

Nur bei genügend Blutproben sind neue Gentests möglich

Seit 2006 sammeln Wissenschaftler im Blutproben-Archiv am Institut für Genetik der Universität Bern genetisches Material von Hunden. Dank der über 12 000 archivierten Blutproben konnten bisher fünf Gentests entwickelt werden. Deren Ziel: Vererbte Erbkrankheiten auf die Spur zu kommen und diese auszumerzen.

■ Prof. Dr. Tosso Leeb



Blutentnahme bei einem Chinesischen Schopfhund. Die Blutprobe wird anschließend eingefroren. Gleichzeitig werden die Daten von Hund und Besitzer in einer Datenbank gespeichert.

Molekulargenetische Verfahren gewinnen zunehmend an Bedeutung in der Hundezucht. Vaterschaftstests, die Bestimmung der genetischen Diversität und nicht zuletzt die vielen Gentests für Fellfarben oder Erbkrankheiten sind heute für viele Hundebesitzer, Züchter und Tierärzte völlig selbstverständliche Analyseverfahren geworden.

Diese genannten Verfahren beruhen auf der Untersuchung der Erbsubstanz, also der DNA. Die DNA eines Hundes liegt in allen Zellen des Körpers vor und verändert sich während des ganzen Lebens

nicht. Eine bestimmte DNA-Untersuchung für einen Hund muss daher in aller Regel nur einmal durchgeführt werden – und es spielt für solche Untersuchungen keine Rolle, ob der Hund ein neugeborener Welpe oder schon ein internationaler Star der Zuchtszene ist. Auch die Einnahme von Medikamenten ändert nichts am Ergebnis eines Gentests und zumindest im Moment ist es noch nicht möglich, ein Gentestergebnis durch Doping zu manipulieren. Mit einer Blutprobe lässt sich die DNA eines Hundes über lange Zeiträume sicher aufbewah-

ren und bleibt für wissenschaftliche Untersuchungen zugänglich.

Warum werden Gentests entwickelt?

Auf der ganzen Welt beschäftigen sich Wissenschaftler mit der Erforschung von erblichen Merkmalen bei Hunden. Diese Forschungsarbeiten sind die Grundlage für die Entwicklung von Gentests. Leider kommt es immer wieder vor, dass neue Erbkrankheiten bei Hunden auftreten. In einer guten Rassehundezucht wird der Rasseklub das Auftreten einer neuen

Krankheit rasch bemerken und mit Hilfe des Zuchtreglements Massnahmen zur Bekämpfung von erblichen Krankheiten einleiten.

Im Falle von Krankheiten, die rezessiv vererbt werden oder erst ausbrechen, wenn die Hunde bereits Nachkommen haben, ist eine züchterische Bekämpfung ohne Gentest sehr schwierig. Daher ist es wichtig, dass beim Auftreten neuer Erbkrankheiten so schnell wie möglich wirksame Gentests entwickelt werden, die die Bekämpfung solcher Erbkrankheiten erleichtern.

Was braucht es für einen Gentest?

Für die Entwicklung von Gentests sind DNA-Proben nötig. Die Anzahl der benötigten Proben hängt vom Erbgang des Merkmals ab. Bei monogen vererbten Merkmalen, das heisst Merkmalen, die nur von einem einzigen Gen gesteuert und nicht durch die Umwelt beeinflusst werden, können rund 10 bis 50 Proben ausreichen. Bei komplex vererbten Merkmalen, die durch eine Kombination mehrerer Gene und Umweltfaktoren gesteuert werden, werden regelmässig Hunderte von Proben benötigt – und für solche Merkmale gibt es heute auch noch kaum praxisreife Gentests.

In jedem Fall müssen Proben von Hunden vorliegen, die ein bestimmtes Merkmal ausprägen («Fälle») und von Hunden, die das untersuchte Merkmal nicht ausprägen («Kontrollen»). Oft ist es hilfreich, wenn Proben von kompletten Familien vorhanden sind, da dann die Weitergabe einer Mutation von den Eltern an die Nachkommen genau verfolgt werden kann. Es gibt aber auch Verfahren, bei denen es genügt, wenn eine Anzahl von Fällen und Kontrollen ohne bekannte Verwandtschaftsverhältnisse vorliegt.

Sehr häufig scheitern Forschungsprojekte zur Entwicklung von Gentests aufgrund der mangelnden Verfügbarkeit von DNA-Proben. Manche der untersuchten Erkrankungen treten extrem selten auf und es bedarf einer europaweiten oder gar weltweiten Zusammenarbeit, um genügend Proben zusammenzubekommen. Bei anderen Erkrankungen sterben die betroffenen Hunde ganz plötzlich oder sehr früh und die Gewinnung von Proben für die Forschung wird von den Besitzern – zwar aus verständlichen Gründen – aber dennoch bedauerlicherweise unterlassen.

Wozu ein Blutprobenarchiv?

