BOICHARD D., HOESCHELE I., ERNST C., EGGEN A., MURKVE B., PFISTER-GENSKOW M., WITTE L. A., GRIGNOLA F.E., UIMARI P., THALLER G., BISHOP M. D. (1998). Mapping quantitative trait loci for milk production and health of dairy cattle in a large outbred pedigree. *Genetics* **149**: 1959-1973.
- ZHAO Y. F., LI N., CHEN Y., WU CH. X. (1998): Preliminary research on RFLP's of the FSH beta subunit gene. *Acta Vet. Zootech. Sinica* **29**: 23-26.
- ZONG Q., SCHUMMER M., HOOD L., MORRIS D.R. (1999). Messenger RNA translation state: the second dimension of high-throughput expression screening. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**: 10632-10636.
- ZWEIGER G., SCOTT R.W. (1997). From expressed sequence tags to "epigenomics": an understanding of disease processes. *Biotechnology* **8**: 684-687.

Structural and functional genomics – new ways to understand the phenotype

By M. SCHWERIN, R. FRIES, H. SIMIANER, H. SWALVE, K. WIMMERS

Molecular approaches for genome analysis in livestock are reviewed by discussing the contribution of molecular genome analysis to the identification of the genetic variation underlying phenotypic variation (structural genome analysis) and to the definition of the trait-associated and environment-affected gene expression (functional genome analysis) as an important prerequisite to understand the formation of a phenotype. Results of the German genome analysis projects in cattle and pig are summarised and aspects and limitations of the utilisation of mapped ‘quantitative trait loci’ (QTL) in breeding programs and the final cloning of the corresponding causal genes are discussed. Prerequisites, current status and further challenges of applications of functional genomics in identification of functional candidate genes, in functional mapping of genes to complex traits and in estimation of the effects of environmental factors are referred.

Keywords: structural and functional genomics, QTL, candidate genes, livestock