Arbeiten aus dem
Institut für Tierwissenschaften
Abt. Tierzucht und Tierhaltung
Rheinische Friedrich–Wilhelms–Universität zu Bonn

Elisabeth Jonas

Ansätze zur Untersuchung der genetischen Ursachen für den Erbfehler Stülpzitze beim Schwein

Heft: 136

Institut für Tierwissenschaften, Abt. Tierzucht und Tierhaltung
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Ansätze zur Untersuchung der genetischen Ursachen für den Erbfehler Stülpzitze beim Schwein

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades

Doktor der Agrarwissenschaften

(Dr. agr.)

der

Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt im September 2006

von

Elisabeth Jonas

aus Mayen

Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek
Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.ddb.de abrufbar.
1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2007
Zugl.: Bonn, Univ., Diss., 2006

978-3-86727-147-9

Referent:	Prof. Dr. K. Schellander
Korreferent:	Prof. Dr. H. Sauerwein
Tag der mündlichen Prüfung:	24.11.2006

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2007
Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen
Telefon: 0551-54724-0
Telefax: 0551-54724-21
www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.
1. Auflage, 2007
Gedruckt auf säurefreiem Papier

978-3-86727-147-9

Für Opa Jupp

Gott gebe mir die Gelassenheit,
Dinge hinzunehmen,
die ich nicht ändern kann,
den Mut, Dinge zu ändern,
die ich ändern kann
und die Weisheit,
das eine vom andern zu unterscheiden.

Friedrich Christoph Oetinger

Ansätze zur Untersuchung der genetischen Ursachen für den Erbfehler Stülpzitze beim Schwein

Der Gesäugekomplex ist bei Säugetieren für die Versorgung der Nachkommen mit Nährstoffen und für die Immunisierung über die Kolostralmilch von Bedeutung. Die ersten Anlagen der Zitzen sind in der fötalen Entwicklung früh erkennbar. Zum Zeitpunkt der Geburt sind die Zitzenkuppen bei Neugeborenen bereits erkennbar. Ab der Pubertät entwickelt sich das eigentliche Drüsengewebe bei den weiblichen Säugern. In der Trächtigkeit beginnt ein Zyklus von Wachstum, funktioneller Differenzierung und Regression.

Die Funktionsfähigkeit der Zitze kann durch endogene und exogene Faktoren beeinflusst werden. Störungen der Entwicklung der Zitze können zu unterschiedlich ausgeprägten Defekten führen. Der wichtigste angeborene Zitzendefekt beim Schwein ist die Stülpzitze, die mit Frequenzen zwischen 3 und 30 % in kommerziellen Schweinerassen gefunden wird. Dieser Erbfehler hat erhebliche negative ökonomische Auswirkungen auf die Schweineproduktion.

Der Vererbungsmodus und die Anzahl der Gene, die an dieser Fehlentwicklung des Zitzenkomplexes beteiligt sind, sind noch unbekannt. Es werden verschiedene Methoden wie Assoziationsanalysen, Kopplungskartierung und Expressionsanalysen zur Detektion der Ursachen des Defektes angewandt.

In der vorliegenden Arbeit wurde im Rahmen einer Kopplungskartierung eine QTL-Analyse über achtzehn Chromosomen in Schweinen durchgeführt. Damit sollten die in einer Versuchspopulation detektierten QTL in kommerziellen Familien der Schweinerassen Deutsche Landrasse, Deutsches Edelschwein und deren Kreuzungstiere bestätigt werden. Darüber hinaus wurden die Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6 und 14 mit zusätzlichen Markern feiner kartiert. Dabei konnten Regionen auf den Chromosomen 2, 3, 4, 6 und 11 bestätigt werden. Auf Chromosom 11 und Chromosom 6 konnten bei der Analyse aller kommerziellen Familien signifikante non parametric likelihood (NPL) Werte gefunden werden. Verschiedene positionelle und funktionelle Kandidatengene wurden in den Regionen sowie in den vergleichenden Regionen auf den humanen Chromosomen bestimmt. Eine Assoziationsanalyse der Marker bestätigte teilweise die gefundenen QTL. Bei weiteren signifikant assoziierten Markern konnten übereinstimmende Positionen zu Kandidatengenen deren Einfluss auf die Entwicklung der Stülpzitze bestätigen.

Detection of the genetic causes for the heritable inverted teat defect in pig

The mammary gland plays a role for the feeding of the offspring with nutrients and for the immunisation via colostrum in mammals. The first appearance of the mammary gland is seen in the early embryonal development. At birth, the nipple of the offspring is already visible, whereas the development of the ultimate mammary gland tissue starts during puberty in the female. During pregnancy a cycle of growth, functional differentiation and regression starts.

The functional capability of the teat can be affected by endogenous and exogenous factors. Dysfunction of teat development may lead to different expressed defects. The most important heritable teat defect in pigs is the inverted teat, which is found with frequencies between 3 to 30% in commercial pig breeds. This heritable defect has a considerable negative impact for the economy of the pig production.

The mode of inheritance and the number of genes involved in this aberration of the mammary gland are still unknown. Different methods such as association analysis, linkage mapping and expression analysis were used to detect the cause of the defect.

The aim of this study was to detect QTL by linkage mapping. A QTL analysis was performed over eighteen chromosomes, to confirm QTL found in an experimental population in animals of the commercial breeds German Landrace, Large White, and their crossbreeds. Moreover, the chromosomes 1, 2, 3, 4, 6, and 14 were fine mapped with additional markers. Regions on the chromosomes 2, 3, 4, 6, and 11 could be confirmed. Significant non-parametric likelihood (NPL) scores were detected on the chromosomes 6 and 11 by analysis of all commercial families. A number of positional and functional candidate genes was detected in the regions and the comparative regions on human chromosomes.

Some of the detected QTL could be confirmed by conduction of an association analysis. Some significant associated markers were mapped in consistency with earlier investigated candidate genes for which the detected significant association to the inverted teat defect could be confirmed as well.

Inhaltsverzeichnis Seite

Abstract		III
Abkürzungsverzeichnis		IX
Tabellenverzeichnis		XIV
Abbildungsverzeichnis		XVIII
1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Die Milchdrüse	3
2.1.1	Bedeutung der Milchdrüse	3
2.1.2	Entwicklung der Milchdrüse	5
2.1.3	Hormonelle Regulation	11
2.1.3.1	Reproduktive Hormone	16
2.1.3.2	Metabolische Hormone	19
2.1.4	Bedeutende Störungen der Funktion der Milchdrüse	22
2.2	Die Milchdrüse beim Schwein	22
2.2.1	Besonderheiten und Einflussfaktoren	22
2.2.2	Zitzenanomalien beim Schwein	25
2.2.3	Stülpzitze beim Schwein	27
2.2.3.1	Anatomie und Morphologie der Stülpzitze	29
2.2.3.2	Heritabilität	33
2.2.3.3	Ursachen für die Entstehung der Stülpzitze	34
2.2.4	Kandidatengene	35
2.2.4.1	Prolaktin	35
2.2.4.2	Hypophysen-spezifischer Transkriptionsfaktor	36
2.2.4.3	Relaxin	38
2.2.4.4	Wachstumsfaktoren	41
2.2.4.5	Transformierende Wachstumsfaktoren	43
2.2.4.6	Insulin-ähnliche Wachstumsfaktoren	44
2.2.4.7	Parathyroid hormone-related peptide	45

2.2.4.8	Weitere Gene, die die Milchdrüse beeinflussen	46
2.3	Ansätze zur genetischen Untersuchung von Merkmalen	50
2.3.1	Kopplungsanalyse	52
2.3.1.1	Kartierung	52
2.3.1.2	Mikrosatelliten als genetische Marker	53
2.3.1.3	QTL-Kartierung	55
2.3.2	Assoziationsanalyse – Untersuchung von Kandidatengenen	57
2.3.3	Expressionsanalysen – Entwicklung von Mikrochips	59
2.3.4	Markergestützte Selektion	61
3	Material und Methoden	63
3.1	Übersicht über den Versuchsplan	63
3.2	Aufbau der Tierpopulationen	64
3.2.1	Kommerzielle Tiere	64
3.2.2	Versuchspopulation	65
3.2.3	Erfasste und untersuchte Merkmale	66
3.3	Material	68
3.3.1	Chemikalien und Enzyme	68
3.3.2	Stammlösungen und Puffer	69
3.3.3	Verbrauchsmaterial	70
3.3.4	Geräte	71
3.3.5	Verwendete Software	71
3.4	Isolierung genomischer DNA	72
3.5	Mikrosatellitentypisierung	73
3.5.1	Auswahl der Marker	73
3.5.2	Polymerase-Kettenreaktion	77
3.5.3	Herstellung der Längenstandards	77
3.5.4	Analyse auf dem LICOR-Sequenzer	78
3.5.5	Analyse auf dem CEQ8000-Sequenzer	79
3.6	Statistische Auswertung der Ergebnisse	80
3.6.1	Informationsgehalt der Marker	80
3.6.2	Kopplungsanalyse und Konstruktion der genetischen Karten	81

3.6.3	QTL-Analyse	81
3.6.4	Signifikanzschwelle der QTL-Analysen	83
3.6.5	Bestimmung der interessanten Allele	84
4	Ergebnisse	87
4.1	Charakterisierung der Marker	87
4.2	Kopplungskarten	88
4.2.1	Kartierung in der DUMI-Population	89
4.2.2	Bestätigungskartierung in der kommerziellen Population	91
4.2.3	Kartierung der QTL	92
4.3	Kartierung in der Versuchspopulation	94
4.4	Bestätigungskartierung in den kommerziellen Familien	95
4.5	Feinkartierung	100
4.5.1	Chromosom 1	102
4.5.2	Chromosom 2	103
4.5.3	Chromosom 3	104
4.5.4	Chromosom 4	104
4.5.5	Chromosom 6	105
4.5.6	Chromosom 14	108
4.6	Assoziationsanalyse der Mikrosatellitenallele	109
5	Diskussion	113
5.1	Bedeutung des Stülpzitzendefekts	113
5.2	Vergleich der Kopplungskarten	116
5.3	QTL-Analysen der kommerziellen Populationen	119
5.4	Vergleich der QTL-Analysen in den beiden betrachteten Population	121
5.5	Kandidatengene	126
5.5.1	Funktionelle und bereits untersuchte Kandidatengene	126
5.5.2	Positionelle Kandidatengene aus den QTL-Genorten	128
5.5.2.1	Chromosom 6	129
5.5.2.2	Chromosom 11	136

5.6 Fazit aus den Ergebnissen der Assoziationsanalysen 141
5.7 Perspektiven für weitere Untersuchungen 142

6 Zusammenfassung 144

7 Literaturverzeichnis 148

8 Anhang 191

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
AC	Adenylat Cyklase
ACTH	adrenocorticotropic hormone
ADR	Arbeitsgemeinschaft deutscher Rinderzüchter
AFLP	amplified fragment length polymorphism
AKT	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog V
APS	Ammoniumpersulfat
ATP	Adenosintriphosphat
BHZP	Bundeshybridzuchtprogramm
BL	Britische Landrasse
BLAD	bovine leukozyten adhäsions Defekt
bp	Basenpaare
BRCA	breast cancer gene
BST	bovines Somatotropin
BTA	bovines Chromosom
C	Cytosin
c^2	Wurfumwelteffekt
C3	complement compenent 3
cAMP	cyclic adenosine monophasphate
CE	Kapillarelektrophorese
CG	chronic gonadotropine
cM	centimorgan
DB	Datenbank
DE	Deutsches Edelschwein
DL	Deutsche Landrasse
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	Desoxynukleotidtriphosphate
DUMI	Duroc × Berliner Miniaturschwein
E	Östrogen
E(S)	Erwartungswert der Signifikanz
E2	Östradiol

EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGF	Epidermal growth factor
F1-Sauen	Sauen der Kreuzung DE×DL und DL×De
F_1	Filialgeneration eins
F_2	Filialgeneration zwei
FABP	fatty-acid binding protein
FBAT	family-based association test
FIL	feedback inhibitor of lactation
FSH	follicle-stimulating hormone
G	Guanin
GABA	γ-aminobutyric acid
GFS	Gesellschaft für Schweinezucht
GH	growth hormone
GHRH	growth hormone-releasing hormone
GHRP	growth hormone-releasing protein
GJB2	gap junction protein, beta-2
GPCR	G-Protein gekoppelte Familie
GSU	glycoprotein hormone subunit
H	Heterozygotiegrad
h^2	Heritabilität
HOX	Homeobox
HSA	humanes Chromosom
IGF	insulin-like growth factor
IGFBP	insulin-like growth factor-binding protein
INL	insulin
INRA	l`institute national de la recherche agronomique
JAK	janus kinase
k.A.	keine Angabe
kb	kilobase
K-cM	Kosambi-cM
LAR	receptor-linked protein-tyrosine phosphatase
LDL	Lipoprotein niedriger Dichte
LEP	leptin

LfL	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
LGR	leucin-rich repeat containing G-protein coupled receptor
LH	luteinising hormone
LINE	long interspersed repetitive elements
LMO4	lim domain only 4
LOD	logarithm of odds
LPA	Leistungsprüfungsanstalt
LRR	leucin-rich repeat
LRS	Landesverband Rheinischer Schweinezüchter
LW	Large White
MARC	meat animal research center
MAS	markergestütze Selektion
MGDI	mammary-derived growth inhibitor
MgCl2	Magnesiumchlorid
MHS	malignes Hyperthermie Syndrom
MUC1	mucin 1
NCBI	national center for biotechnology information
NPY	neuropeptide Y
NMDA	N-methyl-D,L-aspartate
NNR	Nebennierenrinde
Nordic	Nordische Kartierungsgruppe
NPL	non parametric linkage
OD	optische Dichte
OXT	Oxytocin
P	Progesteron
PACAP	pituitary adenylate cyclase-activating peptide
PCR	Polymerase chain reaction
PDE	Phosphodiesterase
Pi	Pietrain
PIC	polymorphism information content
PiGMaP	Europäische Genkartierungsgruppe beim Schwein
PIN1	peptidyl-prolyl ci/trans isomerase
PIT1	pituitary-specific transcription factor

PKB	protein kinase B
PL	plazentales Laktogen
POU2F1	POU domain, class 2, transcription factor 2
PRL	Prolaktin
PRLR	Prolaktinrezeptor
PROP1	paired-like homeodomain transcription factor 1
PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2
PTHLH	parathyroid hormone like hormone
PTHrP	parathyroid hormone-related protein
PTPTF	protein-tyrosine phosphatase, receptor-type, F
QTL	quantitative trait loci
r	Rekombinationsrate
R	Rezeptor
RFLP	restriction fragment length polymorphism
RH-Panel	radiation hybrid panel
RLN	Relaxin
RNA	Ribonukleinsäure
RNAi	RNA Interferenz
RPX	Rathke pouch homeoboxgene
RT-PCR	Real time PCR
RYR	Ryanodin Rezeptor
SDS	Sodiumdodecylsulfat
SF	scatter factor
SINE	short interspersed repetitive elements
SL	Schwedische Landrasse
SLS	sample loading solution
SNP	single nucleotide polymorphism
SNW	Schweinezuchtverband Nord-West
SSC	sus scrofa Chromosom
SSCP	single strand confirmation polymorphism
STAT	signal transducter and activator of transcription
SZ	Stülpzitzen
T	Thymin

T4	thyroxin
TAE	Tris-Acetat Puffer
TBE	Tris-Borat-Ethylendiamintetraessigsäure
TCF7L2	bovine transcription factor 7-like 2
TDT	transmission disequilibrium
TE	Tris-Ethylendiamintetraessigsäure
TGF	transforming-growth factor
TH	thyroid hormone
TM	Transmembran
TNFSF	tumor necrosis factor ligand superfamily
TRH	thyrotropin-releasing hormone
TSH	thyroide- stimulating hormone
TSH.J	thyrotropin-13-Subeinheit
U	Uracil
USDA	United States Department of Agriculture
Var(S)	Varianz
VDR	Vitamin-D-Rezeptor
WNT4	wingless-type mmtv integration site family, member 4

Tabellenverzeichnis Seite

Tabelle 1:	Entwicklungsstadien der Milchdrüsen im Vergleich in verschiedenen Spezies (modifiziert nach der Übersicht von Mustafa)	9
Tabelle 2:	Überblick über die in die Zitzenentwicklung eingebundenen reproduktiven Hormone* (modifiziert nach Neville et al. 2002)	14
Tabelle 3:	Überblick über die in die Zitzenentwicklung eingebundenen metabolischen Hormone (modifiziert nach Neville et al. 2002)	15
Tabelle 4:	Ergebnisse verschiedener Erhebungen der durchschnittlichen Zitzenzahl (Ø) verschiedener Schweinerassen im Vergleich zueinander	23
Tabelle 5:	Bakteriologische Befunde von 175 untersuchten Milchproben beim Schwein (aus Varadin und Filipovic 1975)	25
Tabelle 6:	Beobachtungen des Anteils betroffener Tiere und der durchschnittlichen Stülpzitzenzahl (SZ) in Untersuchungen innerhalb verschiedener Schweinepopulationen (modifiziert nach Hittel 1984)	28
Tabelle 7:	Untersuchungen der durchschnittlichen Anzahl betroffener Zitzen in den Kategorien 0 (keine) bis 4 Stülpzitzen mit der Gesamtanzahl untersuchter Tiere (modifiziert nach Hittel et al. 1984)	29
Tabelle 8:	Verschiedene Intensitäten gemessen in Noten zwischen 1 und 6 der Ausprägung von Zitzenanomalien mit dem Anteil betroffener Jungsauen und der Irreversibilität des Defektes (aus Blendl et al. 1980)	30
Tabelle 9:	Histologische Merkmale normaler, unvollständig eingestülpter und vollständig eingestülpter Zitzen (aus Günther 1984)	31
Tabelle 10:	Geschätze Heritabilitäten und Wurfumwelt-Effekte für verschiedene Zitzenmerkmale, einschließlich der Standardfehler in Klammern (aus Brevern et al. 1994)	33

Tabelle 11:	Phänotypische (A), genetische (B) und Wurfumwelt-Korrelationen (C) der Anzahl der funktionsfähigen Zitzen sowie der Zitzenzahl insgesamt zu der Stülpzitzenzahl sowie der Anzahl der Zitzenanomalien insgesamt (aus Brevern et al. 199	34
Tabelle 12:	Anteil der Tiere mit mindestens einer Stülpzitze in den Leistungsprüfungen; beobachtete betroffene Tiere n = 244 (von insgesamt 2.160 beobachteten Tieren)	67
Tabelle 13:	Ergebnisse der Gesäugebonitierung am 120. Tag in der Kreuzungsgeneration F_2-Generation der Versuchspopulation; Anzahl Beobachtungen n = 1.019	68
Tabelle 14:	Charakterisierung der verwendeten Marker: analysierte Marker je Chromosom (SSC) mit den Merkmalen der Polymorphie, jeweils geringster Wert (min.), höchster Wert (max.) sowie der durchschnittliche Wert (Ø) je Chromosom und von allen untersuchten Chromosomen (Σ)	87
Tabelle 15:	Untersuchte Mikrosatellitenmarker auf den Chromosomen 1 bis 18 in der Versuchspopulation, multi-allele und bi-allele (*) Marker sind aufgeführt	89
Tabelle 16:	Untersuchte Mikrosatellitenmarker auf den Chromosomen 5, 7 bis 13 und 15 bis 18 in den kommerziellen Familien, multi-allele und bi-allele (*) Marker sind aufgeführt	91
Tabelle 17:	Untersuchte Mikrosatellitenmarker auf den Chromosomen 1 bis 4, 6 und 14 in den kommerziellen Familien, multi-allele und bi-allele (*) Marker sind aufgeführt	93
Tabelle 18:	Ergebnisse aus den QTL-Analysen in der DUMI-Population, je Chromosom sind die Werte für die chromosom-weiten Berechungen sowie die transformierten p-Werte für die experiment-weiten QTL mit Position und entsprechendem Marker aufgeführt	94
Tabelle 19:	Ergebnisse aus den QTL-Analysen in den kommerziellen Familien	95
Tabelle 20:	Ergebnisse aus den QTL-Analysen der Bestätigungskartierung der kommerziellen Familien	100

Tabelle 21:	Ergebnisse aus den QTL-Analysen der Feinkartierung der kommerziellen Familien	102
Tabelle 22:	Vergleichende Auflistung der NPL-Werte und der chromosom-weiten p-Werte der interessanten Marker auf SSC6	108
Tabelle 23:	Ergebnisse der Assoziationsanalyse mit FBAT (additives bi-alleles Modell) auf den Chromosomen 1 bis 18 in den kommerziellen Familien	109
Tabelle 24:	Ergebnisse der Erfassungen des Zitzendefektes Stülpzitze (SZ) bei den Tieren aus den Leistungsprüfungen am Schlachthof in den Jahren 2003 bis 2005.	113
Tabelle 25:	Ergebnisse der rassenspezifischen Erfassung des Zitzendefektes Stülpzitze (SZ) in den Jahren 2003 bis 2005	114
Tabelle 26:	Beobachtung der Defektinzidenz in einer ausländischen Schweinepopulation (persönliche Mitteilung)	115
Tabelle 27:	Vergleichende Auflistung der detektierten QTL-Genorte in der DUMI-Versuchspopulation und in den kommerziellen Familien mit den Positionen der QTL-Genorte aus den eigenen Analysen	122
Tabelle 28:	Bereits untersuchte Kandidatengene und die Ergebnisse der Assoziationsanalysen mit FBAT zum Stülpzitzendefekt mit der Angabe, ob die Gene positionelle oder funktionelle Kandidatengene sind	126
Tabelle 29:	Funktionelle Kandidatengene für den Stülpzitzendefekt beim Schwein	127
Tabelle 30:	Positionelle und funktionelle Kandidatengene auf dem Chromosom 6 beim Schwein, die auch eine Rolle während der Entwicklung der Zitzen spielen könnten	134
Tabelle 31:	Positionelle Kandidatengene auf dem Chromosom 11, die beim Schwein bereits kartiert wurden und in der Datenbank der Roslin-Bioinformatikgruppe veröffentlicht wurden (http://www.thearkdb.org/browser)	139

Tabelle 32: Auflistung der verwendeten Primer auf den Chromosomen 1 bis 18 in der DUMI-Population und in den kommerziellen Familien mit der Primersequenz, der Position auf dem Chromosom und der Art der Markierung 191

Tabelle 33: Vergleichende Auflistung der detektierten QTL-Genorte in der DUMI-Versuchspopulation und den kommerziellen Familien mit den Positionen der QTL-Genorte aus den eigenen Analysen 198

Tabelle 34: Vergleich der in den kommerziellen Familien berechneten Genkarten auf den Chromosomen 1 bis 18 berechnet in Kosambi-cM (K-cM) und der Faktor der Abweichung der Abstände der einzelnen Marker zwischen den geschlechtsspezifischen weiblichen (♀) und männlichen (♂) und der geschlechtsunabhängigen (Gesamtkarte) Genkarte 199

Tabelle 35: Genkarten der Chromosomen 1 bis 18 der amerikanischen MARC Gruppe, sowie Genkarten aus den eigenen Berechnungen in Kosambi-cM (K-cM): Vergleich der Genkarten der amerikanischen MARC-Datenbank sowie aus den eigenen Berechnungen in der DUMI Population (DUMI) und in den kommerziellen Familien (Komm.) mit der Abweichung der Abstände der einzelnen Marker zwischen den Genkarte 203

Abbildungsverzeichnis Seite

Abbildung 1:	Dreidimensionale schematische Darstellung der Feinstruktur einer Alveolarzelle (nach Linzell und Peaker 1971)	3
Abbildung 2:	Die Entwicklungsphasen der Milchdrüse (nach Lewis 2000)	6
Abbildung 3:	Entwicklung der Milchdrüse im Fötus–Vergleich Fötusgrößen und Entwicklungsstadien der Zitzengebilde mit der angedeuteten Lage der Zitze (modifiziert aus der Übersicht von Mustafa 2001)	7
Abbildung 4:	Entwicklungsstadien der Drüsenproliferation (aus der Übersicht von Mustafa 2001)	8
Abbildung 5:	Hormone, Rezeptoren, Wachstumsregulatoren, Transkriptionsfaktoren, Zellzyklen und weitere Faktoren, die in die Milchdrüsenbildung eingebunden sind (modifiziert nach Hennighausen und Robinson 1998)	12
Abbildung 6:	Schema einer normalen Zitze (links) und einer Stülpzitze (rechts) (nach Steffens 1993)	32
Abbildung 7:	Hypophysenspezifische Transkriptionsfaktoren, die in die Entwicklung des Hypophysenvorderlappens eingebunden sind und ihre Reaktionsmechanismen auf weitere wichtige Hormone verschiedener Kategorien, weitergehende Erklärungen im Text (aus Cohen und Radovick 2002)	37
Abbildung 8:	Die unterschiedlichen Signalwege, die in die Regulation des cAMP durch das Peptidhormon RLN eingebunden sind: im oberen Teil die Anbindung von RLN an seinen Rezeptor (LGR7 oder LGR8), auf der linken Seite der Signalweg über TK und PDE, auf der rechten Seite über Gs und AC (aus Ivell 2002)	40

Abbildung 9:	Übersicht der wahrscheinlichen Aufgaben der wichtigsten Neuropeptide und Neurotransmitter, die eine GH-Sekretion vermitteln, dargestellt bei der Ratte (A) und beim Menschen (B): mit Stern (*) gekennzeichnete Neuropeptiden und Neurotransmittern haben zwei oder mehr Orte der Aktion, verstäkende Effekte (+) und verringernde Effekte (–) sowie unbekannte Effekte (?) sind jeweils and den Pfeilen angegeben (aus Giustina und Veldhuis 1998)	42
Abbildung 10:	Übersicht über die Möglichkeiten und Wege zur Detektion der Ursachen unterschiedlicher Phänotypen (modifiziert nach Geldermann 1988, Rothschild 2003, Rothschild und Plastow 1999)	51
Abbildung 11:	Aufbau des Genoms von Säugern (nach Ellegren 1993)	54
Abbildung 12:	Eigene Versuchsplanung des Ablaufs der Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit, ausgehend von den Ergebnissen der vorhergehenden Untersuchungen	63
Abbildung 13:	Bonn-Berlin-DUMI-Versuchspopulation: Beispiel für die Anpaarung eines weiblichen Miniaturschweins an einen Duroc Eber	66
Abbildung 14:	Genkarten der Chromsosomen 1 bis 6 und die Angabe der Reihenfolge der verwendeten Marker sowie ihrer Position in cM auf der MARC-Genkarte (http://www.marc.usda.gov/genome/swine/marker_list.html)	74
Abbildung 15:	Genkarten der Chromsosomen 7 bis 12 und die Angabe der Reihenfolge der verwendeten Marker sowie ihrer Position in cM auf der MARC-Genkarte (http://www.marc.usda.gov/genome/swine/marker_list.html)	75
Abbildung 16:	Genkarten der Chromsosomen 13 bis 18 und die Angabe der Reihenfolge der verwendeten Marker sowie ihrer Position in cM auf der MARC-Genkarte (http://www.marc.usda.gov/genome/swine/marker_list.html)	76
Abbildung 17:	NPL-Werte auf Chromosom 5, unterteilt nach den Rassen DL und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)	96

Abbildung 18:	NPL-Werte auf Chromosom 8, unterteilt nach den Rassen DL und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)	97
Abbildung 19:	NPL-Werte auf Chromosom 11, unterteilt nach den Rassen DL und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)	98
Abbildung 20:	NPL-Werte auf Chromosom 13, unterteilt nach den Rassen DL und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)	99
Abbildung 21:	NPL-Werte auf Chromosom 1, unterteilt nach den Rassen DL, DE und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)	103
Abbildung 22:	NPL-Werte auf Chromosom 3, unterteilt nach den Rassen DL, DE und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)	104
Abbildung 23:	NPL-Werte auf Chromosom 4, unterteilt nach den Rassen DL, DE und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)	105
Abbildung 24:	NPL-Werte auf Chromosom 6, unterteilt nach den Rassen DL, DE und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)	106
Abbildung 25:	NPL-Werte der feineren Kartierung auf Chromosom 6, mit den Werten der Voll- und Halbgeschwisteranalysen (*fullsib* und *halfsib*), unterteilt in die verschiedenen Rassen	107
Abbildung 26:	Die Ergebnisse der Erfassung von Zitzendefekten über einen Zeitraum von zwanzig Jahren (1985 bis 2005) aus einer unabhängigen Leistungsprüfung in Deutschland (persönliche Mitteilung)	116
Abbildung 27:	Grafische Darstellung der Unterschiede verschiedener Genkarten auf SSC1	117
Abbildung 28:	Grafische Darstellung der Unterschiede verschiedener Genkarten auf SSC14	118
Abbildung 29:	Übersicht über publizierte QTL für die Zitzenzahl (TNUM) in der PigQTLDB (Hu et al. 2005) und gefundene suggestive und signifikante QTL für Stülpzitzen in dieser Arbeit	125
Abbildung 30:	Vergleichende Karte des porcinen Chromosom 6 mit den entsprechenden Chromosomenregionen der humanen Chromosomen (http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/compare/compare.htm) HSA1, HSA16, HSA18 und HSA19	129

Abbildung 31:	Lage der Marker an den QTL in der DUMI-Population (S0220) und in den kommerziellen Familien (S0059) in den vergleichenden Genkarten (modifiziert von den Seiten www.animalgenome.org und www.cabnr.unr.edu)	131
Abbildung 32:	Vergleichende Genkarte des porcinen Chromosoms 11 und des humanen Chromosoms 13 (http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/compare)	136
Abbildung 33:	Vergleichende Genkarte von SSC11 und HSA 13 (http://www.cabnr.unr.edu/beattie/rhfiles)	137
Abbildung 34:	Vergleichende Genkarte von SSC11 und HSA13 (http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb) (Meyers et al. 2005)	138
Abbildung 35:	NPL-Werte der QTL-Berechnungen in den kommerziellen Rassen auf Chromosom 7, 9, 10, 12, und 16-18 aus der Besätigungskartierung sowie 2 und 14 unterteilt in die Kreuzungstiere und die Familien der Rasse DL und DE	197
Abbildung 36:	Vergleichende Genkarten der Chromosomen 1, 2 und 3	206
Abbildung 37:	Vergleichende Genkarten der Chromosomen 4, 5 und 6	207
Abbildung 38:	Vergleichende Genkarten der Chromosomen 7, 8 und 9	208
Abbildung 39:	Vergleichende Genkarten der Chromosomen 10, 11 und 12	209
Abbildung 40:	Vergleichende Genkarten der Chromosomen 13, 14 und 15	210
Abbildung 41:	Vergleichende Genkarten der Chromosomen 16, 17 und 18	211

1 Einleitung

Erbfehler haben einen großen Einfluss auf die Wirtschaftlichkeit der Schweineproduktion. So spielt bei weiblichen Zuchttieren die Funktionsfähigkeit der Milchdrüsen eine große Rolle. Dabei haben verschiedene endogene und exogene Faktoren einen negativen Einfluss auf die Entwicklung der Milchdrüse. Zu den Erbfehlern gehört auch die Stülpzitze, die trotz züchterischer Selektion gegen diesen bedeutendsten Zitzendefekt noch in vielen Schweinepopulationen und -rassen zu finden ist. Betroffene Zitzen können meist von Ferkeln nicht besaugt werden. Dadurch verringert sich die Aufzuchtleistung, gemessen an der Anzahl aufgezogener Ferkel je Sau und Jahr, von betroffenen Sauen. In kommerziellen Schweinepopulationen prägen drei bis dreißig Prozent der Sauen diesen Zitzendefekt aus (Blendl et al. 1980, Mayer und Pirchner 1995), wobei durchschnittlich 1,2 bis 4,63 Zitzen betroffen sind (Große Beilage et al. 1996, Hittel 1984). Dadurch kann eine durchschnittliche Zitzenzahl von mindestens zwölf funktionsfähigen Zitzen bei betroffenen Sauen häufig nicht erreicht werden. Die Selektion von Jungsauen aufgrund betroffener Gesäugekomplexe führt zu einer geringeren Selektion auf Produktions- und andere Reproduktionsmerkmale. Die Heritabilität für dieses Merkmal liegt zwischen 0,2 und 0,5 (Brevern et al. 1994, Mayer 1994). Eine Beteiligung mehrere Gene mit eventuell einem Hauptgen scheint Ursache des Defektes zu sein. Bei Beobachtungen aus den stationären Leistungsprüfungen im Rahmen dieser Arbeit konnten trotz intensiver Selektionsmaßnahmen gegen den Erbfehler Stülpzitze noch hohe Anteile betroffener Tiere unter den getesteten männlichen Nachkommen gefunden werden (persönliche Mitteilung LPA Frankenforst).

Ziel dieser Arbeit ist die Detektion von Regionen im Schweinegenom, die einen Einfluss auf die Entwicklung des Erbfehlers Stülpzitze haben. Letztendlich sollen somit Marker ausgewählt werden, die im Rahmen der markergestützten Selektion (*MAS*) zur effizienteren Selektion in verschiedenen Zuchtprogrammen verwendet werden können. Bei der MAS werden genetische Marker zur Prüfung der zur Zucht eingesetzten Tiere verwendet. Reproduktionsmerkmale sind besonders gut für den Einsatz dieses Hilfsmittel der Selektion geeignet (Spotter und Distl 2006). Das bekannteste Beispiel

bei den reproduktiven Merkmalen ist die Verwendung des Östrogenrezeptor (*ER*) Gens zur Verbesserung der Wurfgröße in der Schweineproduktion (Rothschild et al. 1996, Short et al. 1997).
Geeignete Marker müssen jedoch gefunden werden, um den Gentest für eine lange Einsetzbarkeit möglichst effizient zu entwickeln. Verschiedene Ansätze zielen darauf Gene zu finden, die wirtschaftlich relevante Phänotypen beeinflussen. Die wichtigsten Techniken sind die Kopplungskartierung, die Assoziationsanalyse, sowie die Expressionsanalyse.

Ziel dieser Untersuchung war die Detektion interessanter Chromosomenregionen beim Schwein mit einer Kopplungsanalyse, der *quantitative trait analysis* (QTL-Analyse). In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 500 Schweine der Rassen Deutsche Landrasse (DL), Deutsches Edelschwein (DE) sowie deren Kreuzungstiere (DE×DL und DL×DE) an drei bis vierzehn Marker auf den Chromosomen 1 bis 18 genotypisiert. Im Anschluss an die Kopplungsanalyse konnten relevante Bereiche für die Entwicklung der Stülpzitze auf unterschiedlichen Chromosomen gefunden werden. Die detektierten QTL-Regionen, die in einer Versuchspopulation gefunden wurden, konnten bestätigt werden. Zur weiteren Absicherung der Ergebnisse der QTL-Analysen in den kommerziellen Familien wurden die Genotypen der typisierten Marker zusätzlich mit einer Assoziationsanalyse analysiert, um interessante Allele der einzelnen Marker detektieren zu können. Es konnte nachgeprüft werden, ob die Ergebnisse der Kopplungsanalyse sich in einer Assoziationsanalyse reproduzieren lassen.

Aufgrund der Komplexität und der polymorphen Ausprägung des Erbfehlers Stülpzitze erscheinen weitergehende Untersuchungen, die auf die Kopplungsanalysen basieren, sinnvoll, um letztendlich kausative Gene detektieren zu können. Bei diesen besteht letztendlich die Möglichkeit, sie als Marker in der MAS zu verwenden.

2 Literaturübersicht

2.1 Die Milchdrüse

2.1.1 Bedeutung der Milchdrüse

In früheren Publikationen wurde die Milchdrüse (*Mamma)* als eine modifizierte apokrine Hautzelle bezeichnet (Kolb 1974, Krölling und Grau 1960). Die Milchdrüse ist eine verzweigte, tubuloalveolare Drüse, die die Neugeborenen mit Nährstoffen versorgt und außerdem eine wichtige Rolle für die passive Immunisierung über die Kolostralmilch in den ersten Stunden nach der Geburt spielt (Krölling und Grau 1960). In den Zellen der sezernierenden Milchdrüse werden Proteine und Fette gebildet, die über die Membran aus der Zelle transportiert werden. In Abbildung 1 ist die Feinstruktur der Milchdrüse mit den Blutkapillaren (CAP), der Basalmembran (BM), der Basallamina (BaM), den Myoepithelzellen mit kontraktilen Fasern (MCP), dem Zellkern (NU), den Mitochondrien (M), dem rauen endoplasmatischen Retikulum (RER), der Golgi-Region (GA), den Mikrovilli (MV), der membranlosen Kaseingranula (P) und den Fetttröpfchen (LD) dargestellt.

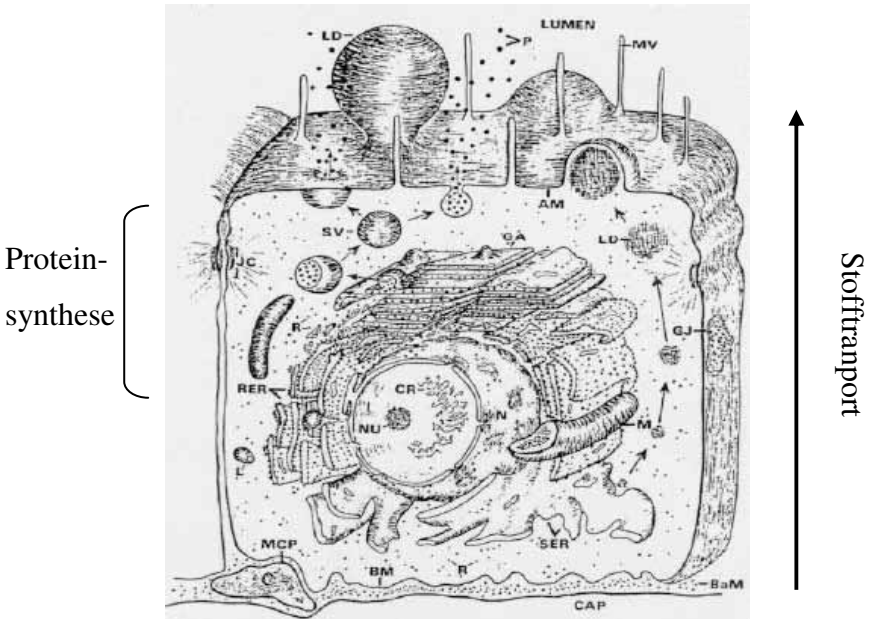

Abbildung 1: Dreidimensionale schematische Darstellung der Feinstruktur einer Alveolarzelle (nach Linzell und Peaker 1971)

Die Anzahl und die Ausbildung der paarig angelegten Milchdrüsen- oder Mammarkomplexe sind zwischen den Spezies unterschiedlich ausgeprägt (Gürtler und Schweigert 2005).

Die Milchdrüse besteht aus Bindegewebe, sekretbildendem Gewebe und einem Röhrensystem zur Ableitung der Milch nach außen. Das Bindegewebe dient der Stützung der anderen Gewebe, in einem guten Euter sollte sein Anteil minimal sein. Das bindegewebsartige Stützgerüst (*Stroma*) der Drüsen besteht aus einem dichten interlobulären Bindegewebe mit unterschiedlichen Anteilen an Fettgewebe.

Das sekretbildende Gewebe ist in Lappen (*Lobeln*) angeordnet, die wiederum aus Läppchen (*Lobuli*) bestehen, wobei jedes Läppchen aus vielen Milchbläschen (*Alveoli*) gebildet wird. Diese Alveoli sind von einem Netzwerk von Blutgefäßen umgeben und besitzen alle Bestandteile, die zur Bildung der Milch benötigt werden. Die sekretorischen Zellen (*Epithelzellen*) stellen dabei die grundlegende Einheit der Milchsynthese dar. Das sekretbildende Gewebe umfasst während der Laktation die Hälfte aller Zellen in der Milchdrüse, sein Anteil an der gesamten Milchdrüse sollte daher maximal sein.

Das Röhrensystem der Milchdrüse beginnt bei den Alveoli und endet am Strichkanal (Ductus papillaris). Die Zusammensetzung der Milch ändert sich in diesem Gewebe nicht mehr, da es zur Ableitung der Milch von den Drüsen- zu den Zitzenzisternen (Ductus lactiferi) dient (Krölling und Grau 1960).

Die Milchdrüse ist bei Säugern eines der wenigen dynamischen Gewebe mit einem Zyklus, bestehend aus Wachstum, funktioneller Differenzierung und Regression. Während dieses Zyklus ändern sich abhängig vom hormonellen Status die Anteile der verschiedenen Gewebe (Cowie 1957, Leisering und Mueller 1885).

2.1.2 Entwicklung der Milchdrüse

Die Entwicklung der Milchdrüse besteht aus der *Mammogenese* (Entwicklung des Drüsenkomplexes), der *Laktogenese* oder *Galaktogenese* (Einsetzen der Laktation), der *Galaktopoese* (Aufrechterhaltung der Laktation), der *Galaktokinese* (Ausschüttung der Milch) und der *Involution* (Rückbildung der Milchdrüse) am Ende der Laktation (Buhimschi 2004). Dieser Vorgang wird von Reproduktions- und Stoffwechselhormonen kontrolliert (vgl. Kapitel 2.1.3). Die *Persistenz* ist ein Teil dieses Zyklus, da sie die Beständigkeit der Laktation widerspiegelt. Eine hohe Persistenz bedeutet eine längere Laktation mit relativ gleichbleibendem Leistungsniveau (Akers 2002).

Das Wachstum und die Differenzierung der Milchdrüse lassen sich weiterhin in folgende Abschnitte einteilen: (1) die Entwicklung im Fötus, (2) die Entwicklung vor der Pubertät, (3) die Entwicklung in der Pubertät, (4) die Entwicklung während der Trächtigkeit, (5) die Entwicklung in der Laktation und (6) die Entwicklung im Anschluss an die Laktation. Die Phasen der Milchdrüsenentwicklung sind in Abbildung 2 als lineare (bis zur Pubertät) und zyklische Entwicklung (in der fruchtbaren Phase) dargestellt (Lewis 2000).

Dabei findet ab der Pubertät aktives Wachstum der Milchdrüse statt, dieses kommt während der Reifung zum Stillstand. Nach dem Stadium der Reifung beginnt der Entwicklungszyklus der Milchdrüse während der Trächtigkeit, der Laktation und der Rückbildung. Während der Trächtigkeit findet alveolares Wachstum und eine Differenzierung der sekretorischen Zellen statt. In der Laktation wird die Milch abgegeben und während der Rückbildung finden *Apoptose* (programmierter Zelltod), Regression und Neumodellierung statt. Mit der Reifung und Befruchtung beginnt dieser Zyklus erneut.

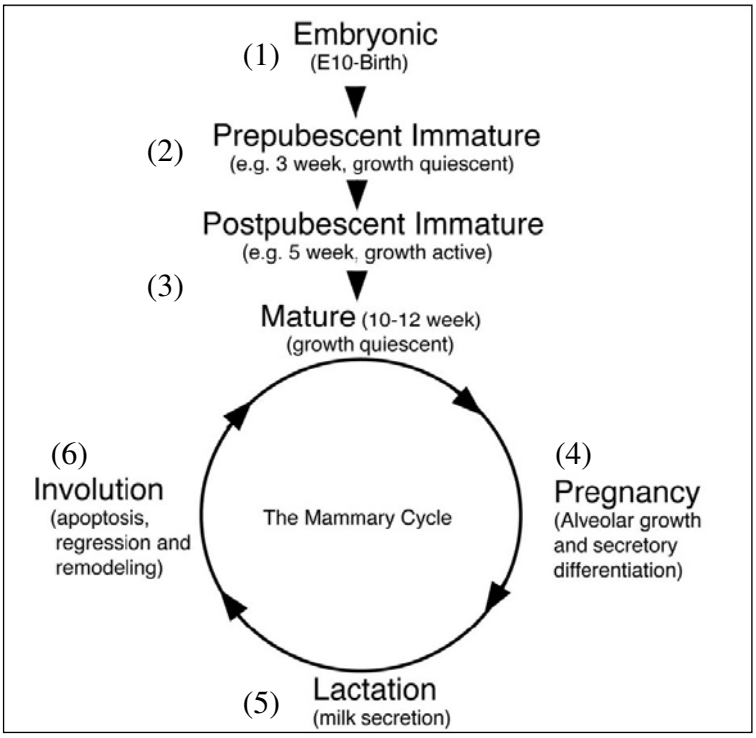

Abbildung 2: Die Entwicklungsphasen der Milchdrüse (nach Lewis 2000)

Die Grundlage für die Gewebe und die Organe im Fötus bilden hauptsächlich drei Keimblätter: das äußere *Ektoderm*, das mittlere *Mesoderm* und das innere *Endoderm*. Die Milchdrüse entwickelt sich im Fötus aus Ektoderm- und Mesodermzellen, beginnend mit der Vermehrung (*Proliferation*) der Epithelzellen (Heidrich und Renk 1963). In Abbildung 3 sind die Stadien der Entwicklung der Zitze im Vergleich zur Entwicklung des Fötus im Überblick dargestellt. Dabei wird das *Milchband,* eine ausgedehnte Leiste aus Ektodermzellen als *erste Anlage der Milchdrüse* bezeichnet. Am Ende dieses Entwicklungsstadiums ist bereits eine Differenzierung zum umliegenden Gewebe sichtbar. Im Verlauf der Proliferation der Zitze entwickeln sich zunächst der *Milchstrich* und anschließend die *Milchleiste*. Die Milchleiste besteht aus lang gezogenen Ektodermzellen, die auf einer Schicht von Mesodermzellen liegen. Die folgende Verkürzung der Zellen führt dazu, dass die Ektodermzellen in die mesenchymale Zellschicht auseinanderwachsen (Leisering und Mueller 1885).

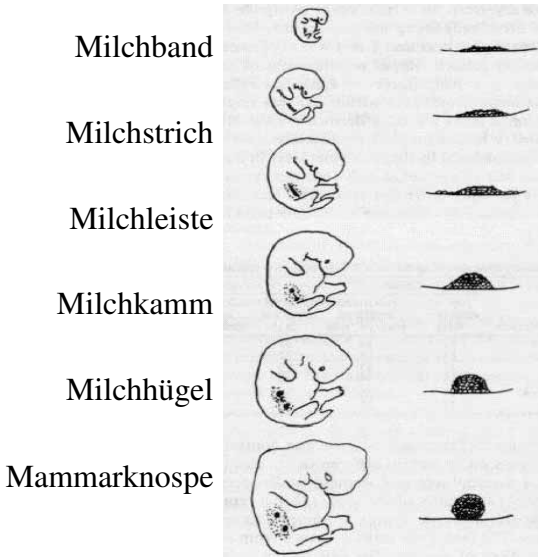

Abbildung 3: Entwicklung der Milchdrüse im Fötus–Vergleich Fötusgrößen und Entwicklungsstadien der Zitzengebilde mit der angedeuteten Lage der Zitze (modifiziert aus der Übersicht von Mustafa 2001)

Der *Milchkamm* bildet sich beim adulten Tier in der Region der endgültigen Lage der Milchdrüse. Durch das Wachstum der Ektodermzellen in das Mesenchym erheben sich die Ektodermzellen zu einem Milchhügel. Während der fortgesetzten Proliferation formen sich sphärische und globuläre Strukturen, auch *Mammarknospen* genannt. Diese Entwicklungsphase stellt den kritischsten Punkt in der fötalen Mammogenese dar (Rüsse und Sinowatz 1998).

Daran schließen sich weitere wichtige Prozesse an, zunächst senken sich die Ektodermzellen ab und formen eine Vertiefung auf der Oberfläche des Fötus. Ab diesem Stadium beginnt die Differenzierung der Drüsen, erste Unterschiede zwischen den Geschlechtern sind erkennbar. Die weiblichen Milchanlagen sind eiförmig. Sie haben ein geringeres Volumen und formen einen kleineren Milchkanal als die ballförmigen Zitzen der männlichen Föten. Außerdem ist ihre Zitze flacher. Beispielsweise gibt es bei Ratten, Mäusen oder Pferden nach der embryonalen Entwicklungsphase keine weitere Zitzenformung, während sie in anderen Spezies anschließend langsamer verläuft (Akers 2002). In der folgenden Abbildung 4 ist die Veränderung der Milchdrüsen von den primären und sekundären Sprossen nach der

Geburt (2), (3), zur weiterer Verzweigung ab der Pubertät (4) bis zur Entwicklung der vollständigen Drüsen in der Gravidität und Laktation (5) bis (7) dargestellt.

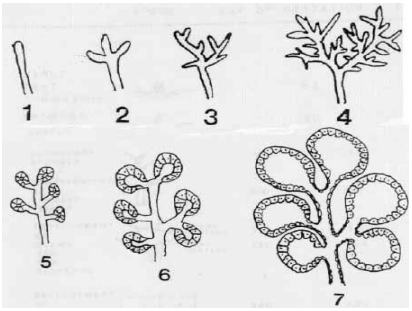

Abbildung 4: Entwicklungsstadien der Drüsenproliferation (aus der Übersicht von Mustafa 2001)

Diese in der Abbildung 4 dargestellte weitere Zitzenentwicklung ist beim Fötus durch ein starkes Wachstum des Mesenchyms sowie durch die Bildung von Blutgefäßen im Mesenchym gekennzeichnet. Die ersten Zitzenzisternen formen sich, zunächst noch aus einer festen Wand aus Zellen bestehend. Die Epithelzellen bilden solide Leitungen, die bis zum subkutanen Gewebe in die Mesenchymzellen wachsen und sekundäre Sprossen bilden, die sich je nach Spezies weiter verzweigen. Jede dieser Leitungen entspricht einem milchführenden Kanal und öffnet sich in einem späteren Entwicklungsstadium der Zitze in der entwickelten Milchdrüse.

Bei der Geburt sind die sekundären Sprosse bereits hohl. Sie besitzen jedoch einen festen Kern von Zellen am Ende des Kanals. Das Wachstum der Drüse ist in der Region um die Zitzenzisterne begrenzt, nur wenige tertiäre Sprosse sind dort vorhanden. Nicht-sekretbildende Gewebe wie Bindegewebe, Blut- und Lymphgefäße sind bereits stark ausgebildet, während sekretbildende und glanduläre Gewebe noch nicht entwickelt sind (Kon und Cowie 1961, Zietzschmann 1943).

Eine Fehlfunktion während diesen Entwicklungsphasen im Fötus kann die spätere Funktion der Milchdrüse beeinflussen. In Tabelle 1 werden die Größe und das Alter verschiedener Spezies während der Schlüsselstadien der Zitzenproliferation gegenübergestellt. Dabei werden das Alter und die Länge des Rumpfes des Fötus zu dem entsprechenden Stadium der Entwicklung aufgeführt (nach Heidrich und Renk 1963).

Tabelle 1: Entwicklungsstadien der Milchdrüsen im Vergleich in verschiedenen Spezies (modifiziert nach der Übersicht von Mustafa, 2001)

Stadium der Entwicklung	Alter des Fötus			Länge des Rumpfes		
	Mensch	Rind	Schwein	Mensch	Rind	Schwein
Milchband	35 Tage	32 Tage	21 Tage	6 mm	14 mm	10 mm
Milchstrich	36 Tage	34 Tage	22 Tage	8 mm	16 mm	12 mm
Milchlinie	37 Tage	35 Tage	23 Tage	10 mm	17 mm	15 mm
Milchkamm	40 Tage	37 Tage	25 Tage	13 mm	19 mm	18 mm
Milchhügel	42 Tage	40 Tage	26 Tage	15 mm	21 mm	20 mm
Mammar-knospe	49 Tage	43 Tage	28 Tage	20 mm	25 mm	22 mm
Primärer Spross	5 Monate	60 Tage	k.A.	k.A.	80 mm	k.A.

Der Unterschied in der Zitzenentwicklung bei männlichen und weiblichen Föten wird durch Steroidhormone gesteuert. Androgene werden im Hoden des männlichen Fötus gebildet und können an die in der Zitze vorhandenen Rezeptoren binden (Akers 2002, Drews 1993).

Nach der Geburt verläuft das Zitzenwachstum zunächst parallel zum Körperwachstum (*isometrisch*) (Zietzschmann 1943). Das Drüsensystem verlängert sich, Fett- und Bindegewebe nehmen zu. Vor der Pubertät besteht die Milchdrüse hauptsächlich aus Fettgewebe.

Mit der Abgabe des follikelstimulierenden Hormons (*FSH*) und des luteinisierenden Hormons (*LH*) aus dem Hypophysenvorderlappen des weiblichen Tieres werden die Ovarien zur Synthese der weiblichen Sexualhormone Östrogen und Progesteron stimuliert. Östrogene wirken zusammen mit PRL und Somatotropin auf die weitere Entwicklung der Milchdrüse und stimulieren die Zellvermehrung an den endständigen Knospen. Progesteron stimuliert die Vervielfältigung und Erweiterung der Drüsengebilde an diesen Knospen.

Die verschiedenen α und β Formen der Östrogen- und Progesteron-Rezeptoren sind zu verschiedenen Zeitpunkten der Milchdrüsenentwicklung nach der Geburt unterschiedlich stark exprimiert. Sie stehen hinsichtlich ihrer Funktion für die Milchdrüsenentwicklung miteinander in unterschiedlich starkem Zusammenhang (Saji et al. 2000, Shyamala et al. 2000). Diese Steroidhormone beeinflussen die Bildung spezifischer Wachstumsmerkmale in der Milchdrüse während des Östrus. PRL wirkt auf das Epithel und das Stroma des wachsenden Milchdrüsengewebes und ist somit ebenfalls für die Mammogenese von Bedeutung.

Während der Trächtigkeit entwickeln sich die lobulo-alveolaren Strukturen in starkem Ausmaß. Das Milchdrüsenwachstum des Muttertiers entspricht dabei dem Verlauf des fötalen Wachstums. Die Zellen zur Milchsekretion bilden sich nur während der Trächtigkeit. In dieser Phase wird die Anzahl der sekretorischen Zellen und somit die zu erwartende Milchproduktion festgelegt. Die Fettzellen in der Milchdrüse werden durch die weitere Verzeigung der Kanäle, Blutgefäße und Bindegewebe ersetzt. Die Alveoli bilden sich im späteren Trächtigkeitsstadium.