Um optimale Voraussetzungen für genetische Forschungsprojekte beim Hund zu schaffen, haben wir im Jahr 2006 damit begonnen, Blutproben von Hunden am Institut für Genetik zu archivieren. Dank der finanziellen Unterstützung durch die Albert-Heim-Stiftung ist die Einlagerung

Rassen mit mehr als 100 archivierten Blutproben

Rasse	Anzahl archivierter Proben
1 Leonberger	1242
2 Hovawart	1071
3 Labrador Retriever	907
4 Dobermann Pinscher	639
5 Golden Retriever	524
6 Chinesischer Schopfhund	382
7 Elo	362
8 Flat Coated Retriever	359
9 Greyhound	347
10 Lagotto Romagnolo	336
11 Berner Sennenhund	324
12 Zwergspitz	321
13 Border Collie	290
14 Norwich Terrier	285
15 Neufundländer	235
16 Deutscher Pinscher	206
17 Dalmatiner	170
18 Australian Shepherd	119
19 Entlebucher Sennenhund	103

(Stand Januar 2011)



Fotos: Ursula Känel Kocher

Gentests, die an der Universität Bern entwickelt wurden

Rasse	Merkmal
>20 verschiedene Rassen	Farbverdünnung (dilute)
Chinesischer Schopfhund	Genetische Haarlosigkeit
Dachshund	Osteogenesis imperfecta (Glasknochenkrankheit)
Greyhound	Neuropathie
Leonberger	LPN1-Polyneuropathie

der Blutproben für die Proben-Einsender kostenlos. Die eingehenden Blutproben werden im Computer erfasst und bei -20 °C eingefroren. Bei dieser Temperatur bleibt die DNA über viele Jahrzehnte stabil. Bei Bedarf können die Blutproben aufgetaut und DNA für Forschungsarbeiten isoliert werden.

Wir erhalten die Proben durch Einsendungen von den Besitzern und Züchtern, aber auch von interessierten Tierärzten und Tierkliniken. Von jedem Hund, der an der Kleintierklinik des Tierspitals Bern behandelt wird, kann mit Einverständnis

des Besitzers das Blut, welches bei medizinisch notwendigen Laboruntersuchungen übrig bleibt, anschliessend in unserem Blutprobenarchiv archiviert werden. Auf Anfrage versuchen wir ebenfalls, Sammeltermine für Blutprobenentnahmen, etwa bei Züchtertreffen oder Ausstellungen, zu organisieren. In den letzten fünf Jahren konnten wir so insgesamt über 12 000 Proben archivieren (Kasten). Bei einigen Rasseklubs ist bereits heute die Archivierung einer Blutprobe eine Voraussetzung für die Zuchtzulassung. Diese Massnahme stellt eine Investition



Das Einsendeformular mit einer Anleitung zum Probenversand kann im Internet heruntergeladen werden.

für zukünftige Hundegenerationen dar. Allfällige Forschungsprojekte können enorm davon profitieren, wenn wichtige Proben einer Rasse über einen längeren Zeitraum gesammelt werden. Wir kooperieren eng mit anderen Forschern auf der ganzen Welt und konnten mit diesen Blutproben die Arbeit ausländischer Wissenschaftler in mehreren Projekten zur Entwicklung von Gentests unterstützen. Gleichzeitig erhalten wir im Gegenzug auch wertvolle Proben aus dem Ausland für unsere eigene Forschung. An der Universität Bern hat die Verfügbarkeit der Proben durch das Blutprobenarchiv bislang zur Entwicklung von insgesamt 5 Gentests in den letzten 5 Jahren beigetragen (Kasten Seite 27).

Erfolg beim Labrador Retriever

Mit Hilfe des Blutprobenarchivs lässt sich die Häufigkeit von bestimmten Allelen in der aktuellen Zuchtpopulation messen. Sofern Blutproben einer repräsentativen Auswahl der Zuchttiere vorliegen, können diese getestet werden und Allelfrequenzen bestimmt werden. Die Kenntnis solcher Allelfrequenzen ist wichtig, um Entscheidungsgrundlagen für den Einsatz bestimmter Gentests zu gewinnen. Auf diese Weise konnten wir in Zusammenarbeit mit dem Retriever Club Schweiz im Jahr 2010 feststellen, dass der Gendefekt für zentronukleäre Myopathie (CNM) beim Labrador Retriever in der Schweizer Zuchtpopulation praktisch nicht mehr vorkommt.

Die Züchter haben also innerhalb weniger Jahre mit Hilfe eines gezielten Zuchtprogramms und dem Einsatz eines Gentests eine schwere Erbkrankheit erfolgreich eliminiert. Da der CNM-Gendefekt in der aktuellen Zuchtpopulation nicht mehr nachweisbar ist, müssen CNM-Gentests nur noch bei bestimmten Importtieren durchgeführt werden. Da-



Täglich treffen Blutproben aus der Universität Bern ein. Diese werden am Computer erfasst, in neue Röhrchen umgefüllt und anschliessend bei -20 °C archiviert.

durch werden Ressourcen frei, die zur Förderung anderer Zuchtziele genutzt werden können. Eine Liste der aktuellen Forschungsprojekte des Instituts für Genetik finden Sie im Internet auf unserer Homepage (www.genetics.unibe.ch). Sie können diese Forschungsprojekte gezielt unterstützen, indem Sie uns Blutproben von

betroffenen und nicht-betroffenen Hunden einschicken. Eine Anleitung zur Einsendung von Blutproben finden Sie ebenfalls auf unseren Internetseiten.