In der Laktation setzt sich das Zellwachstum fort, die Nachkommen haben in dieser Phase einen starken Einfluss auf die Entwicklung der Milchdrüse. Beispielsweise gibt es bei Spezies wie Ratte, Maus und Schwein einen direkten Zusammenhang zwischen der Aufzuchtintensität und der weiteren Ausbildung der Milchdrüse (Akers 2002). Die Funktion der Milchdrüse wird von einem Gleichgewicht zwischen systemischen Faktoren im Blut und weiteren von der Zitze beeinflussten Faktoren bestimmt. Der Feedback-Inhibitor der Laktation (*FIL*) wird von der Milchdrüse bei der Milchsynthese gebildet und befindet sich somit als ein Bestandteil in der Milch. Eine überhöhte Menge an FIL in der Zitzenzisterne verhindert über den Feedback-Mechanismus die weitere Milchsekretion (Kim et al. 2001). Durch das physiologische Entfernen der Milch aus dem Drüsengewebe wird dieser Faktor ebenfalls aus der Milchdrüse entnommen, die Inhibition der weiteren Milchsekretion erfolgt daher nicht. Diese lokale Kontrolle der Milchsekretion ist notwendig, da die Milchdrüse ihr Sekret extrazellulär im Lumen speichert und andere natürliche Regulationsmechanismen nicht vorhanden sind (Wilde et al. 1995). Der FIL-Faktor ist somit für die Beendigung der Laktation von Bedeutung. Die Zusammensetzung der Milch wird jedoch bei der Unterdrückung der weiteren Milchsekretion nicht verändert (Wilde et al. 1995).

Diese Laktationspersistenz ist für die Milchproduktion in späteren Laktationen wichtig. Untersuchungen bei Milchkühen zeigen die Abhängigkeit des Zeitraumes zwischen zwei Laktationen und der produzierten Milchmenge in der folgenden Laktation (Wilde et al. 1997). Bereits in der Laktation nimmt die Zahl der vorhandenen Drüsenzellen in der Milchdrüse ab. Bei Ziegen und Kühen ist dies das Ergebnis der Apoptose. Diese ist eine natürliche und systematische Methode des Zelltods und Teil der normalen Morphogenese und Gewebemodellierung. Ähnlich wie die Nekrose ist auch die Apoptose durch morphologische, biochemische und molekulare Veränderungen in der sterbenden Zelle gekennzeichnet. In dieser Phase zwischen zwei Laktationen erfolgt somit eine Rück- und Neubildung. Der Prozess der Zitzenrückbildung mit struktureller und funktioneller Regression der Drüse ist Teil des Entwicklungszyklus der Zitze (Ford et al. 2003). Abbau und Apoptose werden durch die Veränderung des Hormonspiegels von Galaktopoese-Hormonen im Körper kontrolliert (Wilde et al. 1999).

2.1.3 Hormonelle Regulation

Reproduktions- und Stoffwechselhormone sind für die Entwicklung der Milchdrüse von Bedeutung (Cowie 1966, Cowie 1957, Gürtler und Schweigert 2005). Hormone benötigen eine spezifische Bindungsstelle an der Zielzelle, die man als *Rezeptor* bezeichnet. Bindet das Hormon an seinen Rezeptor werden Gene aktiviert und/oder intrazellulärer Signalmoleküle (*Second Messenger*) gebildet, die das Hormonsignal in der Zelle weitergeben (Meinecke 2005). Die meisten Hormone binden an der äußeren Seite der Zellmembran an ihre Rezeptoren, Steroidhormone beispielsweise binden an spezifische Rezeptorproteine im Zellinneren (Silbernagl und Despopoulos 1991).
Hormone lassen sich aufgrund ihrer zurückgelegten Wegstrecke in *endokrine*, *parakrine* und *autokrine* Hormone unterteilen. Dabei gelangen endokrine Hormone über das Blut zum Zielort, parakrine Hormone werden von Zellen freigesetzt und beeinflussen unmittelbar benachbarte Zellen, während bei autokrinen Hormonen die Zelle auf Substanzen reagiert, die sie selbst abgibt (nach Meinecke 2005). Weiterhin lassen sich Hormone aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften einteilen. Lipophile Hormone oder Steroidhormone diffundieren durch die Zellmembran und binden im Kern an den Rezeptor. Hydrophile Hormone binden auf der Membran an den Rezeptor und werden

als Polypeptidhormone bezeichnet. Die letzte Gruppe, die Prostaglandine, sind ebenfalls lipophile Hormone, die an der Membran an den Rezeptor binden (Meinecke 2005).

Das endokrine System koordiniert die Zitzenentwicklung und die reproduktive Entwicklung, sodass die Nährstoffversorgung der Nachkommen nach der Geburt gewährleistet ist. An dieser Entwicklung sind reproduktive, metabolische und Milchdrüsenhormone beteiligt (Neville et al. 2002). In Abbildung 5 ist ein Überblick über verschiedene Faktoren, die Einfluss auf die verschiedenen Entwicklungsstadien der Milchdrüsenentwicklung bei der Maus haben, dargestellt. Dazu gehören Hormone, Rezeptoren, Wachstumsregulatoren (wie PRL, PRLR, OXT, InhibinbB, CSF-1), Transkriptionsfaktoren (wie P, ER, STAT5a, A-myb, mf3, C/EBPb), Bestandteile von Zyklen (wie Cyklin D1) und weitere Faktoren (wie LAR), die in den folgenden Kapiteln noch eingehender beschrieben werden. Für diese Faktoren konnte bereits in verschiedenen Untersuchungen nachgewiesen werden, dass ihre natürlichen und künstlichen Mutanten den Zitzenphänotyp verändern (nach Hennighausen und Robinson 1998).

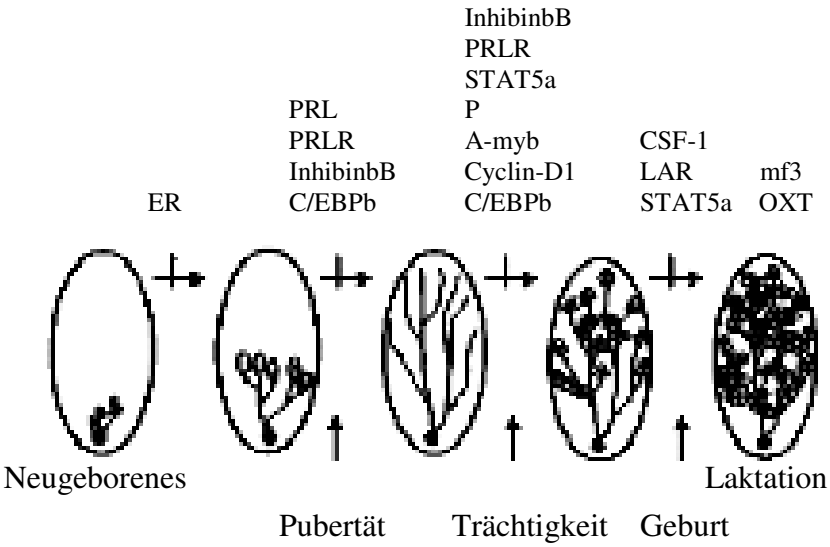

Abbildung 5: Hormone, Rezeptoren, Wachstumsregulatoren, Transkriptionsfaktoren, Bestandteile von Zyklen und weitere Faktoren, die in die Milchdrüsenbildung eingebunden sind (modifiziert nach Hennighausen und Robinson 1998)

Die Peptidhormone PRL, plazentales Laktogen (*PL*), Oxytocin (*OXT*) und die Steroidhormone Progesterone und Östrogene sind reproduktive Hormone. Diese Hormone können direkt auf die Zitzen wirken. Die Entwicklung der Milchdrüse und die Milchabgabe stehen in engem Zusammenhang zu diesen Hormonen. Die hauptsächliche biologische Aufgabe der reproduktiven Hormone ist die Koordination des reproduktiven Status und der Reaktion auf die Nachkommen.

Die Hauptfunktion der metabolischen Hormone ist die Regulation des Stoffwechsels, die die *Homöostase* im Körper aufrecht erhält. Die metabolischen Hormone können auf Nahrungsaufnahme und Stress reagieren. Die wichtigsten metabolischen Hormone sind Wachstumshormon (*GH*), Glukokortikoide, Thyroid-Hormon (*TH*) und Insulin (Neville et al. 2002). GH beeinflusst die Entwicklung der Zitzenkanäle, Glukokortikoide und TH sind für die Milchsekretion notwendig. Die metabolischen Hormone haben einen direkten Einfluss auf die Entwicklung der Milchdrüse und regeln die Milchsynthese.

Die Milchdrüse an sich ist ein endokrines System und sezerniert GH, *parathyroid hormone-related protein* (*PTHrP*), Leptin (*LEP*) und PRL. Diese Milchdrüsenhormone haben ebenfalls parakrine oder autokrine Funktionen während der frühen Entwicklung der Milchdrüse (Neville et al. 2002). So hat beispielsweise PRL, das nicht aus der Hypophyse sezerniert wird, einen autokrinen Effekt über den PRL-Rezeptor (*PRLR*) und beeinflusst die Tumorbildung in der Brust (Vonderhaar 1999).

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die reproduktiven Hormone,

Tabelle 3 über die metabolischen Hormone mit ihren Eigenschaften (Spalte eins bis drei) und ihren Aufgaben während der verschiedenen Abschnitte der Milchdrüsenentwicklung (Spalte vier bis sieben).

Tabelle 2: Überblick über die in die Zitzenentwicklung eingebundenen reproduktiven Hormone* (modifiziert nach Neville et al. 2002)

Hormon				Funktion der Hormone während der verschiedenen Abschnitten der Zitzenentwicklung					
Hormon		Synthese-ort	Rezeptor	[1] Drüsen Morphogen.	[1] Alveolar Morphogenese Proliferation	LaktogeneseI	LaktogeneseII	[2] Laktation	[3] Involution
Prolaktin	PRL	Hypoph. Zitze	PRLR		notwendig	direkt	notwendig	abh. von Spezies	
Plazentales Laktogen	PL	Plazenta	GHR, PRLR		notwendig				
Progesteron	P	Corpus luteum	PR		notwendig	notwendig	notwendig	Rückgang	
Östrogen	E	Corpus luteum	ER	notwendig	direkt	direkt	direkt Rückgang ?	Unter-drückung?	
Oxytocin	OXT	Hypoph.	OXTR					notwendig	

[1] Stimulus durch den reproduktiver Status [2] Stimulus durch Besaugen [3] Stimulus durch Besaugen fehlt

* Die reproduktiven Hormone LH und FSH sind nicht einbezogen, da sie keine direkte Aufgabe in der Zitze haben.

Tabelle 3: Überblick über die in die Zitzenentwicklung eingebundenen metabolischen Hormone (modifiziert nach Neville et al. 2002)

Hormon			Funktion der Hormone während der verschiedenen Abschnitten der Zitzenentwicklung					
Hormon	Synthese-ort	Rezeptor.	[1]Drüsen Morphogen	[1] Alveolar Morphogenese Proliferation	LaktogeneseI	LaktogeneseII	[2]Laktation	[3] Involution
Wachstums -hormon GH	Hypoph. Zitze	GHR	notwendig	wahscheinlich in allen drei Phasen direkt			direkter/ metabol. Effekt	
Glukokor-tikoid	Neben-niere		direkt ?	direkt ?	notwendig	notwendig/ metabol. Effekt	notwend./ metabol. Effekt	
Thyroid-hormon TH			direkt ?	direkt	wahrscheinl. direkt	direkt ?		
Insulin INL	Pankreas	IR	direkt ?	direkt ?	direkt ?	metabol. Effekt	metabol. Effekt	

[1] Stimulus durch den reproduktiver Status [2] Stimulus durch Besaugen [3] Stimulus durch Besaugen fehlt

2.1.3.1 Reproduktive Hormone

Das wichtigste Hormon für die Entwicklung der Milchdrüse vieler Spezies ist das PRL. Es fördert die Proliferation und die funktionelle Differenzierung der lobulo-alveolaren Strukturen der Milchdrüse während der Trächtigkeit (Topper und Freeman 1980). Seine Bedeutung ist jedoch speziesabhängig.

Bei Nagetieren, Primaten, Ziege, Kuh und Reh kann PL die Ausbildung der Milchdrüse beim Fehlen von PRL fördern (Forsyth 1986, Sakal et al. 1998, Wallis 1971). Ander Spezies, unter anderem das Schwein, bilden kein PL (Gürtler und Schweigert 2005). Ab der Mitte der Trächtigkeit ist PRL für die Zitzendifferenzierung, die die Voraussetzung für die Laktation ist, von Bedeutung. Verschiedene Untersuchungen zeigen ebenfalls die Notwendigkeit von PRL für die bereits etablierte Laktation. Bei Mutterschafen wurde zum Beispiel die Plasmakonzentration von PRL durch eine Injektion von Bromokriptin stark reduziert. Dies führte zu einer Verringerung der Milchmenge (Hooley et al. 1978). Ein Anstieg der PRL-Konzentration bei der Geburt scheint jedoch für den Beginn der Laktation nicht notwendig zu sein (Forsyth und Turvey 1984).

PRL wird prädominant in den auf die Milchdrüse wirkenden (*laktotrophen*) Zellen der Hirnanhangsdrüse von Wirbeltieren synthetisiert und bindet an den PRLR. Dieser gehört zu der Cytokinsuperfamilie, die verschiedene Zelleffekte wie zelluläre Proliferation, Differenzierung und Bildung der Immunantwort vermittelt. Viele dieser Cytokine aktivieren die rezeptorassoziierte Janus Kinase (Liu et al. 1997). Die Anbindung von PRL an PRLR führt zu einer Dimerisation des Rezeptors und aktiviert die *JAK/STAT (janus kinase/signal transducter and activator of transcription)* und die *PKB/AKT* (*protein kinase B/v-akt murine thymoma viral oncogene homolog V*) Signalisierung. Während der Zitzenentwicklung aktiviert dieser Signalweg die alveolare Proliferation und Differenzierung, die Transkription von milchspezifischen Proteinen und unterdrückt die Zitzenrückbildung (Bole-Feysot et al. 1998, Hennighausen et al. 1997) .

Wie bereits oben angeführt, kann die Entwicklung der Milchdrüse bei einigen Spezies auch durch PL anstelle von PRL gefördert werden. PL konnte bei verschiedenen Spezies wie Nagern, Primaten und Paarhufern nachgewiesen werden, wo es mit unterschiedlicher Effizienz an die PRLR und die hepatischen GH-Rezeptoren (*GHR*) ankoppeln kann (Forsyth 1986). Bei Nagern und Wiederkäuern hat sich PL aus dem

PRL-Gen entwickelt und koppelt effizienter an den PRLR an, während es sich bei Primaten aus dem GH-Gen entwickelt hat (Forsyth 1994). Die Konzentration von PL ist von dem plazentalen Gewebe und somit von der Anzahl der Föten abhängig (Martinet und Houdebine 1999, Schoknecht et al. 1991, Taylor et al. 1980). Bei diesen Spezies führt es zu einer direkten Abhängigkeit zwischen Milchdrüsenentwicklung und Anzahl an Nachkommen und ist erst ab der Mitte der Trächtigkeit bis zur Geburt in hohen Konzentrationen vorhanden. Die Plazenta als Quelle der PRL-ähnlichen Bioaktivität ist auch luteotrophisch, sie fördert die Progesteronproduktion durch den Gelbkörper. Ihr mammotropher Effekt bewirkt die Fortführung der Milchdrüsenentwicklung (Forsyth 1994).

Progesteron (*P*) spielt als pleiotropher Koordinator von reproduktiven Ereignissen eine Rolle (Hennighausen und Robinson 1998). Die physiologischen Effekte von P werden durch seinen Rezeptor (PR) vermittelt. Weibliche Mäuse mit einer Mutation des PR zeigten signifikante Defekte aller reproduktiven Gewebe, unter anderem auch eine eingeschränkte Entwicklung der Milchdrüsen (Lydon et al. 1995). P unterdrückt die Milchsekretion während der Proliferation und beeinflusst somit die Zitzenentwicklung (Neville et al. 2002). Bei der Bildung der Zitzenkanäle kann jedoch auch Östradiol das endogene P ersetzen (Freeman und Topper 1978). Die PR findet man in den Epithelzellen, ihre Anzahl wird durch Östrogene erhöht (Martinet und Houdebine 1999). Die Konzentration von Progesteron ist in der Zitze zu Beginn der Laktation minimal, die PR sind in der Zitze während der Laktation nicht detektierbar (Neville et al. 2002). Die Reduzierung von P-Synthese und -sekretion ist das Hauptsignal für die Induktion der Milchsekretion (Martinet und Houdebine 1999).

Östrogene sind Steroidhormone, Östradiol (*E2*) ist ein wichtiges natürliches Folikelhormon. Die ER sind im Stroma und Epithel vorhanden (Daniel et al. 1987). E2 reduziert beispielsweise die Anzahl der PRLR in der Zitze der Ratte und erhöht die PRLR in der Zitze der Maus. Diese unterschiedliche Wirkung auf die Rezeptoren ist wahrscheinlich von der Menge an Östradiol abhängig (nach Topper und Freeman 1980). Die epithelialen ER sind für die Östradiol-induzierte Proliferation des Zitzenepithels weder notwendig noch ausreichend (Cunha et al. 1997). Östrogen agiert im Hinblick auf die Mammogenese direkt und nicht in erster Linie über die Stimulation von Mammogenen der Hypophyse (Silberstein et al. 1994). Die Konzentration des ER steigt

während der Trächtigkeit stark an und sinkt bei der Geburt rapide ab, somit charakterisieren die Östrogene die Trächtigkeit. Die Erhöhung der Sekretion verläuft beispielsweise bei Schafen parallel zum Anstieg des Milchdrüsenwachstums (Martinet und Houdebine 1999). Bei der Entwicklung der Milchdrüsenzellen kann das Fettgewebe die Stelle für die Aktivierung der Reaktion von Östrogen in der Zitze sein (Shyamala und Ferenczy 1984). Östrogene und P sind für die normale Entwicklung der Milchdrüse und für die Bildung von Tumoren von zentraler Bedeutung. Die Rolle dieser Hormone ist insofern paradox, da die zu lange Einwirkungszeit dieser Hormone krebsfördernd wirkt, während die ideale Sekretion während der Schwangerschaft das Risiko für die Entstehung von Brustkrebs senkt (Medina 2005).

Das Hypophysenhormon OXT hat für die Milchejektion eine besondere Bedeutung. Diese wird durch eine Kontraktion der Myoepithelzellen ausgelöst, die als Korbzellen um die Alveoli liegen. Durch einen Berührungsreiz im Bereich der Zitzen werden Nervenreize ausgelöst, die über das Rückenmark zum Gehirn gelangen. Dieser Reiz löst Impulse im Hypothalamus aus, dessen Axone in den Hypophysenvorderlappen münden, was zu einer OXT-Ausschüttung führt (Crowley und Armstrong 1992). Dabei gelangt das freigegebene OXT über das Blut in die Milchdrüse, interagiert mit einem spezifischen Rezeptor der Myoepithelzellen und initiiert eine Kontraktion der Myoepithelzellen, wodurch Milch aus den Alveoli in die Kanäle, den subalveolaren Sinus und das Euter gelangt. Diese durch OXT ausgelöste Milchejektion ist für eine funktionierende Laktation notwendig. Mutationen im OXT-Gen oder im Gen des OXT-Rezeptors (OXTR) haben beispielsweise bei weiblichen Mäusen keine Auswirkungen auf die normale Milchproduktion, jedoch auf die Milchejektion. Die Milchejektion aus den Milchdrüsen findet nicht statt, die Nachkommen können diese nicht besaugen (Nishimori et al. 1996, Young et al. 1996).

2.1.3.2 Metabolische Hormone

Neben der Gruppe der reproduktiven Hormone, deren hauptsächliche biologische Aufgabe die Koordination des reproduktiven Status der Mutter und der Nachkommen ist, sind auch die metabolischen Hormone in die Zitzenentwicklung eingebunden. Sie koordinieren die Entwicklungsprozesse mit dem Stoffwechsel. Die wichtigsten Hormone in dieser Gruppe sind GH, Glukokortikoide, TH und INL.

Das GH (oder *Somatotropin*) koordiniert die Morphogenese der Zitzenkanäle. Die Anbindung von GH an die stromalen Zellen induziert die Sekretion des *insulin-like growth factor* (*IGF1*). Dieser wirkt als parakriner Faktor auf das Epithel (Hovey et al. 2002). Die GH-Sekretion durch das Zitzenepithel wird bei verschiedenen Spezies (zum Beispiel beim Menschen) durch P stimuliert (Gregoraszczuk et al. 2001). Insbesondere bei Schafen wurde festgestellt, dass IGF1 ein Vermittler der somatotropen Hormone GH oder PL ist, die die Mammogenese und/oder die Laktogenese kontrollieren (Kann et al. 1999). Das GH ist bei vielen Spezies laktogen. Voraussetzung dafür ist, dass der GH-Rezeptor (*GHR*) in den Epithelzellen der Zitzen vorhanden ist.

In der Zitze wurde eine mRNA des GH-Gens identifiziert, die mit dem in der Hirnanhangsdrüse identisch ist. Es konnte ebenfalls nachgewiesen werden, dass das Gen in beiden Geweben einen identischen Promotor hat. Bei Hund, Katze und Mensch konnte für dieses GH endokrine, para-/autokrine sowie exokrine Effekte nachgewiesen werden (Mol et al. 2000). Durch die direkte Wirkung von GH auf die Milchdrüse wird die Synthese und die Sekretion von energiereicher Milch mit einem hohen Fettgehalt während der Laktation aufrecht gehalten (Flint und Gardner 1994). Da GH die Milchmenge erhöht, kann bovines GH, auch bovines Somatotropin (*BST*) genannt, zur Verbesserung der Persistenz in späteren Laktationsabschnitten in kommerziellen Milchkuhherden angewandt werden (VanBaale et al. 2005). Die Bedeutung des GH für eine gleichbleibende Laktation wurde auch bei Ratten beobachtet. Durch den Einfluss von IGF1 wurde die GH-Sekretion bei Ratten unterdrückt, dies führte zu einem Rückgang der Milchmenge (Flint und Vernon 1998).

Die Glukokortikoide gehören zu den in der Nebennierenrinde (*NNR*) gebildeten Steroidhormonen, den Kortikoiden. Diese sind für die Zitzenentwicklung und die Laktation von Bedeutung (Wintermantel et al. 2005). Glukokortikoide sind während der Hungerphasen in den Nährstofffluss und die Erhaltung des Glukosegehalts im Blut

eingebunden, somit wirken sie indirekt auf die Laktation. Die Abhängigkeit der Entwicklung der Milchdrüsen von den Glukokortikoiden ist bei verschiedenen Spezies unterschiedlich. Bei der Maus beispielsweise sind INL, Glukokortikoid und PRL für die Induktion der Milchsynthese notwendig. Das Zitzengewebe beim Kaninchen reagiert auf PRL sensibler, Glukokortikoide können diese Wirkung kaum verstärken. Bei vielen Spezies können Glukokortikoide jedoch die Milchsynthese in vivo und in vitro stimulieren und die Wirkung von PRL amplifizieren (Martinet und Houdebine 1999).

Androgene gehören wie die Glukokortikoide zur Gruppe der Steroidhormone. Sie werden während der Entwicklung von den Hoden gebildet und verursachen eine teilweise Nekrose des Zitzenepithels bei männlichen Föten. Diese Reaktion wird durch die Parenchymzellen, das eigentliche Ziel der Androgene, vermittelt (Houdebine et al. 1985).

TH reguliert zusammen mit PRL die funktionelle Entwicklung der Milchdrüse. Verringerte Mengen des TH-Gehalts im Blutserum führen zu einem gehemmten Wachstum des Kanalsystems sowie zu einer verringerten oder einer fehlenden Alveolarentwicklung (Bhattacharjee und Vonderhaar 1984, Vonderhaar und Greco 1979). TH ist für die galaktopoietische Reaktion auf GH und PRL notwendig. In diesem Mechanismus wandelt das Thyroxin 5`-deiodinase (*5`D*) Enzym das Thyroxin (*T4*) zu Triiodothyronin um. Dieses kann in der Leber, der Niere und der Milchdrüse quantifiziert werden. 5`D wird durch die galaktopoietischen Hormone organspezifisch reguliert (Capuco et al. 1999). Bei Nagern spielt eine Änderung der 5`D Enzym Aktivität in peripheren Geweben für die physiologische Steuerung während der Aufrechterhaltung der Laktation eine wichtige Rolle. Bei Milchkühen ist der Einfluss des 5`D Enzyms ähnlich, wenn auch im Hinblick auf die Intensität der etablierten Laktation weniger wichtig (Capuco et al. 2001). Zur Steigerung und Erhaltung der Milchleistung kann bei Milchkuhherden während der Laktation das bereits oben erwähnte BST eingesetzt werden. Dies verbessert im Vergleich zu anderen peripheren Geweben die Aktivität des TH in der Milchdrüse (Capuco et al. 2001, Kahl et al. 1995). Die Aufgabe von TH in der Milchdrüse ist also eng mit den Wachstumshormonen und dem Laktogen verbunden. Niedrige Thyroidkonzentrationen in der Zitze führen zu einem verringerten Anbindungsvermögen von PRL (Bhattacharya und Vonderhaar 1979). Beispielsweise kontrollieren die Thyroidhormone die Abhängigkeit der DNA-

Synthese und des Zellzyklus von der Hormoninduktion der Laktose-Synthase-Aktivität in der Milchdrüse der Maus (Vonderhaar et al. 1986).

INL ist ein Wachstumsfaktor für Epithelzellen in der Zitze. Es ist jedoch für das duktale und das alveolare Wachstum der Zitze sowie für die Laktosesekretion in der Zitze nicht notwendig (Hove 1978, Topper und Freeman 1980). INL kann bei Anwesenheit von Kortisol und PRL die Kaseinsynthese in Zitzenexplantaten von trächtigen Mäusen stimulieren. Die Funktion von PRL wird jedoch ohne INL nicht eingeschränkt. Neben seiner Funktion als metabolischer Faktor und Wachstumsfaktor kann Insulin für die Expression verschiedener Gene, die die Zelldifferenzierung beeinflussen, verantwortlich sein (Bolander et al. 1981). Während der Trächtigkeit reagiert die Milchdrüse auf Insulin sensibler, die Aktivität der INL-Rezeptoren in den Fettzellen und den Epithelzellen ist erhöht (Carrascosa et al. 1998).

Ein weiteres metabolisches Hormon, LEP, wird in den Fettzellen produziert und ist ein wichtiges Hormon für den Fettstoffwechsel bei Säugern. In den Epithelzellen der Milchdrüsen bei Rindern konnte nur eine geringe Expression des LEP-Rezeptors festgestellt werden. LEP kann nicht durch eine direkte Wirkung auf die Epithelzellen der Zitze den Einfluss der Ernährung vermitteln. Es ist jedoch möglich, dass LEP einen Einfluss auf die Mammogenese hat, indem es die Produktion von Cytokinen aus anderen Zellpopulationen verändert (Thorn et al. 2006). Bei Tieren, die energiereich gefüttert wurden, steigt die LEP-Konzentration im Serum an. Die DNA-Synthese von Zitzenepithelzellen, den *MAC-T* Zellen, sinkt. Eine energiereiche Ernährung von Färsen unterdrückt die Zitzenentwicklung, die Ursache dafür könnte sein, dass physiologische Konzentrationen von LEP die Zitzenentwicklung in Färsen in vivo unterdrückt (Silva et al. 2002).

2.1.4 Bedeutende Störungen der Funktion der Milchdrüse

Veränderungen der Milchdrüse können durch äußere (Umwelteinflüsse) oder durch innere Faktoren (zum Beispiel unterschiedliche Genexpression) ausgelöst werden. Bei verschiedenen Spezies gibt es unterschiedliche Abnormalitäten, die Probleme verursachen.

Äußere Bedingungen wie die Aufstallungseinrichtungen können bei Tieren zu erheblichen Verletzungen führen, von kleineren Verletzungen bis zu großflächigen Verletzungen wie beispielsweise dem kompletten Abreißen des Zitzenkomplexes.

Die wahrscheinlich bekannteste Abnormalität der Milchdrüse bei Tieren ist die Mastitis, eine Euterentzündung, die von verschiedenen Mikroorganismen verursacht werden kann. In Milchviehherden scheiden 21 % der Tiere aufgrund von Eutererkrankungen, vor allem Mastitiden aus (ADR 2005).

Beim Menschen ist Brustkrebs die Veränderung der Milchdrüse, der die meiste Aufmerksamkeit zukommt. Brustkrebs ist die häufigste Krebsart bei Frauen und repräsentiert nach Lungenkrebs die zweithäufigste Todesursache aufgrund von Krebs (Dumitrescu und Cotarla 2005).

2.2 Die Milchdrüse beim Schwein

2.2.1 Besonderheiten und Einflussfaktoren

Beim Schwein befindet sich die Milchdrüse in der Brust- und Bauchregion. Man unterscheidet den Drüsenkörper mit dem Hohlraumsystem als milchbildende Strukturen sowie die Zitze mit zwei oder seltener drei Zitzenkanälen als die milchableitenden Strukturen (Günther 1984). Zu den milchbildenen Strukturen gehören die ovalen bis runden Alveolen, die aus Epithelzellen bestehen welche einer Basalmembran aufsitzen. Zwischen Epithelzellen und Basalmembran befinden sich die Myoepithelzellen, die für die Milchejektion verantwortlich sind. Jeweils eine Gruppe von Alveolarzellen wird durch einen Milchgang verbunden und ist von Bindegewebe umgeben. Die milchableitenden Strukturen bestehen aus interlobulären, intralobären und interlobären Gängen. Diese Milchkanäle beginnen innerhalb der Alveolen als intralobuläre Gänge, werden zu interlobulären Gängen, die in Sekundär- und Primärgänge übergehen, die

wiederum zum Drüsenteil der Zisterne führen. An die Zisterne schließt sich der Strichkanal an, der die Milch nach außen ableitet (Günther 1984). Fehlentwicklungen der Zitzenproliferation können somit zu nicht funktionsfähigen Euterkomplexen führen. Die Zitzenzahl ist ein stark polymorphes Merkmal. In Tabelle 4 sind die Ergebnisse der Erhebung der Zitzenzahl in verschiedenen Schweinerassen aufgeführt.

Tabelle 4: Ergebnisse verschiedener Erhebungen der durchschnittlichen Zitzenzahl (Ø) verschiedener Schweinerassen im Vergleich zueinander

Beobachtungen an den untersuchten Schweinen				
Rasse	Geschlecht	Anzahl Tiere	Ø Anzahl Zitzen je Tier	Quelle
LW	männlich	786	13,97	Clayton et al. (1981)
	weiblich	748	14,01	
BL	männlich	1.169	13,71	
	weiblich	1.147	13,77	
DL	weiblich	1.229	k.A.	Blendl et al. (1980)
Meishan	k.A.	k.A.	17,0	Haley et al. (1995)
Jiaxing	männlich	5	19,80	Fernandez et al. (2004)
Iberian	männlich, weiblich	5.713	10,24	
Jiaxing × Iberian	männlich, weiblich	98	14,54	
Iberian × Jiaxing	männlich, weiblich	2.230	12,60	

Rassenbezeichnungen: LW = Large White, BL = Britische Landrasse, DL = Deutsche Landrasse

In Untersuchungen von Sauen der Rassen Edelschwein und Britische Landrasse wurde ein signifikanter Unterschied der Zitzenzahl zwischen den Rassen festgestellt, jedoch nicht zwischen Geschlechtern. Bei dieser Untersuchung wurde ein maternaler Effekt für das Merkmal Zitzenzahl angenommen (Clayton et al. 1981).

Die intensive Schweinezucht und -produktion führt neben der Berücksichtigung der Zitzenzahl als Reproduktions- und Selektionsmerkmal auch zu einer verstärkten Überwachung der Eutergesundheit. Die Zitze beim Schwein ist vielen endogenen und exogenen Faktoren ausgesetzt. Nach der Geburt spielt die postnatale Umgebung bei der Entwicklung eines funktionsfähigen Euters eine große Rolle (Done 1980).

Reproduktionsstörungen, Puerperalerkrankungen und auch Sekretionsstörungen der Milchdrüse können große wirtschaftliche Schäden verursachen. Agalaktie, Hypogalaktie und Mastitiden, diese besonders im Zusammenhang mit dem Krankheitskomplex *MMA* (Mastitis, Metritis, Agalaktie), führen zu hohen Ferkelverlusten.

Untersuchungen ergaben einen Zusammenhang zwischen dem pH-Wert des Eutersekrets und der Erkennung von Erkrankungen des Gesäugekomplexes. Normale Sauenmilch sollte einen pH-Wert von etwa 6,4 haben. Leicht saure oder alkalische pH-Werte weisen auf eine Veränderung des Sekrets hin, wobei in den ersten Tagen nach dem Abferkeln das Sekret noch leicht sauer sein kann.

Die Zellzahl von Sauenmilch liegt bei etwa 500.000 Zellen je ml Milch (Varadin und Filipovic 1975). Trotz fehlender äußerlich sichtbarer klinischer Entzündungssyndrome können auch bakteriologische Auffälligkeiten des Drüsensekrets beobachtet werden (Tabelle 5).

Tabelle 5: Bakteriologische Befunde von 175 untersuchten Milchproben beim Schwein (aus Varadin und Filipovic 1975)

Befunde	Anzahl untersuchter Milchproben	%
negativ	23	15,1
hämolysierende Streptokokken	47	30,9
nicht-hämolysierende Streptokokken	22	14,5
hämolysierende Staphylokokken	6	3,9
nicht-hämolysierende Staphylokokken	9	5,9
Escherichia coli	11	7,2
Gram$^+$ Bakterien	7	4,6
Gram$^-$ Bakterien	10	6,6
Mischinfektionen	9	5,9
Pseudomonas aeruginosa	1	0,6
Diplokokken	7	4,6

Die klinische Untersuchung der Milchdrüse der Sau und ihres Sekrets sollte also auch bei der Selektion von Zuchtsauen berücksichtigt werden. Eine Veränderung des Sekrets der Sau kann verschiedene Ursachen und Auswirkungen haben.
Eine weitere Ursache von Gesäugeproblemen bei Sauen können Verletzungen durch die Ferkel beim Saugen während der Laktation sein.

2.2.2 Zitzenanomalien beim Schwein

Für die Zuchtleistung der Sau spielt nicht ausschließlich die Anzahl der Zitzen, sondern auch die Anzahl der funktionsfähigen Zitzen eine Rolle, da Sauen in der Praxis nur selten mehr Ferkel aufziehen können als sie funktionsfähige Zitzen besitzen (Hamori 1962, Matzke 1980, Steffens 1993). Eine geringere Anzahl funktionsfähiger Gesäugekomplexe im Vergleich zur Wurfgröße zum Zeitpunkt des Abferkelns bedeutet daher einen Mangel an Zitzen, die während der Laktation besaugt werden können.
Beim Verkauf von Jungsauen wird ein Gesäuge mit mindestens dreizehn funktionsfähigen Zitzen erwartet (Mayer 1994). Die Selektionsquote von Jungsauen

hängt zudem stark von der Gesäugequalität ab und schränkt die Möglichkeit der Selektion auf andere reproduktive und produktive Merkmale ein.

Beim Schwein sind verschiedene erbliche und angeborene Störungen des Gesäuges bekannt. Als Ursachen werden unter anderem Hormonstörungen während der Milchdrüsenentwicklung, beispielsweise durch fehlende Rezeptoren der Sexualhormone, vermutet (Steffens 1993). Neben der Stülpzitze zählen zu diesen Gesäugeanomalien eine zu geringe Zitzenzahl, Blindzitzen, rudimentäre Zitzen, Afterzitzen, Zwischenzitzen, versprengte Zitzen und Beizitzen. Grundsätzlich sind sich viele dieser Abnormalitäten ähnlich, die Fehler in der Entwicklung sind vermutlich in unterschiedlichen Stadien der Zitzenproliferation im Fötus entstanden. Bei Blindzitzen fehlt der natürliche Schließmuskel, die Gesäugekomplexe sind nicht ausgebildet und besitzen keinen Milchkanal (Blendl et al. 1980). Ähnlich werden auch rudimentäre Zitzen als kleine, unvollständig entwickelte Zitzen mit wenig oder ohne Zitzengewebe beschrieben (Done 1980). Sie sind häufig asymmetrisch angelegt. Rudimentäre Zitzen am Ende des Gesäuges werden auch Afterzitzen genannt. Dabei handelt es sich um warzenartige Gebilde, die in verschiedenen Schweinepopulationen gehäuft auftreten (Brevern et al. 1994, Plonait und Bickhardt 1988). Im Gegensatz zu diesen Komplexen mit unzureichender Drüsenentwicklung werden Zwischenzitzen als vollständig entwickelte, jedoch verkleinerte Zitzen beschrieben, die asymmetrisch in der Zitzenleiste angeordnet sind. Ähnlich sind versprengte Zitzen mit ungleichen Abständen und häufig kaudal angeordnet, sie können somit von den Ferkeln meist nicht besaugt werden (Blendl et al. 1980, Done 1980). Beizitzen sind ebenfalls asymmetrisch angeordnet, sie liegen unmittelbar neben einer funktionsfähigen Zitze und verhindern somit das Besaugen der Hauptzitze (Blendl et al. 1980, Plonait und Bickhardt 1988). Der bedeutendste Defekt der Zitze ist die Stülpzitze, die in Kapitel 2.2.3 näher beschrieben wird.

Neben Zitzenmängeln aufgrund genetischer Fehlentwicklungen spielen durch exogene Faktoren ausgelöste Anomalien, wie Technopathien, eine Rolle. Nekrosen werden meist in den ersten Lebenstagen der Ferkel durch Umweltfaktoren, beispielsweise schlechte Liegeflächen, verursacht. Betroffene Zitzen können nicht besaugt werden. Zitzenverletzungen können bei der Sau ebenfalls durch problematische Liegeflächen entstehen. Auch verschlossene Zitzen und infantile Zitzen sind exogen ausgelöste

Zitzenanomalien. Verschlossene Zitzen entstehen nach der abgeschlossenen Entwicklung des Fötus. Meist führt eine Entzündung, ausgelöst durch direkte oder indirekte Verletzungen, zum vollständigen oder teilweisen Verschluss des Zitzenkanals. Diese Zitzen sind häufig eingestülpt oder abgeplattet und besitzen eine fibröse Achse (Done 1980). Bei infantilen Zitzen handelt es sich um Mammarkomplexe mit ausgebliebener morphologischer Entwicklung. Da die Anomalie hormonell induziert ist, sind alle Zitzen des Gesäuges einer Sau betroffen. Es besteht bei dieser Fehlentwicklung der Verdacht, dass eine Mutterkornvergiftung die Ursache ist (Done 1980, Plonait und Bickhardt 1988).

2.2.3 Stülpzitze beim Schwein

Die Stülpzitze ist der häufigste und wichtigste Defekt der Milchdrüse (Blendl et al. 1980, Brevern et al. 1994). Sie entsteht durch eine Hypoplasie des bindegewebeartigen Zitzenkörpers und der Zisterne (Plonait und Bickhardt 1988). Der Erbfehler hat erheblich negative Auswirkungen auf die Schweineproduktion, zudem kann er beim lebenden Tier erst spät erkannt werden (Oltmanns 2003).

In verschiedenen kommerziellen Schweinepopulationen findet man den Stülpzitzendefekt mit Frequenzen zwischen 3 und 30 % (Tabelle 6).

Der Vererbungsmodus und die Anzahl der Gene, die an der Fehlentwicklung des Zitzenkomplexes beteiligt sind, ist noch unbekannt, daher werden verschiedene Methoden zur Detektion der Ursachen des Defektes angewandt. Untersuchungen zeigen, dass die Selektion betroffener Tiere aus der Zucht die Defektfrequenzen in Populationen verringern kann, die Anzahl funktionsfähiger Zitzen je Sau wird damit erhöht.

Tabelle 6: Beobachtungen des Anteils betroffener Tiere und der durchschnittlichen Stülpzitzenzahl (SZ) in Untersuchungen innerhalb verschiedener Schweinepopulationen (modifiziert nach Hittel 1984)

Rasse	Anzahl beob. Tiere	Anteil betroffener Tiere	Ø SZ / betroffenes Tier	Quelle
kommerzielle Rassen	9.700	16,7 %	4,63	Hittel (1984)
DL	1.229	30,4 %	-	Blendl et al. (1980)
BHZP	1.972	16,13 %	3,7	Mayer und Pichner (1995)
DL	19.964	6,96 %	2,41	Mayer und Pichner (1995)
kommerzielle Rassen	200 200 200	20 % (Kastrate) 17 % (Eber) 6 % (Sauen)	3,65 2,7 1,2	Große Beilage et al. (1996)
LW	1.500	17,5 %	4,01	Clayton et al. (1981)
SL	392	3,2 %	-	Varadin und Filipovic (1975)

Rassenbezeichnungen: BHZP = Bundeshybridzuchtprogramm, SL = Schwedische Landrasse

In Tabelle 7 sind die Ergebnisse der durchschnittlichen Stülpzitzenzahl bei Jungsauen, die in verschiedenen Untersuchungen ermittelt wurden, aufgeführt. Diese Ergebnisse machen deutlich, dass das Auftreten dieses Gesäugedefekts zu einer zum Teil erheblichen Verringerung der Anzahl funktionsfähiger Zitzen führen kann. Trotz intensiver Selektionsmaßnahmen werden dennoch viele betroffene Tiere in kommerziellen Populationen gefunden (Blendl et al. 1980). Jungeber und Jungsauen, die Merkmalsträger von Zitzendefekten sind, müssen konsequent aus der Zucht

ausgeschlossen werden. Denn neben zu niedrigen Zunahmen und Fundamentproblemen sind Stülpzitzen die häufigste Ausfallursache (Niggemeyer 1993).

Tabelle 7: Untersuchungen der durchschnittlichen Anzahl betroffener Zitzen in den Kategorien 0 (keine) bis 4 Stülpzitzen mit der Gesamtanzahl untersuchter Tiere (modifiziert nach Hittel 1984)

Quelle	Anzahl Tiere	Anteil Jungsauen in % in den Kategorien 0 bis 4 Stülpzitzen				
		0	1	2	3	4
Blendl et al. (1980)	1.229	69,6	17,7	6,5	6,2	
Varadin und Filipovic (1975)	392	81,4	4,6	5,9	4,8	3,3
Clayton et al. (1981)	1.500	82,5	4,3	3,0	2,3	2,1
Hittel (1984)	9.700	83,3		10,2		

Die Lage der Stülpzitzen im Gesäugekomplex ist nicht zufällig verteilt. Die meisten Stülpzitzen befindet sich um den Nabel und/oder den unmittelbaren Nachbarregionen (Clayton et al. 1981, Große Beilage et al. 1996, Hittel 1984, Steffens 1993). In anderen Studien ist die häufigste Lage der eingezogenen Zitzen das kaudale Ende (Varadin und Filipovic 1975). Zitzendefekte im kranialen Bereich werden seltener als Stülpzitze beschrieben, sie werden meist durch eine Nekrose verursacht.

2.2.3.1 Anatomie und Morphologie der Stülpzitze

Stülpzitzen entstehen aufgrund einer ungenügenden Proliferation des Alveolargewebes an der Zitzenbasis (Mayer 1994). Der Zitzenkörper, insbesondere die Zitzenkuppe, fehlt oder ist unvollständig entwickelt. Diese erblich bedingte Inversion der Zitzenkuppe führt in der Laktation zu einem erschwerten Milchabfluss (Steffens 1993, Wiesner und Willer 1977).

Der Phänotyp Stülpzitze ist ein Merkmal mit verschiedenen Ausprägungsintensitäten (Tabelle 8 und Tabelle 9). Einige betroffene Zitzen entwickeln sich während der Laktation zu funktionsfähigen Zitzen. Dies ist möglich, da bei allen Stülpzitzen das Milchdrüsengewebe vorhanden und entwickelt ist. Durch einen Zuwachs an

Kuppengewebe mit einer Abflachung des Kraters kann bei einer weniger ausgeprägten Einstülpung eine funktionsfähige Zitze entstehen (Große Beilage et al. 1996).

Tabelle 8: Verschiedene Intensitäten gemessen in Noten zwischen 1 und 6 der Ausprägung von Zitzenanomalien mit dem Anteil betroffener Jungsauen und der Reversibilität des Defektes (aus Blendl et al. 1980)

Note	Grad der Ausprägung der Stülpzitze	Beschreibung der Morphologie der Zitze	betroffene Jungsauen	rever-sibel
1	mittlere Ausprägung	Zitzenkuppe mehr oder weniger nach innen eingedellt	42,6 %	80 %
2	stärkere Ausprägung	Zitze ist bei seitlicher Betrachtung nicht sichtbar	37,0 %	10 %
3	extreme Ausprägung	Zitze bildet im Gesäugekomplex eine kraterförmige Vertiefung	20,4 %	0 %
4	Blindzitze	kein Milchkanal vorhanden	6,6 %	0 %
5	Zwischenzitze	-	12,9 %	0 %
6	Afterzitze	-	0,002 %	0 %
7	Beizitze	-	k.A.	0 %

Tabelle 9: Histologische Merkmale normaler, unvollständig eingestülpter und vollständig eingestülpter Zitzen (aus Günther 1984)

Teil der Zitze	normale Zitze	geringgradig- oder unvollständig eingestülpte Zitze	vollständig eingestülpte Zitze
Zitzenkörper	deutlich ausgebildet	unvollständig oder undeutlich ausgebildet	nicht ausgebildet
Zitzenkuppe	angeschrägt, nach lateral abfallend, zentrale seichte Einsenkung der Epidermis	nicht deutlich ausgebildet, U- oder V-förmige Einsenkung der Epidermis	nicht ausgebildet, anstelle Zitzenkuppe U- oder V- förmiger Krater
Strichkanäle	münden seitlich der tiefsten Stelle der flachen Epidermiseinsenkung	münden seitlich der tiefsten Stelle der Epidermiseinsenkung	münden seitlich der tiefsten Stelle des Kraters
Zitzenzisterne	Länge abhängig von Höhe des Zitzenkörpers	Länge abhängig von Höhe des Zitzenkörpers	nicht ausgebildet
Drüsenzisterne	weites Lumen, Wände in hohe Falte gelegt	weites Lumen, Wände in hohe Falten gelegt	weites Lumen, Wände in hohe Falten gelegt
Fettgewebe	Fettgewebe schiebt sich nicht in den Zitzenkörper vor	Fettgewebe schiebt sich in den unvollständigen oder undeutlich ausgebildeten Zitzenkörper vor	Fettgewebe schiebt sich zwischen Bindegewebe und bindegewebeartigen Mantel vor

Bei der Selektion betroffener Tiere sollte daher auch der Grad der Ausprägung berücksichtigt werden.

Bei der Stülpzitze handelt es sich trotz der Bezeichnungen Stülpzitze, Kraterzitze oder eingestülpte Zitze nicht um eine Einstülpung im eigentlichen Sinne. Während normal entwickelte Zitzen einen deutlich ausgebildeten Zitzenkörper haben, fehlt dieser bei der Stülpzitze, wie in Abbildung 6 im Vergleich dargestellt. Die Zitzenkuppe der normal ausgebildeten Zitze ist angeschrägt, nach lateral abfallend und weist eine zentrale leichte Einsenkung auf, wobei der fehlerhafte Zitzenkomplex einen U- oder V-förmigen Krater besitzt. Die Strichkanäle der Stülpzitze münden im Gegensatz zu denen einer normalen Zitze nicht in die Zisterne des Zitzenkörpers, sondern mit leichter Biegung in die Kratermitte. Die fehlenden Zisternen bei den defekten Zitzenkomplexen sollten ein weites Lumen aufweisen, bei dem die Wände in hohe Falten gelegt sind (Günther 1984).

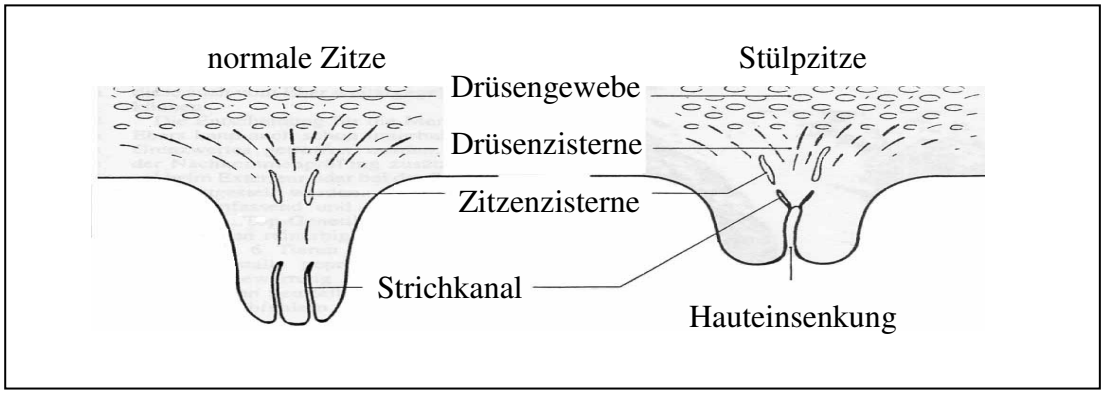

Abbildung 6: Schema einer normalen Zitze (links) und einer Stülpzitze (rechts) (nach Steffens 1993)

Die Stülpzitze wird weiter unterschieden in aplastische und hypoplastische Zitze. Bei einem aplastischen Zitzenkörper fehlt die Zitzenzisterne, das subkutane Fettgewebe liegt direkt dem Korium an und die Epidermis ist kraterförmig eingesenkt (Große Beilage et al. 1996). Bei der hypoplastischen Zitze hingegen ist die Zisterne unvollständig ausgebildet, an Drüsenzisternen und Milchgängen gibt es keine sichtbaren Veränderungen. Die Strichkanäle enden an der tiefsten Stelle des Kraters, dadurch können sich solche Zitzenkörper noch verändern (Große Beilage et al. 1996).

2.2.3.2 Heritabilität

Die Heritabilität (h^2) ist aus züchterischer Sicht der wichtigste Populationsparameter. Sie gibt an, um wie viele Einheiten sich der genotypische Wert durchschnittlich ändert, wenn sich der phänotypische Wert um eine Einheit ändert (Schüler et al. 2001). Die Heritabilitäten für das Merkmal Stülpzitze unterscheiden sich je nach gewähltem Modell. Sie liegen zwischen 0,03 und 0,5 (Brevern et al. 1994, Clayton et al. 1981, Hittel 1984). Da in den meisten Publikationen, abhängig vom gewählten Modell, h^2 unter 0,5 liegt, lassen sich phänotypische Abweichungen nicht ausschließlich über genotypische Unterschiede erklären. Eine Reihe von weiteren Faktoren, wie beispielsweise die zufällige Wurfumwelt (c^2), die auf die Zitze wirken, beeinflussen wahrscheinlich die Entstehung der Stülpzitze (Brevern et al. 1994). Die geschätzten Heritabilitäten unter der Annahme von Wurfumwelt-Effekten und ohne diese sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10: Geschätze Heritabilitäten und Wurfumwelt-Effekte für verschiedene Zitzenmerkmale, einschließlich der Standardfehler in Klammern (aus Brevern et al. 1994)

Merkmal	Modell ohne c^2	Modell mit c^2	
	h^2	h^2	c^2
Anzahl funktionsfähiger Zitzen	0,286 (0,010)	0,117 (0,013)	0,071 (0,007)
Anzahl Stülpzitzen	0,256 (0,001)	0,083 (0,012)	0,073 (0,004)
Anzahl abgescheuerter Zitzen	0,150 (0,001)	0,007 (0,002)	0,076 (0,003)
Anzahl Zwischenzitzen	0,006 (0,003)	0,002 (0,001)	0,019 (0,003)
Anzahl Zitzen insgesamt	0,263 (0,001)	0,140 (0,014)	0,051 (0,005)
Anzahl Zitzenanomalien insgesamt	0,242 (0,001)	0,069 (0,011)	0,074 (0,004)

Neben Heritabilitäten spielen Korrelationen für die Charakterisierung von Merkmalen eine Rolle, sie beschreiben die Beziehung verschiedener Merkmale zueinander. Korrelierte Merkmale können beispielsweise als Parameter zur Frühselektion bei später Erkennung des Phänotyps verwendet werden (Schüler et al. 2001).

Die genetische Korrelation der Stülpzitze zur Zitzenzahl liegt zwischen -0,18 und -0,13 (Brevern et al. 1994, Hittel 1984). Zwischen der Anzahl der Zitzen und der Ausprägung der Stülpzitze scheint nur eine geringe Abhängigkeit zu bestehen, während die Anzahl funktionsfähiger Zitzen und das Merkmal Stülpzitze negativ korreliert sind (Brevern et al. 1994).

Tabelle 11: Phänotypische (A), genetische (B) und Wurfumwelt-Korrelationen (C) der Anzahl der funktionsfähigen Zitzen sowie der Zitzenzahl insgesamt zu der Stülpzitzenzahl sowie der Anzahl der Zitzenanomalien insgesamt (aus Brevern et al. 1994)

Merkmale	Stülpzitzenzahl			Anzahl Zitzenanomalien insgesamt		
Korrelationen	A	B	C	A	B	C
Anzahl funktionsfähiger Zitzen	-0,648	-0,782	-0,680			
Zitzenzahl insgesamt	0,011	-0,175	-0,008	0,087	-0,134	-0,025

2.2.3.3 Ursachen für die Entstehung der Stülpzitze

Für den Erbfehler Stülpzitze werden verschiedene Ursachen suggeriert. Grundsätzlich kann man Stülpzitzen in zwei Gruppen einteilen. Die erblich bedingten, angeborenen Stülpzitzen weisen eine Missbildung der Zitzenkanäle auf und liegen in der Regel in der Nabelregion (Done 1980). Daneben wird noch die zufällig entstandene postpartal eingestülpte Zitze beschrieben, die als Reaktion auf eine Zitzenverletzung, besonders der Zitzenkanäle, entstanden ist. Die zweite Form der Stülpzitze wird von den meisten anderen Autoren nicht als solche beschrieben. Entzündungen und mechanische Einwirkungen werden meist als Ursache für die Entstehung der Stülpzitze, ebenso wie ein Zusammenhang mit der Nekrose, ausgeschlossen (Große Beilage et al. 1996). Aplasie und Hypoplasie beschreiben eher das klinische Erscheinungsbild der Stülpzitze. Wahrscheinlich ist eine erbliche Genese vorhanden. Die unterschiedliche Anzahl und die Ausprägung der Stülpzitze lassen die Beteiligung mehrere Gene, also einen polygenen Erbgang, vermuten (Große Beilage et al. 1996, Matzke 1980, Mayer 1994).

Ein saisonaler Unterschied und ein betriebsspezifischer Verlauf konnten festgestellt werden (Brevern et al. 1994, Hittel 1984).
Bei der Stülpzitze fehlt der Zitzenkörper, die Zitzenkuppe ist unvollständig oder fehlt, die Proliferation des Alveolargewebes an der Zitzenbasis ist ungenügend. Die Hemmung der Mesenchymproliferation entsteht wahrscheinlich im Fötus (Günther 1984). Beim Menschen ist eine ähnliche Anomalie mit familiärer Anhäufung bekannt (Plonait und Bickhardt 1988).
Der Erbgang der Vererbung der Stülpzitze ist noch unbekannt, wahrscheinlich unterliegt die Stülpzitze keinem autosomal rezessivem Erbgang, sondern ist ein quantitatives multifaktorielles Schwellenmerkmal (Brevern et al. 1994).

2.2.4 Kandidatengene

2.2.4.1 Prolaktin

Das Proteohormon PRL ist in viele physiologische Prozesse eingebunden und ist ein wichtiger Faktor für die Entwicklung der Milchdrüse und der Laktation (Bole-Feysot et al. 1998). Für die Entwicklung der Zitze sind das PRL-Gen und das Gen des PRLR von Bedeutung, beide sind Kandidatengene für die Entwicklung des Zitzendefekts Stülpzitze beim Schwein. Bei Mäusen konnte die Expression des PRL-Gens in der Zitze und der Milchdrüse während der Trächtigkeit und Laktation nachgewiesen werden (Koizumi et al. 2003). Beim Menschen wurde festgestellt, dass der Rezeptor für PRL im Fettgewebe der Brust exprimiert ist. Die PRL-Aktivität über den Rezeptor ist für die Regulation des Fettgewebestoffwechsels während der Laktation essentiell (Ling et al. 2003). Milchdrüsen von PRL-knock-out Mäusen entwickeln normale Kanalverzweigungen, diese bilden jedoch im Gegensatz zu dem Wildtyp keine lobulären Strukturen. PRL ist also für die weibliche Reproduktion und die post-pubertale Entwicklung der Milchdrüse notwendig (Horseman et al. 1997). Untersuchungen bei Milchkühen haben eine Assoziation von PRL mit der Milchmenge und dem Fettgehalt der Milch ergeben. Mutationen des PRL-Gens sind im Zusammenhang mit der Milchleistung von Bedeutung (Feuermann et al. 2004).

Das PRL-Gen liegt beim Menschen in der Region 6p22.2-p21.3 (Cooke et al. 1981) und kodiert für 227 Aminosäuren (Cooke et al. 1981). Beim Schwein wurde das PRL-Gen auf Chromosom 7p1.1-p1.2 kartiert, es kodiert 841 Basenpaare und transkribiert für 229 Aminosäuren (Schulz-Aellen et al. 1989, Vincent et al. 1998).
Die Expression des PRLR-Gens steigt während dem späten Stadium der Trächtigkeit an und ist in Zitzen die nicht besaugt werden niedriger. Dies könnte ein Schlüsselfaktor für die Zellerneuerung und eventuell auch für die Produktivität der Milchdrüse während der Trockenstehphase und dem erneuten Beginn der Laktation sein (Theil et al. 2005). Einen Zusammenhang zwischen der Expression beider Gene (PRLR, PRL) und der Milchmenge konnte bei Kühen festgestellt werden (Auchtung et al. 2005).
Beim Schwein kodiert das Gen des PRLR für 625 Aminosäuren und wurde von Vincent et al. (1998) auf Chromosom 16 kartiert.

2.2.4.2 Hypophysen-spezifischer Transkriptionsfaktor

Der *pituitary-specific transcription factor* (*PIT1*) gehört zur Familie der Gene mit einer POU-Region. Zu dieser Familie gehören Transkriptionsfaktoren mit einer hoch konservierten POU-spezifischen (POUS) Region und einer divergenten Homeo-POU Region (*POUHD*) (Pfaffle et al. 1992).
PIT1 ist in der Hypophyse von vielen Säugern ein zellspezifischer Aktivator der Gentranskription des GH und des PRL (Ingraham et al. 1990, Mangalam et al. 1989, Pfaffle et al. 1992, Steinfelder et al. 1992). Es vermittelt zudem die Stimulation des PRL-Gens und der Thyrotropin-13-Subeinheit (*TSH.J*) Gene über das Thyrotropin-Releasinghormon (*TRH*) und das cAMP (Steinfelder et al. 1992). Eine Mutation in der POU-Region des PIT1-Gens führt zu Defiziten des GH, des PRL und des TSH (Pfaffle et al. 1992). Bei zwergwüchsigen Mäusen und Menschen mit vielen Defiziten der Hypophysenhormone wurde eine unzureichende Aktivität des PIT1-Gens festgestellt (Cohen et al. 1999, Li et al. 1990, Pfaffle et al. 1992, Radovick et al. 1992, Vallette-Kasic et al. 2001).
Beim Schwein ist PIT1 ein Kandidatengen für das Wachstum und die Muskelentwicklung. Im PIT1-Gen wurden verschiedene Polymorphismen gefunden. die in verschiedenen Studien untersucht wurden (Yu et al. 1993, Yu et al. 1994, Yu et al. 2001). In weiteren Untersuchungen konnte eine signifikante Assoziation eines PIT1-

Polymorphismus mit der Speckdicke festgestellt werden (Franco et al. 2005, Yu et al. 1995).

Die Basensequenz des PIT1-Gens beim Schwein ist zu 90 %, die Proteinsequenz ist zu 95 % mit dem PIT1-Gen beziehungsweise der Proteinsequenz bei anderen Säugern wie Mensch, Rind, Schaf und Nager identisch (Yu et al. 2001). Im PIT1-Gen ist alternatives Splicing ein häufiges Mutationsschema. Verschiedene alternative Formen konnten gefunden werden, in denen Exon 2 oder Exon 4 fehlten oder zusätzliche Basen vor Exon 2 vorhanden waren (Yu et al. 2001). In Abbildung 7 sind die Aufgaben der Faktoren der Homeoregion für die Festlegung der spezifischen Hypophysen-Zellstämme gezeigt.

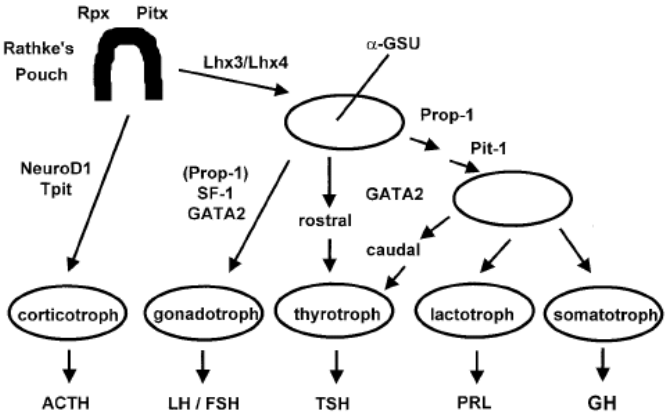

Abbildung 7: Hypophysenspezifische Transkriptionsfaktoren, die in die Entwicklung des Hypophysenvorderlappens eingebunden sind und ihre Reaktionsmechanismen auf weitere wichtige Hormone verschiedener Kategorien, weitergehende Erklärungen im Text (aus Cohen und Radovick 2002)

Das rathke pouch homeoboxgene (RPX) im oberen Teil der Abbildung 7 ist der früheste spezifische Marker für die Vorstufe der Hypophysenhormone. PITx1 und PITx2 sind in der fötalen Hypophyse und in den meisten Zellen der adulten Hypophyse vorhanden. Die LIM-Homeobox-Gene Lhx3 und Lhx4 sind in Gonadotrophen, Thyrotrophen, Somatotrophen und Laktotrophen exprimiert. Der paired-like homeodomain transcription factor 1 (PROP1) beeinflusst die Zellstämme des PIT1. PIT1 ist für die Entwicklung von kortikotropen, gonadotropen, thyrotropen, somatotropen und

laktotropen Hormonen, den in der Abbildung 7 dargestellten *adrenocorticotropic hormone* (*ACTH*), LH/FSH, TSH, PRL und GH, notwendig. (Cohen und Radovick 2002).

2.2.4.3 Relaxin

Es sind drei verschiedene Relaxin-Gene bekannt. Relaxin 1, im Folgenden als Relaxin bezeichnet, Relaxin 2 und Relaxin 3. Relaxin 2 wurde bisher nur beim Menschen sequenziert, dort liegt es wie Relaxin auf dem Chromosom 9 (Crawford et al. 1984). Relaxin 3 wurde erst 2002 identifiziert, es ist in Neuropeptid signalisierende Prozesse eingebunden (Bathgate et al. 2002).

Das Polypeptidhormon Relaxin (*RLN*) gehört zu der Insulinfamilie der Peptide. Einige Regionen des RLN sind mit Abschnitten des Insulin-Gens identisch. Beide Gene entstanden wahrscheinlich aus einem gemeinsamen Gen (Schwabe und McDonald 1977). Das Trächtigkeitshormon RLN bewirkt bei Säugern die Weitung des Geburtskanals. Bei den meisten untersuchten Spezies wird es vor allem im Gelbkörper während der Trächtigkeit gebildet. Im Ovar wurde eine niedrige Aktivität des RLN gefunden (Bryant-Greenwood et al. 1980).

RLN kann die Zitzenlänge und das Zitzengewicht erhöhen (Kuenzi et al. 1995, Kuenzi und Sherwood 1995). Endogen zirkulierendes RLN fördert das Wachstum der Zitzen während der zweiten Hälfte der Trächtigkeit. RLN-defiziente Ratten haben kleinere Zitzen mit einer veränderten Histologie, die Zitzen können von den Nachkommen nicht besaugt werden (Kuenzi und Sherwood 1992). RLN-defiziente Mäuse sind fruchtbar, die Entwicklung ihrer Milchdrüsen ist jedoch fehlerhaft. Die Nachkommen von RLN-knock-out Mäusen starben aufgrund von Milchmangel (Zhao et al. 1999).

Das RLN-Gen beim Schwein enthält zwei Exons, die durch ein 5,5 kb Intron geteilt werden (Haley et al. 1982, Haley et al. 1986). Es ist auf Chromosom 1q28-q29 kartiert (Ellegren et al. 1994). Bei der Genotypisierung von zwei Punktmutationen im RLN-Gen beim Schwein konnte eine Assoziation zu dem Stülpzitzendefekt gezeigt werden (Chomdej 2005, Wimmers et al. 2002b).

Das *leucin-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 7* (*LGR7*) Gen wurde kürzlich als Rezeptor für das Peptidhormon RLN identifiziert (Hsu et al. 2000). LGR7

gehört zu der größten Familie von Proteinen bei Säugern, der Familie der *G protein-coupled receptors* (*GPCR*). Diese Familie umfasst verschiedene Funktionen, die in autokrine, parakrine und endokrine Prozesse eingebunden sind (Fredriksson et al. 2003). In dieser Familie sind die *leucine-rich repeat (LRR)-containing GPCRs* (*LGR*) der Glykoprotein-Rezeptor Gruppe zugeordnet, die zur übergeordneten Gruppe der Rhodopsinfamilie gehören. Zu der LGR-Subfamilie gehören auch die humanen FSH-Rezeptoren (*FSHR*), LH-Rezeptoren (*LHR*), TSH-Rezeptoren (*TSHR*) sowie LGR4, LGR5, LGR6, LGR7 und LGR8 (Hsu et al. 2000).

LGR7 beinhaltet ein Lipoprotein niedriger Dichte (*LDL*), zehn leucinreiche Wiederholungen (*LRR*) und sieben Transmembran-Regionen (*TM*). LGR7 wird über den Kinase A-, jedoch nicht den Phospholipase C-Signalweg vermittelt (Hsu et al. 2000, Hsu et al. 2002, Krajnc-Franken et al. 2004).

Nach Behandlung von Zellen die LGR7 exprimieren mit RLN konnte eine dosisabhängige cAMP-Produktion erreicht werden (Hsu et al. 2002, Muda et al. 2005). In Abbildung 8 sind die wahrscheinlichen Mechanismen der Anbindung von RLN an seinen Rezeptor dargestellt. Dabei wird ein G-Protein-vermittelter Signalweg aktiviert, der zu einer Stimulation von Adenylat Cyklase (*AC*) und einem Rückgang der cAMP-Bindung führt (auf der rechten Seite der Abbildung 8 dargestellt). Die Anbindung von RLN an seinen Rezeptor könnte auch durch ein Tyrosin Kinase (*TK*) Signalweg vermittelt werden. Dieser unterdrückt die Aktivität einer Phosphodiesterase (*PDE*), die wiederum cAMP degradiert (Ivell 2002).

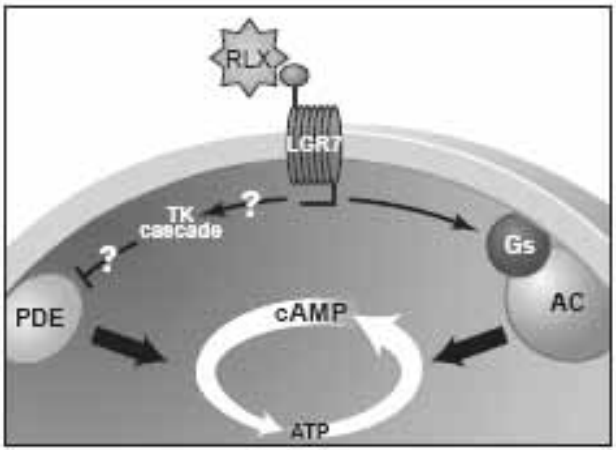

Abbildung 8: Die unterschiedlichen Signalwege, die in die Regulation des cAMP durch das Peptidhormon RLN (*hier RLX*) eingebunden sind: im oberen Teil die Anbindung von RLN an seinen Rezeptor (LGR7 oder LGR8), auf der linken Seite der Signalweg über TK und PDE, auf der rechten Seite über Gs und AC (aus Ivell 2002)

Alternatives Splicing ist ein besonders auffälliges Merkmal in der LGR7-Familie. Im humanen LGR7 wurden verschiedene Isoformen von LGR7 gefunden (Muda et al. 2005, Scott et al. 2005).

Ähnlich der Beobachtungen in RLN-defizienten Mäusen zeigten auch LGR7$^{-/-}$ Mäuse normale Fruchtbarkeit und Wurfgröße. Einige der knock-out Mäuse konnten jedoch ihre Nachkommen nicht mit Milch versorgen, da sie eine beeinträchtigte Zitzenentwicklung hatten. Diese Ergebnisse der Versuche mit knock-out Mäusen weisen auf die Rolle des LGR7-Gens für die normale Zitzenentwicklung während der Trächtigkeit hin (Krajnc-Franken et al. 2004).

Das LGR7-Gen beim Menschen besteht aus 18 Exons, die insgesamt 2.274 bp lang sind (Hsu et al. 2000). Die Sequenzen von Ratte und Maus weisen 85,7 % und 85,2 % Ähnlichkeit zur humanen Sequenz auf. Das LGR7-Gen beim Schwein ist noch nicht vollständig sequenziert, es wurden jedoch ebenfalls Splicing Varianten festgestellt (Scott et al. 2005).

2.2.4.4 Wachstumsfaktoren

Wachstumsfaktoren sind in die interzellulare Signalisierung der Drüsen eingebunden. GH ist ein Hormon des Hypophysenvorderlappens. Die Sekretion des GH in der Hypophyse wird in erster Linie durch das *growth hormone-releasing hormone* (*GHRH*) aus dem Hypothalamus durch die Aktivierung eines spezifischen G-Protein-gekoppelten Rezeptors, dem GHRH-Rezeptor (*GHRHR*), stimuliert. GH wird auch als Antwort auf Gherlin, einem im Magen, im Hypothalamus und in der Hypophyse produzierten Peptid, abgegeben.

Dieses Somatotroph, auch als GH sekretorischer-Rezeptor (GHSR) bezeichnet, wird durch einen ausgeprägten G Protein-gekoppelten-Rezeptor aktiviert (Frohman et al. 1992, Giustina und Veldhuis 1998, McMahon et al. 2001, Muller et al. 1999).

Die GH-Aktivität in der Galaktopoiesis wird bei der Morphogenese der Milchdrüsenkanäle durch IGF1 vermittelt (Akers et al. 2000, Oka et al. 1991).

In Abbildung 9 ist eine Übersicht der wahrscheinlichen Aufgaben der wichtigsten Neuropeptide und Neurotransmitter dargestellt. Sie vermitteln die GH-Sekretion über GHRH oder Somatostatin oder durch direkte Wirkung von GH auf die Hypophyse. Bei einigen Neuropeptiden und Neurotransmittern sind zwei oder mehr Orte der Aktion bekannt. Zahlreiche andere metabolische und hormonelle Effektoren, die ebenfalls über verschiedene Wege agieren sind in der Abbildung nicht gezeigt. Dargestellt ist die verstärkende Wirkung von GHRH auf GH, die verringernde von Somatostatin sowie die Wechselwirkung zwischen diesen Faktoren. Ebenfalls ist die Wechselwirkung zwischen GH und IGF1 deutlich dargestellt. Die Abbildung macht weiterhin die Vielzahl von Einflüssen und Bestandteilen der Neuropeptide und Neurotransmitter auf die GH-Sekretion deutlich (Giustina und Veldhuis 1998).

Beim Schwein wird die Expression von GHRHR und GHSR von verschiedenen Signalen reguliert, die sich von den bei anderen Säugern beschriebenen Signalen unterscheiden (Luque et al. 2004). In einer Studie wurde eine Assoziation eines GH-Polymorphismus mit der Speckdicke ($P = 0.0326$) und der durchschnittlichen täglichen Zunahme ($P = 0.0127$), und eines GHRH-Polymorphismus mit der durchschnittlichen täglichen Zunahme detektiert (Franco et al. 2005). Das GH-Gen wurde beim Schwein auf Chromosom 12 kartiert, der GHR auf Chromosom 16 (Chowdhary et al. 1994, Thomsen et al. 1990).

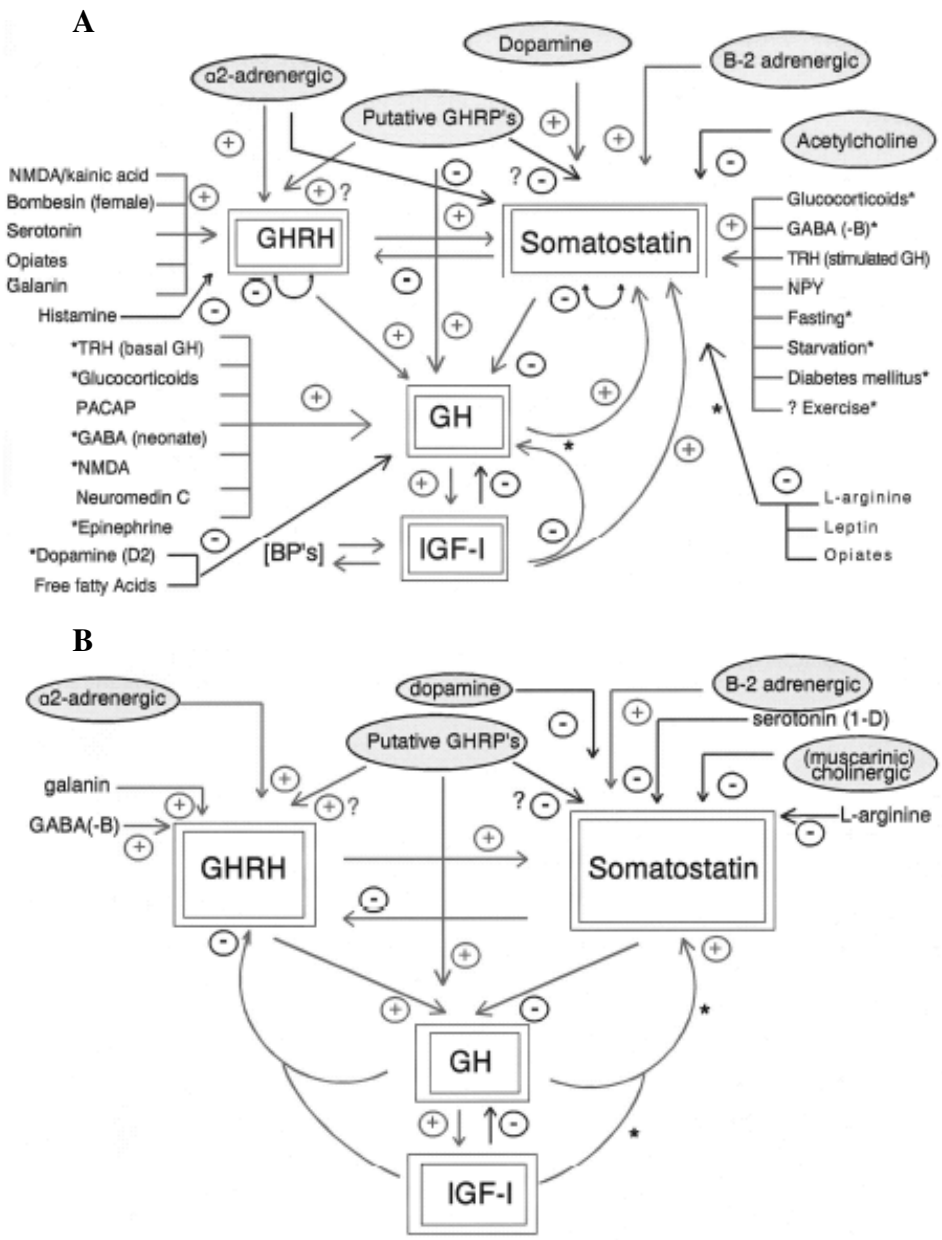

Abbildung 9: Übersicht der wahrscheinlichen Aufgaben der wichtigsten Neuropeptide und Neurotransmitter, die eine GH-Sekretion vermitteln, dargestellt bei der Ratte (A) und beim Menschen (B): mit Stern (*) gekennzeichnete Neuropeptiden und Neurotransmittern haben zwei oder mehr Orte der Aktion, verstäkende Effekte (+) und verringernde Effekte (–) sowie unbekannte Effekte (?) sind jeweils and den Pfeilen angegeben (aus Giustina und Veldhuis 1998)

2.2.4.5 Transformierende Wachstumsfaktoren

Zu den Wachstumsfaktoren gehören ebenfalls die *transforming growth factors* alfa und beta (*TGFα* und *TGFβ*). TGFα gehört zu der Familie der *epidermal growth factors* (*EGF*) und interagiert mit dem EGF-Rezeptor (Massague 1983). Die TGFβ-Superfamilie besteht aus den verwandten Faktoren TGFβ1, TGFβ2 und TGFβ3. Für TGFβ existieren mindestens drei Rezeptorarten (Sporn und Roberts 1990). Sowohl TGFα als auch TGFβ beeinflussen die Regulierung des Zellwachstums und die Differenzierung der Milchdrüse (Oka et al. 1991).

Bei Mäusen unterdrückt TGFβ das Wachstum der Epithelzellen, das Zitzenwachstum und die Morphogenese behandelter Milchdrüsen (Knabbe et al. 1987). Dieses wachstumsunterdrückte Zitzengewebe ist histologisch normal, die Auswirkungen sind reversibel (Silberstein und Daniel 1987). Eine Überexpression von TGFβ während der Pubertät reduziert die Wachstumsrate des Zitzenkanals (Daniel et al. 1996). Die Expressionsspiegel von TGFα und TGFβ1 bei der Milchkuh sind während der Laktogenese und Galaktopoiese sehr niedrig, sie steigen während der Mammogenese in erstmalig belegten Färsen. Während der Mammogenese von Färsen vor der ersten Belegung und während der Involution sind die Expressionsspiegel beider Gene am höchsten. In der Milchdrüse von Rindern sind das wachstumsverbessernde TGFα und das wachstumsunterdrückende TGFβ1 gleichzeitig exprimiert. Beide Wachstumsfaktoren haben während der Proliferation und der Reorganisation der Milchdrüsengewebe eine autokrine oder eine parakrine Funktion (Plath et al. 1997).

In bestimmten Brustkrebszellen (MCF-7) ist TGFβ ein hormonell regulierter Wachstumsinhibitor mit möglichen autokrinen und parakrinen Funktionen (Knabbe et al. 1987).

Beim Schwein wurde TGFα auf Chromosom 3q, TGFβ auf Chromosom 10p kartiert (Hu et al. 1997). TGFβ1 wurde mit enger Kopplung zum Marker SW1067 am Genort Sscr6q11-q22 kartiert. Ebenfalls wurde eine A/G Transition im Exon 5 des TGFβ1-Gens detektiert. Es konnte keine signifikante Assoziation des Genotyps zum Stülpzitzendefekt im Schwein festgestellt werden, jedoch zur Anzahl der Stülpzitzen und zur Gesamtanzahl der Zitzen im Gesäuge (Chomdej 2005, Wimmers et al. 2002a).

2.2.4.6 Insulin-ähnliche Wachstumsfaktoren

Die Familie der *insulin-like growth factors* (*IGF*) bildet eine Familie von Peptiden, die das Wachstum und die Entwicklung bei Säugern wesentlich beeinflussen. Die *insulin-like growth factor-binding protein* (*IGFBP*) binden mit hoher Affinität an die beiden Formen IGF1 und IGF2. Diese sowie der IGF-Rezeptor sind für das normale Wachstum und die normale Entwicklung des Organismus notwendig. IGF1 ist für die pränatale und postnatale Entwicklung wichtig, während IGF2 nur während der pränatalen Stadien von Bedeutung ist (Butler und LeRoith 2001). Parakrines, und nicht endokrines IGF1, ist für die Morphogenese der Zitzenverzweigung notwendig (Richards et al. 2004).

Während der Entwicklung der Zitze vermittelt IGF1 die GH-Aktivität in der Galaktopoiesis und in der Morphogenese der Milchdrüsenkanäle (Kleinberg et al. 2000, Oka et al. 1991). Versuche mit IGF1-knock-out Mäusen zeigten, dass diese nur ein Zitzenrudiment bilden, ansonsten ist die Ausdehnung der Kanäle in das Fettgewebe trotz steigender GH-Spiegel nur limitiert (Liu und LeRoith 1999, Ruan und Kleinberg 1999). Auch durch GH- und Östradiol-Injektionen konnte das Wachstum der Milchdrüse *in vivo* nicht stimuliert werden. Eine Behandlung mit IGF1 und E2 hingegen kann die Anzahl der Kanalstrukturen effizient stimulieren (Beamer und Eicher 1976, Keough und Wood 1979, Richards et al. 2004) Diese Ergebnisse zeigen, dass eine intakte GH-IGF1-Achse für die postnatale Bildung der Zitzenkanäle von Bedeutung ist. IGF1 spielt wahrscheinlich auch während der Trächtigkeit und der Laktation eine Rolle (Kleinberg et al. 2000). Normale Mäuse exprimieren Transkripte des IGF1-Gens und des IGF1-Rezeptor-Gens in den Vorstufen der Milchdrüsen während der pubertalen Wachstumsphase (Richert und Wood 1999).

IGF1 reguliert die Laktation durch Stimulation der Mitogenese, durch Unterdrückung der Apoptose und durch teilweise Vermittlung der Effekte vom Wachstumshormon auf die Laktogenese. Zitzenspezifische transgene Überexpression von IGF1 erhöht die Menge von IGF1 und IGFBP signifikant, sie beeinflusst jedoch nicht die Laktationsfähigkeit beim Schwein (Monaco et al. 2005).

Beim Schwein kodiert das IGF1-Gen mit 567bp für 130 Aminosäuren und ist auf Chromosom 5 lokalisiert (Inage-Miyake et al. 2005, Robic et al. 1996, Wintero et al. 1994). Das IGF1-Gen enthält eine Wiederholung eines (CA) Dinukleotids in der 5`-flankierenden Region, sodass das Gen auch als Mikrosatellitenmarker eingesetzt wird

(Kirkpatrick 1992, Rohrer et al. 1996). Das IGF2-Gen kodiert für 181 Aminosäuren und besteht aus einer 1.483bp Sequenz (Catchpole und Engstrom 1990, Muller und Brem 1990).

2.2.4.7 Parathyroid hormone-related peptide

Das PTHrP-Gen, auch *parathyroid hormone-like hormone* (*PTHLH*) Gen genannt, und sein Rezeptor (*PTH/PTHrP*) sind wichtige Regulatoren für die Zellentwicklung und für die Differenzierung während des Wachstums (Wysolmerski und Stewart 1998). Das PTHrP wird von vielen Zellen synthetisiert und agiert als ein lokaler parakriner oder autokriner Faktor, der Zellwachstum und Differenzierung beeinflusst. Das PTHrP-Gen und der PTH/PTHrP-Rezeptor repräsentieren eine Epithel-Mesenchym-Interaktion, die für die Zitzenmorphogenese notwendig ist, wobei die Stromazellen die PTHrP-Aktivität in der Milchdrüse entscheidend beeinflussen (Dunbar et al. 1998, Wysolmerski et al. 1998). PTHrP wird von dem äußeren Nährstoffgefäßsystem der Milchdrüse produziert. Die Regulierung der PTHrP-Synthese durch die laktierende Drüse sowie der Einfluss auf den regionalen Blutfluss und die Calciumsekretion zeigen die Bedeutung des PTHrP in der Milchdrüse während der Laktation (Thiede 1994). Bei Kühen ist die PTHrP-mRNA während der späten Trächtigkeit und in der Laktation exprimiert (Wojcik et al. 1998).

Bei transgenen Mäusen verhindert eine Überexpression des PTHrP-Gens unter anderem die vollständige Morphogenese der Kanalsysteme der Milchdrüse (Wysolmerski et al. 1994, Wysolmerski et al. 1995). Eine Überexpression dieses Gens vor der Geburt kann zu Defekten der Verzweigung der Zitzenkanäle während der Pubertät führen. Eine Überexpression während der Pubertät verringert die Verlängerungsrate der Zitzenkanäle (Dunbar et al. 2001).

Die Regulierung des Zellverhaltens durch PTHrP ist von zentraler Bedeutung für das Überleben und die Morphogenese des Zitzenepithels und für die Formung der Zitze. PTHrP wird in den Epithelzellen der Zitzenknospen gebildet und interagiert während der embryonalen Zitzenentwicklung mit dem umgebenden Mesenchymgewebe. Fehlt das PTHrP-Signal, entwickeln sich die Zitzenepithelzellen wieder zu einer Epidermis zurück. Außerdem werden die Zitzenkanäle nicht gebildet und die Zitzen nicht geformt (Foley et al. 2001). In vitro Studien haben gezeigt, dass in vivo PTHrP eines der

Schlüsselelemente für die lokale Kontrolle der invasiven Prozesse während der Entwicklung von Brustkrebs sein kann (Luparello et al. 1997).
Das porcine PTHLH-Gen besteht aus einer 1.336 Nukleotide kodierenden Region und wurde auf Chromosom 5 kartiert. Im Vergleich zum PTHLH-Gen anderer Spezies ist die Sequenz stark konserviert (Chomdej et al. 2004). Eine Punktmutation in der kodierenden Region zeigt eine signifikante Assoziation zu der Anzahl der Zitzen und dem Zitzendefekt Stülpzitze (Chomdej 2005).

2.2.4.8 Weitere Gene, die die Milchdrüse beeinflussen

Im Zusammenhang mit der Milchdrüse werden viele Gene beschrieben, die die Zitzenentwicklung und/oder die Milchzusammensetzung beeinflussen. Einige Gene stehen in engem Zusammenhang zu bereits beschriebenen Hormonen und Genen, sie sind daher ebenfalls mögliche Kandidatengene für die Detektion des genetischen Hintergrunds der Ursache des Stülpzitzendefektes.

Die janus kinase 2 (*JAK2*) ist eine Hormon-Rezeptor-gekoppelte Kinase, die die Phospholierung des Tyrosin, die Aktivierung von Signalüberträgern sowie den *signal transducter and activator of transcription* (*STAT*) vermittelt. Da ein Defizit dieser Kinase zum embryonalen Tod führt, ist es schwierig, die biologische Relevanz der JAK2-STAT-Signalisierung zu untersuchen. JAK2-defiziente Weibchen sind aufgrund einer unvollständigen Alveolarentwicklung nicht zur Laktation fähig. Eine vergleichende Analyse mit STAT5a/b-knock-out ergab, dass ein JAK2-Defizit auch die durch die Trächtigkeit induzierte Morphogenese der Verzweigungen verhindert. Für die Proliferation und Differenzierung der Alveolarzellen und auch für ihre Erhaltung während der Laktation ist JAK2 notwendig (Wagner et al. 2004).

STAT5 ist ein Transkriptionsfaktor, der für die funktionierende Entwicklung des Zitzengewebes notwendig ist (Liu et al. 1997). Bei Abwesenheit von STAT5a sind die alveolare Proliferation und die funktionelle Differenzierung unzureichend (Liu et al. 1998). Die durch PRL induzierte Phosphorylierung von STAT5 stellt ein Schlüsselereignis in der Milchdrüsenentwicklung und -differenzierung dar. Neben PRL können auch GH und EGF den Faktor STAT5 in unterschiedlichen Bereichen der

Zitzengewebe aktivieren. Dies repräsentiert ihre spezifische Aufgabe während der Kanal- und Alveolarentwicklung und der Differenzierung (Gallego et al. 2001).

Die Mitglieder der *v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog* (*ERBB*) Familie sind Rezeptor-Tyrosin-Kinasen. Sie und ihre Liganden sind in die Mammogenese eingebunden. Mäuse mit Cre-lox-vermittelten Deletionen der beiden Allele des Erbb4-Gens während der Entwicklung der Milchdrüse (*ERBB4FLOX/FLOXWAP-Cre*) reichern keine Lobuloalveoli an. Diese Deletion trägt teilweise zu einer fehlerhaften Proliferation des Epithels bei. Eine Analyse des Zitzenfaktors für die Differenzierung STAT5 ergab ein komplettes Fehlen der STAT5-Aktivität im *ERBB4FLOX/FLOXWAP-Cre*-Zitzenepithel bei der Befruchtung. Defekte in der funktionellen Differenzierung des Epithels während der Befruchtung werden von einer starken Reduzierung der Expression der STAT5-regulierten Gene Kasein-beta und Molkeprotein begleitet. ERBB4-Gene sind für die Vermittlung der Signalisierung des STAT5 notwendig, bei Mäusen führt ein Verlust dieser Aktivität zu einer fehlerhaften Differenzierung der Milchdrüsen (Long et al. 2003).

Das FSH beeinflusst die Reproduktion von Säugern (Fan und Hendrickson 2005). Es gehört wie TSH, LH und *chorionic gonadotropin* (*CG*) zu der Glykoproteinfamilie der Hypophysenhormone (Simoni et al. 1997, Themmen und Huhtaniemi 2000). Das FSH-Gen besteht aus zwei post-translatorisch veränderten Subeinheiten, die biologisch aktiv sind. Die Expression des FSH-Gens wurde ebenfalls in der Milchdrüse festgestellt (Greenberg et al. 1991).

Die *peptidyl-prolyl cis/trans isomerase* (*PIN1*) reguliert die Funktion einiger phosphorylierten Serin-Threonin-Proline über eine Isomerisation der phosphorylierten Serin-Threonin-Prolin-Verbindung. Junge $PIN1^{-/-}$ Mäuse entwickeln sich normal, sie zeigen jedoch verschiedene Abnormalitäten der Zellproliferation. Bei erwachsenen $PIN1^{-/-}$ Mäusen findet keine massive Veränderung der Proliferation des Brustepithels in Verbindung mit der Trächtigkeit statt. Viele der PIN1-defizienten Phänotypen, auch die Unterentwicklung der Milchdrüse, sind ebenfalls bei Cyklin-D1-defizienten Mäusen charakteristisch. Die Phänotypen der Mäuse mit einem Verlust der Funktion von Pin1

zeigen somit auch die Cyklin-D1-null Phänotypen. PIN1 ist für die Erhaltung der Zellproliferation essentiell und reguliert die Cyklin-D1 Funktion (Liou et al. 2002).

Homeobox (*HOX*) Gene sind in die embryonale Entwicklung eingebunden. Im Folgenden wird die Funktion der Hox-Gene HOX9 und HOX6 für die Entwicklung der Milchdrüse beschrieben.
HOXa9, HOXb9 und HOXd9 sind bei der Vermittlung der Expansion und/oder Differenzierung des Kanalsystems des Zitzenepithels als Reaktion auf die Trächtigkeit von Bedeutung. Die Milchdrüsen von Mäusen mit Mutationen in allen drei genannten Genen scheinen vor der Pubertät normal entwickelt, jedoch als Reaktion zur Trächtigkeit und Geburt nicht angemessen zu sein. HOXa9, HOXb9 und HOXd9 sind in der erwachsenen Milchdrüse exprimiert, dies zeigt die direkte Rolle dieser Gene in der Entwicklung des Zitzengewebes nach der Trächtigkeit. Die Mutationen verursachen in dieser Phase eine Hypoplasie der Milchdrüse. Die Gene könnten auch die Krebsbildung in Milchdrüsen beeinflussen (Chen und Capecchi 1999).
Weibliche Mäuse mit einem gezielt hervorgerufenen Fehler im HOX6-Gen produzieren thorakische Milchdrüsen, die bei der Geburt unterentwickelt sind. Die Zitzenknospen sind in diesen Embryonen vorhanden. Neugeborenen Weibchen, die homozygot für diesen Fehler im HOX6-Gen sind, zeigen reduzierte Verzweigungen der Kanalstrukturen und die Entwicklung des Fettgewebes ist unvollständig. Das HOX6-Gen hat somit eine Funktion in der Vermittlung der hormonell regulierten Kanalexpansion und Regression in erwachsenen weiblichen Individuen (Garcia-Gasca und Spyropoulos 2000).

Die receptor-linked protein-tyrosin phosphatase LAR, auch protein-tyrosin phosphatase (PTPRF) genannt, besteht aus zwei intrazellularen Tyrosin-Phosphatase-Regionen und aus einer Zelladhäsions-molekülähnlichen extrazellulären Region mit drei Immunoglubulin-ähnlichen Regionen. Diese sind mit acht Fibronektin Typ-III-ähnlichen Wiederholungen kombiniert. Milchdrüsen von $LAR^{-/-}$ Mäusen können keine Milch abgeben, da die terminale Differenzierung der Alveoli in der späten Trächtigkeit unvollständig ist. Die Milchdrüsen von diesen Mäusen bilden sich nach der Geburt

schnell wieder zurück. Die LAR-vermittelte Signalisierung beeinflusst wahrscheinlich die Entwicklung und Funktion der Milchdrüse (Schaapveld et al. 1997).

Maspin gehört zu der Familie der Serin-Protease-Inhibitoren mit einer tumorunterdrückenden Funktion (Zou et al. 1994). Heterozygote Maspin$^{+/-}$ Mäuse zeigen eine unvollständige Kanalentwicklung während der Pubertät. Progesteron kann das Wachstum jedoch wieder stimulieren. Die Alveolarentwicklung von Maspin$^{+/-}$ Mäusen ist im Vergleich zu Maspin$^{+/+}$ Mäusen reduziert. Dieser Effekt basierte jedoch nicht auf das Fehlen des Maspin, sondern auf eine verringerte Expression des Progesteron bei Maspin$^{+/-}$ Mäusen. Die Maspin-defizienten Mäuse konnten dennoch ihre Nachkommen während der Laktation ohne erkennbaren Defekt mit Milch versorgen (Shi et al. 2004).

Der Vitamin-D-Rezeptor (*VDR*) ist ein nuklearer Rezeptor. Der Ligand dieses Transkriptionsfaktors, das 1,25-Dihydroxyvitamin-D [*1,25-(OH)2D*], wird nach der metabolischen Aktivierung von Vitamin-D durch die spezifischen Hydroxylasen des Vitamin-D generiert. Der VDR ist in der Milchdrüse vorhanden und wird dynamisch während der Trächtigkeit, der Laktation und der Zitzenrückbildung reguliert. Ein Fehlen des VDR ist mit einer geringeren Drüsenentwicklung während der Pubertät assoziiert. Weiterhin zeigen Mäuse mit fehlendem VDR eine geringere lobuloalveolare Entwicklung und eine unvervollständigte Kasein-Expression während der Trächtigkeit. Die Rückbildung nach der Laktation findet im Vergleich zu Mäusen mit funktionierendem VDR nicht statt. Während des reproduktiven Zyklus wirkt der VDR auf die Zitzenzellumlagerung. Endokrine und autokrine Signale der Stoffwechselwege können durch den VDR vermittelt werden (Zinser und Welsh 2004).

2.3 Ansätze zur genetischen Untersuchung von Merkmalen

Die Untersuchung der Ursachen für die Ausprägung unterschiedlicher Phänotypen ist das grundlegende Ziel der molekularen Genetik. Bei Nutztieren spielt die Zucht, also die künstliche Selektion der verwendeten Tiere, eine wichtige Rolle. Der Mensch beeinflusst die Tierpopulationen, um sie für verschiedene Ziele einzusetzen. Die molekulare Genetik kann die traditionellen Methoden der künstlichen Selektion erweitern, die substantielle Steigerung kann gleichzeitig nachgeprüft werden (Lande und Thompson 1990). In den letzten Jahren wurden bei der Identifizierung von Genen, der Feststellung der Genorte (*Kartierung*) und der funktionellen Analyse der Gene im Bereich des Genoms der Nutztiere ein enormer Fortschritte erzielt. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse werden bereits heute in der Nutztierzucht zur Verbesserung der Produktion und Reproduktion sowie zur Verringerung der Krankheits- und Defektdisposition angewandt (Rothschild 2003, Spelman und Bovenhuis 1998). Methoden zur Detektion von Genen, die unterschiedliche Phänotypen verursachen, sind vielfältig und führen häufig in Kombination zur Erreichung des angestrebten Ziels. Die wichtigsten angewandten Methoden sind die Kopplungskartierung mit der QTL-Analyse, die Assoziationsanalyse von Kandidatengenen und die Expressionsanalyse zur Detektion der Transkription mit der Mikroarray-Technologie. Das Ziel dieser Analysen ist die Detektion von Genombereichen, in denen Marker detektiert werden können. Diese können später die Effizienz der künstliche Selektion in der MAS erhöhen, um den Selektionserfolg zu verbessern (Gomez-Raya und Klemetsdal 1999).

Die folgende Abbildung 10 gibt einen Überblick über den Stand der aktuell angewandten Methoden zur Identifizierung von Ursachen für die Ausprägung unterschiedlicher Phänotypen. Weitere Anwendungen von Verknüpfungen der einzelnen Methoden wie beispielsweise den *expression QTL* (*eQTL*) sind hier nicht aufgeführt.

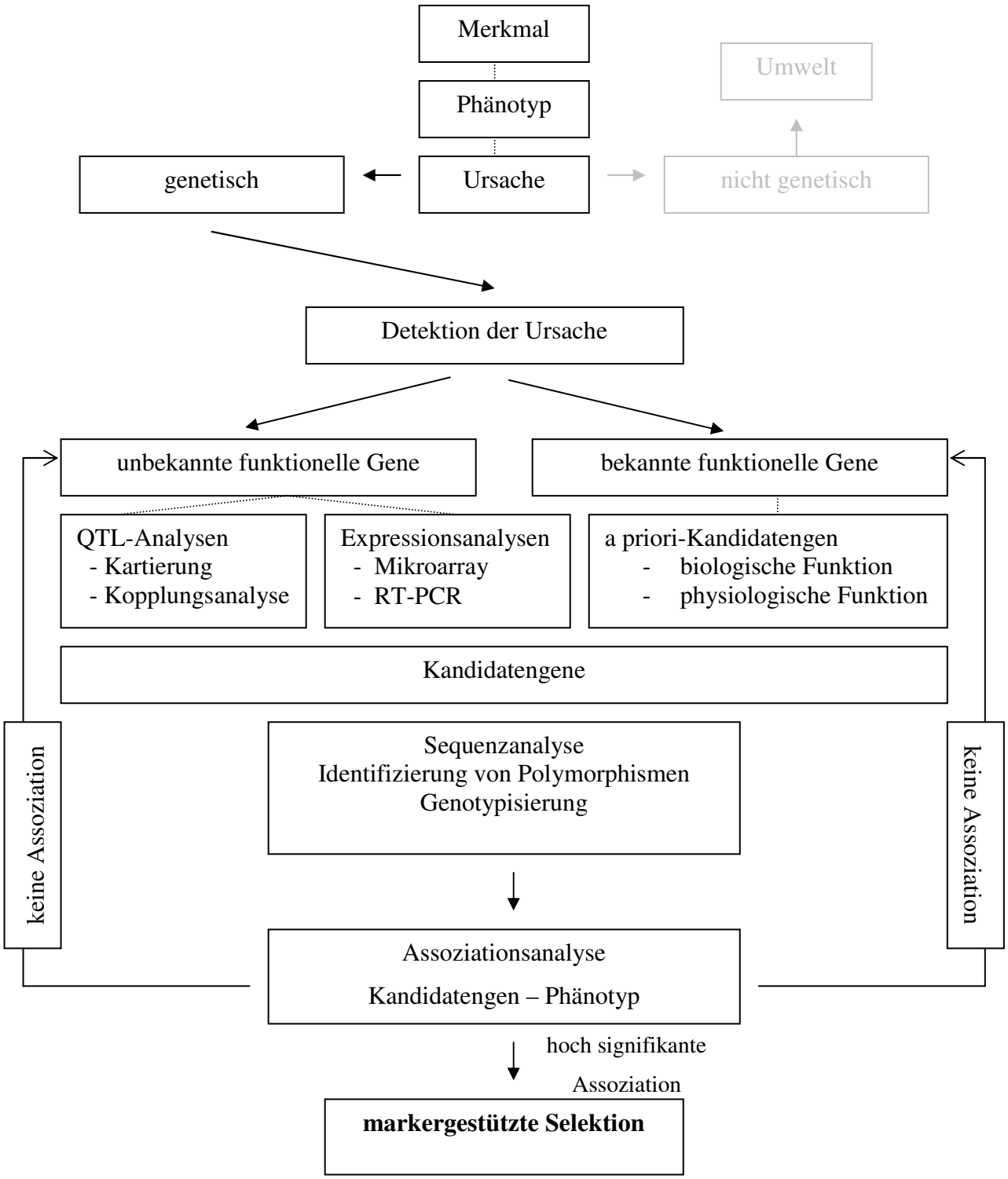

Abbildung 10: Übersicht über die Möglichkeiten und Wege zur Detektion der Ursachen unterschiedlicher Phänotypen (modifiziert nach Geldermann 1988, Rothschild 2003, Rothschild und Plastow 1999)

2.3.1 Kopplungsanalyse

Die Kopplungsanalyse, auch positionelles Klonieren genannt, ist ein Prozess des systematischen Scannens von DNA-Bereichen. Dazu werden DNA-Segmente, meist hoch variable Segmente wie polymorphe *Mikrosatellitenmarker* (Kapitel 2.3.1.2), verwendet, deren Positionen durch Kartierung (Kapitel 2.3.1.1) bekannt sind. Mit diesen Markern wird die Kopplung der Marker-Varianten (*Allele*) zum Defekt hergestellt (Kapitel 2.3.1.3). Die detektierten Regionen werden anschließend weiter analysiert (Kwon und Goate 2000).

2.3.1.1 Kartierung

Die Kartierung des Genoms ist die Grundlage aller Genomuntersuchungen. Die gefundenen Loci werden ihrer Lage auf den Chromosomen zugeordnet. Beim Schwein wurden nach der PIGQTLDB bis zum Jahr 2005 etwa 2.490 Marker und 1.590 Gene im Genom kartiert (Hu et al. 2005). Man unterscheidet die beiden Varianten physische auch zytogenetische oder vergleichende Genkarten genannt sowie genetische oder Kopplungskarten. Die vergleichende Genkartierung ist bei Säugern in die Identifikation von Segmenten der konservierten Regionen des Genoms verschiedener Spezies eingebunden (Yang und Womack 1998). Sie kann die Anordnung von Genen auch dann bestimmen, wenn die genbasierte Kopplungskartierung nicht praktikabel ist. Die vergleichende Kartierung kann auch Auskunft über die Evolutionsgeschichte geben (Yang und Womack 1998).

Die Kopplungskarten verwenden nur Informationen innerhalb einer Spezies. Die Genotypen verschiedener Marker werden ermittelt, anschließend wird die Kopplung der Marker berechnet. Das Maß der Kopplung zwischen diesen Markern (*Rekombination*) gibt über den Abstand der Marker zueinander Auskunft. Marker mit hoher Rekombination liegen weit voneinander entfernt. Ist die Rekombination sehr niedrig, liegen die Marker dicht nebeneinander. Marker mit der Rekombination von Null liegen wahrscheinlich am gleichen Genort auf einem Chromosom. Mit Radiation Hybrid Panels können Kopplungen zwischen verschiedenen Markern und untersuchten Markern oder Genen ermittelt und der Genort bestimmt werden.

Verschiedene Zusammenschlüsse von Wissenschaftlern bieten die Verwendung publizierter Genkarten an, um eigene Ergebnisse überprüfen zu können. Die wichtigsten Programme, im Rahmen derer in den 1990er Jahren Genkarten vom Schwein veröffentlicht wurden, sind USDA von der US-amerikanischen Gruppe (Rohrer et al. 1994), PigMaP von der Forschergruppe aus Europa (Archibald 1994) sowie das Programm bestehend aus Wissenschaftlern der Nordic-Gruppe (Ellegren 1993), die in weiteren Publikationen miteinander verglichen wurden (Bornemann-Kolatzki 2004). Beim Vergleich der Genkarten wurden Längenunterschiede zwischen den Genkarten, jedoch keine signifikant unterschiedlichen Längen, festgestellt. Weiterhin waren die extremen Unterschiede zwischen der amerikanischen und der schwedischen Genkarte mit den Unterschieden zwischen den Genkarten weiblicher und männlicher Schweine vergleichbar. Die porcine weibliche Genkarte ist, gemessen in centimorgan (*cM*) Einheiten, um den Faktor 1,3 größer als die porcine männliche Genkarte (Archibald 1994, Marklund et al. 1996). Die Abstände der Marker zueinander können ebenfalls zwischen Familien unterschiedlich sein, die Anordnung der Marker stimmt jedoch meist überein (Geldermann et al. 1996). Um die vollständige Information zu erhalten, sollten jedoch Informationen aus physikalischen Genkarten hinzugezogen werden (Ollivier 1995).

Die Lokalisierung von Defekten im Genom bildet mit den Kenntnissen über die Ursachen die Basis für die weitere Untersuchung eines Defekts (Kühn 1997).

2.3.1.2 Mikrosatelliten als genetische Marker

Zur Entwicklung von Genkarten können verschiedene Marker eingesetzt werden. Dazu zählen alle Bereiche des Genoms, die in Abbildung 11 dargestellte kodierende und nicht kodierende nukleare DNA (Ellegren 1993). Mikrosatelliten, Punktmutationen (*SNP*) und Polymorphismen der Fragmentlängen (*AFLP*) sind besonders häufig eingesetzte Genmarker (Rothschild 2003).

Nur wenige Mikrosatelliten befinden sich im Exon, meist liegen sie in den nicht kodierenden Bereichen der DNA (Moore et al. 2003, Stallings et al. 1991). Die Entstehung von Mikrosatelliten konnte durch Synthese repetitiver Einheiten durch Slippage in vitro nachvollzogen werden (Schlotterer und Tautz 1992). Im Hinblick auf die Entwicklung von solchen Tandem-Wiederholungen werden zwei Theorien

diskutiert. Diese sind die Möglichkeiten der Entstehung der Mikrosatelliten durch ungenaue Replikation sowie durch das Auftreten von Crossing-over Ereignissen (Bullock et al. 1986, Harding et al. 1992, Levinson und Gutman 1987a, Levinson und Gutman 1987b, Mahtani und Willard 1993, Morral et al. 1991, Smith 1976).