Ausblick und Dank

Das Blutprobenarchiv an der Universität Bern ist eine wichtige Grundlage kynologischer Forschung. Wir sind zuversichtlich, dass dieses Archiv weiter wachsen wird und auch in Zukunft die Entwicklung von Gentests wesentlich voranbringen wird. Wir möchten es an dieser Stelle nicht versäumen, der Albert-Heim-Stiftung für die finanzielle Unterstützung sowie den vielen Besitzern, Züchtern und Tierärzten für die Einsendung der Blutproben ganz herzlich zu danken. ■



Beauceron-Welpen

Foto: Ursula Känel Kocher
Foto: ZVG



Autor/Kontakt: Prof. Dr. Tosso Leeb, Institut für Genetik, Vetsuisse-Fakultät, Universität Bern, Bremgartenstrasse 109a, Postfach 8466, 3001 Bern, E-Mail: Tosso.Leeb@vetsuisse.unibe.ch



Foto: ZVG

Beispiel für einen Gentest: Farbverdünnung des Haars

Die Farbverdünnung (englisch dilute) bewirkt eine Aufhellung der Grundfarbe. Aus einer schwarzen Grundfarbe wird bei farbverdünnenden Hunden die Farbe blau, farbverdünnende Hunde mit einer roten Grundfarbe werden häufig als isabelfarben oder «fawn» bezeichnet. Die Farbverdünnung ist in manchen Rassen mit einem erhöhten Risiko für Haarausfall und Hautentzündungen (color dilution alopecia, CDA) verbunden. In diesen Rassen ist die Farbverdünnung unerwünscht und wird als Fehlfarbe eingestuft. In anderen Rassen hat die Farbverdünnung keine negativen Auswirkungen auf die Gesundheit und führt dort zu anerkannten Farbschlägen.

Die Farbverdünnung wird von einer Mutation im MLPH-Gen verursacht. Bei Hunden gibt es zwei Formen (Allele) dieses Gens. Das Wildtyp-Allel kommt bei Wölfen und Hunden mit unverdünnenden Fellfarben vor. Es wird mit dem Buchstaben D bezeichnet. Das Allel bei farbverdünnenden Hunden ist durch eine Mutation aus dem Wildtyp-Allel entstanden und wird mit dem Buchstaben d bezeichnet. Die Farbverdünnung wird monogen autosomal rezessiv vererbt, das heißt nur ein Hund der reinartig zwei Kopien des d-Allels trägt, wird die Farbverdünnung ausprägen. Bei farbverdünnenden Hunden lässt sich der Genotyp somit eindeutig aus dem Phänotyp herleiten: Ein blauer Hund muss zwingend den Genotyp d/d aufweisen.

Die Schwierigkeit für die Zucht besteht darin, dass man bei nicht-farbverdünnenden Hunden den Genotyp nicht eindeutig aus dem Phänotyp vorhersagen kann: Ein schwarzer Hund kann entweder den Genotyp D/D oder aber den Genotyp D/d tragen. Die Hunde mit Genotyp D/d werden als Anlageträger für die Farbverdünnung bezeichnet und bei der Verpaarung zweier solcher Anlageträger besteht eine 25%ige Wahrscheinlichkeit für farbverdünnenden Nachwuchs aus nicht-farbverdünnenden Eltern.

Mit dem Gentest kann die Zusammensetzung der Erbsubstanz an der ursächlichen Mutation für die Farbverdünnung direkt bestimmt und somit der Genotyp eines Hundes eindeutig abgeleitet werden. Dafür wird zunächst die DNA aus einer Blutprobe isoliert. Die DNA ist aus den vier Bausteinen A, C, G und T aufgebaut. Die Reihenfolge dieser Bausteine in der DNA steuert alle erblichen Merkmale. Im Falle der Farbverdünnung besitzt das Wildtyp-Allel D an einer ganz bestimmten Stelle den Baustein G, während das mutierte Allel d an der gleichen Stelle stattdessen den Baustein A aufweist. Im molekulargenetischen Labor kann man die Abfolge der Bausteine direkt sichtbar machen.



Staffordshire-Bull-Terrier-Welpen



Border Collie

Fotos: Ursula Känel Kocher

Phänotyp	Genotyp
«nicht betroffen» unverdünnte Fellfarbe schwarz-rot bzw. rot	<p>DNA-Sequenz</p> <p>G C C G G T G</p> <p>Gentest-Ergebnis</p> <p>D/D «frei»</p>
	<p>DNA-Sequenz</p> <p>G C C A G T G</p> <p>D/d «Anlageträger»</p>
«betroffen» verdünnte Fellfarbe blau	<p>DNA-Sequenz</p> <p>G C C A G T G</p> <p>d/d «betroffen»</p>