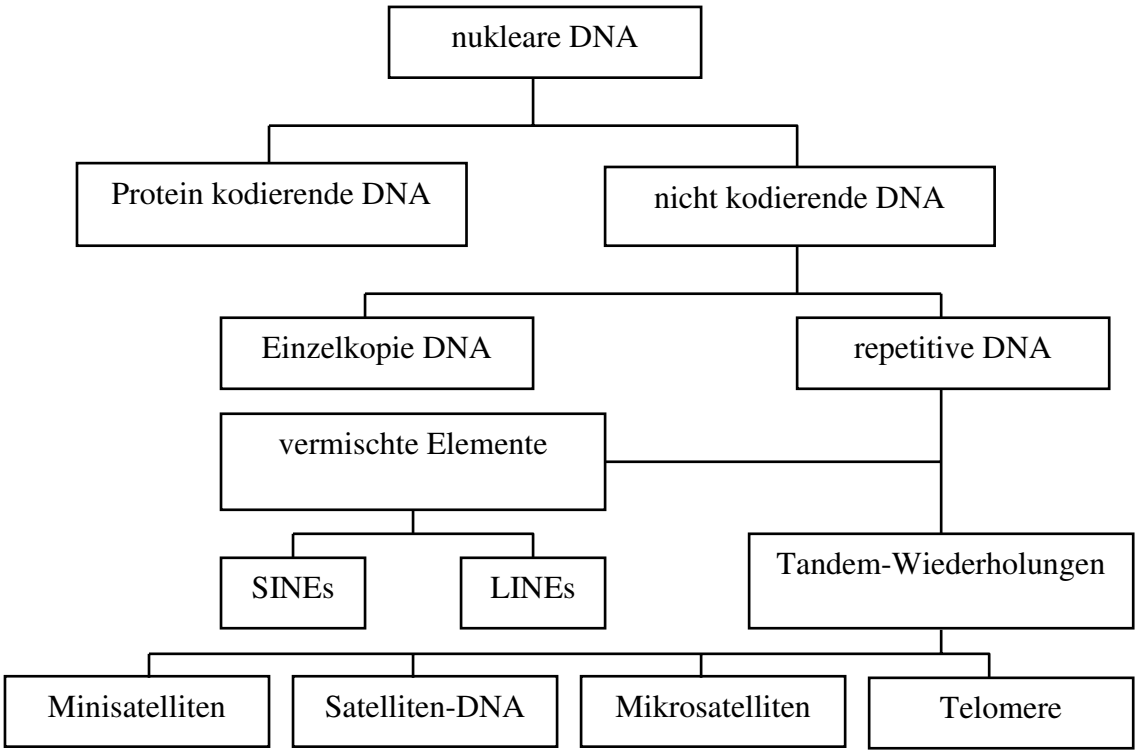

Abbildung 11: Aufbau des Genoms von Säugern (nach Ellegren 1993)

Mikrosatelliten lassen sich aufgrund der Länge ihrer Wiederholungseinheiten in Di-, Tri-, und Tetranukleotidmotive unterteilen, sowie in:

(a) perfekte Mikrosatelliten ohne Unterbrechung der Wiederholungseinheit, z.B. $(CA)_{14}$
(b) nicht perfekte Mikrosatelliten, bei denen das Motiv unterbrochen und umgekehrt wird, z.B. $(CA)_{11}GT(AC)_4$
(c) Compound-Mikrosatelliten mit mehreren Sequenzmotiven mit oder ohne Unterbrechungen und Umkehrungen, z.B. $(AC)_{11}(TC)_8$

Im Genom von Schweinen findet man am häufigsten $(GT)_n$ oder $(CA)_n$ Dinukleotid Wiederholungssequenzen (Wintero et al. 1992).

Die Gesamtlängen der Mikrosatelliten variieren häufig stark zwischen verschiedenen Individuen, da Mikrosatelliten beim Schwein eine hohe Mutationsrate von $7*10^{-5}$ pro Locus und Gamet aufweisen. Die unterschiedlichen Längen der Mikrosatelliten findet man auch häufig innerhalb einer Familie. Mikrosatelliten-Allele werden nach den Mendelschen Gesetzen vererbt, sie sind als Genmarker besonders gut geeignet (Bornemann-Kolatzki 2004, Johansson et al. 1992). Die meisten dieser Marker haben mehrere Allele, die den Grad der Polymorphie (*PIC*) bestimmen. Dieser PIC kann berechnet werden, um die Informativität des Markers zu ermitteln. Die Unterschiede der Mikrosatelliten lassen sich auch an diesem erkennen, der PIC liegt in Untersuchungen zwischen 0,42 bis 0,84 (Fredholm et al. 1993, Johansson et al. 1992). Ihre Verwendung ist daher besonders interessant in Kopplungsanalysen, da ein hoher Informationsgehalt der Marker die Leistung von Analysen erhöhen kann, besonders bei Elternpopulationen mit unterschiedlichen Allelen (Ovilo et al. 2002).

2.3.1.3 QTL-Kartierung

Ein Ansatz zur Identifizierung der verursachenden Gene für ein Merkmal ist die QTL-Analyse. Sie analysiert die Kopplung zwischen Genorten, um so die Chromosomenregionen zu lokalisieren, in denen Kandidatengene liegen. Das Hauptziel der QTL-Untersuchungen ist Regionen auf Chromosomen zu detektieren, die zur Verbesserung von Merkmalen beitragen können und die eventuell in die Selektion mit Genmarkern integriert werden können (Spelman und Bovenhuis 1998). Es wurden bereits signifikante Forschungserfolge bei der Identifikation von QTL, die ökonomisch interessante Merkmale in Nutztieren beeinflussen, erzielt (Moody et al. 2003). Beim Schwein wurden QTL-Regionen für Wachstum, Schlachtkörper- und Fleischqualität auf fast allen Chromosomen und QTL-Regionen für reproduktive Merkmale auf vielen Chromosomen festgestellt (Hu et al. 2005, Rothschild und Plastow 1999).

Für die Kopplungsanalysen werden häufig Mikrosatelliten verwendet, da sie aufgrund ihrer polymorphen Allele die Leistung der Analysen erhöhen (Ovilo et al. 2002). Da die Lokalisierung vieler Mikrosatelliten auf den Chromosomen anhand von publizierten Genkarten bekannt ist, können Marker mit definierten Abständen zueinander gewählt werden. Für eine erste Detektion von Genorten wird meist eine grobe Kartierung gewählt, wobei nur wenige Marker auf allen Chromosomen ausgewählt werden. Diese

werden in einer Population genotypisiert, anschließend wird die Signifikanz der Kopplungen mithilfe von LOD-Score (*logarithmic odds ratio*) Berechnungen verifiziert. Bei der Auswahl der Population werden häufig stark divergente Rassen gekreuzt und als Versuchspopulationen verwendet. Diese werden in der kommerziellen Zucht nicht in dieser Form verwendet. Meist werden Eltern kommerzieller Rassen mit Eltern exotischer Rassen gekreuzt, da eine große genetische Distanz zwischen den Rassen erwartet werden kann. Der PIC ist in solchen Kreuzungspopulationen meist höher, sie sind somit häufig informativer als kommerzielle Populationen. Die Übertragung der Ergebnisse muss jedoch in kommerziellen Populationen durch weitere Kopplungsanalysen oder Assoziationsanalysen bestätigt werden. Weiterhin werden die gefundenen Genregionen häufig mit neuen Markern, die geringere Abstände zueinander haben, detaillierter kartiert.

In nachfolgend durchgeführten Bestätigungsstudien sollten die Ergebnisse der QTL-Analysen in unabhängigen Populationen überprüft werden, da Studien, basierend auf QTL-Analysen, populationsabhängig sind (Gerbens et al. 2000). Populations-unterschiede könnten dabei zur Erklärung nicht übereinstimmender Ergebnisse dienen (Spelman und Bovenhuis 1998).

Nur zwei Studien wurden bisher zur Detektion von QTL verschiedene interessante Regionen auf unterschiedlichen Chromosomen identifiziert werden (Oltmanns 2003, Ün 2002). In verschiedenen Untersuchungen konnten jedoch QTL für die Zitzenzahl beim Schwein auf fast allen Chromosomen gefunden werden (Cassady et al. 2001, Hirooka et al. 2001, King et al. 2003, Rodriguez et al. 2005, Wada et al. 2000). Bei Rindern spielt die Milchleistung für die Produktivität eine große Rolle. Daher wurden viele QTL-Studien bezüglich Milchleistungsmerkmalen, jedoch auch hinsichtlich der anatomischen Anordnung des Euters durchgeführt (Ashwell et al. 2005, Chen et al. 2006, Hiendleder et al. 2003, Plante et al. 2001, Schrooten et al. 2000).

2.3.2 Assoziationsanalyse – Untersuchung von Kandidatengenen

Ein weiterer Ansatz zur Detektion der Ursachen verschiedener Merkmale ist der funktionelle oder direkte Kandidatengenansatz. Gene werden aufgrund der physiologischen Bedeutung der Proteine, die sie kodieren, von vorneherein (*a priori*), ausgewählt.

Für einige Merkmale existieren solche a priori Kandidatengene nicht, da das biologische Modell und die physiologischen Zusammenhänge unbekannt sind. Für solche Merkmale wird häufig der positionelle Kandidatengenansatz angewandt. Die erste Analyse der Kopplung von Markern wird meist über alle Chromosomen durchgeführt. Als Ergebnis werden Regionen abgeleitet, die tausende von Genen umfassen können. Zur besseren Identifizierung können interessante Genorte weiter eingegrenzt werden, um die Anzahl von Genen, die sich in den Regionen befinden, zu minimieren. Die Selektion der Loci ohne a priori Gene basiert meist auf einer Kombination von QTL-Kartierung, Feinkartierung und auch biologischer Intuition (Wayne und McIntyre 2002). Daher ist es einfacher beide Kandidatengenansätze miteinander zu verbinden. Die Genorte werden in QTL-Analysen identifiziert, anschließend werden physiologisch interessante Gene in den detektierten Regionen als positionelle und funktionelle Gene ausgewählt und weiter untersucht. Die Basensequenz von Kandidatengenen wird ermittelt. Veränderungen in der Abfolge der Basen, meist Punktmutationen (*SNP*), werden untersucht. Beide Ansätze basieren auf Assoziationsstudien zwischen diesen genetischen Polymorphismen, die in den Kandidatengenen identifiziert wurden, und dem phänotypischen Merkmal (Spotter und Distl 2006). Bei Untersuchungen von Kandidatengenen wird die Nullhypothese aufgestellt, ob bestimmte Allele eines Gens häufiger im Zusammenhang mit einer unerwünschten Merkmalsausprägung gefunden werden als in Individuen ohne diese Ausprägung (Kwon und Goate 2000). Die Kandidatengene können auch als bi-allele Marker in den QTL-Analysen verwendet werden, sie sind jedoch weniger informativ als multi-allele Marker wie Mikrosatelliten. Werden mehrere verschiedene Polymorphismen in dem Gen detektiert und genotypisiert, können auch die Haplotypen für die Analyen gebildet werden. Die Suche nach Veränderungen im Genom fokussiert sich vor allem auf die kodierenden Regionen des Genoms (*Exon*), da diese die Struktur und die Zusammensetzung der kodierten Proteine verändern können. Häufig sind solche

Polymorphismen jedoch keine verursachenden und verändernden Mutationen. In vielen untersuchten Kandidatengenen kann eine Assoziation eines Allels oder einer Reihe von Allelen zu dem untersuchten Merkmal gefunden werden. Das Gen liegt jedoch nur sehr nahe an dem Genort mit dem eigentlichen kausalen Gen (Kwon und Goate 2000, Ovilo et al. 2002). Für die Anwendung von Ergebnissen aus Kandidatengenanalysen für Gentests ist ein Vorwissen über den Defekt erforderlich. Dies ist insbesondere in der Humangenetik von enormer Bedeutung, dort wird der Kandidatengenansatz bereits bei der Alzheimer-Erkrankung und dem Alkoholismus angewandt (Kwon und Goate 2000).

Für den Erbfehler Stülpzitze wurden bisher ausschließlich am Institut für Tierwissenschaften der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn Kandidatengenstudien durchgeführt. Es konnten dabei Assoziationen zwischen dem Phänotyp Stülpzitze sowie verwandter Merkmale wie der Zitzenzahl zu den Genen des AR, RLN, TGFβ1 und PTHLH festgestellt werden (Chomdej 2005, Chomdej et al. 2004, Trakooljul et al. 2004, Wimmers et al. 2002a, Wimmers et al. 2002b). Weitere Studien konnten Assoziationen zwischen den Varianten verschiedener Gene zu Merkmalen der Milchleistung zeigen (Short et al. 1997, van Rens und van der Lende 2002). Eine statistische Untersuchung unter Anwendung zweier verschiedener Ansätze, die auch die Zitzenmerkmale beim Schwein betrachtete, ergab, dass es Hauptgene für die Merkmale gute Zitzen und Zitzenzahl gibt (Sanchez et al. 2003).

Beim Rind wurden verschiedene Genvarianten, beispielsweise Polymorphismen identifiziert, die einen signifikanten Einfluss auf die Zusammensetzung der Milch haben (Brym et al. 2004, Brym et al. 2005, Falaki et al. 1996, Leonard et al. 2005).

Der Kandidatengenansatz eignet sich neben der direkten Anwendung für Gendiagnosen ebenfalls sehr gut dazu die Genarchitektur von komplexen Merkmalen zu studieren (Wayne und McIntyre 2002). Die Kombination von Kopplungsanalyse und Kandidatengenansatz ist bislang der erfolgreichste Ansatz zur Identifizierung von krankheits- oder merkmalsverursachenden Genen (Kwon und Goate 2000).

2.3.3 Expressionsanalysen – Entwicklung von Mikrochips

Die Expressionsanalyse stellt die Verbindung zwischen *Genom* und *Transkriptom*, die Transkription der *DNA* zur *RNA* (einzelsträngige Nukleinsäure), dar. Für die Expressionsanalyse wird RNA verwendet, sodass nur die kodierende Region des Genoms betrachtet wird. Die grundlegende Analyse ist die Erstellung einer Liste der Gewebearten, in denen verschiedene Gene exprimiert sind, die in der nächsten Ebene, im *Proteom*, die Basentriplets für die verschiedenen Aminosäuren kodieren. Die Menge an RNA, die auch Einfluss auf das Potenzial zur Translation des Gens in dem entsprechenden Gewebe hat, kann beispielsweise durch Real-Time Polymerase-Kettenreaktion (*RT-PCR*) festgestellt werden. Die Mikroarray-Analyse setzt eine unterschiedliche Expression von Genen innerhalb eines Gewebes zwischen Individuen mit variablen Phänotypen oder in verschiedenen Entwicklungsstadien voraus. Im Vergleich zu Majorgenanalysen mit phänotypischen Daten, Kandidatengen-Analysen oder QTL-Kartierungen erhöht sich die Aussagekraft der Experimente bei der Anwendung der Mikroarray-Analyse. Dabei werden viele Gene gleichzeitig erfasst und die Expressionsunterschiede beschrieben. Die Anwendung dieser Methode kann zu einem verbesserten Verständnis der biologischen Prozesse führen (Moody et al. 2003). Ziel der Anwendung von Mikroarrays in Untersuchungen ist die Identifizierung von neuen Genen und die Überprüfung von Hypothesen, die den Zusammenhang zwischen Genen und Merkmalen beschreiben. Diese Unterschiede der Genexpression können jedoch auch auf einer natürlichen Variabilität basieren. Bei Gewebeuntersuchungen von Mäusen wurde eine Variabilität der geprüften Transkripte von 0,8 %, 1,9 % und 3,3 % in Leber, Hoden und Niere festgestellt. Die Expressionslevel variierten in mehr als einem Gewebe signifikant (Pritchard et al. 2001). Daher ist die Planung von Mikroarray-Experimenten für eine sinnvolle Interpretation der Ergebnisse von Bedeutung. Neben den technischen Variationen, deren Entwicklung erstmals in den 1990er Jahren beschrieben wurden (Schena et al. 1995), müssen auch biologische und experimentelle Variabilitäten kontrolliert werden, um detektierte Expressionsunterschiede der verwendeten Gene als Ergebnis ausschließlich natürlicher Variation auszuschließen. Daher sind biologische und technische Wiederholungen der Experimente notwendig. Insbesondere die Transkription der RNA zu Proteinen ist von biologischer Relevanz, da die Variationen der mRNA-Expression nicht zwangsläufig

die Funktion der Gene hinsichtlich der Ebene des Proteoms verändert (Moody et al. 2003).

Die Mikroarray-Analyse ist besonders für solche Merkmale interessant, für die nur wenige a priori Kandidatengene, basierend auf dem biologischen Modell, bekannt sind. Die Verwendung von QTL-Studien mit anschließender Feinkartierung führt noch zu einer hohen Zahl an Genen, deren Untersuchung zeit- und kostenaufwändig wäre. Daher können durch Kombination von QTL-Kartierung und Feinkartierung mit Arrays positionelle Kandidatengene für das Merkmal selektiert werden. Eine Kombination solcher Ansätze kann die Anzahl an gefundenen Genen von zunächst über tausend positionellen Loci auf wenige Kandidatengene reduzieren (Wayne und McIntyre 2002). Die bestätigten Gene können anschließend in aufwändigen Analysen wie *TaqMan* oder *RNAi* (*RNA-Interferenz*) untersucht werden, um eine Korrelation zwischen mRNA-Expression in natürlichen Populationen und Variationen des untersuchten Merkmals festzustellen. Die Kombination von QTL-Kartierung und quantitativer Mikroarray-Analyse kann zu vorher nicht bekannten Kandidatengenen führen. Dies ist ein bedeutender Schritt für die funktionelle Analyse von Genotyp-Phänotyp-Beziehungen (Wayne und McIntyre 2002).

Die Milchdrüse ist ein exzellentes Modellsystem zur Untersuchung der Regulation der Entwicklung und funktionellen Differenzierung eines Organs. Der größte Teil der Milchdrüsenentwicklung geschieht postnatal. Dabei unterliegt die Milchdrüse während der Trächtigkeitszyklen einem stark regulierten Ablauf von extremem Wachstum nach innen, Verzweigung, Differenzierung, Sekretion, Apoptose und Remodellierung (Clarkson et al. 2004, Stein et al. 2004). Verschiedene Arbeiten zeigen, dass die Mikroarray-Analyse zur Charakterisierung von komplexen Entwicklungssystemen und Prozessen während der verschiedenen Stadien der Milchdrüsenentwicklung verwendet werden kann. Ebenfalls sind Oligonukleotid-Mikroarrays ein nützliches Hilfsmittel für die Identifizierung von Genen, die in die frühe Rückbildung der Milchdrüse der Maus eingebunden sind (Clarkson et al. 2004, Stein et al. 2004).

2.3.4 Markergestützte Selektion

Die MAS setzt direkt zur Verbesserung von Merkmalen mithilfe von Ergebnissen aus der Genomanalyse an. Die Methoden zur Detektion von genetischen Ursachen für die verschiedenen Merkmalsausprägungen stellen die dazu notwendigen Informationen der molekularen Strukturen zur Verfügung (Förster 1992, Lande und Thompson 1990). Bei der MAS können direkte und indirekte Gentests verwendet werden.

Das gesuchte Gen sowie die Genvariante sind bei der indirekten Gendiagnose molekularbiologisch unbekannt. Polymorphe Marker werden eingesetzt, um eine Wahrscheinlichkeitsaussage über den zu erwartenden Phänotyp des Individuums zu treffen. Die Träger des ungewünschten Merkmals werden überwiegend ausgeschlossen. Die indirekte Gendiagnose ist jedoch meist nur bei einem spezifischen, meist familienabhängigen genetischen Hintergrund zutreffend. Besonders bei Markern, die aus QTL-Studien entwickelt wurden, muss vor der Anwendung getestet werden, ob der QTL zutreffend ist und in der Zuchtpopulation segregiert (Spelman und Bovenhuis 1998). Der direkte Gentest hat demgegenüber eine höhere Testsicherheit, da das Gen und die Defektmutante identifiziert sind (Förster 1992). DNA-Marker werden wahrscheinlich zu einem nützlichen Instrument zur Detektion von genetischen Defekten. Ihre Anwendung kann zum Ausschluss betroffener Tiere oder Merkmalsträger aus der Zucht führen. Die DNA-Marker dienen somit als Selektionshilfe in der Zucht landwirtschaftlicher Nutztiere (Ovilo et al. 2002, Thaller et al. 1996). Reproduktive Merkmale eignen sich neben Erbfehlern gut für die MAS. Aufgrund der Einbeziehung genetischer Marker in die Selektion können Generationsintervalle verkürzt werden. MAS wird schon in Zuchtprogrammen zur Verbesserung der Wurfgröße eingesetzt. Das Gen des ER wird dabei als genetischer Marker verwendet (Rothschild et al. 1997, Short et al. 1997, Spotter und Distl 2006, Spotter und Andersson 1998).

Bei der Anwendung der Gentests in der MAS ist zu beachten, dass auch Tiere, die Merkmalsträger sind, eine züchterische Notwendigkeit haben können. So geben Kühe mit dem *Weaver Syndrom* eine größere Menge Milch, stresslabile Schweine, die Träger der *MHS* sind, haben eine größere Fleischfülle, auch wenn ihre Fleischbeschaffenheit schlechter ist (Förster 1992, Otto et al. 2005).

Bei geschlechtslimitierten Merkmalen erlaubt die Möglichkeit, die molekulare Ebene einzubeziehen, auch die Selektion von männlichen (oder je nach Merkmal von weiblichen) Tieren, bei denen das Merkmal nicht erfasst werden kann (Spotter und Distl 2006). Jedoch gilt für die Anwendung der MAS, dass die Kosten-Nutzen-Relation für Merkmale mit hoher Heritabilität geringer ist (Gomez-Raya und Klemetsdal 1999).

QTL-Studien für Merkmale der Milchleistung und Eutergesundheit bei Rindern zielen sehr stark auf die Detektion von Markern ab, die in der MAS für die Tierzucht mit der Verbesserung der Merkmale eingesetzt werden können. Es wurden verschiedene Gene, darunter auch der GHR als Marker, die die Milchzusammensetzung beeinflussen, detektiert (Ashwell et al. 2004, Cohen-Zinder et al. 2005, Looft et al. 2001, Winter et al. 2002). Die Anwendung der MAS könnte insbesondere bei reproduktiven Merkmalen in der Schweineproduktion zu einer Verbesserung der Selektion führen (Cassady et al. 2001).

3 Material und Methoden

3.1 Übersicht über den Versuchsplan

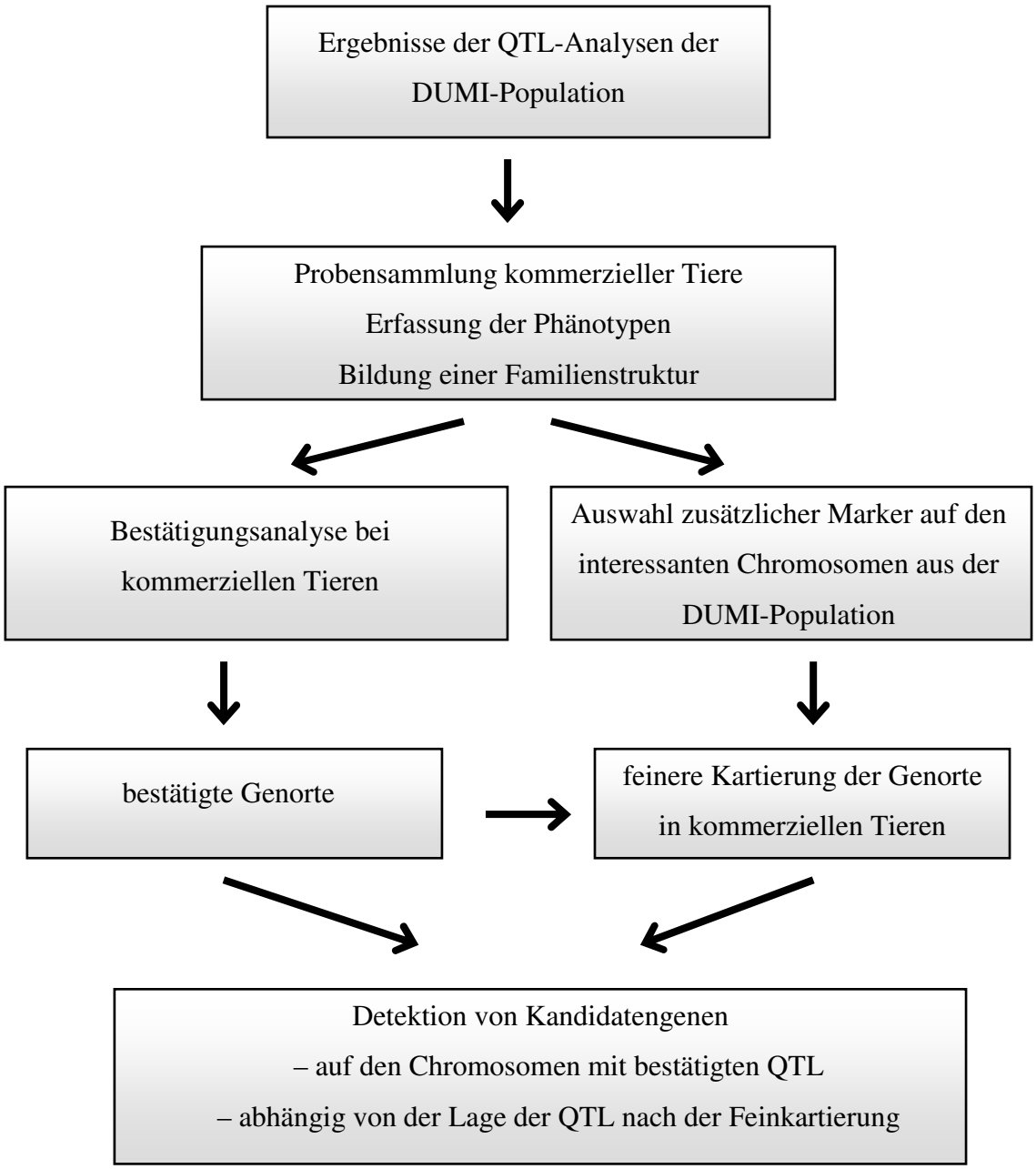

Abbildung 12: Eigene Versuchsplanung des Ablaufs der Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit, ausgehend von den Ergebnissen der vorhergehenden Untersuchungen

3.2 Aufbau der Tierpopulationen

3.2.1 Kommerzielle Tiere

In der vorliegenden Untersuchung wurden kommerzielle Schweine der DL und DE sowie deren Kreuzungen verwendet. Die Schlachtkörper der in den Leistungsprüfungsanstalten (*LPA*) Frankenforst in Vinxel und Haus Düsse geprüften männlichen Kastraten wurden am Schlachthof beprobt. Es wurden jeweils Proben der Zitzen entnommen und das Aussehen der Zitzen erfasst. Die Proben von Tieren mit einer Stülpzitze wurden aufgrund der vorliegenden Abstammungsdaten aus den LPAs den Vollgeschwistern zugeordnet und entsprechend des *affected Sibpair* Design zusammengestellt. Proben der Eltern von mindestens einem betroffenen Tier stammten von der Besamungsstation GFS in Ascheberg sowie dem Landesverband Rheinischer Schweinezüchter (*LRS*) und dem Schweinezuchtverband Nord-West (*SNW*). Die Proben der Tiere aus den Beständen des SNW konnten zum Teil aus der institutsinternen Datenbank entnommen werden, während die Tiere aus den Beständen des LRS in den angegliederten Zuchtbetrieben beprobt wurden. Es konnten nur etwa die Hälfte aller möglichen Familien für die Analysen weiter verwendet werden. Viele Tiere waren bereits selektiert und die Proben dieser Elterntiere konnten nicht mehr gewonnen werden. Aufgrund der geringen Divergenz der Rassen DL und DE wurde die Anzahl der untersuchten Familien ständig erhöht, um die Ergebnisse der QTL-Kartierung zu verbessern. Zusätzlich wurden 100 Tiere mit Nachkommen aus der Leistungsprüfungsanstalt Grub in Bayern verwendet. Diese Tiere wurden ebenfalls im *affected Sibpair* Design zusammengestellt. Gewebeproben und erfasste Phänotypendaten wurden von der bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) zur Verfügung gestellt. Die DNA-Proben dieser Tiere aus den bayerischen Betrieben wurden von der Firma AgroBioGen Veterinary Services (Hilgertshausen) isoliert.

Insgesamt wurden 500 Vollgeschwisterpaare mit Eltern in den QTL-Kartierungen verwendet. Die QTL-Kartierung über alle Chromosomen wurde bei 100 Tieren durchgeführt.

Als phänotypische Merkmale der Tiere aus den LPAs Frankenforst und Haus Düsse wurden alle Fleischleistungsmerkmale erfasst, die jedoch in dieser Arbeit nicht

berücksichtigt wurden. Weiterhin wurden die Nachkommen aus der LPA am zweiten Tag nach der Schlachtung auf Stülpzitzen untersucht. Proben einer Zitze von jedem Tier wurde entnommen, sodass auch eine histologische Bestätigung der als Stülpzitze charakterisierten Zitzen stattfinden konnte. Die Daten der Proben der bayerischen Tiere umfassen die komplette Zitzenbonitierung.

3.2.2 Versuchspopulation

Die Auswahl der verwendeten Chromosomenbereiche für die QTL-Kartierung bei den kommerziellen Tieren basiert auf vorhergehende Untersuchungen von Liu (2005), Oltmanns (2003) und Ün (2002) am Institut für Tierwissenschaften, Abteilung Tierzucht und Tierhaltung der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. Die Versuchspopulation, die für die vorhergehenden Untersuchungen verwendet wurde, ist eine F_2-Population, die auf der reziproken Kreuzung des Berliner Miniaturschweins mit Duroc beruht. Für die Erzeugung der F_1-Generation (Elterntiere) wurde ein Eber der Rasse Duroc mit vier Sauen der Rasse Berliner Miniaturschwein und ein Eber der Rasse Berliner Miniaturschwein mit fünf Duroc-Sauen mittels künstlicher Besamung wiederholt angepaart. Für die Erzeugung der F_2-Tiere wurden die Tiere aus der F_1-Generation untereinander angepaart. Für diese Untersuchung wurden als Merkmale die Gesäugebonitierungen mit Erfassung von Stülpzitzen verwendet. Die erfassten Fleischleistungsmerkmale wurden wie bei den kommerziellen Rassen nicht in die Analysen einbezogen.

Die Ausgangsrassen wurden aufgrund ihrer hohen Divergenz hinsichtlich verschiedener Merkmale ausgewählt, da sich solche Populationen besonders gut für QTL-Analysen eignen. Die Tiere wurden in vorhergehenden Untersuchungen bereits genotypisiert und eine QTL-Analyse über alle Autosomen wurde durchgeführt (Oltmanns 2003, Ün 2002). Die Ergebnisse dieser Versuche dienten als Grundlage für die Bestätigungsanalyse und die Feinkartierung der QTL-Regionen in den kommerziellen Rassen. Weitere Untersuchungen fanden in dieser Population nicht statt. Mit zunehmendem Anteil der Rasse Duroc wurde diese Versuchspopulation nicht mehr fortgeführt, da der Anteil von Tieren mit Defektzitze zu gering wurde. Abbildung 13 zeigt die Heterogenität der F_2-Generation der Versuchpopulation. In der F_1-Generation

wurden insgesamt 59 Tiere erzeugt, in der F_2-Generation 1.413 Tiere, von denen 969 Tiere genotypisiert wurden.

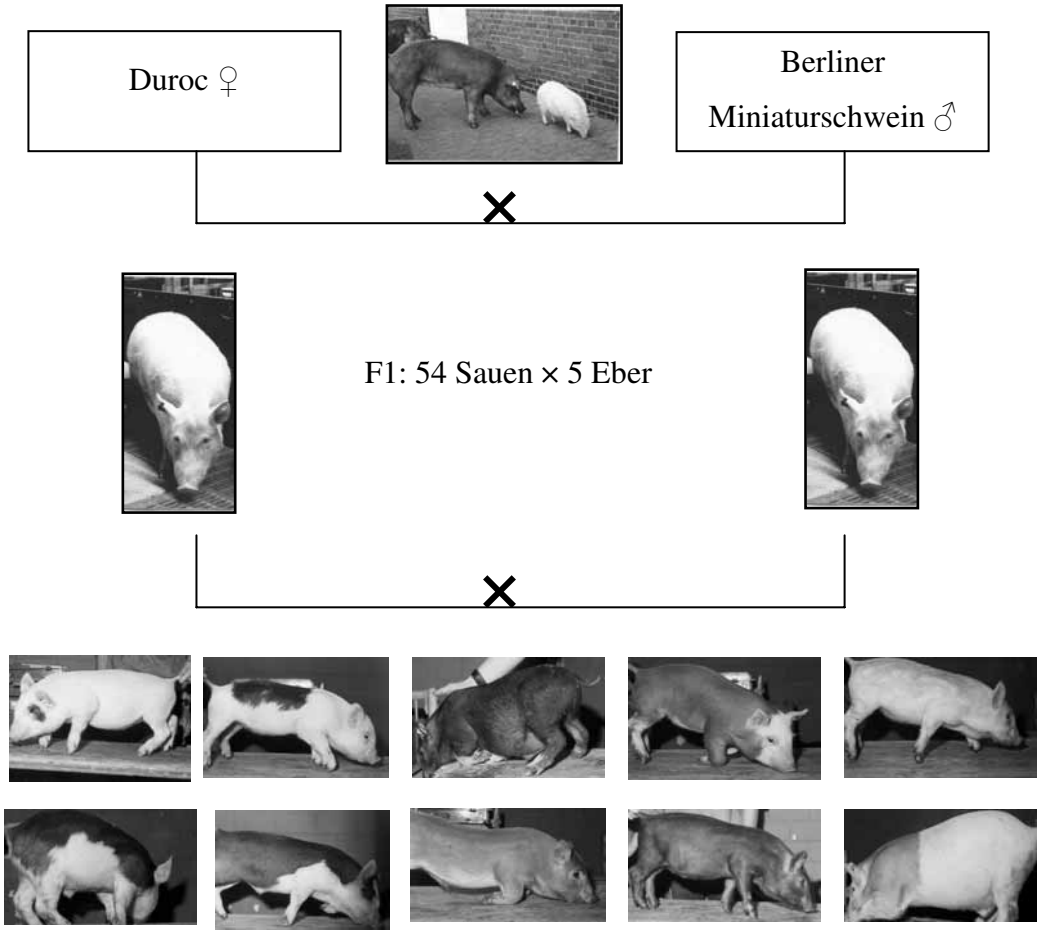

Abbildung 13: Bonn-Berlin-DUMI-Versuchspopulation: Beispiel für die Anpaarung eines weiblichen Miniaturschweins an einen Duroc Eber

3.2.3 Erfasste und untersuchte Merkmale

Die Tiere der kommerziellen Population stammten aus den stationären Leistungsprüfungen Haus Düsse, Frankenforst und Grub. Die Erfassung der Mast- und Schlachtleistungsmerkmale erfolgte nach den Richtlinien der Leistungsprüfung (ALZ Richtlinie, 2003). Für die vorliegende Untersuchung wurden zusätzlich die Anzahl der

Stülpzitzen der Tiere nach der Schlachtung erfasst. Die Gesäugebonitierung wurde immer von den gleichen Mitarbeitern durchgeführt, um eine gleichmäßige Bewertung der Zitzen zu gewährleisten. Ausnahme waren die Tiere aus Bayern, dort wurden die Bonitierungen wie bereits beschrieben von den Mitarbeitern der LPA Grub vorgenommen. Für die QTL-Kartierung wurden ausschließlich Tiere mit eindeutiger Stülpzitze verwendet. Die Phänotypen der Zitzen werden nach der Schlachtung erfasst, da der Defekt und die Beschaffenheit der Zitzen am sauberen Tier am Schlachtband eindeutiger erkannt werden können. Dies ist aufgrund der Verschmutzungen der Tiere im Bestand schwieriger. Zudem entspricht das Alter der Tiere auch dem Alter der Jungsauen zum Zeitpunkt der Selektion in den Zuchtbetrieben. Der Anteil der Stülpzitzen ist in Tabelle 12 aufgeführt. Es wurden insgesamt 2.160 Tiere in diese Beobachtungen einbezogen, davon konnten bei 244 Tieren mindestens eine Stülpzitze festgestellt werden.

Tabelle 12: Anteil der Tiere mit mindestens einer Stülpzitze in den Leistungsprüfungen; beobachtete betroffene Tiere n = 244 (von insgesamt 2.160 beobachteten Tieren)

beobachtete Tiere	beobachtetes Merkmal	Anzahl betroffener Zitzen		
		Durchschnitt	Minimum	Maximum
Tiere mit Stülpzitze (n = 244)	Anzahl der Stülpzitzen je betroffenes Tier	2,28	1	11
	Anzahl der Stülpzitzen linke Körperhälfte	1,26	1	5
	Anzahl der Stülpzitzen rechte Körperhälfte	1,04	1	6

Die Versuchspopulation wurde unter standardisierten Bedingungen auf dem Versuchgut Frankenforst der Landwirtschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn aufgezogen. Die Erhebung der Mast- und Schlachtleistungsmerkmale erfolgte ebenfalls nach den Richtlinien der stationären Leistungsprüfung. Als Versuchspopulationen wurden weitere Merkmale, beispielsweise Immunparameter, erfasst. In der F_2-Generation dieser Versuchspopulation traten vermehrt Stülpzitzen auf,

dadurch ist diese Population für die Zitzenmerkmale besonders interessant. Die Bonitierung des Gesäuges fand bei diesen Tieren am 130. und am 200. Lebenstag statt. Zusätzlich wurde die Anzahl der Zitzen und das Auftreten weiterer Zitzendefekte (beispielsweise Zwischenzitzen und Beizitzen) erfasst. Die Zeitpunkte der Bonitierung in beiden Populationen sind vergleichbar und ein Vergleich der Ergebnisse beider Populationen kann durchgeführt werden. In der Tabelle 13 sind die Ergebnisse der Bonitierung in der Versuchspopulation aufgelistet.

Tabelle 13: Ergebnisse der Gesäugebonitierung am 120. Tag in der Kreuzungsgeneration F_2-Generation der Versuchspopulation; Anzahl Beobachtungen n = 1.019

beobachtete Merkmale		Anzahl defekter Zitzen		
		Durchschnitt	Minimum	Maximum
Anzahl der Zitzen	je Tier	12,92	4	22
	linke Körperhälfte je Tier	6,57	5	8
	rechte Körperhälfte je Tier	6,45	5	8
Anzahl der Stülpzitzen	je Tier	2,18	0	12
	linke Körperhälfte je Tier	0,75	0	6
	rechte Körperhälfte je Tier	0,93	0	6

3.3 Material

3.3.1 Chemikalien und Enzyme

BeckmanCoulter, Krefeld	Fragmentanalyse Kit (Standard, SLS, Öllösung, Puffer)
Biomol, Hamburg	Phenol
Biozym, Hess. Oldendorf	Sequagel xR, Sequagel complete buffer reagent
GeneCraft, Münster	Taq Polymerase, 10×Buffer (Mg_2Cl)
Merck, Lohmar	Silan A174
MWG, Ebersberg	Primer unmarkiert, Primer markiert (IRD700, IRD800, Cy5)

Roth, Karlsruhe	Ammoniumperoxodisulfat, Borsäure, Chloroform, Dimethylsulfoxid, dNTPs, EDTA Dinatriumsalz Dihydrat, Ethanol, Essigsäure, Formamid, Natriumacetat, ProteinaseK, SDS, Tris (hydroxymethyl)-aminomethan
Sigma, Taufkirchen	Agarose, Blue Dextral, Bromophenol Blau, Isopropanol, M13-DNA, Primer markiert (IRD700, IRD800)
Sigma-Proligo, France	Primer markiert (Cy7)

3.3.2 Stammlösungen und Puffer

Agarose Beladungspuffer

Bromophenol Blau	0,5 mg/ml
Xylenzyanol	0,5 mg/ml
EDTA pH 8,0	10 mM
Formamid	98 % (v/v)

APS	10 % (w/v) in ddH_2O

Blue Dextral Beladungspuffer

Blue Dextran	10 mg/ml
EDTA pH 8,0	4 mM
Formamid	83 % (v/v)

Haftsilane

Silan A174	50 µl
0,5 % Essigsäure (v/v)	30 µl
ddH_2O	200 µl
95 % Ethanol	9,62 ml

Phenol-Chloroform

Phenol (100 %)	500 ml
Chloroform (100 %)	500 ml

ProteinaseK	2 % (w/v) in 1×TE
SDS	10 % (w/v) in ddH_2O
50×TAE (pro Liter)	
Tris	2 M
Essigsäure	57 % (v/v)
EDTA pH 8.0	0,05 M
10×TBE	
Tris	8910 mM
Borsäure	890 mM
EDTA pH 8,0	20 mM
1×TE	
Tris-HCl pH 8,0	10 mM
EDTA pH 8,0	1 mM
Verdauungspuffer	
NaCl	0,1 M
Tris-HCl pH 7,6	0,05 M
EDTA pH 8,0	1 mM

3.3.3 Verbrauchsmaterial

BeckmanCoulter, Krefeld	Pufferplatte, Multireaktionsplatte
Roth, Karlsruhe und Labomedic, Bonn	Multi-Reaktionsgefäße, Multi-Ultra Stripes, Pipettenspitzen, Falconröhrchen

3.3.4 Geräte

Elektrophorese/DNA-Analyzer

LI-COR Gene Reader 4200 DNA Analyzer, (MWG-Biotech, Ebersberg)

BeckmanCoulter, CEQ8000, Kapillarsequenzer (BeckmanCoulter, Krefeld)

Elektrophoresezubehör für Agarosegele

Power Pac 3000 (BIO RAD, München)

Sub-Cell GT, Elektorphoresekammer (BIO RAD, München)

UVIdoc Transilluminator, CCD Kamera und Monitor (UniEquip, Martinsried)

Spektralphotometer

Beckman, Unterschleissheim-Lohhof

Thermocycler

PTC 100 Thermal Controller MJ Research, Inc. (Biozym, Hess. Oldendorf)

PTC 150 Minicycler (Biozym, Hess. Oldendorf)

iCycler BIO RAD (BIO RAD, München)

Weitere Geräte

HERMLE Z323K, Zentrifugation (Hermle, Wehingen)

Milli Q und RiOs Wasser-Reinigungsanlage (Millipore, Eschborn)

3.3.5 Verwendete Software

Assoziations-Analyse

FBAT: http://www.biostat.harvard.edu/~fbat/fbat.htm

Berechnung der Genkarten

Crimap, Version 2.4 (Green et al. 1990)

Bestimmung der Allellängen

OneDScan: Scanalytics Inc., Billerica, MA

Fragmentanalyse: BeckmanCoulter, Krefeld

Graphische Darstellung der Genkarten

MapChart 2.2 (ttp://www.biometris.wur.nl/UK/Software/MapChart/)

Mikrosatelliten-Analyse

Image Analysis Programm, Version 4.10: LI-COR Biotechnologie, USA

QTL-Analyse

Genehunter, Version 2.1 (Kruglyak et al. 1996)

Auswertung der Tierdaten der Versuchspopulation

SAS, Version 8.2: SAS Institut Inc., Cary, NC, USA

Tm Bestimmung der Primer

http://www.iit-biotech.de/iit-cgi/oligo-tm.pl

Vergleich Nukleotide

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast

Gendetektion

http://www.ncbi.nlm.nih.gov (National Center for Biotechnology Information)

3.4 Isolierung genomischer DNA

Für die Genotypisierung der Marker wurde die Erbsubstanz der Tiere, die Desoxyribonukleinsäure (DNA), aus verschiedenen Substanzen und Geweben gewonnen.

Für die Genotypisierung der Tiere der Versuchspopulation wurde DNA aus Schwanzgewebe isoliert. Es wurden zwei bis drei reiskorngroße Stücke vom gefrorenen Gewebe abgeschnitten, mit einem Skalpell weiter zerkleinert und mit 700 µl Verdauungspuffer, 70 µl SDS sowie 18 µl ProteinaseK über Nacht bei 37°C schüttelnd für den Gewebeverdau inkubiert. Nach dem Verdau wurden 700 µl Phenol-Chloroform (1:1) zu der Probe pipettiert, mit der Verdauungslösung gut gemischt und zehn Minuten bei 10.000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde anschließend in ein anderes Röhrchen pipettiert, mit 700 µl Chloroform vermischt und erneut zehn Minuten bei 10.000 g zentrifugiert. Aus dem Überstand wurde in einem neuen Röhrchen mit 70 µl 3 M Natriumacetat sowie 700 µl Isopropanol (100 %) die DNA ausgefällt. Das DNA-Pellet wurde nach kurzer Zentrifugation mit 200 µl Ethanol (70 %) gereinigt, anschließend getrocknet und in 200 bis 500 µl TE über Nacht bei Raumtemperatur aufgelöst. Nach der Bestimmung der Qualität und des DNA-Gehalts mittels Dichtebestimmung bei 260 nm und 280 nm im Photospektrometer wurde die DNA bei 4°C aufbewahrt.

3.5 Mikrosatellitentypisierung

3.5.1 Auswahl der Marker

Die Marker für die Grobkartierung in dieser Untersuchung wurden, basierend auf Arbeiten von Ün (2002), Oltmanns (2003) und Liu (2005) ausgewählt, da diese Grobkartierung dazu diente, die QTL-Genorte aus der Versuchspopulation in einer kommerziellen Population zu bestätigen (Liu 2005, Oltmanns 2003, Ün 2002). Zunächst wurden Marker in 100 kommerziellen Tieren über alle Chromosomen typisiert, später ausgewählte Mikrosatellitenmarker auf den Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6 und 14 in der kommerziellen Population typisiert. Die Auswahl der Marker basierte auf den publizierten Genmappen der US-amerikanischen Gruppe (*USDA-MARC*) sowie für vier Mikrosatellitenloci auf dem Chromosom 6 auf der Kopplungskarte der europäischen Gruppe (*PiGMaP*). Die untersuchten Marker waren gleichmäßig mit Abständen zwischen 5 cM und 30 cM über die Chromosomen verteilt.

Aufgrund der Ergebnisse, die in den Arbeiten von Ün (2002) und Oltmanns (2003) erzielt wurden, und den Ergebnissen der eigenen Bestätigungsanalyse erfolgte die Auswahl zusätzlicher Mikrosatelliten. Für die Auswahl der Marker zur weiteren Eingrenzung der QTL-Regionen für den Stülpzitzendefekt dienten die publizierten Genkarten der MARC-Datenbank.

Die Abstände zwischen den Markern lagen zwischen 8 cM und 15 cM, weiterhin wurden die Randregionen, insbesondere Regionen hinter Markern an gefundenen QTL-Genorten, weiter abgedeckt. Die folgenden Abbildungen Abbildung 14, Abbildung 15, und Abbildung 16 zeigen die Chromosomen mit der Markeranordnung.

Wurden in der Datenbank mehrere Marker in einer Region aufgeführt, wurden sie entsprechend der weiteren Angaben zu der erwarteten Heterozygotie, der Fragmentgrößen sowie der Schmelztemperaturen der Primer ausgewählt.

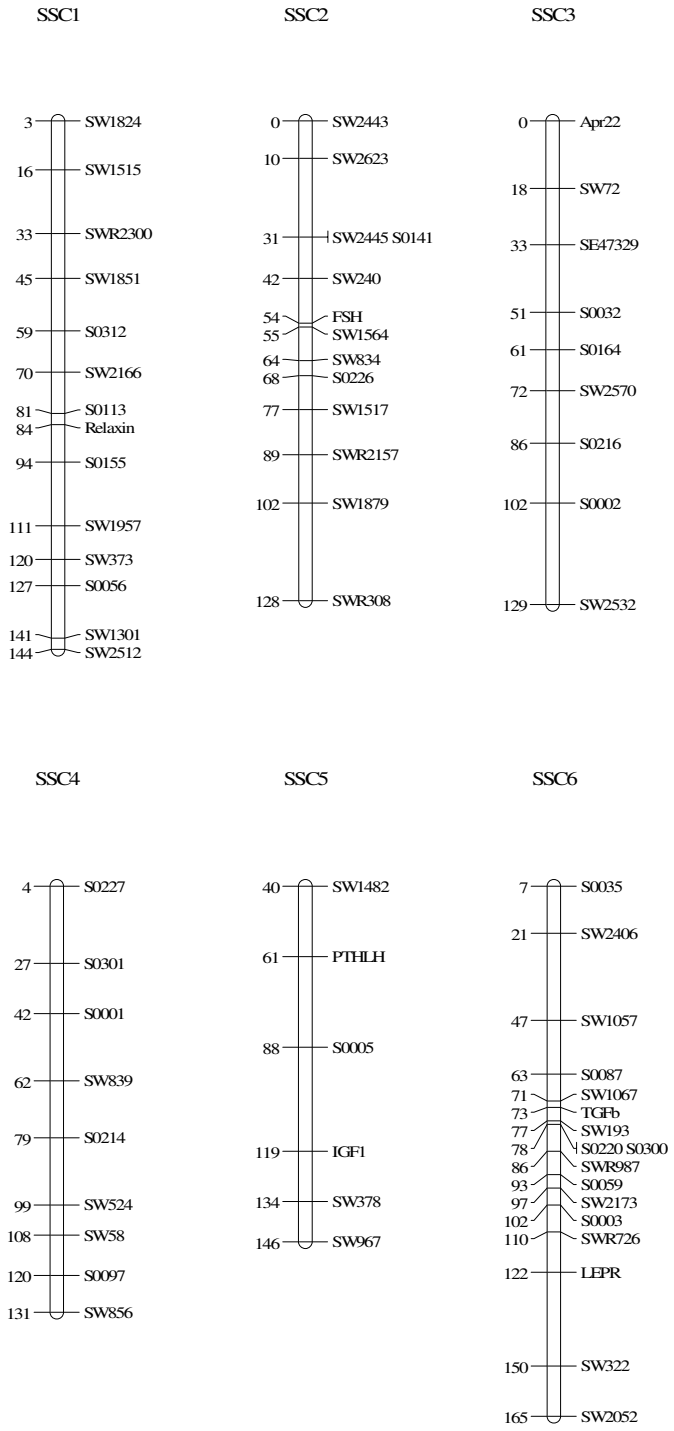

Abbildung 14: Genkarten der Chromsosomen 1 bis 6 und die Angabe der Reihenfolge der verwendeten Marker sowie ihrer Position in cM auf der MARC-Genkarte (http://www.marc.usda.gov/genome/swine/marker_list.html)

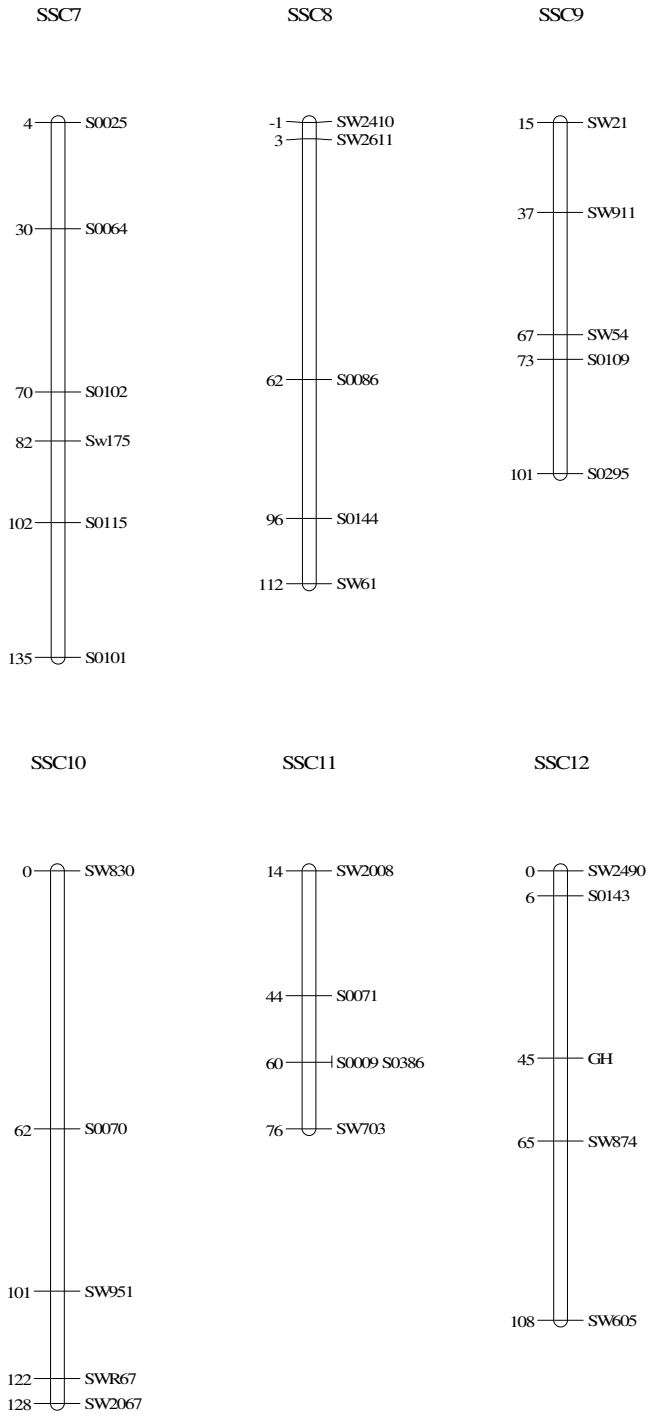

Abbildung 15: Genkarten der Chromsosomen 7 bis 12 und die Angabe der Reihenfolge der verwendeten Marker sowie ihrer Position in cM auf der MARC-Genkarte (http://www.marc.usda.gov/genome/swine/marker_list.html)

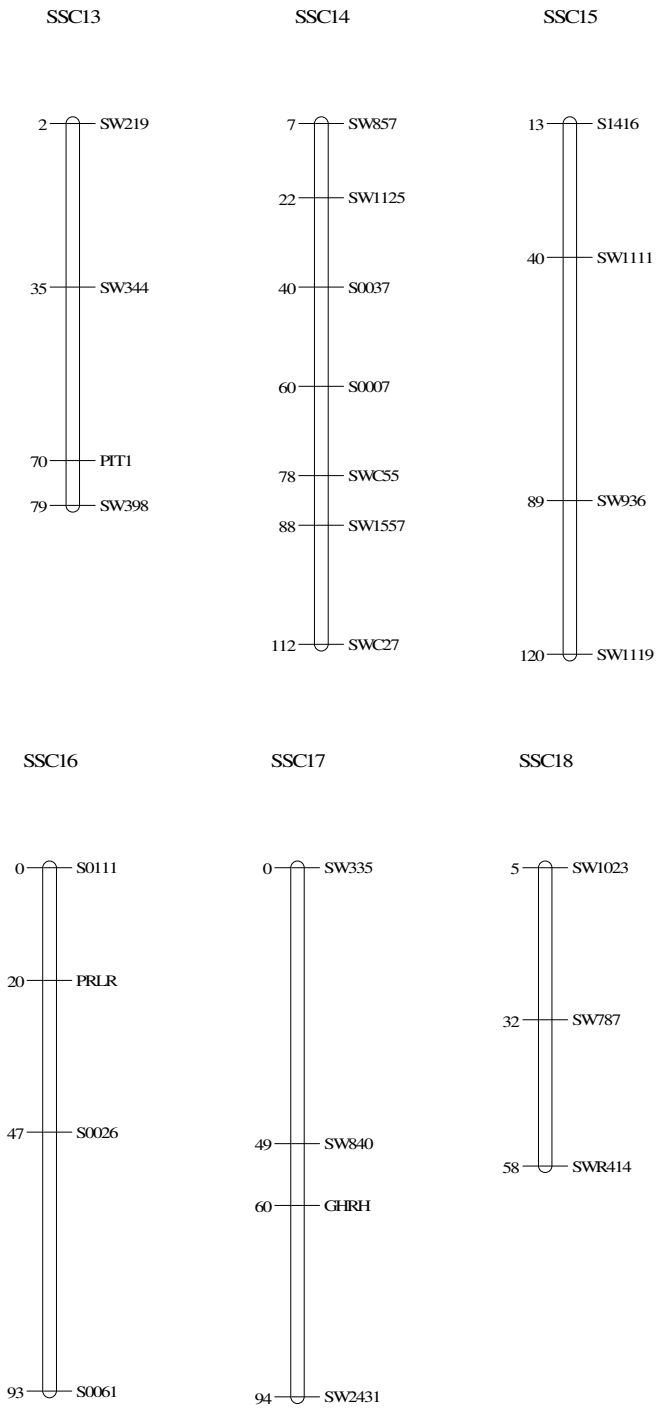

Abbildung 16: Genkarten der Chromsosomen 13 bis 18 und die Angabe der Reihenfolge der verwendeten Marker sowie ihrer Position in cM auf der MARC-Genkarte (http://www.marc.usda.gov/genome/swine/marker_list.html)

3.5.2 Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktionen (PCR) wurden mit Volumen zwischen 6 bis 12 µl durchgeführt, je nach benötigter Produktmenge für die Analyse. Da für die Analyse auf dem LICOR-Sequenzer nur 1 bis 2 µl PCR-Produkt benötigt wird, wurde auch nur PCR-Produkt mit einem Volumen von 6 µl produziert. Die Lösungsvolumen der Marker für den BeckmanCoulter-Kapillarsequenzer CEQ8000 mit den Primerlabeln Cy7 wurde direkt verwendet, während die Label Cy5 und IRD700 weiter mit Wasser verdünnt wurden, um die gleichzeitige Analyse der verschiedenen Label innerhalb einer Mehrfachbeladung (*Multiloading*) trotz der unterschiedlichen Signalstärken zu ermöglichen.

Jede der PCR-Reaktionen enthielt 25 bis 50 ng genomische DNA, 0,1 bis 0,5 µM jedes Primers, 50 µM jedes dNTP, 0,5 U der Taq Polymerase (*Biotherm*) und 1,5 mM $MgCl_2$ in 1×PCR Puffer. Die PCR wurde in einem Thermocycler PTC 100 (*MJ Research USA*) bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 32 bis 42 Zyklen 94°C für 30 Sekunden 55 bis 62°C für 30 Sekunden, 72°C für 30 Sekunden und einer abschließenden Extension bei 72°C für 5 Minuten durchgeführt.

3.5.3 Herstellung der Längenstandards

Um die Basenpaarlängen der amplifizierten PCR-Produkte bestimmen zu können, ist es notwendig, gleichzeitig mit der Elektrophorese der PCR-Produkte einen Standard auf das Gel aufzutragen. Die Basenpaargrößen dieses Standards, auch DNA-Leiter genannt, sind bekannt. Neben den kommerziellen Standards wurde im Rahmen der Mikrosatellitenanalysen ein institutsinterner Standard verwendet. Die Fragmentgrößen des institutsinternen Standards entsprechen zum größten Teil dem kommerziellen Standard der Firma LICOR. Bei einem Vergleich des institutsinternen mit dem kommerziellen LICOR-Standard konnte die Übereinstimmung bestätigt werden. Der Standard wurde aus einer Mischung von je zwölf PCR-Produkten je Primermarkierung (IRD700 und IRD800) hergestellt. Die Fragmentlängen der Standardprodukte entsprachen den Basenpaargrößen 75 bp, 100 bp, 105 bp, 120 bp, 145 bp, 175 bp, 200 bp, 204 bp, 230 bp, 255 bp, 300 bp und 320 bp. Jede der PCR-Reaktionen enthielt 50 ng

M13-DNA (*Sigma*), 0,5 µM des jeweiligen unmarkierten Längenprimers und eines markierten Primers, 50 µM jedes dNTP, 0,5 U der Taq Polymerase (*Biotherm*) und 1,5 mM $MgCl_2$ in 1×PCR Puffer. Die PCR wurde in einem Thermocycler PTC 100 (*MJ Research USA*) bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 35 Zyklen 94°C für 30 Sekunden, 64°C für 30 Sekunden, 72°C für 1 Minute und einer abschließenden Extension bei 70°C für 5 Minuten, durchgeführt. Es wurden für jede Fragmentlänge zwei PCR-Produkte hergestellt, die jeweils die markierten Primer IRD700 oder IRD800 enthielten. Insgesamt wurden also vierundzwanzig PCR-Produkte amplifiziert. Für die Fragmentanalyse auf dem LICOR-Sequenzer wurden 1 µl aller PCR-Produkte mit je 30 µl Beladungspuffer und 25 µl Formamid (83 %) gemischt. Diese wurden zum Gesamtstandard mit je 2 µl in ein neues Röhrchen gegeben. Für die Fragmentanalyse auf dem CEQ8000-Sequenzer wurden je 5 µl der PCR-Produkte aus der Amplifikation mit den Primern der IRD800-Markierung in ein neues Tube gegeben und diese anschließend als Standard weiterverwendet.

3.5.4 Analyse auf dem LICOR-Sequenzer

Für die zweiundzwanzig Mikrosatellitenmarker, die zur Bestätigung der QTL-Genorte aus den vorangegangenen Arbeiten verwendet wurden, und für zusätzliche zwanzig Marker der Feinkartierung wurden Multiplex-PCR-Sets, basierend auf Annealingtemperaturen, Fragmentgrößen sowie Markierung der vorhandenen Primer, zusammengestellt.

Die PCR-Produkte wurden in einem sechsprozentigen Polyacrylamidgel auf einem DNA-Sequenzer (*DNA Analyzer, GENE Reader 4200*) elektrophoretisch aufgetrennt. Um ein wiederholtes Beladen des Gels zur ermöglichen, wurde Haftsilane zur Stabilisierung der Taschen aufgetragen. Die verwendete Polyacrylamidgel-Lösung, bestehend aus 15 ml Sequagel xR (*SQG-XR-842 MWG*), 3,75 ml Sequagel complete buffer reagent, 200 µl DMSO und 150 µl APS, wurde zwischen die gereinigten Glasplatten gegossen. Nach einer Stunde war das Gel erhärtet (polymerisiert) und die Elektrophorese konnte in 1×TBE durchgeführt werden. Die PCR-Produkte wurden 1:10 mit Blue Dextral Beladungspuffer gemischt und je 1 µl in die Taschen des Gels aufgetragen. Zusätzlich wurden für die spätere Analyse der Fragmentgrößen die Standardprodukte an beide Enden des Gels aufgetragen. Die Elektrophorese wurde bei

50°C, 50 W, 40 mA und bis zu 1.500 V durchgeführt. Die Daten aus der Elektrophorese wurden mit dem Image Analysis Programm, Version 4.10 (*LICOR Biotechnology*), analysiert.

Die Allelgrößen wurden mit der Software OneDScan identifiziert. Mit diesem Programm werden die Allellängen in Relation zu den Standardprodukten mit den bekannten Fragmentgrößen bestimmt. Die Fragmentgrößen wurden in Abständen von mindestens 2 bp über Desmile-Linien bestimmt und anschließend mithilfe der Report-Funktion zur weiteren Analyse in Exceltabellen übertragen.

3.5.5 Analyse auf dem CEQ8000-Sequenzer

Neun zusätzliche Mikrosatellitenmarker wurden auf dem Kapillar-Elektrophorese (*CE*) genetischen Analyse-System (*CEQ*) von BeckmanCoulter (*Krefeld*) analysiert. Die Markierungen der Primern für die Typisierung von den weiteren Markern wurden entsprechend des BeckmanCoulter CEQ8000-Sequenzers ausgewählt. Die IRD700-Färbung wurde gewählt, da Marker mit dieser Markierung ebenfalls auf dem LICOR-System analysiert werden können. Sie entsprach dem Beckman Label D3 im Wellenlängenbereich 685 nm bis 706 nm. Als weitere Primerlabel wurden Cy7 entsprechend D4 (Bereich 650 nm bis 670 nm) und Cy5 entsprechend D2 (750 nm bis 770 nm) ausgewählt.

Die Analyse der Marker wurde durch gleichzeitige Beladung der PCR-Produkte von acht bis zehn verschiedenen Markern durchgeführt. Diese Mehrfachbeladungen wurden, basierend auf die zu erwartenden Fragmentgrößen aus der MARC-Datenbank und der Färbungen der Primer, zusammengestellt. Falls möglich, wurden innerhalb der Multiloadings auch die PCRs in Multiplexen, das heißt gleichzeitige Amplifikation verschiedener Fragmente mit unterschiedlichen Primern in einer PCR, durchgeführt.

Zum Vergleich der Proben wurde der institutseigene Standard mit dem Label IRD800, der dem D1 Beckman Label entspricht, verwendet (Fragmentgrößen 75, 100, 105, 120, 145, 175, 200, 204, 230, 255, 300 und 325 bp).

Zur Analyse wurden die PCR-Produkte mit den Cy5-Labeln 1:5 bis 1:10, die PCR-Produkte mit der IRD700-Färbung 1:2 bis 1:5 mit Wasser verdünnt. Die verschiedenen PCR Produkte wurden in Mengen zwischen 0,6 µl bis 1,2 µl mit je 23 µl SLS Puffer und 0,3 µl Standard gemischt und auf dem CEQ8000-Sequenzer analysiert. Als zusätzlicher

Puffer wurde der Beladungspuffer von BeckmanCoulter verwendet. Die Denaturierungszeit betrug zwei Minuten bei 90°C, die Injektionszeit wurde zwischen 30 und 35 Sekunden gewählt, die Injektionsspannung betrug 2,0 kV. Die Fragmente wurden bei einer Spannung von 4,2 kV mit einer Dauer zwischen 60 und 85 Minuten aufgetrennt.

Die Fragmentgrößen wurden im Anschluss an alle Analysen mit der *Binning* Funktion bestimmt. Aufgrund der gleichzeitigen Analyse alle PCR-Produkte mit Standardgrößen im Hintergrund konnten somit Fehler aufgrund unterschiedlicher Laufzeiten der Fragmente in den verschiedenen Kapillaren weitgehend ausgeschlossen werden. Die Fragmente wurden automatisch den Markern zugeordnet. Die Liste der Fragmente und ihrer Basenpaarlängen wurde im Anschluss an die Analyse erstellt.

3.6 Statistische Auswertung der Ergebnisse

3.6.1 Informationsgehalt der Marker

Der Grad der Heterozygotie dient dazu, die Diversität der Allele beziehungsweise den Informationsgehalt eines genetischen Markers zu bestimmen. Der Informationsgehalt der genetischen Marker steigt mit steigender Heterozygotie. Diese wird berechnet durch

$$H = 1 - \sum_{k=0}^{k} p_i^2 ,$$

wobei p_i die Frequenz des i^{ten} Allels und k die Anzahl der Allele ist (Nei 1978, Otto und Goldstein 1992).

Alternativ kann die Informativität von genetischen Markern in Outbred Arten anhand des polymorphischen Informationsgehalts gemessen werden (Botstein et al. 1980). Der PIC eines Markers wird bestimmt durch

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^{k} p_i^2 - \sum_{i=1}^{k} \sum_{j=1+1}^{k} p_i^2 p_j^2 ,$$

wobei p_i die Frequenz des i^{ten} Allels und k die Anzahl der Allele ist (Botstein et al. 1980, Otto und Goldstein 1992).

Die Berechnung des PIC-Wertes wurde in Bezug zu kodominanten genetischen Markern entwickelt, um die Allele zu ermitteln, die durch einen betroffenen

heterozygoten Elternteil, der Träger eines dominanten Defektallels ist, vererbt werden (Otto und Goldstein 1992). Der PIC bestimmt die Wahrscheinlichkeit, dass der kodominante Markergenotyp eines Nachkommens verwendet werden kann, um festzustellen, welcher der beiden Markerallele durch einen Elternteil mit einem dominanten Defektallel vererbt wird. Der Ausdruck polymorphischer Informationsgehalt wird alternativ und häufig für die Heterozygotie und für mögliche andere Messmöglichkeiten der Informativität der Marker benutzt.

3.6.2 Kopplungsanalyse und Konstruktion der genetischen Karten

Die Daten aus den Analysen der Fragmentgrößen wurden zunächst mit *Pedcheck* (*Version 1.1*) auf fehlerhafte Genotypen geprüft (O`Connell und Weeks 1998). Die anschließenden Multipoint-Analysen wurden für weibliche, männliche und geschlechtsunabhängige Karten mit der *Crimap* Software (*Version 2.4*) durchgeführt (Green 1992). Es wurden unter anderem die Funktionen *twopoint* zur Analyse zwischen je zwei Markern sowie die Optionen *fixed* und *flipsn* verwendet. Berechnet wurden die Markerdistanzen in Kosambi- und Haldaneeinheiten sowie die Rekombinationsraten zwischen den Markern. Die Rekombinationsraten wurden für die weiteren QTL-Analysen verwendet.

3.6.3 QTL-Analyse

Die QTL-Analysen für das Merkmal Stülpzitze wurden in dieser Arbeit mit dem Programmpaket Genehunter, *Version 2.0 (Whitehead Institute, Cambridge, Massachusetts, USA)* (Kruglyak et al. 1996) durchgeführt. Dieses Analyseprogramm kann parametrische und nicht parametrische Analysen mit vielen genetischen Markern durchführen. Genehunter verwendet ausschließlich bimäre Merkmale, analysiert wurde das Merkmal „Stülpzitze vorhanden oder nicht“. Für die Analysen wurden jeweils die Vollgeschwister mit den Eltern verwendet. Zusätzlich zu dem Vollgeschwisterdesign wurden in den kommerziellen Familien ebenfalls auf einem Chromosom die Nachkommen zu Halbgeschwistergruppen zusammengestellt und als Halbgeschwisterdesign analysiert.

Bei nicht parametrischen Analysen werden die Individuen eines Pedigrees in *founder* und *non founder* unterteilt. Die *zwei* Eltern werden als *founder* Tiere eingeteilt, da deren Vorfahreninformationen nicht berücksichtigt werden. Die *n* Nachkommen, in diesen Analysen die Vollgeschwister jeder Familie, sind die *non founder* Tiere. Anhand eines Vererbungsvektors *v(t)* (*inheritance vector*) aus je einem parentalen oder maternalen Allel, das die Eltern an ihre Nachkommen weitergeben, kann dargestellt werden, welches Allel an die Nachkommen weitergegeben wird. Das Vererbungsmuster am Markergenort *t* wird somit durch diesen Vererbungsvektor *v(t) = (v1, v2, v3, v4, …, v2n-1, v2n)`* beschrieben. Dessen Elemente beschreiben die Ergebnisse der paternalen und maternalen Meisosen, die auf die *n* Nachkommen übertragen wurden. Für alle möglichen Allelkombinationen der Nachkommen lassen sich solche Vererbungsfaktoren darstellen. Vererbungsvektoren bei denen ein Nachkomme vom Eber ein maternales Allel erhält und der andere ein paternales Allel, werden anhand der Genotypen ausgeschlossen. Da alle Vererbungsvektoren als gleichwahrscheinlich betrachtet werden, beträgt die a posteriori Wahrscheinlichkeit 1/8. Durch Abzählen wird die Größe S_{pairs}, die Anzahl der Allele, die bei einem spezifischen Vererbungsvektor und beim paarweisen Vergleich der kranken Individuen identisch (*IBD*) sind, ermittelt. Ein normalisierter Wert (*normalized score*) Z(v), der unter der Nullhypothese H_0 einen Mittelwert von null und eine Varianz von eins hat, wird anschließend berechnet. Die Nullhypothese lautet dabei, dass keine Kopplung zwischen Krankheitslocus und Markerallel vorhanden ist (Kruglyak et al. 1996).

$$Z(\bar{x}) = \frac{[S(\bar{x}) - \mu]}{s}$$

$S(\xi) = S_{pairs}$

ξ = Mittelwert der $S_{pairs} = p\ \xi\ S_{pairs}$

P = a priori Wahrscheinlichkeit

$s^2 = p\ \xi\ (S_{pairs} - \mu)^2$

Anschließend wird unter der Nullhypothese die normalverteilte Teststatistik NPL (*non parametric linkage*) berechnet.

$$NPL = \xi\, Z(v) \times P$$

P = *a posteriori* Wahrscheinlichkeit

Diese NPL-Analyse berechnet den Anteil der geteilten Allele an jedem Genort auf dem gesamten Chromosom. Sie werden als Z0, Z1 und Z2 bezeichnet, mit

$$z0 = \frac{a0}{\lambda s}, \quad z1 = a1, \quad z2 = a2\frac{(2\lambda - 1)}{\lambda s}, \text{ mit}$$

λs = das relative Risiko für einen Nachkommen,

a0=¼,

a1=½ und

a2 =¼

3.6.4 Signifikanzschwelle der QTL-Analysen

Bei einer statistischen Analyse können zwei Fehler auftreten. Fehler vom Typ I sind falschpositive Fehler und Fehler vom Typ II sind falschnegative Fehler. Zur Reduzierung der falschpositiven Fehler, die ein größeres Problem bei QTL-Analysen darstellen, wird ein Signifikanzniveau beim Genomscan festgelegt. In einer F_2-Population ist ein NPL-Wert von etwa 4,3 notwendig, um ein Signifikanzniveau von 1 % bei einer genom-weiten Untersuchung zu erreichen. Bei einem Signifikanzniveau von 5 % beträgt der NPL-Wert ungefähr 3,0 (Lander und Kruglyak 1995). Mit den genom-weiten Signifikanzschwellen erhält man signifikante oder suggestive Kopplung, wobei die signifikante Kopplung mit einer 5 % genom-weiten Signifikanz definiert wird. Die suggestive Kopplung ist gleichzusetzen mit einem vermuteten falsch positiven Ergebnis je Merkmal in einem gesamten Genomscan.

Bei den Analysen der kommerziellen Familien ergab die Analyse mit Genehunter bereits bei NPL-Werte unter 4,3 signifikante p-Werte. Daher wurden die mit dem Programm Genehunter errechneten chromosom-weiten Signifikanzen anschließend in experiment-weite Signifikanzen transformiert. Da keine Marker auf den Autosomen kartiert wurden, konnte keine Transformation zu den genom-weiten Signifikanzen

vorgenommen werden. chromosom-weite Signifikanzschwellen werden mit der Methode des Permutationstests berechnet (Churchill und Doerge 1994). Diese empirische Methode betrachtet die Distribution der genotypischen und phänotypischen Daten. Es wurden für das Merkmal 10.000 Permutationen mit Intervallen von 1 cM für jedes Chromosom durchgeführt.

Die experiment-weiten Signifikanzlevel wurden mit folgender Formel berechnet

$$Pg = \frac{1-(1-Pc)}{r}$$

r = Länge des spezifischen Chromosom/Gesamtlänge aller Chromosomen

Pc = chromosom-weites Signifikanzlevel

3.6.5 Bestimmung der interessanten Allele

Im Anschluss an die QTL-Analysen wurden die Allele bestimmt, die im Zusammenhang mit dem Defekt Stülpzitze interessant sind. Dies diente zum Test einer möglichen Anwendbarkeit der Ergebnisse für die markergestützte Selektion. Es wurden Assoziationsanalysen mit dem Programm *FBAT* an allen Markern in den QTL-Regionen durchgeführt.

Allele, bei denen eine signifikante Assoziation auftrat, wurden anhand des F-Wertes in Allele eingeteilt, die häufiger bei Tieren mit Stülpzitzen oder häufiger bei Tieren mit normalen Zitzen auftraten.

Diese Analysen spielen insbesondere für zukünftige Projekte, bei denen Merkmale benötigt werden, um Proben verschiedener Tiere für Microarray-Analysen zu poolen, eine Rolle. Insbesondere bei Feten und jungen Tieren ist der Phänotyp der Zitze jedoch noch nicht identifizierbar. Somit sind genetische Daten zur Einteilung von Probenmaterial anhand einer indirekten Gendiagnose notwendig.

FBAT testet in einem Zwei-Schritte Prozess. Im ersten Schritt wird die Teststatisitk definiert, diese reflektiert Assoziation zwischen dem Merkmalslocus und dem Markerlocus. Im zweiten Schritt wird die Verteilung der Daten der Genotypenmarker unter der Nullhypothese getestet. Dabei werden die Genotypen der Nachkommen als zufällig behandelt (Rabinowitz und Laird 2000).

Die generelle FBAT-Statistik U basiert auf einer linearen Kombination der Genotypen der Nachkommen und der Merkmale

$$U = S - E[S] \quad mit \quad S = \sum_{ij} T_{ij} X_{ij}.$$

X_{ij} ist eine Funktion des Genotyps des j-ten Nachkommens in Familie i an dem gestesteten Locus (abhängig von dem angewandten genetischen Modell)
T_{ij} ist eine Funktion des Merkmals (abhängig von möglicherweise unbekannten Parametern)

$$T_{ij} = Y_{ij} - \mu_{ij}$$

Y_{ij} ist das beobachtete Merkmal des j-ten Nachkommen in der Familie i
μ_{ij} ist eine Zufallsvariante

Die Annahme der Expression der generellen FBAT-Statistik wird unter der Nullhypothese "keine Kopplung und keine Assoziation zwischen dem Marker und dem Gen" berechnet. Die basiert auf T_{ij} und den Genotypen der Eltern. Unter derselben Nullhypothese ist U wie erwartet, da E(U) = 0.
Mit der Verteilung der Genotypen der Nachkommen (X_{ij} wird als zufällig behandelt und T_{ij} als fix), V = Var(U) = Var(S) kann ebenfalls unter der Null berechnet werden und verwendet werden, um U zu standardisieren.
Wenn X_{ij} die Skalarsumme der Genotypen eines Individuums ist, dann ist die gesamte Probenteststatistik

$$Z = \frac{U}{\sqrt{V}}$$

näherungsweise N(0,1). Wenn X_{ij} ein Vektor ist, dann gilt, dass

$$\chi^2 = U`V\text{-}U$$

Eine näherungsweise χ^2-Verteilung mit den Freiheitsgraden ähnlich dem Status von V hat (Horvath et al. 2001).

In dieser Untersuchung wurde keine FBAT Analyse mit der Nullhypothese „keine Assoziation unter der Voraussetzung von Kopplung“ durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Charakterisierung der Marker

In der kommerziellen Population wurden 101 Mikrosatellitenmarker und acht Polymorphismen in verschiedenen Genen typisiert. Die Marker hatten zwischen einem und 21 Allelen, durchschnittlich 7,43 Allele mit einer durchschnittlichen Heterozygotie von 0,64 und einem durchschnittlichen Informationsgehalt von 0,61. In der Tabelle 14 sind die Anzahl der Marker und Allele sowie die Heterozygotie auf den einzelnen Chromosomen aufgelistet.

Tabelle 14: Charakterisierung der verwendeten Marker: analysierte Marker je Chromosom (SSC) mit den Merkmalen der Polymorphie, jeweils geringster Wert (min.), höchster Wert (max.) sowie der durchschnittliche Wert (Ø) je Chromosom und von allen untersuchten Chromosomen (Σ)

SSC	Anzahl Marker	Anzahl gefundener Allele			Heterozygotie der Marker			Informationsgehalt der Marker		
		min.	max.	Ø	min.	max.	Ø	min.	max.	Ø
1	14	2	12	7,79	0,15	0,79	0,66	0,14	0,77	0,63
2	12	2	21	9,33	0,35	0,83	0,71	0,29	0,81	0,67
3	9	6	16	9,56	0,63	0,87	0,8	0,57	0,77	0,77
4	9	4	19	10	0,21	0,88	0,65	0,2	0,87	0,62
5	4	6	11	8	0,21	0,79	0,62	0,2	0,75	0,6
6	14	2	17	7,79	0,01	0,88	0,58	0,06	0,87	0,55
7	5	4	9	5,2	0,52	0,82	0,68	0,49	0,8	0,63
8	4	3	10	7,75	0,57	0,79	0,74	0,48	0,76	0,7
9	5	1	5	3,6	0	0,69	0,44	0	0,63	0,4
10	4	4	10	6,5	0,54	0,84	0,67	0,48	0,82	0,63
11	4	4	8	5,25	0,55	0,6	0,58	0,45	0,56	0,52
12	3	4	12	9,42	0,18	0,75	0,55	0,17	0,71	0,52
13	3	4	6	5.67	0,57	0,71	0,66	0,49	0,65	0,6

Fortsetzung Tabelle 14

SSC	Anzahl Marker	Anzahl gefundener Allele			Heterozygotie der Marker			Informationsgehalt der Marker		
		min.	max.	Ø	min.	max.	Ø	min.	max.	Ø
14	7	3	16	8,57	0,54	0,9	0,75	0,52	0,89	0,72
15	3	5	10	7,67	0,68	0,78	0,74	0,62	0,76	0,7
16	3	4	10	9,22	0,32	0,81	0,63	0,31	0,79	0,61
17	3	4	8	5,67	0,32	0,6	0,44	0,3	0,56	0,41
18	3	6	7	6,67	0,53	0,77	0,68	0,47	0,74	0,64
Σ	109	3,78	11,5	7,43	0,38	0,78	0,64	0,35	0,75	0,61

4.2 Kopplungskarten

Die Gesamtlänge der errechneten Genkarten in den kommerziellen Familien über die achtzehn Chromosomen betrug 3.337 cM. Die Kartenlängen lagen zwischen 36,1 cM auf Chromosom 15 und 559 cM auf Chromosom 6 mit einer durchschnittlichen Kartenlänge von 185,36 cM. Der durchschnittliche Abstand der Marker auf den Chromosomen betrug 36,15 cM mit einem minimalen Abstand von 17,43 cM auf Chromosom 11 und einem maximalen Abstand von 70,95 cM auf Chromosom 17. Die Gesamtlänge der weiblichen Genkarte betrug 3.249,6 cM, die der männlichen Genkarte 3.340,6 cM. Die durchschnittliche Länge der weiblichen Genkarte je Chromosom betrug 180,5 cM, die der männlichen Genkarte 185,6 cM. Die kürzeste weibliche Genkarte wurde auf Chromosom 15 ermittelt (28 cM), die längste Genkarte auf Chromosom 1 (538,7 cM). Ebenfalls wurde auf Chromosom 1 mit 590,6 cM die längste männliche Genkarte und auf Chromosom 11 (12 cM) die kürzeste männliche Genkarte ermittelt. Der durchschnittliche Abstand der Marker auf der weiblichen Genkarte betrug 36,31 cM, auf der männlichen Genkarte 35,66 cM. Der geringste Abstand zwischen zwei Markern betrug auf der weiblichen Genkarte von Chromosom 12 16,2 cM und auf der männlichen Genkarte von Chromosom 11 4 cM. Der größte Abstand zwischen zwei Markern betrug auf Chromosom 10 der weiblichen Genkarte 68,33 cM und auf Chromosom 17 der männlichen Genkarte 94,95 cM.

Da die Marker auf den Chromosomen 5, 7 bis 13 und 15 bis 18 bei nur etwa 100 Tieren genotypisiert wurden, werden diese von den Ergebnissen der interessanteren Chromosomen (Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6, und 14) getrennt betrachtet. Aufgrund der Ergebnisse der QTL-Kartierung in der Versuchspopulation wurden diese Chromosomen ausgewählt, um sie mit weiteren Markern abzudecken.

4.2.1 Kartierung in der DUMI-Population

Die Karten und die QTL wurden in der Versuchspopulation neu berechnet, da neue Marker hinzugekommen waren. Es wurden insgesamt 67 Mikrosatellitenmarker und 28 bi-allele Marker in diesen Analysen verwendet. Tabelle 15 beschreibt die errechneten Abstände der Marker in der Population aus den Kartierungen mit CRIMAP.

Tabelle 15: Untersuchte Mikrosatellitenmarker auf den Chromosomen 1 bis 18 in der Versuchspopulation, multi-allele und bi-allele (*) Marker sind aufgeführt

SSC	untersuchte Marker, ihre Reihenfolge auf den Chromosomen sowie ihre jeweilige genetische Distanz zueinander					
SSC1	SW1515	33,0 cM	SW1851	30,8 cM	C5*	17,9 cM
	L159*	24,3 cM	RLN*	8,0 cM	S0155	85,4 cM
	SW1301					
SSC2	SW2443	40,2 cM	L144	22,5 cM	SW240	11,2 cM
	STS2*	14,3 cM	C3*	23,6 cM	SW1564	22,9 cM
	BHMT*	12,0 cM	S0226			
SSC3	SW72	51,8 cM	S0164	12,4 cM	NTAN*	19,8 cM
	SW2570	36,7 cM	S0002			
SSC4	S0227	42,7	S0001	20,0	CRH*	25,1
	S0214	38,4	S0097			
SSC5	SW1482	39,6 cM	SW1134	21,1 cM	PTHLH*	14,8 cM
	C1R*	28,8 cM	IGF1	38,1 cM	SW378	
	S0003					

Fortsetzung Tabelle 15

SSC	untersuchte Marker, ihre Reihenfolge auf den Chromosomen sowie ihre jeweilige genetische Distanz zueinander					
SSC6	S0035	26,1 cM	L248*	36,0 cM	S0087	11,3 cM
	SW1067	9,7 cM	SW193	5,4 cM	S0300	6,1 cM
	TGFβ*	10,9 cM	C1QA*	10,9 cM	C8*	33,3 cM
	S0220	40,5 cM	S0059	15,8 cM	S0003	42,2 cM
	LEP*					
SSC7	S0025	25,0 cM	S0064	23,6 cM	DQR*	21,1 cM
	BF*	15,0 cM	DRB*	15,0 cM	S0102	16,8 cM
	SW175	33,1 cM	S0115	31,3 cM	S0101	
SSC8	SW2410	57,2 cM	KIT1*	10,6 cM	S0086	25,2 cM
	S0144	23,2 cM	SW61			
SSC9	SW21	25,8 cM	SW911	35,1 cM	SW54	15,4 cM
	S0109	35,4 cM	S0295			
SSC10	SW830	68,4 cM	S0070	46,9 cM	ITIH2*	30,5 cM
	SW2067					
SSC11	SW2008	32,7 cM	S0071	32,9 cM	S0386	36,4 cM
	SW703					
SSC12	S0143	49,0cM	SW874	47,7 cM	SW605	34,4 cM
	L147*					
SSC13	S0219	41,9 cM	SW344	35,9 cM	SW398	16,1 cM
	IL12P3*	6,1 cM	HGO*			
SSC14	SW857	14,8 cM	MBL1*	19,3 cM	MBL2*	22,6 cM
	S0007	31,2 cM	VIN*	34,2 cM	SWC27	
SSC15	S0355	32,8 cM	SW1111	51,4 cM	SW936	32,9 cM
	SW1119					
SSC16	L84*	40,6 cM	S0111	52,9 cM	S0026	14,9 cM
	IL12P40*	29,5 cM	S0061			
SSC17	SW335	33,8 cM	SW840	33,3 cM	SW2431	
SSC18	SW1023	23,2 cM	SW787	38,8 cM	SWR414	

4.2.2 Bestätigungskartierung in der kommerziellen Population

Auf den Chromosomen 5, 7 bis 13 und 15 bis 18 wurden 42 Marker, durchschnittlich 3,5 Marker je Chromosom in 29 Familien bestehend aus 100 Tieren, genotypisiert. Die durchschnittliche Länge der Chromosomen betrug 103,1 cM mit einem durchschnittlichen Abstand von 38,6 cM je Chromosom. In der Tabelle 16 sind die Abstände zwischen den verwendeten Markern aus den Ergebnissen der Kartierung mit CRIMAP aufgeführt.

Die durchschnittliche Länge der weiblichen Genkarte betrug 112,4 cM, die der männlichen Genkarte 87,2 cM. Der durchschnittliche Abstand der Marker auf der weiblichen Genkarte betrug 40,5 cM, auf der männlichen Genkarte 34,7 cM.

Tabelle 16: Untersuchte Mikrosatellitenmarker auf den Chromosomen 5, 7 bis 13 und 15 bis 18 in den kommerziellen Familien, multi-allele und bi-allele (*) Marker sind aufgeführt

SSC	untersuchte Marker, ihre Reihenfolge auf den Chromosomen sowie ihre jeweilige genetische Distanz zueinander					
SSC5	SW1482	42,8 cM	S0005	0,1 cM	PTHLH*	44,5 cM
	IGF1	27,8 cM	SW967			
SSC7	S0025	76,9 cM	S0102	20,4 cM	SW175	33,4 cM
	S0115	34,8 cM	S0101			
SSC8	SW2611	46,3 cM	S0086	19 cM	S0144	21,3 cM
	SW61					
SSC9	SW21	21,7 cM	SW911	0 cM	SW54	51,1 cM
	S0109	51,2 cM	S0295			
SSC10	SW830	40,4 cM	S0070	78,3 cM	SW951	73,9 cM
	SWR67					
SSC11	SW2008	28,5 cM	S0071	16,1 cM	S0009	7,7 cM
	SW703					
SSC12	SW2490	28,3 cM	GH*	28,7 cM	SW874	38,5 cM
	SW605					

Fortsetzung Tabelle 16

SSC	untersuchte Marker, ihre Reihenfolge auf den Chromosomen sowie ihre jeweilige genetische Distanz zueinander					
SSC13	S0219 SW398	100 cM	SW344	30,6 cM	PIT1*	10,5 cM
SSC15	Sw1111	20,6 cM	SW936	15,5 cM	SW1119	
SSC16	S0111 S0061	57,9 cM	S0026	20,0 cM	PRLR*	2,5 cM
SSC17	SW335 SW2431	38,9 cM	SW840	0,1 cM	GHRH*	86,3 cM
SSC18	SW1023 SWR414	29,8 cM	LEP*	7,3 cM	SW787	34,6 cM

4.2.3 Kartierung der QTL

Die Anzahl der analysierten Marker auf den Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6 und 14 wurde im Anschluss an die Bestätigungskartierung erhöht, sodass die Regionen feiner kartiert werden konnten. So können QTL besser lokalisiert werden, die Anzahl der Gene in den Regionen verringert sich und somit die Anzahl der möglichen Kandidatengene.

Auf den Chromosomen wurden insgesamt 65 Marker untersucht, durchschnittlich 10,8 Marker je Chromosom. Der durchschnittliche Abstand zwischen den Markern betrug 31,25 cM, auf der weiblichen Genkarte 27,9 cM, auf der männlichen Genkarte 37,5 cM. Die Längen der Genkarten lagen zwischen 126,7 cM auf Chromosom 14 und 559,4 cM auf Chromosom 1. Im Durchschnitt betrug die Länge 240,2 cM, auf der weiblichen Genkarte 311,0 cM, auf der männlichen Genkarte 365,7 cM. Die Anordnung der Marker auf der MARC-Datenbank ergab geringere Abstände zwischen den Markern, sodass die zusätzlichen Marker zu einer feineren Kartierung der Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6 und 14 führten. Die Ergebnisse der Kartierung dieser Chromosomen sind in Tabelle 17 aufgeführt.

Tabelle 17: Untersuchte Mikrosatellitenmarker auf den Chromosomen 1 bis 4, 6 und 14 in den kommerziellen Familien, multi-allele und bi-allele (*) Marker sind aufgeführt

SSC	untersuchte Marker und ihre jeweilige genetische Distanz zueinander					
SSC1	SW1824	100 cM	SW1515^{+}	24,6 cM	SWR2300	19,5 cM
	SW1851^{+}	34,8 cM	S0312	26,8 cM	SW2166	23,5 cM
	S0113	87,5 cM	RLN* $^{+}$	46,8 cM	S0155^{+}	19,3 cM
	SW1957	58,3 cM	SW373	20,6 cM	S0056	52,9 cM
	SW1301^{+}	24,0 cM	SW2512			
SSC2	SW2443^{+}	25,1 cM	SW2445^{+}	6,2 cM	S0141	21,2 cM
	SW240^{+}	23,9 cM	FSHB*	13,2 cM	SW1564^{+}	0,0 cM
	SW834^{+}	18,9 cM	S0226^{+}	29,7 cM	SW1517	22,4 cM
	SWR2157	30,0 cM	SW1879	71,9 cM	SWR308	
SSC3	APR22	100 cM	SW72^{+}	17,2 cM	SE47329	22,8 cM
	S0032	14,2 cM	S0164^{+}	28,2 cM	SW2570^{+}	39,8 cM
	S0216	23,0 cM	S0002^{+}	60,4 cM	SW2532	
SSC4	S0227^{+}	17,5 cM	S0301	31,5 cM	S0001^{+}	19,5 cM
	SW839	44,3 cM	S0214^{+}	82,6 cM	SW524	0,5 cM
	SW58	45,5 cM	S0097^{+}	24,6 cM	SW856^{+}	
SSC6	S0035^{+}	29,0 cM	SW1057	64,2 cM	S0087^{+}	25,0 cM
	SW1067^{+}	18,0 cM	SW193^{+}	27,7 cM	S0300^{+}	46,5 cM
	TGFβ* $^{+}$	89,9 cM	SWR987	18,8 cM	S0220^{+}	35,2 cM
	S0059^{+}	97,5 cM	SW2173	87,9 cM	S0003^{+}	13,7 cM
	SWR726	54,3 cM	LEPR			
SSC14	SW857^{+}	27,7 cM	SW1125	2,9 cM	S0037	48,1 cM
	S0007^{+}	0,1 cM	SWC55	16,0 cM	SW1557	32,0 cM
	SWC27^{+}					

$^{+}$ Marker aus der Bestätigungskartierung

4.3 Kartierung in der Versuchspopulation

Die Ergebnisse der Genotypen der DUMI-Versuchspopulation wurden erneut analysiert. Die Ergebnisse der QTL-Analysen in der DUMI-Population sind in Tabelle 18 aufgeführt.

Tabelle 18: Ergebnisse aus den QTL-Analysen in der DUMI-Population, je Chromosom sind die Werte für die chromosom-weiten Berechungen sowie die transformierten p-Werte für die experiment-weiten QTL mit Position und entsprechendem Marker aufgeführt

SSC	chromosom-weit		experiment-weit	Position des QTL	
	NPL-Wert	p-Wert	p-Wert	Lage [cM]	Marker
1	4,43	≤ 0,01**	0,09	283	SW1301
2	4,56	≤ 0,01**	0,04*	0	SW2443
3	3,9	≤ 0,01**	≤ 0,01**	76	S0164
4	4,6	≤ 0,01**	≤ 0,01**	166	S0097
5	3,83	≤ 0,01**	≤ 0,01**	0	SW1482
6	9,25	≤ 0,01**	≤ 0,01**	183	S0220
7	2,63	≤ 0,01**	0,04*	173	S0101
8	3,41	≤ 0,01**	≤ 0,01**	0	SW2410
9	2,35	≤ 0,01**	0,13	33	SW911
10	2,88	≤ 0,01**	0,03*	173	SW2067
11	3,35	≤ 0,01**	≤ 0,01**	87	S0386
12	6,7	≤ 0,01**	≤ 0,01**	0	S0143
13	1,92	0,02*	0,37	105	SW398
14	3,78	≤ 0,01**	≤ 0,01**	57	S0007
15	2,44	≤ 0,01**	0,09	119	SW936
16	3,14	≤ 0,01**	0,01*	186	S0061
17	0,64	0,23	0,99	87	SW2431
18	3,23	≤ 0,01**	0,02*	80	SWR414

*: signifikant $p \leq 0,05$ **: hoch signifikant $p \leq 0,01$

Die Ergebnisse entsprachen meist den bereits publizierten NPL-Werten und signifikanten QTL. Änderungen ergaben sich insbesondere aufgrund der Erweiterung der bisherigen Analyse um weitere Marker.

4.4 Bestätigungskartierung in den kommerziellen Familien

Die QTL-Kartierung der Chromosomen 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17 und 18 wurde mit 22 Familien, beziehungsweise mit 100 Tieren, durchgeführt. In Tabelle 19 sind die Ergebnisse der Analysen je Chromosom dargestellt. Es werden die NPL-Werte und die p-Werte für die chromosom-weiten Berechungen (Chr) sowie die transformierten p-Werte für die experiment-weiten QTL (Gen) mit Position (Pos.) und entsprechendem Marker aufgeführt. Weiterhin sind die Ergebnisse für die Tiere der Rassen DL und der Kreuzungstiere getrennt aufgeführt.

Tabelle 19: Ergebnisse aus den QTL-Analysen in den kommerziellen Familien

SSC	QTL Position		NPL-Wert	p-Werte					
	Pos. [cM]	Marker		gesamt		DL		DL×DE DE×DL	
				Chr	Gen	Chr	Gen	Chr	Gen
5	149	SW967	1,45	0,07	0,75	0,28	0,99	0,01**	0,19
7	166	S0101	0,77	0,1	0,75	0,17	0,92	0,13	0,84
8	76	S0086	0,9	0,06	0,8	0,06	0,79	0,01**	0,79
9	81	SW54	0,36	0,33	0,99	0,19	0,99	-	-
10	0	SW830	0,64	0,14	0,92	0,08	0,73	0,29	0,99
11	65	SW703	1,95	0,01**	0,24	0,04*	0,83	0,05*	0,9
12	26	SW874	0,74	0,21	0,99	-	-	0,17	0,99
13	50	SW344	0,73	0,2	0,97	0,42	0,99	0,04*	0,44
15	24	SW936	0,77	0,08	0,99	0,15	0,99	0,24	0,99
16	0	S0111	0,5	0,2	0,99	0,31	0,99	0,28	0,99
17	86	SW840	0,5	0,12	0,85	0,19	0,96	0,13	0,89
18	0	SW1023	0,17	0,37	0,99	0,29	0,99	0,42	0,99

*: signifikant $p \leq 0,05$ **: hoch signifikant $p \leq 0,01$ -: keine verwendbaren Daten

Die Analysen wurden ebenfalls getrennt bei den verschiedenen Rassen durchgeführt. Zusätzlich wurden die chromosom-weit ermittelten p-Werte zu experiment-weiten Werte transformiert.

Es konnten signifikante NPL-Werte auf dem Chromosom 11 festgestellt werden.

Auf Chromosom 5 wurde der höchste NPL-Wert von 1,45 gefunden. Es konnte jedoch noch kein signifikantes Niveau erreicht werden (p = 0,07). Bei der getrennten Analyse der Familien nach Rassen verringerte sich der NPL-Wert bei den DL Tieren auf 0,6 (p = 0,28). Der NPL-Wert von 1,92 bei der Analyse der Kreuzungstiere DE×DL und DL×DE ergab p = 0,011. Es konnte also eine Signifikanz bei der Analyse der Kreuzungstiere zum Niveau $p \leq 0,05$ in der Region des Markers SW967 festgestellt werden (Abbildung 17).

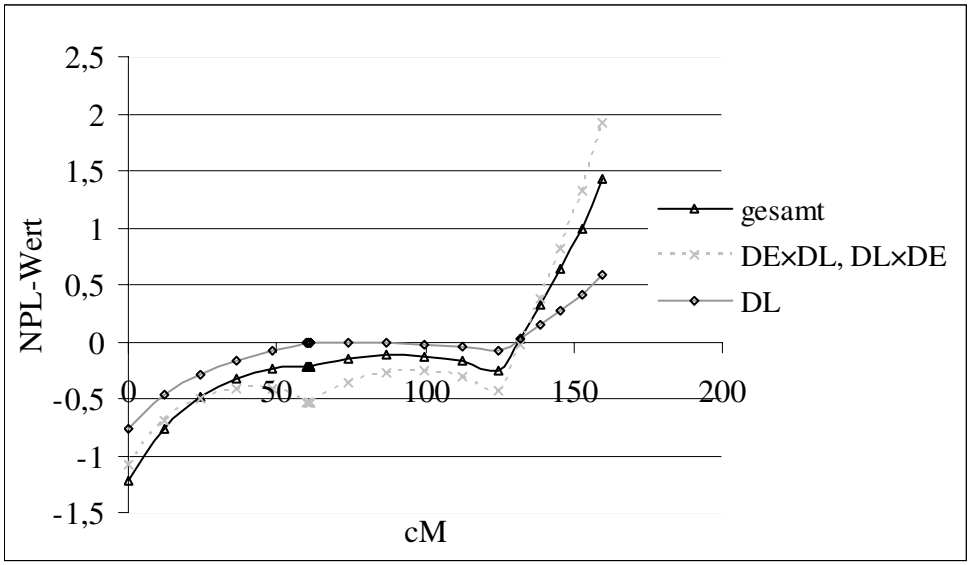

Abbildung 17: NPL-Werte auf Chromosom 5, unterteilt nach den Rassen DL und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)

Auf Chromosom 7 konnte kein signifikanter NPL-Wert festgestellt werden. Die Werte der rassenspezifischen Auswertung lagen unterhalb der NPL-Werte der Gesamtauswertung. Der höchste NPL-Wert wurde mit 0,77 (p = 0,1) am Genort mit dem Marker S0101 detektiert.

Bei der Analyse aller Tiere auf Chromosom 9 betrug der höchste NPL-Wert 0,36 (p = 0,33). Bei der Analyse der Kreuzungstiere und der Familien der Rasse DL konnten ebenfalls keine signifikanten NPL-Werte berechnet werden.

Auf Chromosom 10 wurde kein signifikanter QTL detektiert. Der höchste NPL-Wert und das niedrigste Signifikanzniveau p wurden bei der Auswertung der Familien der Rasse DL mit 0,813 und 0,075 erreicht.

Auf Chromosom 8 unterschieden sich die Ergebnisse zwischen den Rassen, insbesondere im Vergleich zu der Analyse der Familien der Rasse DL, erheblich. Bei der Analyse der DL Familien wurde ein höchster NPL-Wert von 1,01 (p = 0,06) um den Genort des Markers SW2611 ermittelt. In Abbildung 18 sind die Ergebnisse grafisch dargestellt.

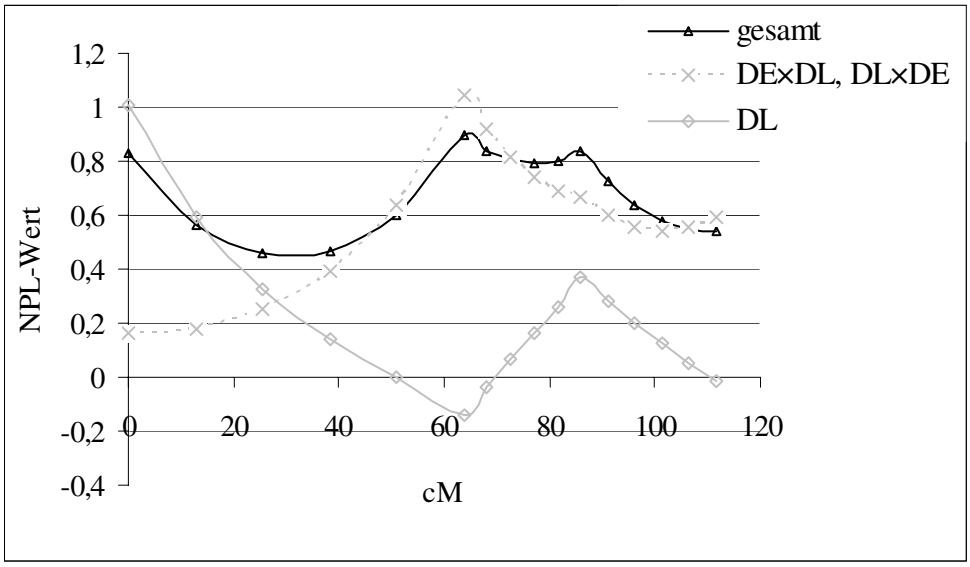

Abbildung 18: NPL-Werte auf Chromosom 8, unterteilt nach den Rassen DL und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)

Auf Chromosom 11 wurde an der Position 64,7 cM in der Region des Markers SW703 ein maximaler NPL-Wert von 1,95 gefunden. Es konnte eine chromosom-weit hohe Signifikanz ermittelt werden ($p \leq 0,01$). Bei der separaten Analyse der Familien der Rasse DL und der Kreuzungsfamilien wurden signifikante NPL-Werte von 1,5 und 1,32

ermittelt. Die Kurvenverläufe stimmten in allen Analysen überein, sie unterschieden sich jedoch in der Höhe, da auch die Anzahl der informativen Familien unterschiedlich war. Abbildung 19 zeigt die Kurvenverläufe der NPL-Werte.

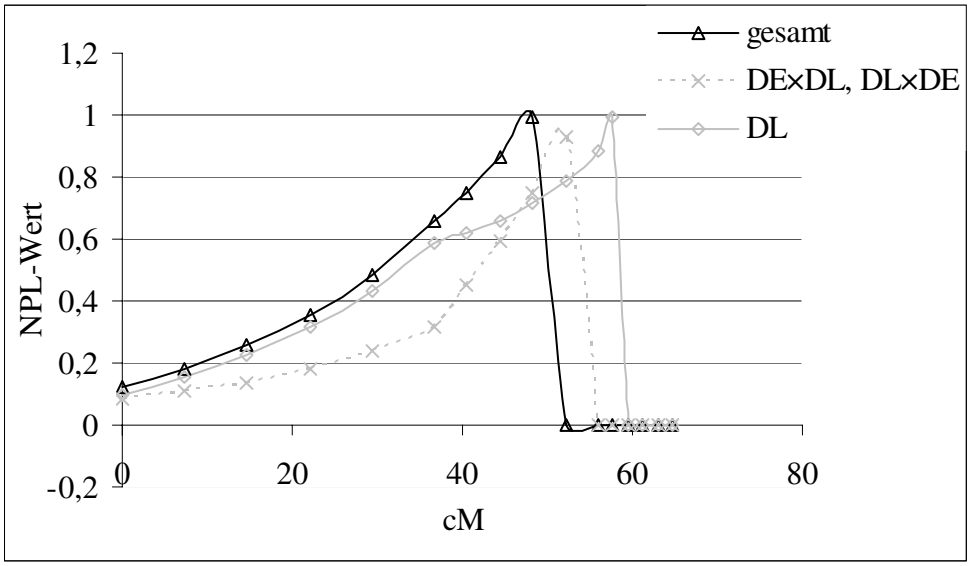

Abbildung 19: NPL-Werte auf Chromosom 11, unterteilt nach den Rassen DL und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)

Auf Chromosom 12 konnten keine signifikanten NPL-Werte ermittelt werden. Die Kurvenverläufe der NPL-Werte der Gesamtanalyse sowie der Analyse der Tiere der Rasse DL stimmten überein, die Höhen unterschieden sich geringfügig. Aufgrund der geringen Anzahl an vollständig analysierten Familien waren die NPL-Werte der Kreuzungsfamilien sehr niedrig. Der höchste NPL-Wert wurde bei der Gesamtanalyse am Genort um den Marker SW874 bei 25,5 cM mit 0,74 ermittelt, der p-Wert betrug 0,21. In der kommerziellen Population konnte kein QTL auf Chromosom 12 ermittelt werden.

Auf Chromosom 13 wurde bei der Auswertung der Tiere der Kreuzungen DL×DE und DE×DL ein signifikanter chromosom-weit signifikanter QTL mit einer F-Statistik von 1,41 detektiert ($p \leq 0,05$). Dieser QTL konnte experiment-weit ein signifikantes Niveau

erreichen. Abbildung 20 stellt die erreichten NPL-Werte der verschiedenen Analysen der Marker an den verschiedenen Genorten dar.

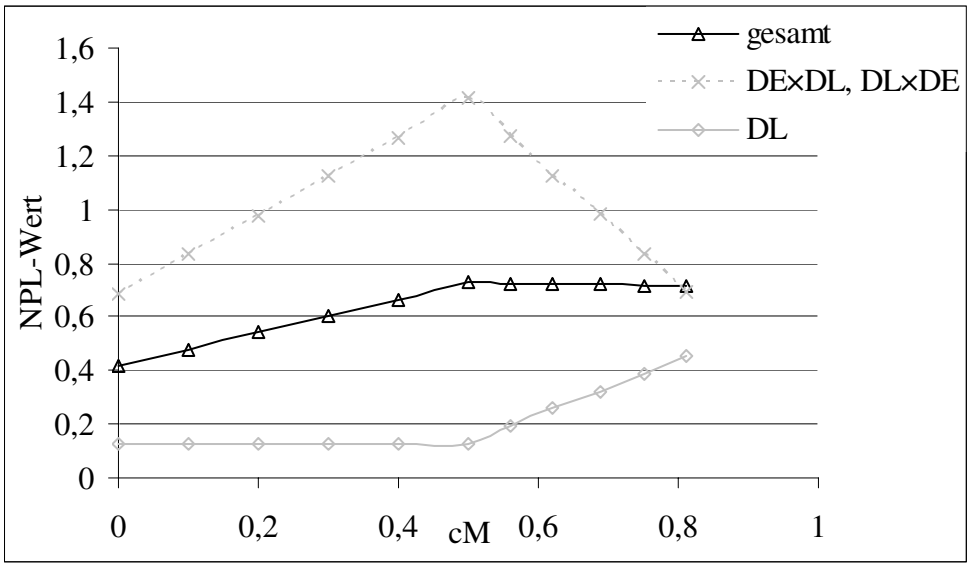

Abbildung 20: NPL-Werte auf Chromosom 13, unterteilt nach den Rassen DL und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)

Auf Chromosom 15 wurde der höchste erreichte NPL-Wert bei der Auswertung aller Familien am Genort des Markers SW936 mit 0,773 gefunden (p = 0,08).

Auf Chromosom 16 konnten keine signifikanten QTL gefunden werden.

Auf Chromosom 17 wurden bei der Auswertung der Ergebnisse in der kommerziellen Population keine signifikanten QTL festgestellt.

Der Informationsgehalt der Marker auf Chromosom 18 war sehr niedrig, ein hoher NPL-Wert wurde am Genort des Markers SW1023 erreicht. Es konnte kein signifikanter QTL detektiert werden.

4.5 Feinkartierung

Die QTL-Kartierung der Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6, und 14 wurde bei 100 Familien mit insgesamt 400 Tieren durchgeführt. Es wurden jeweils zwei QTL-Analysen durchgeführt. Zunächst die Kartierung zur Bestätigung der Genorte bei den Tieren der Versuchspopulation und anschließend die erweiterte Analyse mit zusätzlichen Markern. In den folgenden Tabellen werden jeweils die Ergebnisse der Bestätigungsstudie (Tabelle 20) sowie der Feinkartierung (Tabelle 21) für jedes Chromosom aufgeführt. Die Tabelle 20 zeigt die Ergebnisse der Bestätigungskartierung der kommerziellen Familien. Je Chromosom (SSC) sind die F-Werte und p-Werte für die chromosom-weiten Berechungen (Chr) sowie die transformierten p-Werte für die experiment-weiten QTL (Gen) mit Position (Pos) und entsprechendem Marker aufgeführt. Weiterhin sind die Ergebnisse für die Tiere der Rassen DL und der Kreuzungstiere getrennt aufgeführt.

Tabelle 20: Ergebnisse aus den QTL-Analysen der Bestätigungskartierung der kommerziellen Familien

SSC	Marker-loci des Peak	NPL-Wert	p-Werte					
			Gesamt		DL		DL×DE DE×DL	
			Chr.	Gen	Chr.	Gen	Chr.	Gen
1	SW1301	0,69	0,15	0,62	0,21	0,75	0,18	0,69
2	SW1564	0,59	0,11	0,89	0,4	0,99	0,05*	0,62
3	S0164	0,49	0,21	0,99	0,56	0,99	0,05*	0,63
4	S0097	0,99	0,04*	0,48	0,07	0,69	0,09	0,78
6	S0035	1,16	0,02*	0,27	0,18	0,87	0,07	0,52
	S0059	1,64	0,01**	0,1	0,1	0,66	0,04*	0,34
	S0003	0,69	0,1	0,66	0,05*	0,41	0,21	0,91
14	SW857	0,5	0,22	0,99	0,12	0,99	0,43	0,99
	S0007	0,19	0,37	0,99	0,57	0,99	0,1	0,97

*: signifikant $p \leq 0,05$ **: hoch signifikant $p \leq 0,01$

In den Bestätigungskartierungen konnten chromosom-weit signifikante QTL auf den Chromosomen 4 und 6 bei der Analyse aller Familien gefunden werden. Auf den Chromosomen 2, 3, und 6 wurden weiterhin auch chromosom-weit signifikante QTL bei der Analyse der Kreuzungsfamilien (DE×DL und DL×DE) und auf Chromosom 6 bei der Analyse der Tiere der Rasse DL detektiert. Die Anzahl der analysierten Tiere der Rasse DE war sehr gering, bei der separaten Betrachtung dieser Familien konnten keine signifikanten QTL festgestellt werden.

Bei der Feinkartierung auf diesen Chromosomen konnten signifikante NPL-Werte auf dem Chromosom 6 festgestellt werden. Tabelle 21 zeigt die Ergebnisse der Feinkartierung der kommerziellen Familien mit den NPL-Werten und p-Werten für die chromosom-weiten Berechungen (Chr) sowie die transformierten p-Werte für die experiment-weiten QTL (Gen) mit Position (Pos.) und entsprechendem Marker. Weiterhin sind die Ergebnisse für die Tiere der Rassen DL und der Kreuzungstiere getrennt aufgeführt.

Aufgrund der vorhergehenden Ergebnisse aus den Versuchspopulationen wurden die Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6 und 14 als interessante Chromosomen betrachtet und weitere Marker auf diesen Chromosomen analysiert.

Tabelle 21: Ergebnisse aus den QTL-Analysen der Feinkartierung der kommerziellen Familien

SSC	Marker-loci des Peak	NPL-Wert	p-Werte					
			Gesamt		DL		DL×DE DE×DL	
			Chr.	Gen	Chr.	Gen	Chr.	Gen
1	SW1824	0,63	0,12	0,53	-	-	0.05*	0,26
	S0312	0,89	0,05*	0,26	-	-	0,05*	0,26
	SW1301	0,66	0,11	0,5	-	-	0,02*	0,11
	SW2512	0,68	0,11	0,5	-	-	0,05*	0,26
2	SW1564	0,53	0,16	-	-	-	-	-
3	S0032	1,02	0,04*	0,54	0,1	0,7	0,19	0,98
4	S0097	0,99	0,04*	0,48	0,1	0,82	0,09	0,78
6	S0035	1,09	0,03*	0,27	0,06	0,47	0,18	0,87
	SW1067	0,85	-	-	0,07	0,52	-	-
	S0059	1,58	0,002**	0,02*	0,03*	0,27	0,05*	0,41
14	SWC55	0.87	-	-	-	-	0,05*	0,82

*: signifikant $p \leq 0,05$ **: hoch signifikant $p \leq 0,01$

4.5.1 Chromosom 1

Auf Chromosom 1 wurden vier Mikrosatellitenmarker und ein Polymorphismus im RLN-Gen als bi-alleler Marker verwendet. Die durchschnittliche Heterozygotie und der durchschnittliche Informationsgehalt der Marker lagen bei 0,63 und 0,59. Der höchste NPL-Wert betrug 0,93 bei einem p-Wert von 0,049 bei den Familien der Kreuzungstiere am Marker SW1301. Es wurde ein chromosom-weit signifikanter Wert auf SSC1 bei der Analyse der kommerziellen Population nur in diesen Familien gefunden.

In Abbildung 21 sind die Ergebnisse nach der Einbeziehung weiterer Marker in der Feinkartierung aufgeführt.

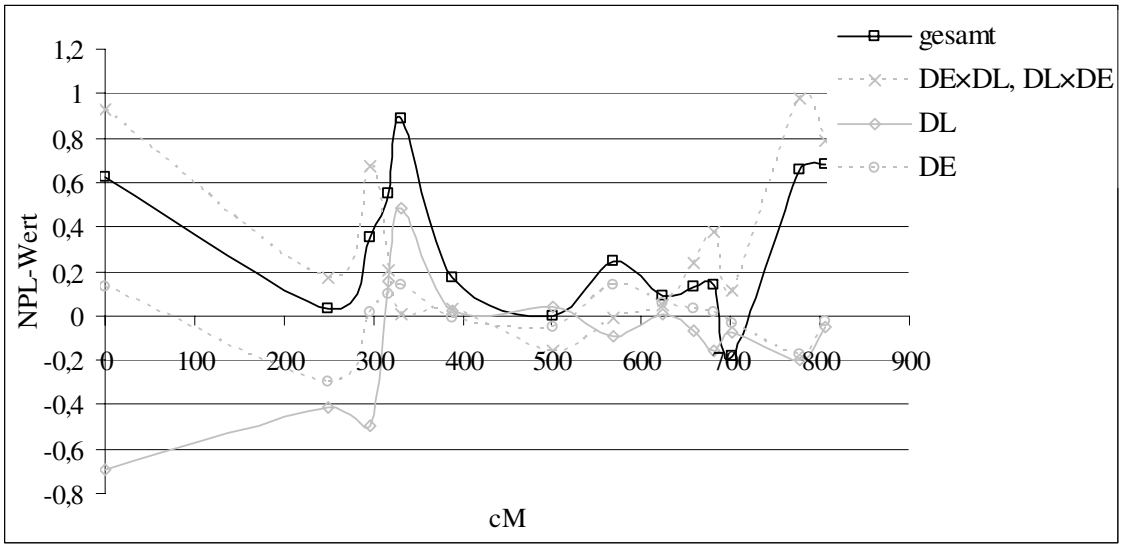

Abbildung 21: NPL-Werte auf Chromosom 1, unterteilt nach den Rassen DL, DE und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)

Es konnten bei dieser Analyse höhere NPL-Werte am Genort des Markers S0312 in der gesamten Analyse und der Analyse der Familien der Rasse DL festgestellt werden. Es wurden jedoch keine signifikanten Level erreicht. Bei der getrennten Analyse der Familien nach Rassen ergaben sich weiterhin chromosom-weit signifikante Werte bei den Hybridfamilien an den Markern SW1824, SW1301 und SW2512. Der höchste NPL-Wert von 0,98 ($p = 0,02$) wurde am Marker SW1301 berechnet.

4.5.2 Chromosom 2

Auf Chromosom 2 wurde in den kommerziellen Familien nur bei der getrennten Auswertung der Hybridfamilien ein signifikanter NPL-Wert festgestellt. Dieser konnte durch die Analyse mit zusätzlichen Markern nicht weiter erhalten werden.

Es wurden für die feinere Kartierung zehn Mikrosatellitenmarker und ein Polymorphismus im FSHB-Gen als bi-alleler Marker verwendet. Die durchschnittliche Heterozygotie und der durchschnittliche Informationsgehalt der Marker lagen bei 0,71 und 0,67.

4.5.3 Chromosom 3

Auf Chromosom 3 wurden bei der feineren Kartierung acht Mikrosatellitenmarker mit durchschnittlich 9,6 Allelen analysiert. Der Informationsgehalt der Marker lag zwischen 0,57 und 0,77. Die interessanteste Genregion lag bei der Bestätigungskartierung um den Marker S0164, dort wurde ein chromosom-weit signifikanter NPL-Wert bei der Analyse der Kreuzungstiere gefunden. Bei der Analyse mit zusätzlichen Markern lag der Marker mit dem höchsten NPL-Wert noch in dieser Region am Marker S0032. Dort wurde ein chromosom-weit signifikanter NPL-Wert von 1,02 bei der Analyse aller kommerziellen Familien gefunden. Die Abbildung 22 zeigt die Ergebnisse der Feinkartierung auf Chromosom 3.

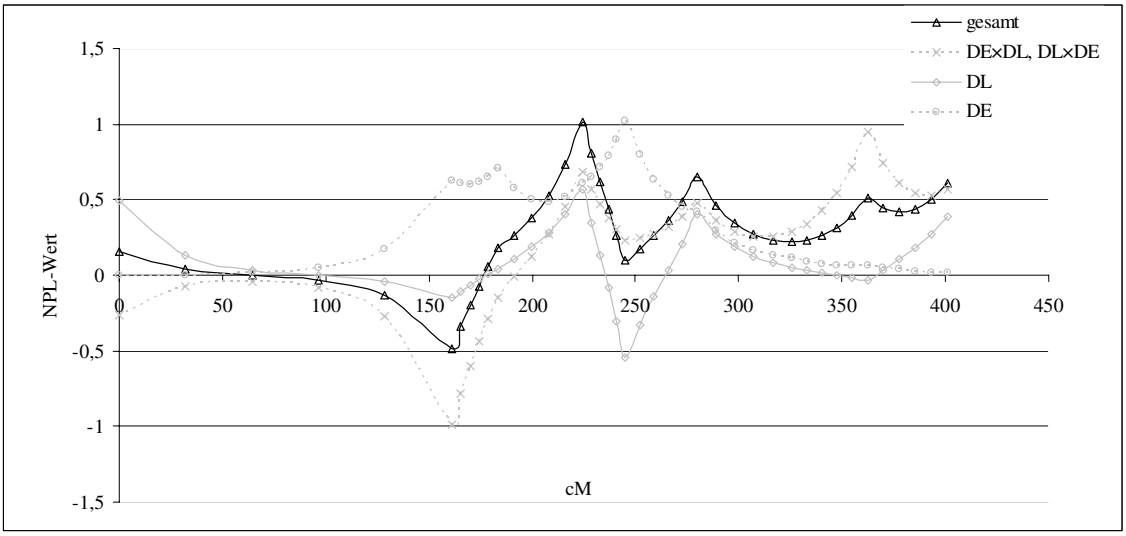

Abbildung 22: NPL-Werte auf Chromosom 3, unterteilt nach den Rassen DL, DE und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)

4.5.4 Chromosom 4

Auf Chromosom 4 wurden insgesamt neun Marker untersucht. Die Anzahl der Allele lag zwischen 4 und 19 Allelen. Der Informationsgehalt der Marker lag zwischen 0,2 und 0,87 mit einem durchschnittlichen Informationsgehalt von 0,62. Auf Chromosom 4 wurde der Genort des höchsten NPL-Wertes in der feineren Kartierung weiter bestätigt.

Der NPL-Wert von 0,99 ergab einen chromosom-weit signifikanten QTL bei der Analyse aller kommerziellen Familien bei der Bestätigungs- und der Feinkartierung. Abbildung 23 zeigt die Kurvenverläufe der QTL-Analysen auf Chromosom 4.

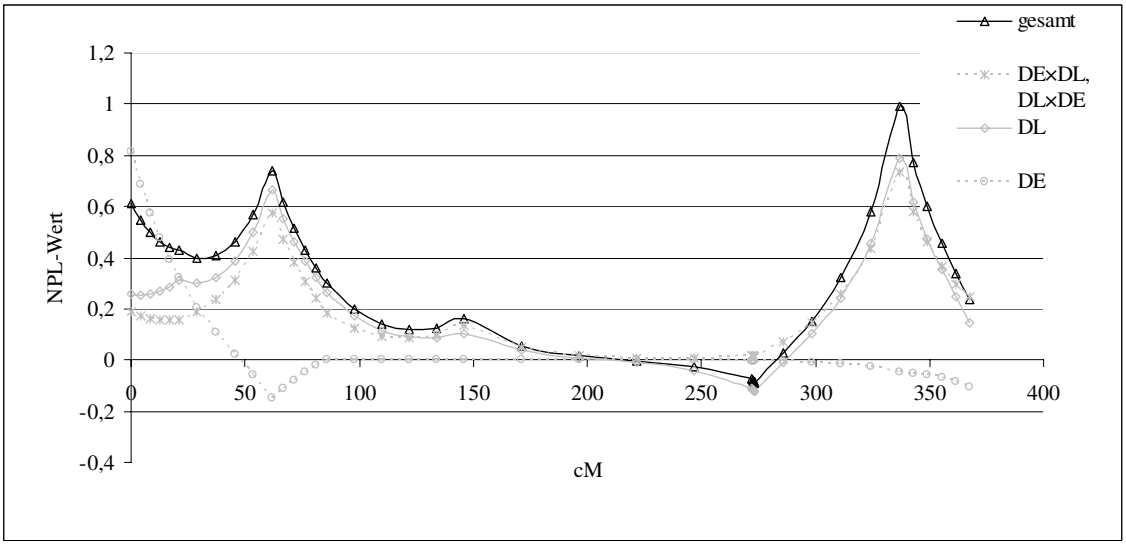

Abbildung 23: NPL-Werte auf Chromosom 4, unterteilt nach den Rassen DL, DE und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)

4.5.5 Chromosom 6

Chromosom 6 stellte sich in den QTL-Analysen in den kommerziellen Familien als das interessanteste Chromosom heraus. Daher wurde mit den zusätzlichen Markern der feineren Kartierung auch eine Analyse der Halbgeschwistergruppen durchgeführt, um eventuelle Unterschiede festzustellen und die interessantesten Genorte besser zu detektieren.

Die Abbildung 24 zeigt die Ergebnisse der QTL-Analysen der verschiedenen Auswertungen der Bestätigungskartierung.

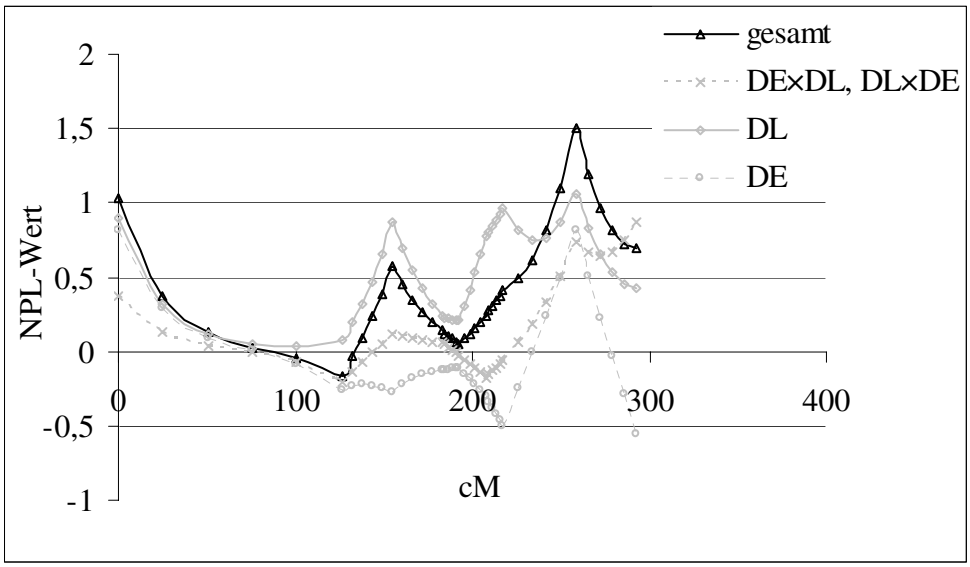

Abbildung 24: NPL-Werte auf Chromosom 6, unterteilt nach den Rassen DL, DE und den Kreuzungstieren (DE×DL, DL×DE)

Es wurden bei der Bestätigungskartierung chromosom-weit signifikante QTL an drei Genorten detektiert.

Am Genort des Markers S0035 wurde bei der Analyse aller Familien ein höchster NPL-Wert von 1,16 erreicht. Am Genort des Markers S0059 wurden signifikante NPL-Werte bei den Analysen aller Familien sowie den getrennten Analysen der Kreuzungstiere festgestellt. Der NPL-Wert an diesem Genort war mit 1,64 am höchsten, dieser war in den Analysen aller Familien hoch signifikant, konnte jedoch nach der Transformation nicht experiment-weit bestätigt werden. In den Familien der Rasse DL wurden signifikante Werte am Genort des Markers S0003 erreicht.

Durch die zusätzlichen Marker wurden insgesamt 13 Mikrosatellitenmarker und ein Polymorphismus im TGFβ1-Gen auf Chromosom 6 analysiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 25 dargestellt.

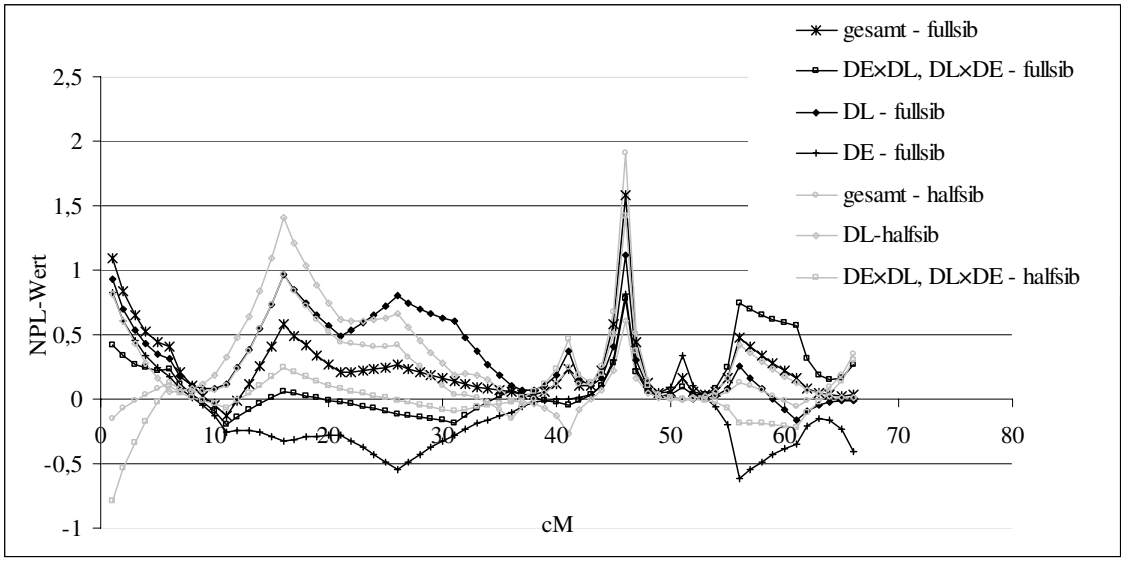

Abbildung 25: NPL-Werte der feineren Kartierung auf Chromosom 6, mit den Werten der Voll- und Halbgeschwisteranalysen (*fullsib* und *halfsib*), unterteilt in die verschiedenen Rassen

Die Marker hatten durchschnittlich 7,79 Allele mit einem durchschnittlichen Informationsgehalt von 0,55. Der signifikante NPL-Wert am Genort S0003 konnte nicht erhalten werden. Am Genort des Markers S0035 wurde weiterhin ein chromosom-weit signifikanter NPL-Wert von 1,09 bei der Analyse aller Familien gefunden. Am Genort des Markers S0059 wurden chromosom-weit signifikante und hoch signifikante NPL-Werte bei allen Vollgeschwisteranalysen gefunden. Bei der Analyse aller Vollgeschwister konnte dieser ebenfalls eine experiment-weite Signifikanz erreichen. Bei der Halbgeschwisteranalyse ergaben sich ebenfalls ein hoch signifikanter NPL-Wert von 1,91 bei der Analyse aller Familien im Halbgeschwisterdesign. Die Hybridfamilien hatten bei der Halbgeschwisteranalyse einen chromosom-weit signifikanten NPL-Wert von 1,4 am Genort dieses Markers. Bei dieser Analyse wurden sowohl in der Analyse aller Familien als auch ausschließlich der Tiere der Rasse DL ein chromosom-weit signifikanter NPL-Wert am Genort des Markers SW1067 festgestellt. Tabelle 22 listet die signifikanten NPL-Werte und die entsprechenden p-Werte der beiden Designs Vollgeschwister und Halbgeschwister auf dem Chromosom 6 an den interessantesten Markern auf.

Tabelle 22: Vergleichende Auflistung der NPL-Werte und der chromosom-weiten p-Werte der interessanten Marker auf SSC6

Analysendesign	Markerloci des Peak	Gesamt		DL		DE×DL, DL×DE	
		NPL-Wert	p-Wert	NPL-Wert	p-Wert	NPL-Wert	p-Wert
Vollgeschwister	S0035	1,09	0,03	0,93	0,06	0,42	0,18
	SW1067	0,49	0,2	0,85	0,07	0,04	0,43
	S0059	1,58	0,002	1,1	0,03	0,78	0,05
Halbgeschwister	SW1067	0,97	0,06	1,41	0,02	0,25	0,34
	S0059	1,91	0,001	0,6	0,18	1,41	0,02

4.5.6 Chromosom 14

Auf Chromosom 14 wurden die kommerziellen Familien an insgesamt sieben Markern genotypisiert. Dabei wurden zwischen drei und sechzehn Allele gefunden. Der Informationsgehalt der Marker lag zwischen 0,52 und 0,89. Bei der Bestätigungskartierung konnten keine signifikanten NPL-Werte festgestellt werden. Bei der Analyse der Hybridfamilien mit zusätzlichen Markern wurde ein chromosom-weit signifikanter NPL-Wert am Genort des Markers SWC55 gefunden.

4.6 Assoziationsanalyse der Mikrosatellitenallele

Die Assoziationsanalyse wurde mit dem Programm FBAT durchgeführt. Es wurde das additive bi-allele Modell verwendet. In der Tabelle 23 sind jeweils der Marker mit dem signifikanten Allel, der Erwartungswert der Signifikanz [E(S)], die Varianz der Signifikanz [Var(S)], die Z-Statisik [Z-stat] sowie der p-Wert aufgeführt. Zur Feststellung der Assoziationen zum Defektstatus wurden alle Marker analysiert. Dabei wurden auf allen Chromosomen, außer dem Chromosom 9, Allele mit signifikanter Assoziation zum Zitzendefekt gefunden. Hoch signifikant assoziierte ($p \leq 0{,}01$) Allele wurden auf folgenden Chromosomen, auf denen chromosom-weit signifikante QTL detektiert wurden, gefunden: auf SSC3 am Marker S0002 (Allel 199), auf SSC4 am Marker S0097 (Allele 148 und 170) und am Marker S0058 (Allel 166), auf SSC6 am Marker S0035 (Allel 179).

Tabelle 23: Ergebnisse der Assoziationsanalyse mit FBAT (additives bi-alleles Modell) auf den Chromosomen 1 bis 18 in den kommerziellen Familien

SSC	Marker	Allel	E(S)	Var (S)	Z-stat	p-Wert
1	SW1824	93	67,83	24,197	2,473	0,01*
	SW1515	132	105,25	34,116	2,183	0,03*
	SW1515	150	11,0	5,5	-2,132	0,03*
	SW1851	86	12,0	5,429	2,575	0,01*
	S0312	100	32,5	14,75	-2,994	≤ 0,01**
	SW2166	160	13,5	5,25	-1,964	0,05*
	SW2166	166	4,6	2,24	-2,405	0,02*
	S0155	163	6,5	3,25	-2,496	0,01*
	SW373	150	16,5	8,25	-2,611	≤ 0,01**
	SW373	160	112,5	35,08	3,799	≤ 0,001***
	SW1301	171	39,0	17,0	-2,425	0,02*
	SW2512	115	87,5	27,25	3,161	≤ 0,01**
	SW2512	117	28	12,5	-2,546	0,01*
	SW2512	119	31	12,5	-2,828	≤ 0,01**

Fortsetzung Tabelle 23

SSC	Marker	Allel	E(S)	Var (S)	Z-stat	p-Wert
2	SW834	124	7,0	3,5	2,673	≤ 0,01**
3	Apr22	145	17,9	6,6	1,967	0,05*
	SW72	102	2,0	1,0	-2,0	0,05*
	S0032	168	48,0	19,0	2,294	0,02*
	S0002	199	40,5	19,25	2,621	≤ 0,01**
4	S0097	148	122,156	40,835	3,888	≤ 0,001***
	S0097	170	46,156	21,835	-3,458	≤ 0,001***
	S0097	172	4,688	2,152	-2,513	0,01*
	S0227	238	2,5	1,25	-2,236	0,03*
	SW58	166	19,78	7,94	3,274	≤ 0,01**
	SW58	168	3,0	1,5	-2,449	0,01*
	SW856	166	10,5	5,25	1,964	0,05*
5	SW967	89	4,0	2,0	-2,828	≤ 0,01**
	SW967	93	21,0	6,5	4,315	≤ 0,001***
	SW967	97	5,0	2,5	-2,53	0,01*
6	SW1057	104	14,75	7,439	2,292	0,02*
	S0035	179	48,5	23,25	-3,007	≤ 0,01**
	TGFβ	1	26,0	4,929	2,252	0,02*
	TGFβ	2	10,0	4,929	-2,252	0,02*
	S0300	122	64,5	11,25	2,534	0,01*
	S0300	124	23,5	11,25	-2,534	0,01*
	SWR987	126	2,0	1,0	-2,0	0,05*
	SWR987	146	7,418	3,668	2,393	0,02*
	S0220	148	5,0	2,5	-2,53	0,01*
	S0059	146	31,425	15,669	2,419	0,02*
	S0059	154	16,0	8,0	-2,121	0,03*
	SW2173	110	2,0	1,0	-2,000	0,05*
	SWR726	93	32,167	11,319	2,328	0,02*
	S0087	180	24,5	11,25	-2,236	0,03*
	S0003	143	2,0	1,0	-2,0	0,05*

Fortsetzung Tabelle 23

SSC	Marker	Allel	E(S)	Var (S)	Z-stat	p-Wert
7	S0102	121	10,0	4,0	-2,5	0,01*
	S0115	203	14,5	7,25	2,043	0,04*
	S0115	207	32,583	13,535	-,2877	≤ 0,01**
8	SW2611	156	3,0	1,5	-2,449	0,01*
	S0144	214	7,5	2,25	2,333	0,02*
10	SW830	178	32,737	16,449	-2,672	≤ 0,01**
	SW830	180	111,237	38,444	4,639	≤ 0,001***
	SW830	184	34,925	17,419	-2,618	≤ 0,01**
	SW830	200	9,0	4,5	-2,357	0,02*
11	SW703	135	2,5	1,25	2,236	0,03*
	SW703	137	39,167	15,472	-2,076	0,04*
12	SW605	112	2,0	1,0	-2,000	0,05*
13	SW219	156	10,0	2,0	2,121	0,03*
	SW344	185	2,0	1,0	-2,0	0,05*
14	SW857	156	6,0	3,0	-2,309	0,02*
	SW1125	169	2,0	1,0	2,0	0,05*
	S0007	177	14,0	6,0	-2,041	0,04*
15	SW936	116	3,5	1,75	-2,646	≤ 0,01**
16	S0026	101	48,75	19,188	2,34	0,02*
17	SW840	127	69,0	19,5	2,265	0,02*
	SW840	129	10,0	4,5	-2,357	0,02*
18	SW1023	116	21,25	8,438	-2,152	0,03*
	SW787	154	62,837	26,574	2,553	0,01*
	SWR414	153	11,25	4,188	-2,566	0,01*

* signifikant ($p \leq 0,05$) **hoch signifikant ($p \leq 0,01$) ***hoch signifikant ($p \leq 0,001$)

Hoch signifikant assoziierte Allele ($p \leq 0,01$) auf Chromosomen, auf denen keine signifikanten QTL detektiert wurden, waren an folgenden Genorten vorhanden: SSC1 am Marker S0312 (Allel 100), SW373 (Allel 150 und 160), SW2512 (Allele 115 und 119), SSC2 am Marker SW834 (Allel 124), SSC5 am Marker SW967 (Allele 89 und

93), SSC7 am Marker S0115 (Allel 203), SSC10 am Marker SW830 (Allele 178, 180, 184) und SSC15 am Marker SW936 (Allel 116).

An den Genorten der Marker auf den Chromosomen 1, 2, 3, 4, 5 und 10 wurde eine hoch signifikante Assoziation zwischen dem Defekt und den Allelen gefunden (positive Z-Werte). Auf den Chromosomen 1, 4, 5, 6, 7, 10 und 15 waren die Allele hoch signifikant mit dem Merkmal „keine defekte Zitze“ assoziiert (negative Z-Werte).

5 Diskussion

5.1 Bedeutung des Stülpzitzendefekts

Die Bedeutung des Erbfehlers Stülpzitze nimmt in den aktuellen Populationen ab. Wie die Beobachtungen aus den Prüfungen der Leistungsprüfungsanstalten Frankenforst und Haus Düsse zeigen, ist der Anteil der defekten Zitzen jedoch noch hoch, wie man anhand der Tabelle 24 sieht (persönliche Mitteilungen der Mitarbeiter verschiedener Zuchtverbände). Erfasst wurden die defekten Zitzen je Tier, daraus wurde die durchschnittliche Anzahl der defekten Zitzen (Ø) berechnet.

Tabelle 24: Ergebnisse der Erfassungen des Zitzendefektes Stülpzitze (SZ) bei den Tieren aus den Leistungsprüfungen am Schlachthof in den Jahren 2003 bis 2005.

Jahr	Zucht-verband	Anzahl der beobachteten Tiere	Anzahl der Tiere mit mindestens einer Stülpzitze	Anteil der Tiere mit Stülpzitze [in %]	Ø Anzahl SZ je betroffenes Tier
2003	A	119	13	10,92	2,39
2003	B	455	59	10,8	1,9
2004	A	238	33	13,9	2,5
2004	B	684	96	14,04	2,19
2005	A	141	18	12,77	2,0
2005	B	349	45	12,89	2,5
Σ A		498	64	12,85	2,3
Σ B		1.488	200	13,44	2,2
Σ		1.986	264	13,29	2,25

Im Durchschnitt waren 13,29 % der geprüften Kastraten betroffen, dabei hatten die betroffenen Tiere im Durchschnitt 2,25 defekte Zitzen. Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Tieren aus den Zuchtverbänden festgestellt. Die Abweichungen zwischen den drei beobachteten Jahren sind ebenfalls als zufällig zu bewerten. Der Anteil der betroffenen Tiere in der LPA war bei den Tieren der Rasse DL mit 14,69 % am höchsten, wie die Ergebnisse der rassenspezifischen Erfassung des Zitzendefektes Stülpzitze

bei den Tieren aus den Leistungsprüfungen am Schlachthof in den Jahren 2003 bis 2005 in Tabelle 25 zeigen (persönliche Mitteilung der Mitarbeiter der LPA). Erfasst wurden die defekten Zitzen je Tier, daraus wurde die durchschnittliche Anzahl der defekten Zitzen (Ø) berechnet.

Tabelle 25: Ergebnisse der rassenspezifischen Erfassung des Zitzendefektes Stülpzitze (SZ) in den Jahren 2003 bis 2005

Jahr	Rasse	Anzahl der beobachteten Tiere	Anzahl der Tiere mit mindestens einer Stülpzitze	Anteil der Tiere mit Stülpzitze [in %]	Ø Anzahl SZ je betroffenes Tier
2003	DL	192	27	14,06	1,7
2004	DL	221	33	14,9	2,1
2005	DL	118	18	15,3	2,8
Σ	DL	531	78	14,69	2,2
2003	DE	103	9	8,74	2,22
2004	DE	106	18	16,7	1,9
2005	DE	70	6	8,57	2,83
Σ	DE	279	33	11,83	2,32
2003	DL×DE	82	7	8,54	2,0
2004	DL×DE	187	20	10,7	1,8
2005	DL×DE	90	13	14,4	2,69
Σ	DL×DE	359	40	11,14	2,16
2003	DE×DL	197	19	9,65	2,21
2004	DE×DL	405	57	14,1	2,7
2005	DE×DL	183	18	9,84	2,22
Σ	DE×DL	785	94	11,97	2,38

Vergleichende Beobachtungen fanden in einer unabhängigen Population statt. Dort wurde insbesondere bei Populationen nach der Einkreuzung von Sauen aus einer ausländischen Schweinepopulation ein Anstieg der Tiere mit Stülpzitzen beobachtet (Tabelle 26). Erfassung wurde jeweils die durchschnittliche (Ø) Zitzenzahl, der Anteil betroffener Tiere in dieser Population sowie die durchschnittliche Anzahl an Stülpzitzen (SZ).

Tabelle 26: Beobachtung der Defektinzidenz in einer ausländischen Schweinepopulation (persönliche Mitteilung)

Rasse	Anzahl beobachtete Tiere	Ø Anzahl Zitzen	Anzahl Tiere mit Defekt	Anteil betroffener Tiere [in %]	Ø Anzahl SZ der betroffenen Tiere
Edelschwein (Vaterlinie)	307	14,8	50	16,3	2,5
Landrasse	77	14,5	24	31,2	3,1
Edelschwein (Mutterlinie)	108	14,7	20	18,5	3,0

Bei weiteren Beobachtungen konnte jedoch festgestellt werden, dass sich ein großer Anteil der Stülpzitzen in dieser Population zurückentwickelte. Insbesondere gering ausgeprägte Stülpzitzen entwickeln sich wahrscheinlich während der Laktation wieder zu funktionsfähigen Zitzen (Blendl et al. 1980). Bei acht Sauen aus dieser Population konnte zum Zeitpunkt des Abferkelns keine Stülpzitze mehr ausgemacht werden, trotz der vorherigen Selektion der Sauen aus der Zucht. Ähnlich Beobachtungen wurden bei dem Einsatz von Sauen mit Stülpzitzen in Betrieben des Zuchtverbands gemacht. Diese Beobachtungen stimmen auch mit Publikationen aus den neunziger Jahren überein (Große Beilage et al. 1996). Bei den Sauen aus den Zuchtorganisationen A und B konnte eine starke Rückbildung der Stülpzitzen zu funktionsfähigen Zitzen in der Laktation beobachtet werden.

Diese Beobachtungen machen deutlich, dass auch das angewandte Schema für die Selektion eine bedeutende Rolle spielt. Der Grad der Einstülpung könnte eventuell in die Selektion einbezogen werden. Weitergehende Beobachtungen sind notwendig, bevor Tiere mit weniger stark ausgeprägten Zitzendefekten für die Zucht zugelassen werden. Möglicherweise konnte die konventionelle Selektion bereits zu einem erheblichen Rückgang des Zitzendefektes führen. Um einen Anstieg des Defekts innerhalb weniger Generationen zu verhindern, sollte jedoch der genetische Hintergrund weiter untersucht werden.

Die Abbildung 26 zeigt die Entwicklung des Anteils betroffener und nicht betroffener Tiere in einer Schweinepopulation über einen Zeitraum von 20 Jahren. Der Anteil der Tiere mit dem Stülpzitzendefekt ist bei den beobachteten Tieren der Rassen DE und DL sowie deren Kreuzungstiere gesunken.

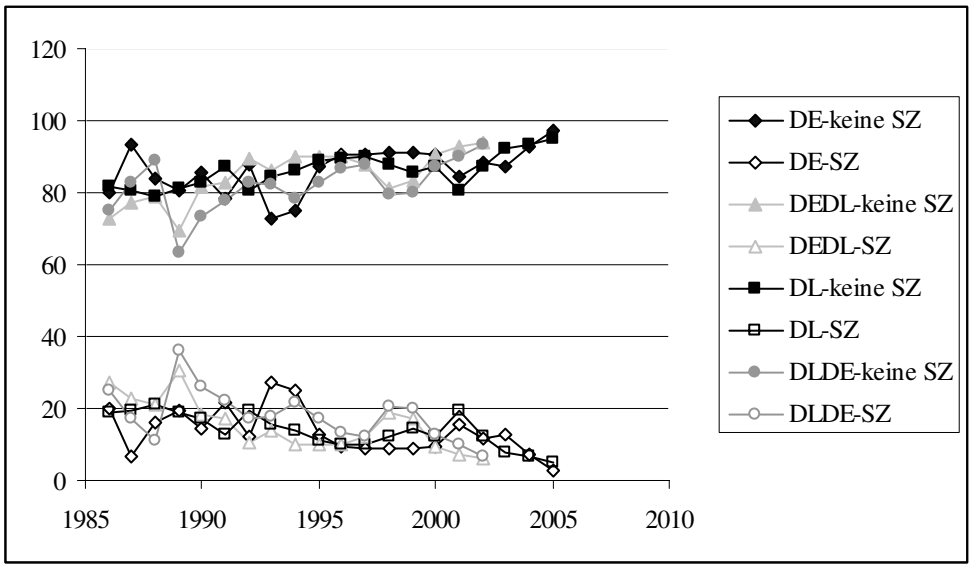

Abbildung 26: Die Ergebnisse der Erfassung von Zitzendefekten über einen Zeitraum von zwanzig Jahren (1985 bis 2005) aus einer unabhängigen Leistungsprüfung in Deutschland (persönliche Mitteilung)

5.2 Vergleich der Kopplungskarten

Bei dem Vergleich verschiedener publizierter Genkarten wurden Längenunterschiede zwischen den Karten festgestellt, jedoch keine signifikant unterschiedlichen Längen. Die extremen Unterschiede der US-amerikanischen und schwedischen Genkarten waren vergleichbar mit den Unterschieden zwischen Genkarten weiblicher und männlicher Schweine. Die porcine weibliche Karte ist, gemessen in der Einheit cM, um den Faktor 1,3 länger als die porcine männliche Karte (Archibald 1994, Marklund et al. 1996). Die Abstände der Marker können also zwischen Familien unterschiedlich sein, die Anordnung der Marker stimmt jedoch meist überein (Geldermann et al. 1996).

Bei den eigenen Berechnungen der Genkarten in der kommerziellen Population wurde ein Unterschied um den Faktor 1,03 der addierten Längen der Genkarten auf den Chromosomen 1 bis 18 zwischen den weiblichen Genkarten und der geschlechtsunabhängigen Genkarte ermittelt. Es wurde kein Unterschied zwischen den Summen der männlichen und der geschlechtsunabhängigen Genkarten festgestellt. Die Summe der männlichen und der weiblichen Genkarten unterschieden sich in der Länge der Genkarten dieser Chromosomen um den Faktor 0,97. Die Summe der errechneten weiblichen Genkarten war in den in dieser Arbeit untersuchten Familien um 87 cM länger als die der geschlechtsunabhängigen Genkarten. Die Summe der männlichen Genkarten war um 4 cM länger als die der Gesamtkarten.

Die Berechung der Genkarten für die DUMI-Versuchspopulation und die Genkarte der kommerziellen Familien wiesen ebenfalls Unterschiede auf. Insbesondere die bei den kommerziellen Tieren berechneten Abstände der Marker waren größer. Die Summe der geschlechtsunspezifischen Genkarten der Chromosomen 1 bis 18 in der DUMI-Population unterschied sich von den publizierten Genkarten um den Faktor 1,2. Die der kommerziellen Familien und der DUMI-Population unterschied sich um den Faktor 1,4.

In den folgenden Abbildungen sind an Beispielen die Unterschiede zwischen den errechneten Genkarten vergleichend dargestellt. Abbildung 27 stellt die Genkarten aus SSC1 dar, auf diesem Chromosom wurden die größten Unterschiede der Längen (in Kosambi-cM) gefunden. In dieser Abbildung sind die errechneten geschlechtsspezifischen und -unabhängigen Genkarten der kommerziellen Familien, die geschlechtsunabhängige Genkarte der DUMI-Population und die publizierte MARC-Genkarte als Vergleich dargestellt.

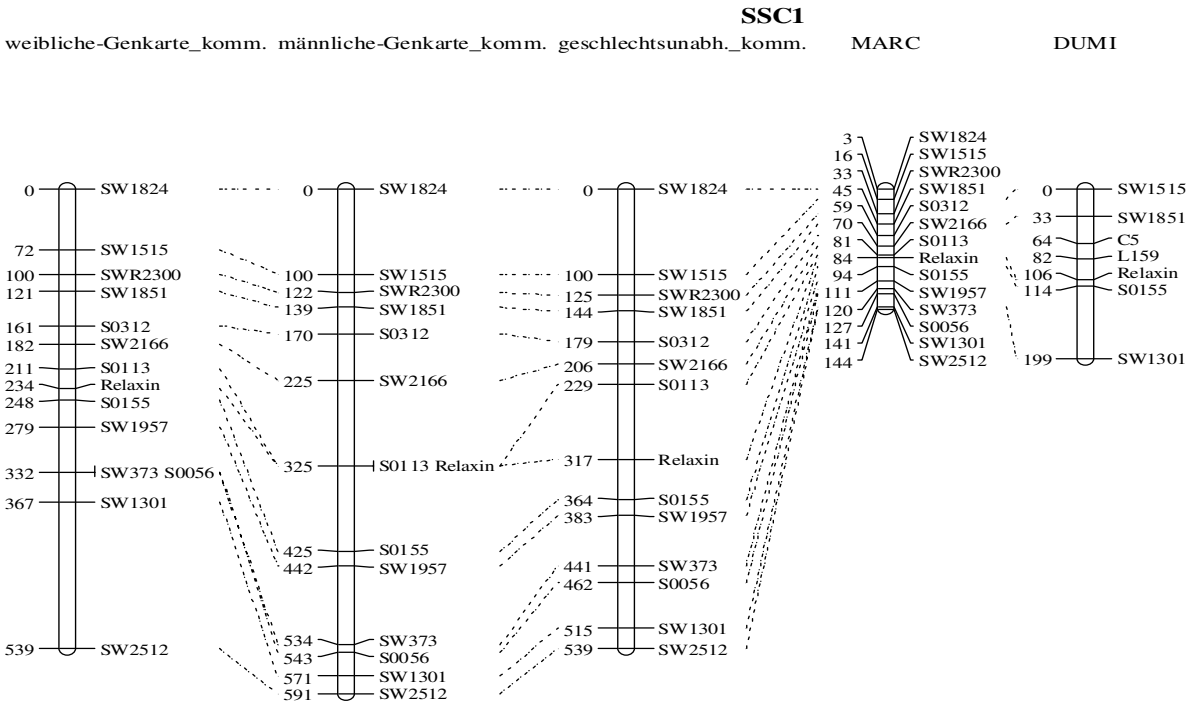

Abbildung 27: Grafische Darstellung der Unterschiede verschiedener Genkarten auf SSC1

Abbildung 28 stellt die Genkarten aus SSC14 dar, auf diesem Chromosom wurden die geringsten Unterschiede der Längen (in Kosambi-cM) gefunden. In dieser Abbildung sind die errechneten geschlechtsspezifischen und -unabhängigen Genkarten der kommerziellen Familien, die geschlechtsunabhängige Genkarte der DUMI-Population und die publizierte MARC-Genkarte als Vergleich dargestellt.

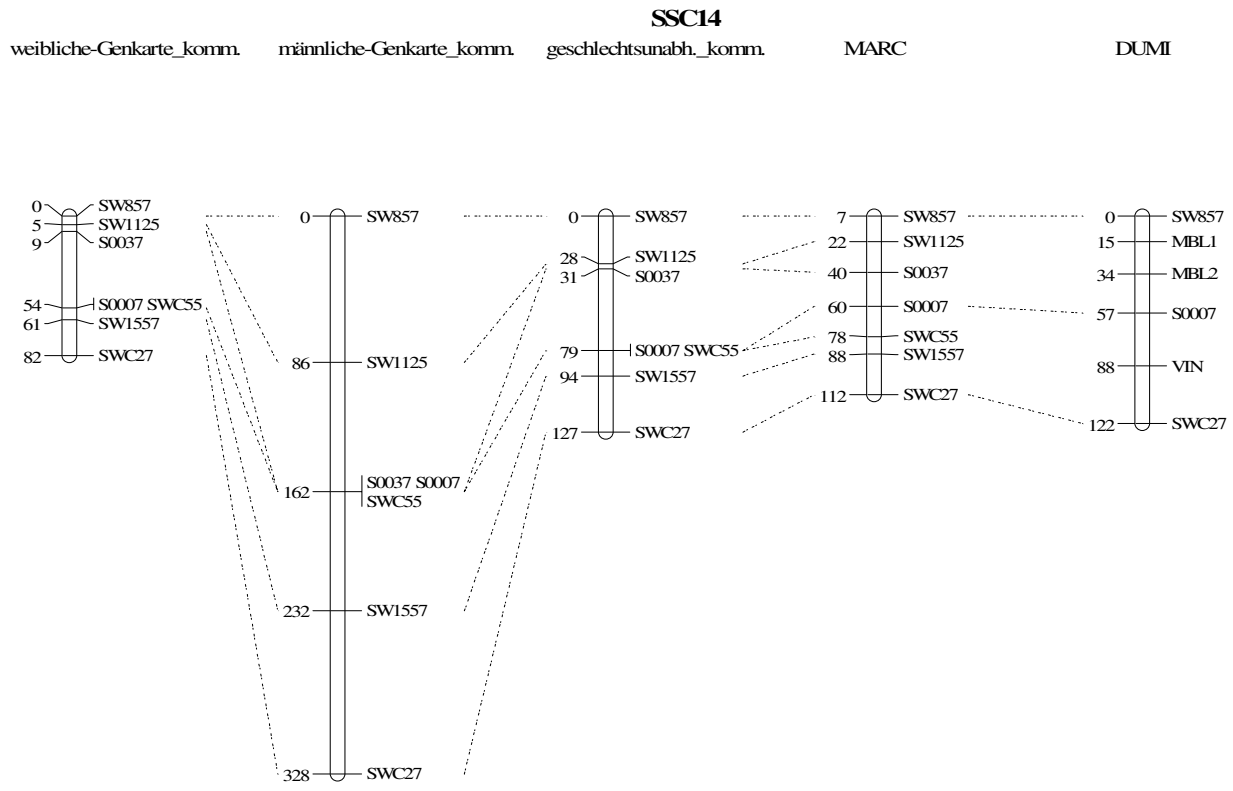

Abbildung 28: Grafische Darstellung der Unterschiede verschiedener Genkarten auf SSC14

Die Unterschiede zwischen der kombinierten und den geschlechtsspezifischen Genkarten waren bei den kommerziellen Tieren zum Teil erheblich. Daher sind die Unterschiede auch bei dem Vergleich der Genkarten aus verschiedenen Populationen erkennbar. In dem Vergleich der Längen der zwei errechneten Genkarten (DUMI und kommerzielle Familien) und der publizierten Genkarte der MARC-Datenbank (http://www.marc.usda.gov/genome/swine.html) ergaben sich Unterschiede der Längen der Genkarten auf den einzelnen Chromosomen zwischen dem Faktor 3,74 (geschlechtsunabhängige Genkarte der kommerziellen Tiere im Vergleich zur MARC-Genkarte auf SSC1) und dem Faktor 0,98 (Genkarte in der DUMI-Population im Vergleich zur MARC-Genkarte auf SSC5 und SSC15).

Beim Vergleich der Abweichungen zwischen den beiden Genkarten, die in den Populationen im Institut für Tierwissenschaften der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn berechnet wurden, und der veröffentlichten Genkarten konnten Unterschiede festgestellt werden. Die Summe der Genkarten auf den Chromosomen 1 bis 18 unterschied sich in den kommerziellen Familien um den Faktor 1,2 von der Summe der publizierten Genkarten auf den Chromosomen 1 bis 18. Bei der Berechnung der Genkarten in der DUMI-Population unterschieden sich diese von den publizierten MARC-Genkarten um den Faktor 1,1.

Bei diesem Vergleich der Genkarten ist jedoch zu berücksichtigen, dass zum Teil unterschiedliche Marker verwendet wurden und sich insbesondere die Position des jeweils ersten verwendeten Markers auf den Chromosomen unterschied. Dennoch kann festgestellt werden, dass die eigenen berechneten Genkarten mit der publizierten Genkarte der MARC-Datenbank gut übereinstimmten. Die Genkarten unterschieden sich insbesondere auf den feiner kartierten Chromosomen. In den meisten publizierten QTL-Studien wurden ebenfalls weitestgehende Übereinstimmungen zu den publizierten Karten festgestellt (Lee et al. 2003a). Die Unterschiede zwischen den geschlechtsabhängigen Genkarten in den kommerziellen Familien und der geschlechtsunabhängigen Genkarte waren nur gering, daher wurden für alle Analysen die Werte der geschlechtsunabhängigen Genkarten verwendet. Die QTL-Analyse mit geschlechtsspezifischen Karten hat nur geringe Auswirkungen auf die Ergebnisse (Knott et al. 1998).

5.3 QTL-Analysen der kommerziellen Populationen

Die meisten QTL-Kartierungen wurden bisher für produktive Merkmale durchgeführt, daher wurden auch viele QTL für diese Merkmale, beispielsweise Rückenspeckdicke, publiziert. Neben den produktiven Merkmalen ist die Anzahl der Zitzen eines der wenigen reproduktiven Merkmale mit einer hohen Anzahl an publizierten QTL.

Die hohe Anzahl an publizierten QTL für das Merkmal Anzahl der Zitzen ist ein Hinweis darauf, dass dieses Merkmal beim Schwein durch eine Vielzahl von Genen beeinflusst wird. Auch der Stülpzitzendefekt ist wahrscheinlich ein quantitatives multifaktorielles Schwellenmerkmal (Brevern et al. 1994, Hittel 1984, Matzke 1980). Ebenso werden Zitzenmerkmale beim Schwein von verschiedenen Umwelteinflüssen beeinflusst (Brevern et al. 1994). Da bei der echten Stülpzitze eine entzündliche oder traumatische Genese als Ursache ausgeschlossen wird, kann eine QTL-Analyse für dieses Merkmal durchgeführt werden (Günther 1984).

Die QTL-Analysen der Genotypen aus den kommerziellen Familien mit dem Programm *Genehunter* ergaben chromosom-weite Signifikanzen ($p \leq 0{,}05$) auf SSC3, SSC4 und SSC6. Auf SSC11 und SSC6 wurden chromosom-weit hoch signifikante QTL ($p \leq 0{,}01$) gefunden, der QTL auf SSC6 zeigte zudem eine experiment-weite Signifikanz.

Auf SSC3 wurde ein Peak am Genort des Markers S0164 mit einem chromosom-weit signifikanten NPL-Wert von 1,16 detektiert. Es wurden in dieser Region weitere QTL für reproduktive Merkmale, beispielsweise Ovulationsrate, testikuläres Gewicht und Plasma-FSH-Konzentration, gefunden (Rohrer et al. 1999, Rohrer et al. 2001, Sato et al. 2003).

Rohrer (2000) konnte ebenfalls einen signifikanten QTL für die Anzahl der Zitzen beim Schwein feststellen.

Ähnlich dem QTL auf SSC3 konnte auch ein signifikanter NPL-Wert auf SSC4 in den Analysen der kommerziellen Familien gefunden werden. Der QTL wurde mit einem Peak bei einer Länge von 64,4 cM am Genort des Markers S0058 kartiert, und ein NPL-Wert von 1,06 ($p = 0,025$) wurde berechnet. In verschiedenen Untersuchungen auf Chromosom 4 wurden weitere QTL für reproduktive Merkmale wie die Anzahl an tot geborenen Ferkeln und die Ovulationsrate gefunden (Rathje et al. 1997, Wilkie et al. 1999).

Auf Chromosom 5 und 8 wurden signifikante NPL-Werte für die QTL-Analysen des Defekts Stülpzitze ausschließlich bei der Analyse von Familien der Kreuzungstiere DE×DL und DL×DE gefunden. Auf SSC8 entspricht der Peak des QTL der Region, in der von Beeckmann et al. (2003) ein QTL für die Anzahl der Zitzen detektiert wurde. Auf beiden Chromosomen wurden ein oder mehrere (drei QTL auf SSC8) QTL für die Anzahl der Zitzen gefunden (Beeckmann et al. 2003, Cassady et al. 2001, King et al. 2003, Lee et al. 2003b). Auf dem Chromosom 8 wurde außerdem ein QTL für die Wurfgröße, die pränatale Überlebensrate, die Ovulationsrate, das Ovargewicht, die Uterusgröße, für das Alter bei der Pubertät, für die Plasma-FSH-Rate sowie drei QTL für die Anzahl der Gelbkörper gefunden (Cassady et al. 2001, King et al. 2003, Lee et al. 2003b, Rathje et al. 1997, Rohrer et al. 1999, Rohrer et al. 2001, Wilkie et al. 1999). Auf SSC8 liegen wahrscheinlich viele Gene, die verschiedene Reproduktionsmerkmale beeinflussen. Dieses Chromosom ist daher besonders gut für solche Merkmale kartiert. Auf Chromosom 5 sind nur wenige weitere reproduktive Merkmale, neben dem QTL für die Anzahl der Zitzen auch ein QTL für Anzahl an tot geborenen Ferkeln, kartiert (Cassady et al. 2001).

Auf SSC11 und SSC6 wurden chromosom-weit hoch signifikante QTL ($p \leq 0,01$) gefunden, der QTL auf SSC6 war darüber hinaus experiment-weit signifikant.

Auf Chromosom 6 wurden bislang mehr als 146 QTL für verschiedene Merkmale, meist zwischen den Markern SW1302 und SW2419, gefunden. Neben SSC1, SSC4 und SSC7 wurden die meisten QTL auf diesem Chromosom detektiert, wobei an vielen Genorten eine Kopplung zu produktiven Merkmalen, vor allem Fleisch- und Schlachtkörperqualität, gefunden wurde. In der QTL-Datenbank (http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb) wurde ein QTL mit einem F-Wert von 2,46 mit einer Lokalisation des QTL-Peaks bei 171 cM für die Anzahl an Zitzen beim Schwein publiziert (Cassady et al. 2001). Die Analysen in den Familien der Rassen DL, DE sowie deren Kreuzungstieren ergaben einen chromosom-weit signifikanten NPL-Wert von 1,16 ($p = 0,017$), der jedoch experiment-weit nicht bestehen

blieb. Dieser hatte den höchsten Peak am Genort des Markers S0035. In dieser Region wurden nur wenige QTL detektiert, zum Beispiel für das Bauchgewicht, die Farbe des Haarkleides und die Lebenswachstumsrate (*engl. life growth rate*) (de Koning et al. 2001, Kijas et al. 1998, Milan et al. 2002). Der QTL lag in der Region des Markers S0059 bei etwa 156 cM und hatte einen NPL-Wert von 1,64 (experiment-weit p = 0,016). Dieser Genort, der aus den Analysen der Drei-Generationen-Versuchspopulation von Cassady et al. (2001) hervorgeht, liegt in der Nähe eines QTL für die Zitzenzahl. Weitere QTL in dieser Region wurden für verschiedene Fleischleistungsmerkmale und für die frühe Wachstumsrate gefunden (de Koning et al. 1999, de Koning et al. 2001, Malek et al. 2001, Ovilo et al. 2002).
Ein chromosom-weit hoch signifikanter QTL für den Erbfehler Stülpzitze wurde auf SSC11 kartiert. Weitere suggestive QTL wurden für die reproduktiven Merkmale Anzahl der Zitzen, Anzahl der lebend geborenen Ferkel und Anzahl der vollständig entwickelten Ferkel detektiert (Cassady et al. 2001). Bisher wurden nur neunzehn QTL auf Chromosom 11 für verschiedene Merkmale in der Datenbank (http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb) veröffentlicht.
Auf SSC13 wurde, wie auch auf den Chromosomen 5 und 8, ausschließlich ein chromosom-weit signifikanter QTL am Genort des Markers SW344 bei etwa 50 cM in der Analyse der Familien der Rassen DE×DL und DL×DE gefunden. Für die reproduktiven Merkmale Anzahl an tot geborenen Ferkeln und Ovulationsrate wurden QTL auf diesem Chromosom kartiert (Cassady et al. 2001, Rathje et al. 1997). Es wurde kein QTL für weitere Zitzenmerkmale auf SSC13 detektiert.
Weitere interessante Genorte mit signifikanten NPL-Werten konnten in der kommerziellen Population nicht gefunden werden. Das X-Chromosom wurde in dieser Untersuchung nicht betrachtet.

5.4 Vergleich der QTL-Analysen in den beiden betrachteten Population

Um die Marker aus den QTL-Analysen in der MAS anwenden zu können, sollten die Genorte in einer unabhängigen Studie bestätigt oder Assoziationsanalysen von Kandidatengenen in verschiedenen Populationen durchgeführt werden, da die Ergebnisse aus QTL-Analysen abhängig von der Population sind (Gerbens et al. 2000, Spelman und Bovenhuis 1998). Der Einsatz der MAS ist für die in dieser Untersuchung betrachteten Rassen und Kreuzungen DE, DL, DE×DL und DL×DE von Bedeutung. Eine Übertragung der Ergebnisse aus den QTL-Analysen auf die kommerziellen Rassen muss somit möglich sein.

In der DUMI-Population wurden verschiedene QTL für den Zitzendefekt Stülpzitze kartiert. Suggestive QTL wurden auf SSC3, SSC5, SSC8, SSC10, SSC11, SSC14, SSC16 und SSC18, signifikante QTL auf SSC1, SSC2, SSC4, SSC6 und SSC12 detektiert. Es wurden signifikante NPL-Werte für die QTL auf SSC1, SSC3, SSC4, SSC6 und SSC11 in der kommerziellen Population detektiert (Tabelle 27).

Tabelle 27: Vergleichende Auflistung der detektierten QTL-Genorte in der DUMI-Versuchspopulation und in den kommerziellen Familien mit den Positionen der QTL-Genorte aus den eigenen Analysen

SSC	DUMI-Versuchspopulation			Kommerzielle Familien		
	p- Wert[1]	Position des QTL		p- Wert[2]	Position des QTL	
		cM	Marker		cM	Marker
1	0,09	283	SW1301	0,11	366	SW1301
2	0,04*	0	SW2443	0,15	32	SW1564
3	≤ 0,01**	52	S0164	0,02*	43	S00164
4	≤ 0,01**	166	S0097	0,02*	64	S0058
5	≤ 0,01**	0	SW1482	0,07	149	SW967
6	0,02*	0	S0035	0,02*	0	S0035
6	≤ 0,01**	183	S0220	≤ 0,01**	300	S0059
7	0,04*	173	S0101	0,1	166	S0101
8	≤ 0,01**	0	SW2410	0,06	76	S0086
9	0,12	33	SW911	0,33	81	SW54
10	0,03*	173	SW2067	0,14	0	SW830
11	≤ 0,01**	87	S0386	≤ 0,01**	65	SW703
12	≤ 0,01**	0	S0143	0,21	26	SW874
13	0,35	105	SW398	0,2	50	SW344
14	≤ 0,01**	108	S0007	0,21	0	SW857
15	0,08	119	SW936	0,08	24	SW936
16	0,01*	186	S0061	0,2	0	S0111
17	0,99	87	SW2431	0,12	86	SW840
18	0,02*	80	SWR414	0,37	0	SW1023

* signifikant ($p \leq 0,05$) ** hoch signifikant ($p \leq 0,01$) [1] experiment-weit [2] chromosom-weit

Diese Ergebnisse zeigen, dass eine weitere Untersuchung der Ergebnisse aus den QTL-Analysen notwendig ist, um diese abzusichern.

Es wurden bereits verschiedene Bestätigungsstudien in unterschiedlichen Populationen und Spezies durchgeführt. In einer Hühnerlinie wurden die QTL in späteren Generationen auf sechs Chromosomen analysiert. Dabei basierte die Population der Bestätigungsanalyse auf der wiederholten Kreuzung ab Generation zwei der ursprünglich eingesetzten Population. Für vier der untersuchten Chromosomen konnten die Regionen der QTL bestätigt, auf zwei Chromosomen konnten keine signifikanten Level erreicht werden. Es wurden jedoch noch zwei zusätzliche Regionen identifiziert (Jennen et al. 2005). QTL wurden bei kommerziellen Broilerlinien auch in anderen Studien bestätigt. Diese zeigten die Möglichkeiten für die Detektion von QTL und das Potential für die MAS innerhalb einer kommerziellen Broilerlinie, ohne dass das existierende Zuchtschema geändert werden musste (de Koning et al. 2003b).

Solche Studien werden häufig mit Kandidatengenen verbunden. Bei Milchkühen gibt es beispielsweise verschiedene Untersuchungen für die Detektion und die Bestätigung von detektierten QTL für Milchleistungsmerkmale (Arranz et al. 1998, Bennewitz et al. 2003, Jiang et al. 2005). Der detektierte QTL auf dem bovinen Chromosom 26 (BTA26) liegt in der Region des bovine *transcriptionfactor 7-like 2* (*TCF7L2*) Gens, dieses ist ein Kandidatengen für Milchleistungsmerkmale. Die Ergebnisse aus einer kanadischen Milchkuhherde konnten in einer US-amerikanischen Holsteinpopulation bestätigt werden. Dieser QTL auf BTA26 wirkt sich auf verschiedene Milchmerkmale aus und kann auf unterschiedliche Populationen übertragen werden (Jiang et al. 2005). Andere Untersuchungen zeigen den potentiellen Nutzen der kombinierten Datenanalyse aus verschiedenen *Granddaughter*-Designs (Bennewitz et al. 2003). Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei Mäusen erzielt. Dabei wurde festgestellt, dass segregierende Populationen eine Möglichkeit zur Bestätigung der Kartenpositionen von QTL bieten (Bennett et al. 1997).

Bei Schweinen werden in den meisten QTL-Studien hoch divergente Linien zur Produktion einer Versuchspopulation gekreuzt, um den Heterozygotiegrad der verschiedenen Generationen zu erhöhen (Andersson et al. 1994, Geldermann et al. 1996, Haley et al. 1994). Das Ziel solcher Populationen ist es, ein Kopplungsungleichgewicht zwischen dem Genort des Markers und dem QTL zu erzeugen. Dieses Kopplungsungleichgewicht ist eine Voraussetzung für die Identifizierung der QTL (Hui Liu 1998, Lynch und Walsh 1997). In kommerziellen Populationen können aufgrund der starken Selektion auf verschiedene Merkmale Homozygotien an vielen Genorten bestehen, die mit dem QTL gekoppelt sind.

Dadurch sind die kommerziellen Populationen weniger informativ, was wahrscheinlich auch in dieser Untersuchung zu der starken Verringerung der Anzahl der QTL führte. In der Untersuchung der QTL für den Stülpzitzendefekt über alle Autosomen beim Schwein in der DUMI-Versuchspopulation wurden ebenfalls divergente Rassen verwendet (Oltmanns 2003, Ün 2002). Die Daten der Genotypisierung dieser Tiere wurden für die Untersuchungen dieser Arbeit reanalysiert, um eventuelle Änderungen aufzunehmen und um die Analysen parallel zu denen der kommerziellen Familien durchzuführen.

Beim Schwein wurden verschiedene Strategien innerhalb der QTL-Analysen getestet. Dazu gehören die Kartierung von QTL in hoch divergenten Rassen, ihre Feinkartierung, die Bestätigung detektierter QTL in unverwandten Populationen und die Kombination unterschiedlicher Ansätze. Insbesondere die Kombination verschiedener Populationen für die QTL-Analysen bietet bei landwirtschaftlichen Nutztieren noch Potential (Bennett et al. 1997, Walling et al. 2000). Zur Bestätigung der QTL kann auch die Anzahl der Marker erhöht, der Abstand zwischen den Markern somit verringert (*Feinkartierung*) und die Anzahl der genotypisierten Tiere erhöht werden (Campbell et al. 2003). Andere Analysemethoden mit einer veränderten statistischen Basis, wie die Verwendung von Varianzkomponenten, können ebenfalls Alternativen zur erneuten Analyse von vorhanden Daten darstellen (de Koning et al. 2003a, Kim et al. 2005).

Die meisten QTL können in den Bestätigungsstudien ebenfalls detektiert werden, wobei aufgrund des Versuchsdesigns und der unterschiedlichen Heterozygotie der Marker auch Genorte nicht mehr oder zusätzliche Genorte gefunden werden (Campbell et al. 2003, Marklund et al. 1999, Rowe et al. 2006, Wattrang et al. 2005). Diese Ergebnisse werden mit der vorliegenden Untersuchung bestätigt. Die hohe Anzahl an QTL auf den meisten Autosomen beim Schwein konnten allerdings nicht komplett bestätigt werden.

Insbesondere das Versuchsdesign, das heißt die Probensammlung im *affected sibpair* Design, führte zu einer Verringerung der Gesamtanzahl und der Höhe der signifikanten NPL-Werte. Die in kommerziellen Populationen verifizierten QTL können in MAS-Programme übertragen werden, ihre molekulare Basis kann durch positionelles Klonieren von Kandidatengenen gefunden werden (Evans et al. 2003).

Abbildung 29 gibt einen Überblick über die publizierten QTL für die Zitzenzahl und die im Rahmen dieser Arbeit detektierten QTL (suggestive und signifikante mit unterschiedlichen chromosom-weiten und experiment-weiten Signifikanzniveaus) für die Stülpzitze in den beiden Populationen.

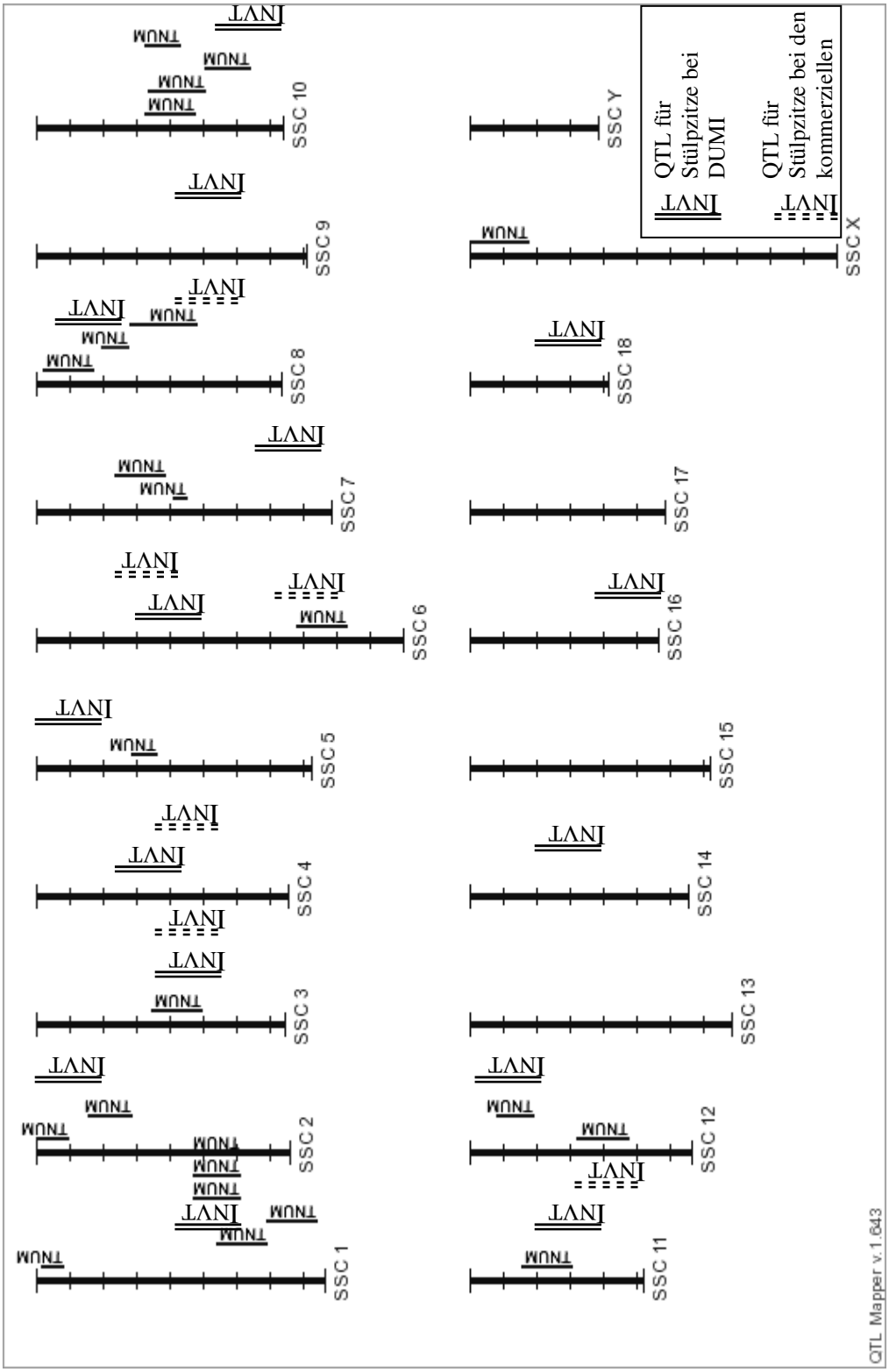

Abbildung 29: Übersicht über publizierte QTL für die Zitzenzahl (TNUM) in der PigQTLDB (Hu et al. 2005) und gefundene suggestive und signifikante QTL für Stülpzitzen in dieser Arbeit

5.5 Kandidatengene

5.5.1 Funktionelle und bereits untersuchte Kandidatengene

Es wurden bereits verschiedene Kandidatengene für den Erbfehler Stülpzitze und für die allgemeine Zitzenentwicklung untersucht. In Tabelle 28 sind die bereits untersuchten Gene und die Ergebnisse der Assoziationsanalysen zum Erbfehler Stülpzitze aufgelistet, die im Institut für Tierwissenschaften, Abteilung Tierzucht und Tierhaltung der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn durchgeführt wurden (Chomdej 2005, Trakooljul 2004).

Tabelle 28: Bereits untersuchte Kandidatengene und die Ergebnisse der Assoziationsanalysen mit FBAT zum Stülpzitzendefekt mit der Angabe, ob die Gene positionelle oder funktionelle Kandidatengene sind

Gen	Position	Charakter	Methode	p-Wert		Referenz
				DUMI	Komm.	
RLN	1q28-q29	positionell/ funktionell	SSCP	n.s.	n.s.	Chomdej (2005)
RLN	1q28-q29	positionell/ funktionell	RFLP	**	n.s.	Chomdej (2005)
IGF1	5q25/5q23	positionell/ funktionell	Mikrosatellit	n.s.	n.s.	-
PTHLH	5q25	positionell/ funktionell	TaqMan	**	n.s.	Chomdej (2005)
TGFβ	6q11-q21	positionell/ funktionell	SSCP	n.s.	*	Chomdej (2005)
AR	X	funktionell	Mikrosatellit	n.s.	n.s.	Trakooljul (2004)

n.s. nicht signifikant * signifikant ($p \leq 0{,}05$) **hoch signifikant ($p \leq 0{,}01$)

Diese Kandidatengene basierten auf der Funktion der Gene im Hinblick auf die Entwicklung der Zitze beim Schwein und die QTL-Analysen in der DUMI-Versuchspopulation.

Die Literaturrecherche ergab weitere, in Tabelle 29 aufgelistete, funktionelle Kandidatengene. Diese wurden noch nicht weiter auf Assoziation zum Defekt Stülpzitze untersucht oder sie werden zurzeit in anderen Arbeiten untersucht, um ihre Funktion während der Entwicklung der Stülpzitze festzustellen. Die Positionen dieser Gene sind, falls bereits publiziert, auf dem porcinen Chromosom, ansonsten auf dem humanen Chromosom angegeben. Bei mehreren Genen innerhalb der Gruppe fehlt die Angabe.

Tabelle 29: Funktionelle Kandidatengene für den Stülpzitzendefekt beim Schwein

Gen	Position	Funktion	Referenz
FSH	SSC 2p12-p16	zentrale Rolle bei der Reproduktion von Säugern	Fan und Hendrickson (2005)
GH	SSC 12q14	GH ist in die Galaktopoiesis bei der Morphogenese der Milchdrüsenkanäle eingebunden	Oka et al. (1991)
GHRH	HSA 20q11.2	die Sekretion des GH in der Hypophyse wird in erster Linie durch das GHRH stimuliert	
GHRHR	SSC 18q24	Rezeptor des GHRH, welches die GH-Sekretion stimuliert	
HOX6	diverse	knock-out Mäuse haben reduzierte Kanalverzweigungen	Garcia-Gasca und Spyropoulos (2000)
HOX9	diverse	direkte Rolle in der Entwicklung der Milchdrüse nach der Trächtigkeit	Chen und Capecchi (1999)
JAK2	HSA3p11	JAK2-defiziente Mäuse sind nicht zur Laktation fähig	Wagner et al. (2004)

Fortsetzung Tabelle 29

Gen	Position	Funktion	Referenz
LEP	SSC 18q13-q21	LEP hat einen Einfluss auf die Mammo-genese, es verändert die Produktion von Cytokinen aus anderen Zellpopulationen	Thorn et al. (2006)
LEPR	SSC 6q33-q35	Rezeptor des LEP	
LGR7	SSC 8p11-p12	Rezeptor des Kandidatengens RLN; knock-out Mäuse haben keine funktionierenden Zitzen	Krajnc-Franken et al. (2004)
PIN1	HSA19p13	PIN1-knock-out Mäuse haben zum Teil unterentwickelte Milchdrüsen	Liou et al. (2002)
PIT1	SSC 13q46	Mutation des PIT1 führt unter anderem zu PRL-Defiziten	Paffle et al. (1992)
PRL	SSC 7p11-p12	wichtiger Faktor für die Entwicklung der Milchdrüse und der Laktation	Bole-Feysot et al. (1998)
PRLR	SSC 16q14/q22-q23	für die Regulation des Fettgewebestoff-wechsels während der Laktation ist die PRL-Aktivität über den Rezeptor essentiell	Ling et al. (2003)
PTHR1 PTHR2	HSA3p22-p21 HSA2q33	Rezeptor des PTHLH, wichtiger Regulator des Zellwachstums und der Differenzierung während der Entwicklung	Wysolmerski and Stewart (1998)

5.5.2 Positionelle Kandidatengene aus den QTL-Genorten

Aufgrund der QTL-Analysen in den kommerziellen Familien können weitere Gene detektiert werden, die positionelle und eventuell funktionelle Kandidatengene für den Erbfehler Stülpzitze sind. Dazu wurden die umgebenden Regionen der QTL-Genorte im Schwein weiter betrachtet und vergleichende Genkarten zum Menschen gebildet. Diese dienen der Detektion weiterer Gene, die beim Schwein noch nicht kartiert sind.

5.5.2.1 Chromosom 6

Die Regionen auf dem porcinen Chromosom 6 sind verschiedenen humanen Chromosomen ähnlich. Bereiche der Chromosomen HSA16, HSA18, HSA19 und HSA1 sind mit dem porcinen Chromosom 6 vergleichbar (Quelle: INRA, Toulouse: http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/compare/compare.htm) (Abbildung 30).

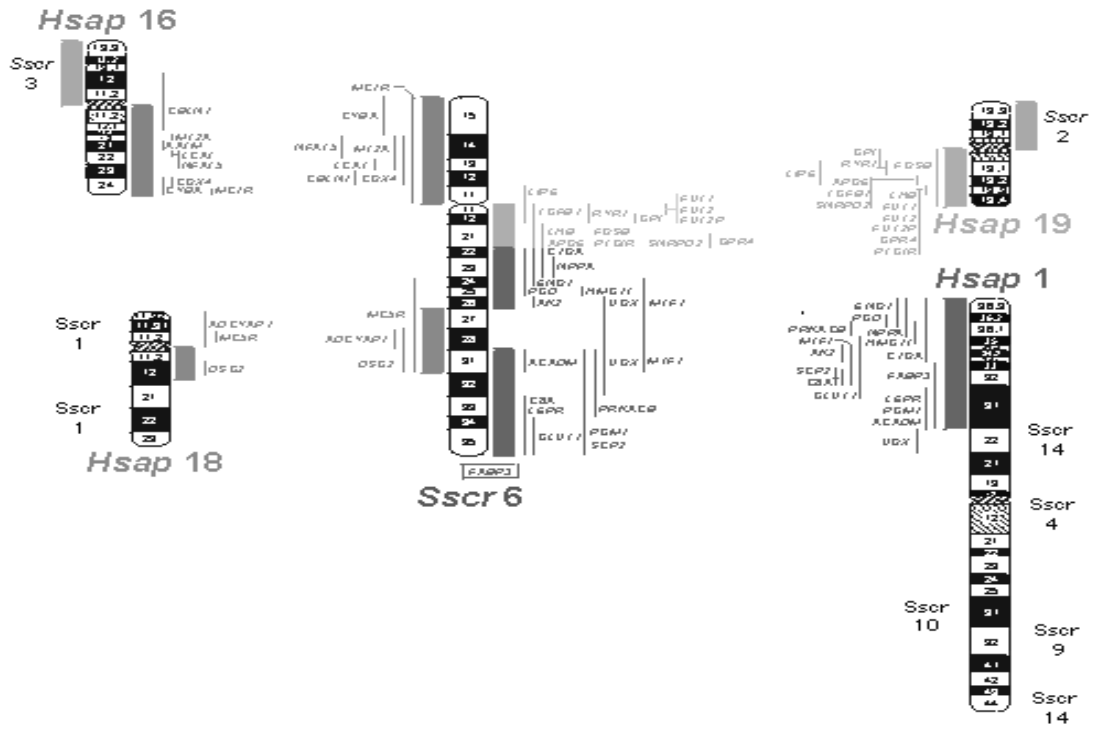

Abbildung 30: Vergleichende Karte des porcinen Chromosom 6 mit den entsprechenden Chromosomenregionen der humanen Chromosomen (http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/compare/compare.htm) HSA1, HSA16, HSA18 und HSA19

Die Region des QTL konnte in den kommerziellen Familien mit einem Peak am Marker S0059, der bei 156 cM kartiert wurde, detektiert werden. Der Marker S0059 wurde bei 6q25-q26 kartiert, die in diesen Versuchen untersuchten vorgelagerten Marker S0300, SW193 und S0220 und der nachgelagerte Marker S0003 lagen bei 6q12-q21 und bei etwa 6q31-32 (Al-Bayati et al. 1999, Hoyheim et al. 1995, Robic et al. 1994, Robic et

al. 1995). Der QTL liegt also auf dem q-Arm zum Zentromer ausgerichtet. Die vergleichende Kartierung mit der publizierten Genkarte des Menschen ergab, dass HSA19 den Bereich, der näher am Zentromer liegt, etwa SSC6q11-q21 abdeckt, während HSA1 die Genregionen im Bereich von etwa SSC6q22-q26 und SSC6q31-q35 abdeckt. Verschiedene, auf dem mittleren Teil von SSC6q27-q28 liegende Gene wurden bisher auf HSA18 kartiert.

Beim Vergleich der detektierten QTL in den kommerziellen Familien und in der Versuchspopulation wurden signifikante NPL-Werte an den Genorten verschiedener Marker lokalisiert. Bei der weiteren Betrachtung dieser interessanten Marker S0059 und S0220 konnten bei der vergleichenden Kartierung unterschiedliche Positionen auf den humanen Chromosomen festgestellt werden. S0059 wurde in allen Publikationen dem HSA1 zugeordnet, während S0220 sowohl HSA1 als auch HSA19 zugeordnet werden kann (Meyers et al. 2005). Des Weiteren ist auch die Reihenfolge der Marker auf SSC6 nicht eindeutig. In verschiedenen Publikationen wurde der Marker S0220 zwischen den Markern S0300 und S0059 und somit wahrscheinlich auf HSA1 kartiert (Archibald et al. 1995, Liu 2005). Die Sequenz des Markers S0220 wurde zusätzlich mit der BLAST-Software getestet, um ähnliche Sequenzen bei anderen Spezies zu finden. Es konnten bei der BLAST-Detektion mehrere Transkripte auf dem humanen Chromosom 1q44 gefunden werden (Genbank Nummer NM_001042404 und NM_001042405). Dies könnte als weiterer Hinweis darauf dienen, dass die zum Marker S0220 beim Schwein komplementäre Region beim Menschen auf HSA 1 liegt. In der Abbildung 31 ist die Übersicht der interessanten Region in verschiedenen Genkarten dargestellt.

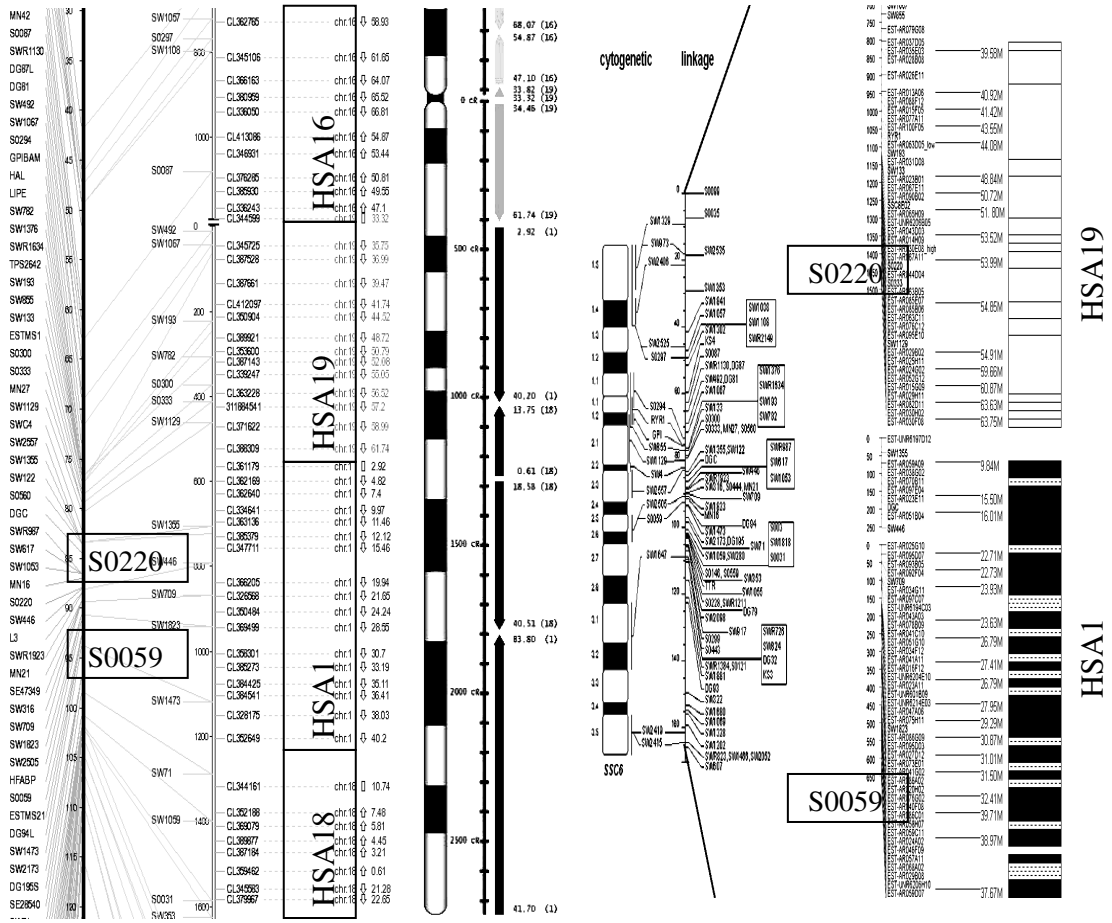

Abbildung 31: Lage der Marker an den QTL in der DUMI-Population (S0220) und in den kommerziellen Familien (S0059) in den vergleichenden Genkarten (modifiziert von den Seiten www.animalgenome.org und www.cabnr.unr.edu)

Dreizehn Gene wurden auf der vergleichenden Karte auf HSA19 (GPI, RYR1, FOSB, LIPE, APOE, TGFβ1, LHB, SNRPD2, FUT1, FUT2, FUT2P, GPR4 und PTGIR), sechzehn Gene auf HSA1 (ENO1, PGD, PRKACB, NPPA, MTF1, HMG17, AK2, C1QA, SCP2, FABP3, C8A, GLUT1, LEPR, PGM1, ACADM und UOX) und vier auf HSA18 (ADCYAP1, MC5R und DSG2) in der Region des porcinen Chromosoms SSC6 auf der Genkarte der INRA in Toulouse dargestellt (http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/compare/compare.htm).

Bei der Gendetektion auf der Homepage vom *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) wurden sechs Gene auf HSA1, die für die Milchdrüsenentwicklung relevant sind.

Das *prostaglandin-endoperoxidase synthase 2* (*PTGS2* oder *COX2*) Gen wurde auf HSA1q25.2-q25.3 kartiert. Beim Menschen ist die Expression dieses Gens während der Trächtigkeit und bei transgenen Mäusen mit einer Überexpression von COX2 während der Laktation stark erhöht. Eine erhöhte COX2-Expression ist ausreichend, um die Tumorbildung in Milchdrüsengeweben zu fördern (Liu et al. 2001).

Das *mucin 1, transmembrane* (*MUC1*) Gen wird entwicklungsgemäß reguliert und ist anormal in Brustkrebszellen exprimiert (Gendler et al. 1990). Die besondere Aufgabe des MUC1, das auf HSA1q21 kartiert wurde, ist die Stimulation der durch das *estrogene receptor 1* (*ESR1*) Gen vermittelten Transkription. Dies führt zu einem östradiolvermittelten Wachstum und einem Überleben von Brustkrebszellen (Wei et al. 2006).

Das am humanen Chromosom an der Stelle HSA1q35 kartierte *wingless-type MMTV integration site family, member 4* (*WNT4*) Gen ist für die Verzweigung der Kanäle in der Milchdrüse während der frühen Trächtigkeit notwendig.

Das *LIM domain only 4* (*LMO4*) Gen wurde beim Menschen am Genort HSA1p22.3 kartiert. Ähnlich der Bedeutung dieses Gens für die Proliferation, unterdrückt eine geförderte Expression dieses Gens die Differenzierung von Epithelzellen in der Milchdrüse (Visvader et al. 2001). Die Untersuchung von Visvader et al. (2001) zeigt die Aufgabe von LMO4 für die Erhaltung der Proliferation von Zitzenepithelzellen und suggeriert, dass die Deregulierung dieses Gens zur Tumorbildung in der Brust beitragen kann.

Milchdrüsen von homozygoten weiblichen Mäusen mit einem Defizit des *protein-tyrosine phosphatase, receptor-type, F* (*PTPTF* oder *LAR*) Gens konnten keine Milch abgeben. Der Grund dafür war eine unzureichende terminale Differenzierung der Alveoli in der späten Trächtigkeit. Die durch das LAR-Gen vermittelte Signalisierung könnte daher von Bedeutung für die Entwicklung und Funktion der Milchdrüsen sein (Schaapveld et al. 1997). LAR wurde beim Menschen auf dem Chromosom HSA1p32 kartiert.

Das *fatty acid-binding protein 3* (*FABP3* oder *MDGI*) Gen auf dem Chromosom HSA1p33-p31 beim Menschen wird auch als von der Milchdrüse abgeleiteter Wachstumsinhibitor (*mammary-derived growth inhibitor*) bezeichnet. Es war das erste als Wachstumsinhibitor identifizierte Gen in der laktierenden bovinen Milchdrüse. Dieses Gen ist in die Differenzierung der Milchdrüse eingebunden (Bohmer et al. 1987). Die Gentransfektion eines MDGI-Expressionskonstrukts in Brustkrebszellen reduziert die Proliferation und fördert die zellulare Differenzierung (Yang et al. 1994). FABP3 ist in der Milchdrüse in Abhängigkeit von der Trächtigkeit und Laktation exprimiert. Diese abhängige Expression könnte durch eine STAT5 gebundene Stelle erklärt werden (Binas et al. 1992). Das FABP3-Gen konnte beim Schwein aus SSC6 kartiert werden und wird als Kandidatengen für Fleischqualitätsmerkmale untersucht (Gerbens et al. 2000, Gerbens et al. 1998, Gerbens et al. 1997).

Aufgrund der komparativen Kartierung der QTL-Region am Marker S0059 beim Schwein mit dem humanen Chromosom 1 sind vor allem die Gene WNT4, LMO4, LAR und FABP3 neben ihrer Eigenschaft als funktionelle Kandidatengene auch positionelle Kandidaten für die Untersuchung der genetischen Ursache für den Stülpzitzendefekt beim Schwein. Das funktionelle Kandidatengen COX2 liegt auf dem q-Arm des Chromosoms beim Menschen, diese Region wurde nicht als homologe Region zum porcinen Chromosom 6 detektiert.

Zusätzlich zum Vergleich der porcinen Genkarte des Chromosoms 6 mit den humanen Genkarten HSA1 und HSA18 findet man verschiedene funktionelle und positionelle Kandidatengene auf dem SSC6 (Tabelle 30). Das Chromosom 6 beim Schwein ist bereits gut kartiert, in der Region des gefundenen QTL wurden mehrere Gene kartiert, die eine Funktion für die Zitzenentwicklung und/oder andere reproduktive Merkmale haben.

Die Tabelle 30 enthält Gene, die in der Region des QTL für den Erbfehler Stülpzitze aus den eigenen Untersuchungen kartiert sind und deren Funktion auch eine Rolle während der Zitzenentwicklung spielen könnte. Dies macht deutlich, wie wichtig eine weitere Kartierung des QTL für dieses Merkmal auf SSC6 ist. Auch Gene, deren Funktionen in der Milchdrüse zunächst nicht beschrieben werden, können eine kausale Funktion für die Entwicklung der Stülpzitze haben. Zudem zeigten verschiedene knock-out Experimente die zum Teil vielfältige Funktion einiger Gene. Es müssen weitere

Marker und Kandidatengene untersucht werden, um den Einfluss der Gene in diesen Regionen auf die Entwicklung der Zitze beim Schwein weiter zu bestimmen.

Tabelle 30: Positionelle und funktionelle Kandidatengene auf dem Chromosom 6 beim Schwein, die auch eine Rolle während der Entwicklung der Zitzen spielen könnten

Gen	SSC	Funktion	Referenz
ACADM	6q31	ACADM katalysiert die Reaktion der Beta-Oxydation von C4 zu C12 Ketten-Acyl-CoAs	Matsubara et al. (1986)
ADCYAP1	6q24-q31	ADCYAP1 oder PACAP vermittelt die Funktion der Thrombozyten	Freson et al. (2004)
ADGES16/ ADGES3	6q24-q25/ 6q34-q35	-	-
CKM	6q22-q23	Funktion für die Muskelkontraktion	Steeghs et al. (1997)
ECH1	6q21	eingebunden in peroxisomale Biogenese und Funktion	Fitzpatrick et al. (1995)
FABP3	6	siehe Text	Gerbens et al. 1997
FRAP1 (MTOR)	6q22-q23	eingebunden in Proteinsynthese, Zellwachstum und -proliferation	Hay und Sonen-berg (2004)
FUBP11	6q32	-	-
FUT1 FUT2	6q11	Aufgaben in den Blastozysten Adhäsionsereignissen; knock-out Mäuse zeigten normale Fertilität	Domino et al. (2001)
G1P3	6q22-q23	-	-
GPR4	6q21	-	-
GYS1	6q21	eingebunden in INL-Wirkung	Groop et al. (1993)

Fortsetzung Tabelle 30

Gen	SSC	Funktion	Referenz
JAK1	6q31-q35	JAK1 gehört wie JAK2 zur PTK-Familie von Protein-Tyrosin-Kinasen, JAK2 ist über STAT5 in die Milchdrüsenentwicklung eingebunden	Wagner et al. (2004)
KIAA0874	6q24-q31	-	-
KRT10L	6q 27-q28	-	-
LHB	6q21	LHB-knock-out Mäuse haben postnatale Defekte im gonadalen Wachstum und sind unfruchtbar. Männliche Mäuse haben kleinere Hoden	Ma et al. (2004)
MC5R	6q24(1/2) q31	in vielen exokrinen Drüsen zur Produktion verschiedener Produkte notwendig	Chen et al. (1997)
MTF1	6q24-q31	reguliert die basale und stark Metall-induzierte Expression	Gunes et al. (1998)
POU2F2	6q21	POU2F2- oder OCT2-knock-out Mäuse starben aus unbekannten Gründen bei der Geburt, die B-Zellen waren reduziert; POU1F1 ist ein Kandidatengen für die Zitzenentwicklung	Schubart et al. (2001)
PRKACB	6q3.1-q3.3	-	-
SEPW1	6q21	-	-
SLC2A1 (GLUT1)	6q-34q	Glukose-Transporter, eingebunden in die Missbildung von Embryonen	Heilig et al. (2003)
TGFβ1	6q21	TGFβ beeinflusst die Regulierung des Zellwachstums und der Differenzierung der Milchdrüse	Oka et al. (1991)

5.5.2.2 Chromosom 11

Anders als auf SSC6 ist die Zuordnung der Gene auf SSC11 zu einem humanen Chromosom eindeutiger, wie die Abbildung 32 zeigt. Verschiedene Kopplungs- und RH-Kartierungen wurden vorgenommen, die die Zuordnung des porcinen Chromosoms 11 zu dem humanen Chromosom 13 bestätigen (Karnuah et al. 2001, Sawera et al. 2006, Sun et al. 1999).

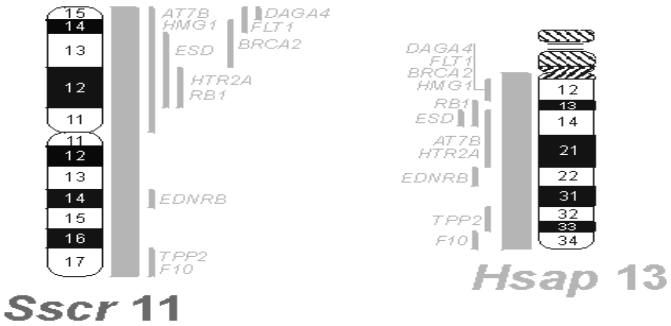

Abbildung 32: Vergleichende Genkarte des porcinen Chromosoms 11 und des humanen Chromosoms 13 (http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/compare)

Der Peak des QTL wurde auf Chromosom 11 an der Position des Markers SW703 detektiert. In der DUMI-Population lag der QTL ebenfalls am Telomer des SSC11 in der Region um den Marker S0386 (zwischen S0071 und SW703).

Verschiedenen Genkarten sind im Internet verfügbar, die sowohl cytogenetische, Kopplungs-, RH- und vergleichende Genkarten nebeneinander darstellen (Abbildung 33 und Abbildung 34).

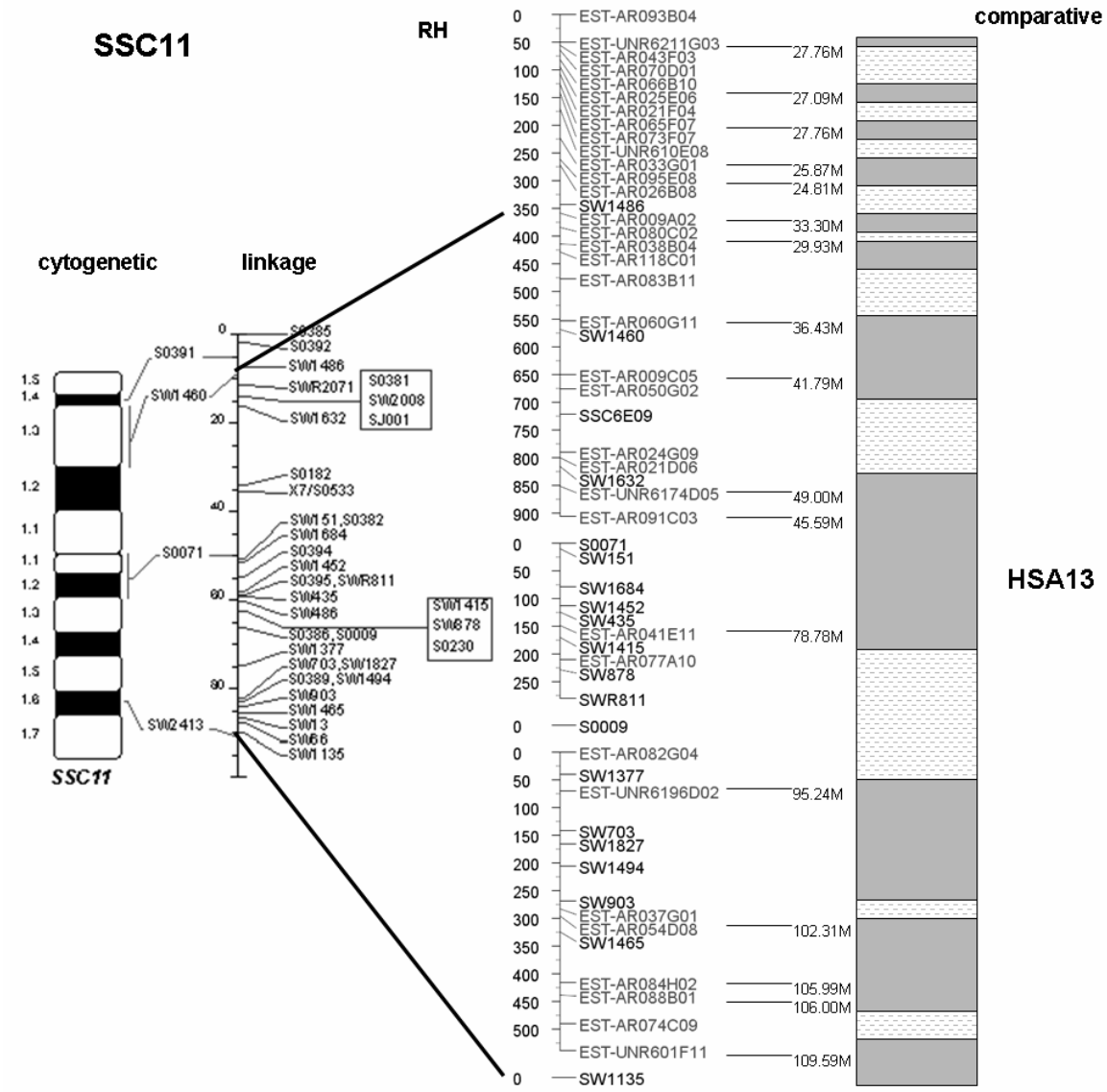

Abbildung 33: Vergleichende Genkarte von SSC11 und HSA 13 (http://www.cabnr.unr.edu/beattie/rhfiles)

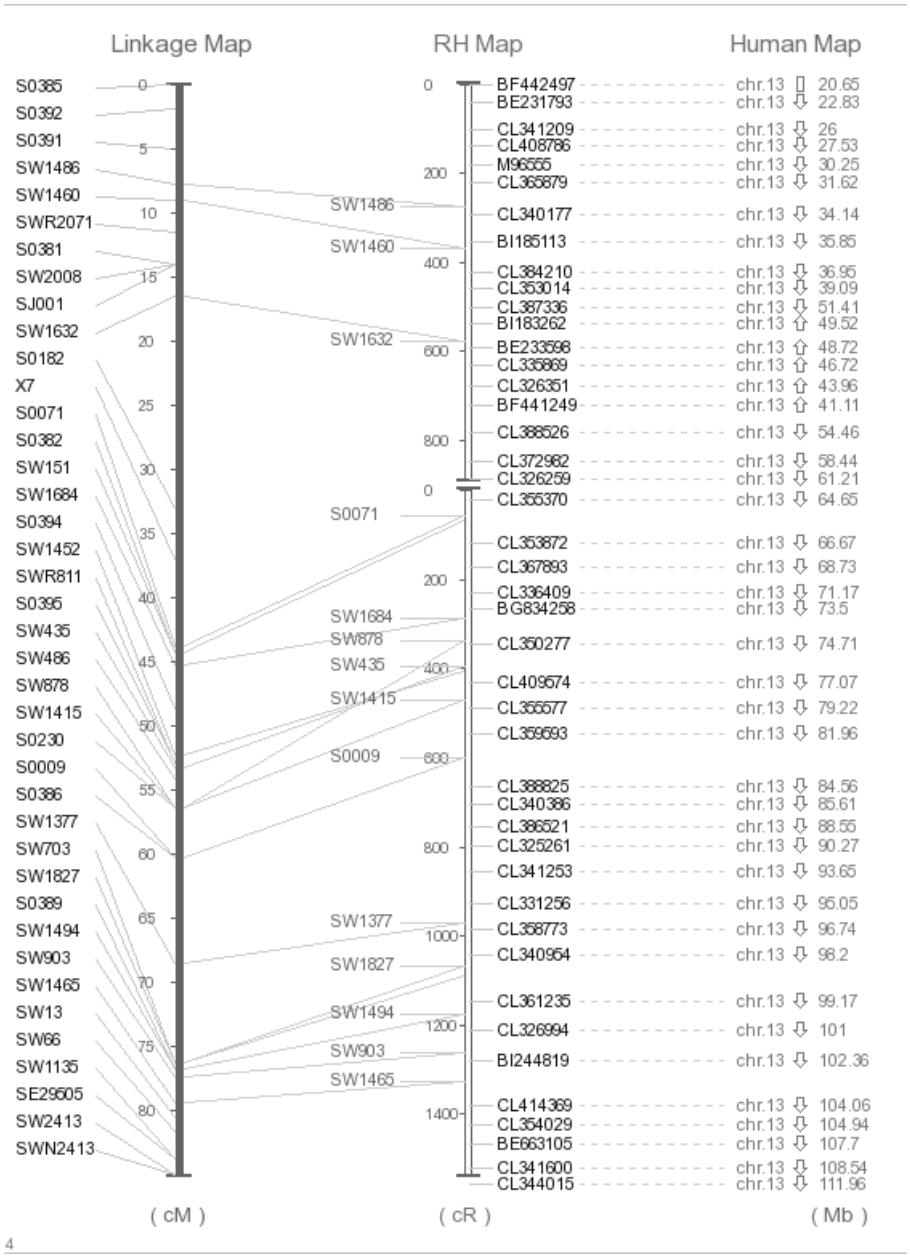

Abbildung 34: Vergleichende Genkarte von SSC11 und HSA13 (http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb) (Meyers et al. 2005)

Somit können bereits identifizierte Gene auf dem humanen Chromosom dem porcinen Chromosom zugeordnet werden. Dennoch liegen viele Gene an diesen Genorten, sodass eine weitere Betrachtung der Funktion der Gene notwendig ist.

Tabelle 31: Positionelle Kandidatengene auf dem Chromosom 11, die beim Schwein bereits kartiert wurden und in der Datenbank der Roslin-Bioinformatikgruppe veröffentlicht wurden (http://www.thearkdb.org/browser)

Position	Symbol	Name
11q11-q15	ALOX5AP	arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein
11	CPB2	carboxypeptidase B2 (plasma, carboxypeptidase U)
11	DCT	dopachrome tautomerase (dopachrome delta isomerase, tyrosinase-related protein 2)
11	EAM	erythrocyte antigen M
11q11-q17	EBI2	Epstein-Barr virus induced gene 2 (lymphocyte-specific G protein-coupled receptor)
11q14	EDNRB	endothelin-B Receptor
11q17	F10	coagulation Factor X
11q11-q17	NDFIP2	nedd4 family interacting protein 2
11	P207	anonymous PRE-1 DNA sequence
11q11-q17	STK24	serine/threonine kinase 24 (STE20 homolog, yeast)
11q17	TPP2	tripeptidyl peptidase II

Der Bereich des QTL kann weiter eingegrenzt werden, da sich neben den in Tabelle 31 aufgeführten Genen weitere Gene in dem Bereich des detektierten QTL befinden. Die beste Möglichkeit ist die feinere Kartierung der Region um den Marker SW703. Gene können auch anhand ihrer Funktion ausgewählt werden. Im Bereich des QTL beim Schwein sind auf der vergleichenden Genkarte von INRA (Toulouse) die Gene EDNRB, F10 und TPP2 kartiert. Bei der Suche nach Genen, die einen Einfluss auf die Entwicklung der Milchdrüse beim Menschen haben und auf HSA13 kartiert wurden, konnten weitere Gene gefunden werden.

Das *breast cancer 2* (*BRCA2*) Gen wurde auf dem humanen Chromosom 13q12.3 kartiert. Die mRNA-Expression des BRCA2-Gens wird während der Proliferation und Differenzierung des Milchdrüsenepithels reguliert. BRCA2 und das verwandte BRCA1 sind in überlappende Stoffwechsel, die die Zellproliferation und Differenzierung regulieren, eingebunden (Rajan et al. 1996). Auf Chromosom 13 im Bereich 13q21 konnte ein weiteres Brustkrebsgen, BRCA3, kartiert werden. In verschiedenen Brustkrebsfällen konnte eine Deletion des 13q mit einem minimalen Verlust von 13q21-q22 festgestellt werden (Kainu et al. 2000). Beim Schwein konnte BRCA2 auf Chromosom 11 kartiert werden (Musilova et al. 2000).

Ein weiteres Gen, das in die Milchdrüsenentwicklung eingebunden ist, ist das *gap junction protein, beta-2* (*GJB2* auch *CX26*) Gen. Normale Epithelzellen der Milchdrüsen, die CX26 und CX43 exprimierten, enthielten funktionelle Zell-Zell-Kanäle (*engl. gap junctions*), während Tumorzellen diese nicht enthielten (Lee et al. 1992). CX26 enthält auch eine Bindestelle eines Milchdrüsenfaktors STAT5A, der bereits in Kapitel 2.2.4.8 beschrieben wurde (Kiang et al. 1997).

Das *tumor necrosis factor ligand superfamily, member 11* (*TNFSF11* auch *OPGL*) ist ebenfalls in die Milchdrüsenentwicklung eingebunden. Der Rezeptor dieses Gens ist das *tumor necrosis factor ligand superfamily, member 11A* (*TNFRSF11A* oder *RANK*) Gen. Neben der Funktion als Schlüsselfaktor für die Knochenumbildung ist OPGL auch in die Milchdrüsenentwicklung eingebunden. Mäuse ohne OPGL oder ohne seinen Rezeptor RANK können keine lolubar-alveolaren Milchdrüsenstrukturen während der Trächtigkeit aufbauen. Dies führt zu einem Absterben der Neugeborenen. OPGL agiert bei trächtigen Weibchen direkt auf RANK-exprimierende Epithelzellen der Milchdrüsen. Der Milchdrüsendefekt bei den $OPGL^{-/-}$ weiblichen Mäusen ist durch eine geförderte Apoptose und einem Fehlen der Proliferation charakterisiert. Durch Behandlung mit OPGL kann diese Fehlentwicklung rückgängig gemacht werden (Fata et al. 2000).

Von den Genen, die beim Menschen und zum Teil beim Schwein kartiert sind, wurde das Gen BRCA3 in der komplementären Region zum gefundenen QTL in den kommerziellen Familien kartiert. Das BRCA2-Gen wurde in der Region 13q12.3, das GJB2-Gen in der Region 13q11-q12 und das TNFSF11-Gen in der Region 13q14 kartiert (Anderson et al. 1997, Connor et al. 1997, Mignon et al. 1996).

Weitere Gene, die einen Einfluss auf die Entwicklung der Milchdrüse haben, konnten nicht auf dem humanen Chromosom HSA13 und seinem komplementären porcinen Chromosom SSC11 detektiert werden.

5.6 Fazit aus den Ergebnissen der Assoziationsanalysen

Die Analysen der Marker mit FBAT ergaben eine Vielzahl signifikanter Allele auf den verschiedenen Chromosomen bei den kommerziellen Familien. Die Ergebnisse waren unabhängig von den Ergebnissen der QTL-Analysen bei diesen Tieren, da die Nullhypothese „keine Assoziation und keine Kopplung“ angenommen wurde. Es wurden ebenfalls Signifikanzen, zum Teil auch von $\leq$ 0,001 auf Chromosomen gefunden, in denen kein QTL detektiert werden konnte. Möglicherweise sind diese Marker mit Genen gekoppelt, die mit der Stülpzitze assoziiert sind. In einer Untersuchung beim Menschen konnten auf dem humanen Chromosom ähnliche Ergebnisse gefunden werden. Die Region des QTL stimmte nicht mit der Region des signifikant assoziierten Markers überein. Es wurde angenommen, dass das häufigste Allel des Markers am QTL im Kopplungsungleichgewicht mit dem Gen, welches das Merkmal beeinflusst, liegt (Wilk et al. 2003). In dieser Studie weisen Wilk et al. (2003) darauf hin, dass es notwendig erscheint, weitere SNPs in der Region zu kartieren, um die Ausprägung der Kopplungsungleichgewichts in dieser Region zu untersuchen. Andere Arbeiten weisen darauf hin, dass FBAT-Analysen eine positionelle genomische Strategie darstellen, um Assoziationen in Regionen mit gefundener Kopplung zu identifizieren. Sie können jedoch auch als Möglichkeit zur Detektion von Kandidatengenen in Regionen ohne vorher gefundene Kopplungssignale dienen (Wang et al. 2005). Dies könnte unsere Beobachtung belegen, dass auf SSC1 eine hohe Assoziation der Marker um den Genort des RLN-Gens und auf SSC5 des PTHLH-Gens mit dem Stülpzitzendefekt gefunden wurde. Es konnte bereits gezeigt werden, dass Polymorphismen im RLN-Gen und im PTHLH-Gen mit der Stülpzitze assoziiert sind (Chomdej 2005).

Eine unserer Arbeit ähnliche Untersuchung wurde auch für den Erbfehler *inguinal Hernia* (Brüche) bei Schweinen durchgeführt (Grindflek et al. 2006). Die Ergebnisse der QTL-Analysen wurden mit dem *Transmission Disequilibrium Test* (TDT) überprüft, aus dem auch der FBAT entwickelt wurde (Rabinowitz und Laird 2000, Spielman und

Ewens 1998). In der Untersuchung von Grindflek et al. (2006) wurden die Regionen mit Übereinstimmung in beiden Tests und einer hohen Signifikanz in mindestens einem Analyseverfahren als die interessantesten Regionen betrachtet. In diesen wurden anschließend Haplotypen weiter analysiert.

Zur weiteren Ausweitung und Interpretation unserer Ergebnisse scheint eine darauf folgende Haplotypen-Analyse mit FBAT oder Genehunter sinnvoll zu sein. Weiterhin sollten die FBAT-Analysen bei den Tieren der DUMI-Population durchgeführt werden. Die Analyse der kommerziellen Familien in dieser Arbeit zeigt, dass eine solche Analyse sinnvoll erscheint.

5.7 Perspektiven für weitere Untersuchungen

Es konnten QTL in der kommerziellen Population detektiert werden. Besonders interessant ist die Übereinstimmung der beiden Regionen mit signifikanten NPL-Werten auf Chromosom 6 und der detektierten Region auf Chromosom 11, die jeweils einen hohen chromosom-weit signifikanten NPL-Wert in beiden Populationen haben. Jedoch sollten die Regionen auf den Chromosomen 3 und 4 in weitere Untersuchungen einbezogen werden.

Die Vielzahl der positionellen und funktionellen Kandidatengene hat gezeigt, dass die Ursache dieses Erbfehlers sehr komplex ist und weitere Untersuchungen zur Detektion des hauptsächlich verursachenden Gens notwendig und vielversprechend sind.

Zukünftige Untersuchungen zielen nun neben der weiteren Suche und Analyse von zusätzlichen Kandidatengenen auch auf die Genexpression ab. In Expressionsanalysen sollen mithilfe der Mikroarray-Technologie mögliche Expressionsunterschiede in defekten und in normalen Zitzen von Schweinen festgestellt werden. Weiterhin werden die zwei der wichtigen Entwicklungsstadien in den Feten, der 42. und der 91. Tag der Trächtigkeit, untersucht. Die Ursache der Fehlentwicklung wird während diesen Zeitpunkten vermutet, da dort die Schlüsselstadien der Zitzenproliferation liegen (Willham und Whatley 1963). Expressionsunterschiede innerhalb eines Stadiums oder zwischen den Stadien könnten auf weitere Kandidatengene hinweisen. Dazu ist es notwendig, die Phänotypen der Feten über die Genotypen zu bestimmen, da die Phänotypen erst zu späteren Entwicklungszeitpunkten eindeutig erkennbar sind. Die

Ergebnisse der Assoziationsanalysen zwischen Markerallelen und dem Stülpzitzendefekt sollen als Grundlage für eine indirekte Gendiagnose dienen.

Diese Untersuchung hat gezeigt, dass eine Detektion von QTL-Genorten für den Stülpzitzendefekt möglich ist, insbesondere durch die Bestätigung der Ergebnisse in zwei unabhängigen Populationen und Studien. In verschiedenen QTL-Analysen zur Detektion von Genen für die MAS wurden die Regionen in weiteren Analysen bestätigt. Es ist daher notwendig, die Effekte der QTL zu überprüfen, bevor sie als Marker eingesetzt werden können (Gerbens et al. 2000, Spelman und Bovenhuis 1998). Bei Schweinepopulationen wurde weiterhin festgestellt, dass die Marker-Heterozygotien zwischen Rassen stark variieren. Zwischen verschiedenen Rassen variierten die Heterozygotien zwischen 0 und 0,91 mit einer durchschnittlichen Heterozygotie von größer als 0,70. Daher müssen multiple Mikrosatelliten-Panels für die Identifizierung der QTL für die MAS-Programme oder für die Identifizierung der Eltern in kommerziellen Populationen angewandt werden (Paszek et al. 1998).

Die QTL-Untersuchungen bei kommerziellen Populationen haben den Vorteil, dass die Ergebnisse in Zuchtprogrammen verwendet werden können und die Kosten für die Experimente niedriger sind. Zum einen können die Tiere aus den landwirtschaftlichen Betrieben verwendet werden, zum anderen sind die Schlachtkörper kommerzieller Tiere meist besser zu vermarkten als die der experimentellen Populationen (Grindflek et al. 2001).

6 Zusammenfassung

In den letzten Jahren wurden verschiedene molekular-genetische Hilfsmittel zur Ermittlung der genetischen Ursachen verschiedener Merkmale entwickelt. Die Kartierung von QTL-Regionen, die Analyse von Kandidatengenen und die Entwicklung von Genchips zur Expressionsanalyse sind vielversprechenden Methoden, die vor allem in Kombination zu aussagefähigen Ergebnissen führen. Das Ziel der meisten Untersuchungen ist die Detektion von interessanten Genorten, die in der markergestützten Selektion eingesetzt werden können.

Die vorliegende Arbeit dient zur Überprüfung, der in einer Versuchspopulation detektierten QTL-Genorte für den Erbfehler Stülpzitze. Ausgehend von vorliegenden Ergebnissen aus der Versuchspopulation mit stark divergenten Rassen, wurden zunächst alle Autosomen bei 100 Tieren untersucht. Die Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6 und 14 wurden feiner kartiert, um die Genorte weiter eingrenzen zu können und um die Anzahl möglicher positioneller Kandidatengene zu verringern.

Die in diesen Versuchen verwendeten Tiere stammten aus verschiedenen Schweinezuchtbetrieben. Proben von Tieren der Rassen Deutsche Landrasse, Deutsches Edelschwein und deren Kreuzungstieren aus den stationären Leistungsprüfungen wurden am Schlachthof entnommen. Die Zitzen wurden bonitiert und die Abstammung der Tiere konnte anhand des Datenmaterials der Leistungsprüfungen identifiziert werden. Die Proben der Eltern der Vollgeschwistergruppen, bestehend aus mindestens einem Tier mit mehr als einer Stülpzitze, wurden in den Zuchtbetrieben entnommen. Insgesamt wurden 100 Familien betrachtet, wobei nur die Marker auf den Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6 und 14 in allen Familien genotypisiert wurden.

Die Marker für die Bestätigungsanalyse über alle Chromosomen wurden basierend auf die vorhergehenden Untersuchungen ausgewählt. Zusätzliche Marker wurden aus der MARC-Datenbank auf den Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6 und 14 ausgewählt. Es wurden insgesamt 110 Marker typisiert, zwischen drei und vier Markern auf den Chromosomen 5, 7 bis 13 und 15 bis 18 und zwischen sieben und vierzehn Markern auf den Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6 und 14. Die Amplifikation der Fragmente erfolgte in verschiedenen PCR-Reaktionen. Die elektrophoretische Auftrennung der PCR-Produkte

wurde in verschiedenen Sequenziergeräten (DNA Analyser 4200 von LICOR und CEQ8000 von BeckmanCoulter) durchgeführt.

Die wichtigsten Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich im Folgenden zusammenfassen:

1. Die Summe der Längen der geschlechtsunabhängigen Genkarten auf den Chromosomen 1 bis 18 betrug 3.337 cM. Die geschlechtsspezifischen Genkarten wurden berechnet, die Summe der weiblichen Genkarten betrug 3.250 cM, die der männlichen Genkarten 3.341 cM. Die Anordnung der untersuchten Marker wurde in Abhängigkeit von den veröffentlichten Genkarten und in Übereinstimmung zu Berechnungen der Genkarten in der DUMI-Population gewählt. Die Summe der Längen der Genkarten in den kommerziellen Familien und in der DUMI-Population stimmten gut mit den veröffentlichten Genkarten der MARC-Datenbank überein.

2. Bei den QTL-Analysen in der DUMI-Population ergaben sich auf den Chromosomen 3, 4, 5, 6, 8, 11, 12 und 14 experiment-weit hoch signifikante NPL-Werte ($p \leq 0{,}01$). Auf den Chromsomen 2, 7, 10, 16 und 18 waren die NPL-Werte experiment-weit signifikant ($p \leq 0{,}05$). Auf den Chromsomen 1, 9, 13 und 15 konnten die chromosom-weiten Signifikanzen nach der Transformation nicht experiment-weit bestätigt werden. Auf Chromosom 17 wurde der niedrigste NPL-Wert errechnet, es konnte kein signifikantes Level erreicht werden. Ausgehend von der Definition von Lander und Kruglyak (1995) wurde auf den Chromosomen 1, 2, 4, 6 und 12 signifikante QTL (NPL-Wert $\geq$ 4,3) und auf den Chromosomen 3, 5, 8, 11, 14, 16 und 18 suggestive QTL (NPL-Wert $\geq$ 3,0) gefunden.

3. Bei der Bestätigungsanalyse aller kommerziellen Familien wurden auf den Chromosomen 5, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17 und 18 keine signifikanten NPL-Werte errechnet werden, die Werte lagen bei $p \geq 0{,}05$. Auf Chromosom 11 wurde ein chromosom-weit hoch signifikanter NPL-Wert ($p \leq 0{,}01$) am Marker SW703 errechnet. Auf den Chromosomen 5 und 8 wurden bei der separaten

Analyse der Familien der Kreuzungstiere chromsom-weit hoch signifikante NPL-Werte ($p \leq 0{,}01$), auf den Chromosomen 11 und 13 signifikante NPL-Werte ($p \leq 0{,}05$) gefunden. Diese Genorte entsprachen den Genorten mit den höchsten Peaks bei der Analyse aller Familien. Auf Chromosom 11 ergab sich ebenfalls ein chromosom-weite signifikanter NPL-Wert ($p \leq 0{,}05$) bei der Analyse der Familien der Rasse DL am Genort des Markers SW703.

4. Bei der Bestätigungsanalyse wurden weiterhin auf den Chromosomen 1, 2, 3 und 14 bei der Analyse aller Familien keine signifikanten NPL-Werte erreicht. Auf den Chromosomen 2 und 3 wurden bei der Analyse der Kreuzungstiere chromosom-weit signifikante NPL-Werte ($p \leq 0{,}05$) erreicht. Auf Chromosom 6 wurden am Marker S0035 und S0059 chromosom-weit signifikante und hoch signifikante NPL-Werte bei der Analyse aller Tiere erreicht. Aus den Analysen der Familien der Rasse DL ergab sich ein signifikanter Peak ($p \leq 0{,}05$) am Marker S0003, bei den Analysen der Kreuzungstiere am Marker S0059. Der NPL-Wert am Marker S0059 erreichte einen höchsten Wert von 1,64.

5. Die Ergebnisse der feineren Kartierung der Chromosomen 1, 2, 3, 4, 6 und 14 stimmten weitestgehend mit den Ergebnissen der Bestätigungsanalyse überein. Auf den Chromosomen 1, 3, 4 und 6 wurden bei der Analyse aller Familien chromosom-weit signifikante ($p \leq 0{,}05$) und hoch signifikante ($p \leq 0{,}01$) NPL-Werte erreicht. Auf Chromosom 1 ergaben sich bei der Analyse der Kreuzungstiere an mehreren Genorten chromosom-weit signifikante ($p \leq 0{,}05$) NPL-Werte. Auf Chromosom 6 wurde am Marker S0059 weiterhin ein chromosom-weit hoch signifikanter ($p \leq 0{,}01$) NPL-Wert von 1,58, der nach der Transformation experiment-weit ($p \leq 0{,}05$) bestätigt werden konnte.

6. Die QTL-Genorte, die bei der Analyse der kommerziellen Familien gefunden wurden, konnten die Ergebnisse der Analysen der Tiere der Versuchspopulation zum Teil bestätigen. Es konnten jedoch nach der Definition von Lander und Kruglyak (1995) in den kommerziellen Familien weder suggestive noch signifikante QTL gefunden werden. Der signifikante QTL auf Chromosom 6 bei

der Analyse der DUMI-Population konnte bei der Analyse der kommerziellen Familien bestätigt werden.

7. Beim Vergleich der Ergebnisse der QTL-Analysen wurden auf den Chromosomen 6 und 11 signifikanten NPL-Werten in beiden Populationen gefunden. Diese erreichten in der Analyse der kommerziellen Familien das höchste Signifikanzniveau. Es wurden verschiedene Gene als Kandidatengene detektiert. Der Vergleich der Chromosomen vom Schwein und vom Menschen ergab Homologien zwischen dem porcinen Chromosom 6 und den humanen Chromosomen 1, 16, 18 und 19. Es wurden die Gene WTN4, LMO4, LAR und FABP3 als positionelle und funktionelle Kandidatengene für die Entwicklung der Stülpzitze beim Schwein betrachtet. Auf dem porcinen Chromosom 6 wurden weiterhin verschiedene Gene gefunden, die eine Rolle bei der Zitzenentwicklung spielen könnten (FABP3, JAK1, LHB, POU2F1 und TGFβ1). Bei der vergleichenden Kartierung mit dem porcinen Chromosom 11 und dem humanen Chromosom 13 wurde das Gen BRCA3 als mögliches funktionelles und positionelles Kandidatengen erachtet.

8. Bei der Assoziationsanalyse mit dem Programm FBAT konnten zum größten Teil die Regionen der QTL bestätigt werden. Weitere Analysen sollen zukünftig den Einfluss einzelner Familien auf diese Ergebnisse bestimmen.

Diese Untersuchung ist die erste, die eine QTL-Analyse für den Stülpzitzendefekt in kommerziellen Familien durchführt. Des Weiteren wurden die Ergebnisse für die QTL-Kartierung in zwei verschiedenen Populationen verglichen. Es konnten zwei QTL-Genorte gefunden werden und ihre Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus der Versuchspopulation gezeigt werden. Die sich an die Kopplungsanalyse anschließende Assoziationsanalyse soll neben der Bestätigung von Kandidatengenen einen ersten Ansatzpunkt für die Entwicklung eines indirekten Gentests bilden.

7 Literaturverzeichnis

Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V. (ADR) (2005): Rinderproduktion in der Bundesrepublik Deutschland 2005. ADR Jahresbericht

Akers RM (2002): Lactation and the mammary gland. Iowa State Press, Iowa

Akers RM, McFadden TB, Purup S, Vestergaard M, Sejrsen K, Capuco AV (2000): Local IGF-I axis in peripubertal ruminant mammary development. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia 5, 43-51

Al-Bayati HK, Duscher S, Kollers S, Rettenberger G, Fries R, Brenig B (1999): Construction and characterization of a porcine P1-derived artificial chromosome (PAC) library covering 3.2 genome equivalents and cytogenetical assignment of six type I and type II loci. Mammalian Genome 10, 569-572

Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, Teepe MC, DuBose RF, Cosman D, Galibert L (1997): A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. Nature 390, 175-179

Andersson L, Haley CS, Ellegren H, Knott SA, Johansson M, Andersson K, Anderssoneklund L, Edforslilja I, Fredholm M, Hansson I, Hakansson J, Lundstrom K (1994): Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. Science 263, 1771-1774

Archibald A. (1994): The pig gene mapping project (PiGMaP) - identifying trait genes. Roslin Institute, Edinburgh.

Archibald AL, Haley CS, Brown JF, Couperwhite S, McQueen HA, Nicholson D, Coppieters W, Vandeweghe A, Stratil A, Wintero AK, Fredholm M, Larsen NJ, Nielsen VH, Milan D, Woloszyn N, Robic A, Dalens M, Riquet J, Gellin J, Caritez JC, Burgaud G, Ollivier L, Bidanel JP, Vaiman M, Renard C, Geldermann H, Davoli R, Ruyter D,

Verstege EJM, Groenen MAM, Davies W, Hoyheim B, Keiserud A, Andersson L, Ellegren H, Johansson M, Marklund L, Miller JR, Dear DVA, Signer E, Jeffreys AJ, Moran C, Letissier P, Muladno, Rothschild MF, Tuggle CK, Vaske D, Helm J, Liu HC, Rahman A, Yu TP, Larson RG, Schmitz CB (1995): The Pigmap consortium linkage map of the pig (sus scrofa). Mammalian Genome 6, 157-175

Arranz JJ, Coppieters W, Berzi P, Cambisano N, Grisart B, Karim L, Marcq F, Moreau L, Mezer C, Riquet J, Simon P, Vanmanshoven P, Wagenaar D, Georges M (1998): A QTL affecting milk yield and composition maps to bovine chromosome 20: a confirmation. Animal Genetics 29, 107-115

Ashwell MS, Heyen DW, Sonstegard TS, Van Tassell CP, Da Y, VanRaden PM, Ron M, Weller JI, Lewin HA (2004): Detection of quantitative trait loci affecting milk production, health, and reproductive traits in Holstein cattle. Journal of Dairy Science 87, 468-475

Ashwell MS, Heyen DW, Weller JI, Ron M, Sonstegard TS, Van Tassell CP, Lewin HA (2005): Detection of quantitative trait loci influencing conformation traits and calving ease in Holstein-Friesian cattle. Journal of Dairy Science 88, 4111-4119

Auchtung TL, Rius AG, Kendall PE, McFadden TB, Dahl GE (2005): Effects of photoperiod during the dry period on prolactin, prolactin receptor, and milk production of dairy cows. Journal of Dairy Science 88, 121-127

Bathgate RAD, Samuel CS, Burazin TCD, Layfield S, Claasz AA, Reytomas IGT, Dawson NF, Zhao CX, Bond C, Summers RJ, Parry LJ, Wade JD, Tregear GW (2002): Human relaxin gene 3 (H3) and the equivalent mouse relaxin (M3) gene - Novel members of the relaxin peptide family. Journal of Biological Chemistry 277, 1148-1157

Beamer WG, Eicher EM (1976): Stimulation of growth in little mouse. Journal of Endocrinology 71, 37-45

Beeckmann P, Moser G, Bartenschlager H, Reiner G, Geldermann H (2003): Linkage and QTL mapping for Sus scrofa chromosome 8. Journal of Animal Breeding and Genetics 120, 66-73

Bennett B, Beeson M, Gordon L, Johnson TE (1997): Quick method for confirmation of quantitative trait loci. Alcoholism-Clinical and Experimental Research 21, 767-772

Bennewitz J, Reinsch N, Grohs C, Leveziel H, Malafosse A, Thomsen H, Xu NY, Looft C, Kuhn C, Brockmann GA, Schwerin M, Weimann C, Hiendleder S, Erhardt G, Medjugorac I, Russ I, Forster M, Brenig B, Reinhardt F, Reents R, Averdunk G, Blumel J, Boichard D, Kalm E (2003): Combined analysis of data from two granddaughter designs: A simple strategy for QTL confirmation and increasing experimental power in dairy cattle. Genetics Selection Evolution 35, 319-338

Bhattacharjee M, Vonderhaar BK (1984): Thyroid-hormones enhance the synthesis and secretion of alpha-lactalbumin by mouse mammary tissue invitro. Endocrinology 115, 1070-1077

Bhattacharya A, Vonderhaar BK (1979): Thyroid-hormone regulation of prolactin binding to mouse mammary-glands. Biochemical and Biophysical Research Communications 88, 1405-1411

Binas B, Spitzer E, Zschiesche W, Erdmann B, Kurtz A, Muller T, Niemann C, Blenau W, Grosse R (1992): Hormonal induction of functional-differentiation and mammary-derived growth inhibitor expression in cultured mouse mammary-gland explants. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal 28A, 625-634

Blendl HM, Hußlein E, Bleicher H (1980): Zitzenbeurteilung beim Schwein - ein wesentliches Selektionskriterium. Bayerisches landwirtschaftliches Jahrbuch 58, 250-255

Bohmer FD, Kraft R, Otto A, Wernstedt C, Hellman U, Kurtz A, Muller T, Rohde K, Etzold G, Lehmann W, Langen P, Heldin CH, Grosse R (1987): Identification of a

polypeptide growth inhibitor from bovine mammary-gland - sequence homology to fatty acid-binding and retinoid-binding proteins. Journal of Biological Chemistry 262, 15137-15143

Bolander FF, Nicholas KR, Vanwyk JJ, Topper YJ (1981): Insulin is essential for accumulation of casein messenger-RNA in mouse mammary epithelial-cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences 78, 5682-5684

Bole-Feysot C, Goffin V, Edery M, Binart N, Kelly PA (1998): Prolactin (PRL) and its receptor: Actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. Endocrine Reviews 19, 225-268

Bornemann-Kolatzki K (2004): Durchführung eines Genomscans mit polymorphen DNA-Markern und Genomic Mismatch Scanning (GMS) bei Sus scrofa zur Detektion Hernia inguinalis/scrotalis assoziierter Genomregionen. Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980): Construction of a genetic linkage map in man using restriction frament length polymophisms. American Journal of Human Genetics, 314-331

Brevern N, Schimpf B, Wörner R, Swalve H (1994): Parameterschätzung für Zitzenmerkmale bei Hybridsauen. Züchtungskunde 66, 339-348

Bryant-Greenwood GD, Jeffrey R, Ralph MM, Seamark RF (1980): Relaxin production by the porcine ovarian graafian follicle invitro. Biology of Reproduction 23, 792-800

Brym P, Kaminski S, Ruoeæ A (2004): New SSCP polymorphism within bovine STAT5A gene and its associations with milk performance traits in Black-and-White and Jersey cattle. Journal of Applied Genetics 45, 445-452

Brym P, Kaminski S, Wojcik E (2005): Nucleotide sequence polymorphism within exon 4 of the bovine prolactin gene and its associations with milk performance traits. Journal of Applied Genetics 45, 179-185

Buhimschi CS (2004): Endocrinology of lactation. Obstetrics and Gynecology Clinics of North America 31, 963-979

Bullock P, Miller J, Botchan M (1986): Effects of poly[d(pGpT). d(pApC)] and poly[d(pCpG). d(pCpG)] Repeats on homologous recombination in somatic-cells. Molecular and Cellular Biology 6, 3948-3953

Butler AA, LeRoith D (2001): Minireview: Tissue-specific versus generalized gene targeting of the Igf1 and Igf1r genes and their roles in insulin-like growth factor physiology. Endocrinology 142, 1685-1688

Campbell EMG, Nonneman D, Rohrer GA (2003): Fine mapping a quantitative trait locus affecting ovulation rate in swine on chromosome 8. Journal of Animal Science 81, 1706-1714

Capuco AV, Kahl S, Jack LJW, Bishop JO, Wallace H (1999): Prolactin and growth hormone stimulation of lactation in mice requires thyroid hormones. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 221, 345-351

Capuco AV, Wood DL, Elsasser TH, Kahl S, Erdman RA, Van Tassell CP, Lefcourt A, Piperova LS (2001): Effect of somatotropin on thyroid hormones and cytokines in lactating dairy cows during ad libitum and restricted feed intake. Journal of Dairy Science 84, 2430-2439

Carrascosa JM, Ramos P, Molero JC, Herrera E (1998): Changes in the kinase activity of the insulin receptor account for an increased insulin sensitivity of mammary gland in late pregnancy. Endocrinology 139, 520-526

Cassady JP, Johnson RK, Pomp D, Rohrer GA, Van Vleck LD, Spiegel EK, Gilson KM (2001): Identification of quantitative trait loci affecting reproduction in pigs. Journal of Animal Science 79, 623-633

Catchpole IR, Engstrom W (1990): Nucleotide-sequence of a porcine insulin-like growth factor-Ii cDNA. Nucleic Acids Research 18, 6430-6430

Chen F, Capecchi MR (1999): Paralogous mouse Hox genes, Hoxa9, Hoxb9, and Hoxd9, function together to control development of the mammary gland in response to pregnancy. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 96, 541-546

Chen HY, Zhang Q, Yin CC, Wang CK, Gong WJ, Mei G (2006): Detection of quantitative trait loci affecting milk production traits on bovine chromosome 6 in a Chinese Holstein population by the daughter design. Journal of Dairy Science 89, 782-790

Chen WB, Kelly MA, OpitzAraya X, Thomas RE, Low MJ, Cone RD (1997): Exocrine gland dysfunction in MC5-R-deficient mice: Evidence for coordinated regulation of exocrine gland function by melanocortin peptides. Cell 91, 789-798

Chomdej S (2005): Molecular genetic analysis of positional candidate genes for mammary gland characteristics in pigs. Dissertation, Rheinische Friedrich - Wilhelms - Universität

Chomdej S, Ponsuksili S, Schellander K, Wimmers K (2004): Sequencing, SNP identification and mapping of the porcine PTHLH gene to chromosome 5. Animal Genetics 35, 151-152

Chowdhary BP, Ellegren H, Johansson M, Andersson L, Gustavsson I (1994): In-situ hybridization mapping of the growth-hormone receptor (Ghr) gene assigns a linkage group (C9, Psa, Ghr, and S0105) to chromosome-16 in pigs. Mammalian Genome 5, 160-162

Churchill GA, Doerge RW (1994): Empirical threshold values for quantitative trait mapping. Genetics 138, 963-971

Clarkson RWE, Wayland MT, Lee J, Freeman T, Watson CJ (2004): Gene expression profiling of mammary gland development reveals putative roles for death receptors and immune mediators in post-lactational regression. Breast Cancer Research 6, R92-R109

Clayton GA, Powell JC, Hiley PG (1981): Inheritance of teat number and teat inversion in pigs. Animal Production 33, 299-304

Cohen-Zinder M, Seroussi E, Larkin DM, Loor JJ, Everts-van der Wind A, Lee JH, Drackley JK, Band MR, Hernandez AG, Shani M, Lewin HA, Weller JI, Ron M (2005): Identification of a missense mutation in the bovine ABCG2 gene with a major effect on the QTL on chromosome 6 affecting milk yield and composition in Holstein cattle. Genome Research 15, 936-944

Cohen LE, Radovick S (2002): Molecular basis of combined pituitary hormone deficiencies. Endocrine Reviews 23, 431-442

Cohen LE, Zanger K, Brue T, Wondisford FE, Radovick S (1999): Defective retinoic acid regulation of the Pit-1 gene enhancer: A novel mechanism of combined pituitary hormone deficiency. Molecular Endocrinology 13, 476-484

Connor F, Smith A, Wooster R, Stratton M, Dixon A, Campbell E, Tait TM, Freeman T, Ashworth A (1997): Cloning, chromosomal mapping and expression pattern of the mouse Brca2 gene. Human Molecular Genetics 6, 291-300

Cooke NE, Coit D, Shine J, Baxter JD, Martial JA (1981): Human-prolactin - cDNA structural-analysis and evolutionary comparisons. Journal of Biological Chemistry 256, 4007-4016

Cowie AT (1966): Anterior pituitary function in lactation. In: Harris GW, Donovan BT (Eds.). The pituitary gland. Butterworth, London, 412-443

Cowie AT (1957): Mammary development and lactation. In: Hammond J (Eds.). Progress in the physiology of farm animals. Butterworths scientific publications, London,

Crawford RJ, Hudson P, Shine J, Niall HD, Eddy RL, Shows TB (1984): Two human relaxin genes are on chromosome-9. Embo Journal 3, 2341-2345

Crowley WR, Armstrong WE (1992): Neurochemical regulation of oxytocin secretion in lactation. Endocrine Reviews 13, 33-65

Cunha GR, Young P, Hom YK, Cooke PS, Taylor JA, Lubahn DB (1997): Elucidation of a role for stromal steroid hormone receptors in mammary gland growth and development using tissue recombinants. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia 2, 393-402

Daniel CW, Robinson S, Silberstein GB (1996): The role of TGF-beta in patterning and growth of the mammary ductal tree. Journal of mammary gland biology and neoplasia 1, 331-41

Daniel CW, Silberstein GB, Strickland P (1987): Direct action of 17-beta-estradiol on mouse mammary ducts analyzed by sustained-release implants and steroid autoradiography. Cancer Research 47, 6052-6057

de Koning DJ, Janss LLG, Rattink AP, van Oers PAM, de Vries BJ, Groenen MAM, van der Poel JJ, de Groot PN, Brascamp EW, van Arendonk JAM (1999): Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs (Sus scrofa). Genetics 152, 1679-1690

de Koning DJ, Pong-Wong R, Varona L, Evans GJ, Giuffra E, Sanchez A, Plastow G, Noguera JL, Andersson L, Haley CS (2003a): Full pedigree quantitative trait locus analysis in commercial pigs using variance components. Journal of Animal Science 81, 2155-2163

de Koning DJ, Rattink AP, Harlizius B, Groenen MAM, Brascamp EW, van Arendonk JAM (2001): Detection and characterization of quantitative trait loci for growth and reproduction traits in pigs. Livestock Production Science 72, 185-198

de Koning DJ, Windsor D, Hocking PM, Burt DW, Law A, Haley CS, Morris A, Vincent J, Griffin H (2003b): Quantitative trait locus detection in commercial broiler lines using candidate regions. Journal of Animal Science 81, 1158-1165

Domino SE, Zhang L, Gillespie PJ, Saunders TL, Lowe JB (2001): Deficiency of reproductive tract alpha(1,2)fucosylated glycans and normal fertility in mice with targeted deletions of the FUT1 or FUT2 alpha(1,2)fucosyltransferase locus. Molecular and Cellular Biology 21, 8336-8345

Done JT (1980): Zitzenmängel beim Schwein. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 87, 437-439

Drews U (1993): Taschenatlas der Embryologie. Thieme, Stuttgart

Dumitrescu RG, Cotarla I (2005): Understanding breast cancer risk - where do we stand in 2005? Journal of Cellular and Molecular Medicine 9, 208-221

Dunbar ME, Dann P, Brown CW, Van Houton J, Dreyer B, Philbrick WP, Wysolmerski JJ (2001): Temporally regulated overexpression of parathyroid hormone-related protein in the mammary gland reveals distinct fetal and pubertal phenotypes. Journal of Endocrinology 171, 403-416

Dunbar ME, Young P, Zhang JP, McCaughern-Carucci J, Lanske B, Orloff JJ, Karaplis A, Cunha G, Wysolmerski JJ (1998): Stromal cells are critical targets in the regulation of mammary ductal morphogenesis by parathyroid hormone-related protein. Developmental Biology 203, 75-89

Ellegren H (1993): Genome analysis with microsatellite markers. Dissertation, Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Breeding and Genetics: Uppsala, Sweden

Ellegren H, Chowdhary BP, Fredholm M, Hoyheim B, Johansson M, Nielsen PB, Thomsen PD, Andersson L (1994): A physically anchored linkage map of pig chromosome-1 uncovers sex-specific and position-specific recombination rates. Genomics 24, 342-350

Evans GJ, Giuffra E, Sanchez A, Kerje S, Davalos G, Vidal O, Illan S, Noguera JL, Varona L, Velander I, Southwood OI, de Koning DJ, Haley CS, Plastow GS, Andersson L (2003): Identification of quantitative trait loci for production traits in commercial pig populations. Genetics 164, 621-627

Falaki M, Gengler N, Sneyers M, Prandi A, Massart S, Formigoni A, Burny A, Portetelle D, Renaville R (1996): Relationships of polymorphisms for growth hormone and growth hormone receptor genes with milk production traits for Italian Holstein-Friesian bulls. Journal of Dairy Science 79, 1446-1453

Fan QR, Hendrickson WA (2005): Structure of human follicle-stimulating hormone in complex with its receptor. Nature 433, 269-277

Fata JE, Kong YY, Li J, Sasaki T, Irie-Sasaki J, Moorehead RA, Elliott R, Scully S, Voura EB, Lacey DL, Boyle WJ, Khokha R, Penninger JM (2000): The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. Cell 103, 41-50

Fernandez A, Toro M, Rodriguez C, Silio L (2004): Heterosis and epistasis for teat number and fluctuating asymmetry in crosses between Jiaxing and Iberian pigs. Heredity 93, 222-227

Feuermann Y, Mabjeesh SJ, Shamay A (2004): Leptin affects prolactin action on milk protein and fat synthesis in the bovine mammary gland. Journal of Dairy Science 87, 2941-2946

Fitzpatrick DR, Germainlee E, Valle D (1995): Isolation and characterization of rat and human cDNAs encoding a novel putative peroxisomal Enoyl-CoA hydratase. Genomics 27, 457-466

Flint DJ, Gardner M (1994): Evidence that growth-hormone stimulates milk synthesis by direct action on the mammary-gland and that prolactin exerts effects on milk secretion by maintenance of mammary deoxyribonucleic-acid content and tight junction status. Endocrinology 135, 1119-1124

Flint DJ, Vernon RG (1998): Effects of food restriction on the responses of the mammary gland and adipose tissue to prolactin and growth hormone in the lactating rat. Journal of Endocrinology 156, 299-305

Foley J, Dann P, Hong J, Cosgrove J, Dreyer B, Rimm D, Dunbar ME, Philbrick W, Wysolmerski JJ (2001): Parathyroid hormone-related protein maintains mammary epithelial fate and triggers nipple skin differentiation during embryonic breast development. Development 128, 513-525

Ford JA, Kim SW, Rodriguez-Zas SL, Hurley WL (2003): Quantification of mammary gland tissue size and composition changes after weaning in sows. Journal of Animal Science 81, 2583-2589

Förster M (1992): Gendiagnostische Erbfehleranalyse zur Verbesserung der Tiergesundheit. Züchtungskunde 64, 405-410

Forsyth IA (1994): Comparative aspects of placental lactogens - structure and function. Experimental and Clinical Endocrinology 102, 244-251

Forsyth IA (1986): Variation among species in the endocrine control of mammary growth and function - the roles of prolactin, growth-hormone, and placental-lactogen. Journal of Dairy Science 69, 886-903

Forsyth IA, Turvey A (1984): Fatty-acid synthesis by explant cultures from the mammary-glands of goats on days 60 and 120 of pregnancy. Journal of Endocrinology 100, 87-92

Franco MM, Antunes RC, Silva HD, Goulart LR (2005): Association of PIT1, GH and GHRH polymorphisms with performance and carcass traits in Landrace pigs. Journal of Applied Genetics 46, 195-200

Fredholm M, Wintero AK, Christensen K, Kristensen B, Nielsen PB, Davies W, Archibald A (1993): Characterization of 24 porcine (dA-dC)n-(dT-dG)n microsatellites - genotyping of unrelated animals from 4 breeds and linkage studies. Mammalian Genome 4, 187-192

Fredriksson R, Lagerstrom MC, Lundin LG, Schioth HB (2003): The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. Molecular Pharmacology 63, 1256-1272

Freeman CS, Topper YJ (1978): Progesterone is not essential to differentiative potential of mammary epithelium in male mouse. Endocrinology 103, 186-192

Freson K, Hashimoto H, Thys C, Wittevrongel C, Danloy S, Morita Y, Shintani N, Tomiyama Y, Vermylen J, Hoylaerts MF, Baba A, Van Geet C (2004): The pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is a physiological inhibitor of platelet activation. Journal of Clinical Investigation 113, 905-912

Frohman LA, Downs TR, Chomczynski P (1992): Regulation of growth-hormone secretion. Frontiers in Neuroendocrinology 13, 344-405

Gallego MI, Binart N, Robinson GW, Okagaki R, Coschigano KT, Perry J, Kopchick JJ, Oka T, Kelly PA, Hennighausen L (2001): Prolactin, growth hormone, and epidermal growth factor activate stat5 in different compartments of mammary tissue and exert different and overlapping developmental effects. Developmental Biology 229, 163-175

Garcia-Gasca A, Spyropoulos DD (2000): Differential mammary morphogenesis along the anteroposterior axis in Hoxc6 gene targeted mice. Developmental Dynamics 219, 261-276

Geldermann H (1988): Genomanalyse bei Nutztieren. Züchtungskunde 60, 232-247

Geldermann H, Muller E, Beeckmann P, Knorr C, Yue G, Moser G (1996): Mapping of quantitative-trait loci by means of marker genes in F-2 generations of wild boar, Pietrain and Meishan pigs. Zeitschrift für Tierzüchtung und Züchtungsbiologie 113, 381-387

Gendler SJ, Lancaster CA, Taylorpapadimitriou J, Duhig T, Peat N, Burchell J, Pemberton L, Lalani E, Wilson D (1990): Molecular-cloning and expression of human tumor-associated polymorphic epithelial mucin. Journal of Biological Chemistry 265, 15286-15293

Gerbens F, de Koning DJ, Harders FL, Meuwissen THE, Janss LLG, Groenen MAM, Veerkamp JH, Van Arendonk JAM, te Pas MFW (2000): The effect of adipocyte and heart fatty acid-binding protein genes on intramuscular fat and backfat content in Meishan crossbred pigs. Journal of Animal Science 78, 552-559

Gerbens F, Jansen A, van Erp AJM, Harders F, Meuwissen THE, Rettenberger G, Veerkamp JH, te Pas MFW (1998): The adipocyte fatty acid-binding protein locus: characterization and association with intramuscular fat content in pigs. Mammalian Genome 9, 1022-1026

Gerbens F, Rettenberger G, Lenstra JA, Veerkamp JH, te Pas MFW (1997): Characterization, chromosomal localization, and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene. Mammalian Genome 8, 328-332

Giustina A, Veldhuis JD (1998): Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. Endocrine Reviews 19, 717-797

Gomez-Raya L, Klemetsdal G (1999): Two-stage selection strategies utilizing marker-quantitative trait locus information and individual performance. Journal of Animal Science 77, 2008-2018

Green P (1992): Construction and comparison of chromosome-21 radiation hybrid and linkage maps using Cri-Map. Cytogenetics and Cell Genetics 59, 122-124

Greenberg NM, Anderson JW, Hsueh AJW, Nishimori K, Reeves JJ, Deavila DM, Ward DN, Rosen JM (1991): Expression of biologically-active heterodimeric bovine follicle-stimulating-hormone in milk of transgenic mice. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 88, 8327-8331

Gregoraszczuk EL, Milewicz T, Kolodziejczyk J, Krzysiek J, Basta A, Sztefko K, Kurek S, Stachura J (2001): Progesterone-induced secretion of growth hormone, insulin-like growth factor I and prolactin by human breast cancer explants. Gynecological Endocrinology 15, 251-258

Grindflek E, Moe M, Taubert H, Simianer H, Lien S, Moen T (2006): Genome-wide linkage analysis of inguinal hernia in pigs using affected sib pairs. BMC Genetics 7

Grindflek E, Szyda J, Liu ZT, Lien S (2001): Detection of quantitative trait loci for meat quality in a commercial slaughter pig cross. Mammalian Genome 12, 299-304

Groop LC, Kankuri M, Schalinjantti C, Ekstrand A, Nikulaijas P, Widen E, Kuismanen E, Eriksson J, Franssilakallunki A, Saloranta C, Koskimies S (1993): Association

between polymorphism of the glycogen-synthase gene and non-insulin-dependent diabetes-mellitus. New England Journal of Medicine 328, 10-14

Große Beilage E, Steffens S, Schoon HA, Bollwahn W (1996): Zitzenkörperhypoplasien und -aplasien (Stülpzitzen) bei weiblichen und männlichen Schweinen. Tierärztliche Praxis 24, 31-35

Gunes C, Heuchel R, Georgiev O, Muller KH, Lichtlen P, Bluthmann H, Marino S, Aguzzi A, Schaffner W (1998): Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the metal-responsive transcriptional activator MTF-1. Embo Journal 17, 2846-2854

Günther C (1984): Morphologie der sogenannten "Stülpzitze" beim Schwein im Vergleich zum histologischen Bild einer normalen Zitze. Dissertation, Freie Universität Berlin

Gürtler H, Schweigert FJ (2005): Physiologie der Laktation. In: von Engelhardt W, Breves G (Eds.). Physiologie der Haustiere. Enke Verlag, Stuttgart

Haley J, Crawford R, Hudson P, Scanlon D, Tregear G, Shine J, Niall H (1987): Porcine relaxin. Gene structure and expression. The Journal of Biological Chemistry 262, 11940-11946

Haley J, Hudson P, Scanlon D, John M, Cronk M, Shine J, Tregear G, Niall H (1982): Porcine relaxin: molecular cloning and cDNA structure. DNA 1, 155-62

Haley CS, Knott SA, Elsen JM (1994): Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least-squares. Genetics 136, 1195-1207

Hamori D (1962): Kraterförmige Zitzen bei Sauen. Zuchthygiene 6, 91-94

Harding RM, Boyce AJ, Clegg JB (1992): The evolution of tandemly repetitive DNA - recombination rules. Genetics 132, 847-859

Hay N, Sonenberg N (2004): Upstream and downstream of mTOR. Genes & Development 18, 1926-1945

Heidrich HJ, Renk W (1963): Krankheiten der Milchdrüse bei Haustieren. Paul Parey, Berlin/Hamburg

Heilig CW, Saunders T, Brosius FC, Moley K, Heilig K, Baggs R, Guo LR, Conner D (2003): Glucose transporter-1-deficient mice exhibit impaired development and deformities that are similar to diabetic embryopathy. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 100, 15613-15618

Hennighausen L, Robinson GW (1998): Think globally, act locally: the making of a mouse mammary gland. Genes & Development 12, 449-455

Hennighausen L, Robinson GW, Wagner KU, Liu X (1997): Developing a mammary gland is a stat affair. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia 2, 365-372

Hiendleder S, Thomsen H, Reinsch N, Bennewitz J, Leyhe-Horn B, Looft C, Xu N, Medjugorac I, Russ I, Kuhn C, Brockmann GA, Blumel J, Brenig B, Reinhardt F, Reents R, Averdunk G, Schwerin M, Forster M, Kalm E, Erhardt G (2003): Mapping of QTL for body conformation and behavior in cattle. Journal of Heredity 94, 496-506

Hirooka H, de Koning DJ, Harlizius B, van Arendonk JAM, Rattink AP, Groenen MAM, Brascamp EW, Bovenhuis H (2001): A whole-genome scan for quantitative trait loci affecting teat number in pigs. Journal of Animal Science 79, 2320-2326

Hittel J (1984): Genetische und umweltbedingte Einflüsse auf die Ausprägung von Zitzenanomalien beim Schwein. Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen

Hooley RD, Campbell JJ, Findlay JK (1978): Importance of prolactin for lactation in the ewe. Journal of Endocrinology 79, 301-310

Horseman ND, Zhao WZ, Montecino-Rodriguez E, Tanaka M, Nakashima K, Engle SJ, Smith F, Markoff E, Dorshkind K (1997): Defective mammopoiesis, but normal

hematopoiesis, in mice with a targeted disruption of the prolactin gene. Embo Journal 16, 6926-6935

Horvath S, Xu X, Laird NM (2001): The family based association test method: strategies for studying general genotype-phenotype associations. European Journal of Human Genetics 9, 301-306

Houdebine LM, Djiane J, Dusanterfourt I, Martel P, Kelly PA, Devinoy E, Servely JL (1985): Hormonal action controlling mammary activity. Journal of Dairy Science 68, 489-500

Hove K (1978): Maintenance of lactose secretion during acute insulin deficiency in lactating goats. Acta Physiologica Scandinavica 103, 173-179

Hovey RC, Trott JF, Vonderhaar BK (2002): Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia 7, 17-38

Hoyheim B, Keiserud A, Davies W, Chaput B, Schmitz A, Frelat G (1995): A polymorphic porcine dinucleotide repeat-S0300 (Bha-254) at chromosome-6. Animal Genetics 26, 55-55

Hsu SY, Kudo M, Chen T, Nakabayashi K, Bhalla A, van der Spek PJ, van Duin M, Hsueh AJW (2000): The three subfamilies of leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptors (LGR): Identification of LGR6 and LGR7 and the signaling mechanism for LGR7. Molecular Endocrinology 14, 1257-1271

Hsu SY, Nakabayashi K, Nishi S, Kumagai J, Kudo M, Sherwood OD, Hsueh AJW (2002): Activation of orphan receptors by the hormone relaxin. Science 295, 671-674

Hu Z, Rohrer GA, Stone RT, Murtaugh MP, Beattie CW (1997): Genomic mapping of chemokine and transforming growth factor genes in swine. Mammalian Genome 8, 246-249

Hu ZL, Dracheva S, Jang WH, Maglott D, Bastiaansen J, Rothschild MF, Reecy JM (2005): A QTL resource and comparison tool for pigs: PigQTLDB. Mammalian Genome 16, 792-800

Hui Liu B (1998): Statistical genomics: linkage, mapping, and QTL analysis CRC Press LLC. Florida, USA

Inage-Miyake Y, Shimanuki S, Itoh T, Murakami Y, Kimura M, Suzuki H, Miyake M, Toki D, Uenishi H, Awata T, Hamasima N (2005): Assignment of the gene for porcine insulin-like growth factor binding protein 1 to chromosome 18 and detection of polymorphisms in intron 2 by PCR-RFLP. Biochemical Genetics 43, 78-85

Ingraham HA, Flynn SE, Voss JW, Albert VR, Kapiloff MS, Wilson L, Rosenfeld MG (1990): The Pou-specific domain of Pit-1 is essential for sequence-specific, high-affinity DNA-binding and DNA-dependent Pit-1-Pit-1 interactions. Cell 61, 1021-1033

Ivell R (2002): Endocrinology - This hormone has been relaxin' too long! Science 295, 637-638

Jennen DGJ, Vereijken ALJ, Bovenhuis H, Crooijmans R, van der Poel JJ, Groenen MAM (2005): Confirmation of quantitative trait loci affecting fatness in chickens. Genetics Selection Evolution 37, 215-228

Jiang Z, De S, Garcia MD, Griffin KB, Wu XL, Xiao Q, Michal JJ, Sharma BS, Jansen GB (2005): An independent confirmation of a quantitative trait locus for milk yield and composition traits on bovine chromosome 26. Journal of Animal Breeding and Genetics 122, 281-284

Johansson M, Ellegren H, Andersson L (1992): Cloning and characterization of highly polymorphic porcine microsatellites. Journal of Heredity 83, 196-198

Kahl S, Capuco AV, Binelli M, Vanderkooi WK, Tucker HA, Moseley WM (1995): Comparison of growth hormone-releasing factor and somatotropin - thyroid status of lactating, primiparous cows. Journal of Dairy Science 78, 2150-2158

Kainu T, Juo SHH, Desper R, Schaffer AA, Gillanders E, Rozenblum E, Freas-Lutz D, Weaver D, Stephan D, Bailey-Wilson J, Kallioniemi OP, Tirkkonen M, Syrjakoski K, Kuukasjarvi T, Koivisto P, Karhu R, Holli K, Arason A, Johannesdottir G, Bergthorsson JT, Johannsdottir H, Egilsson V, Barkardottir RB, Johannsson O, Haraldsson K, Sandberg T, Holmberg E, Gronberg H, Olsson H, Borg A, Vehmanen P, Eerola H, Heikkila P, Pyrhonen S, Nevanlinna H (2000): Somatic deletions in hereditary breast cancers implicate 13q21 as a putative novel breast cancer susceptibility locus. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97, 9603-9608

Kann G, Delobelle-Deroide A, Belair L, Gertler A, Djiane B (1999): Demonstration of in vivo mammogenic and lactogenic effects of recombinant ovine placental lactogen and mammogenic effect of recombinant ovine GH in ewes during artificial induction of lactation. Journal of Endocrinology 160, 365-377

Karnuah AB, Uenishi H, Kiuchi S, Kojima M, Onishi A, Yasue H, Mitsuhashi T (2001): Assignment of 64 genes expressed in 28-day-old pig embryo to radiation hybrid map. Mammalian Genome 12, 518-523

Keough EM, Wood BG (1979): Mammary-gland development during pregnancy in the dwarf mouse mutant, little. Tissue & Cell 11, 773-780

Kiang DT, Jin N, Tu ZJ, Lin HH (1997): Upstream genomic sequence of the human connexin26 gene. Gene 199, 165-171

Kijas JMH, 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 JJ, Zhao HH, Thomsen H, Rothschild MF, Dekkers JCM (2005): Combined line-cross and half-sib QTL analysis of crosses between outbred lines. Genetical Research 85, 235-248

Kim SW, Easter RA, Hurley WL (2001): The regression of unsuckled mammary glands during lactation in sows: The influence of lactation stage, dietary nutrients, and litter size. Journal of Animal Science 79, 2659-2668

King AH, Jiang ZH, Gibson JP, Haley CS, Archibald AL (2003): Mapping quantitative trait loci affecting female reproductive traits on porcine chromosome 8. Biology of Reproduction 68, 2172-2179

Kirkpatrick BW (1992): Identification of a conserved microsatellite site in the porcine and bovine insulin-like growth factor-I gene 5' flank. Animal Genetics 23, 543-548

Kleinberg DL, Feldman M, Ruan WF (2000): IGF-I: An essential factor in terminal end bud formation and ductal morphogenesis. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia 5, 7-17

Knabbe C, Lippman ME, Wakefield LM, Flanders KC, Kasid A, Derynck R, Dickson RB (1987): Evidence that transforming growth-factor-beta Is a hormonally regulated negative growth-factor in human-breast cancer-cells. Cell 48, 417-428

Knott SA, Marklund L, Haley CS, Andersson K, Davies W, Ellegren H, Fredholm M, Hansson I, Hoyheim B, Lundstrom K, Moller M, Andersson L (1998): Multiple marker mapping of quantitative trait loci in a cross between outbred wild boar and large white pigs. Genetics 149, 1069-1080

Koizumi M, Horiguchi K, Tomita Y, Kato Y, Harigaya T (2003): Prolactin gene expression in the mouse nipple. Journal of Reproduction and Development 49, 465-472

Kolb E (1974): Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. bearbeitet von Guertler, Ketz, Kolb, Schroeder, Seidel, Gustav Fischer, Jena

Kon SK, Cowie AT (1961): Milk: The mammary gland and its secretion. Academic Press, New, York, London

Krajnc-Franken MAM, van Disseldorp AJM, Koenders JE, Mosselman S, van Duin M, Gossen JA (2004): Impaired nipple development and parturition in LGR7 knockout mice. Molecular and Cellular Biology 24, 687-696

Krölling O, Grau H (1960): Lehrbuch der Histologie und vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere. Paul Parey, Berlin

Kruglyak L, Daly MJ, Reeve-Daly MP, Lander ES (1996): Parametric and nonparametric linkage analysis: a unified mulipoint approach. American Journal of Human Genetics 58, 1347-1363

Kuenzi MJ, Connolly BA, Sherwood OD (1995): Relaxin acts directly on rat mammary nipples to stimulate their growth. Endocrinology 136, 2943-2947

Kuenzi MJ, Sherwood OD (1995): Immunohistochemical localization of specific relaxin-binding cells in the cervix, mammary-glands, and nipples of pregnant rats. Endocrinology 136, 1367-1373

Kuenzi MJ, Sherwood OD (1992): Monoclonal-antibodies specific for rat relaxin .7. Passive-immunization with monoclonal-antibodies throughout the 2nd-half of pregnancy prevents development of normal mammary nipple morphology and function in rats. Endocrinology 131, 1841-1847

Kühn C (1997): Molekulargenetische Grundlagen für Erbdefekte beim Rind. Archiv für Tierzucht 40, 121-127

Kwon JM, Goate AM (2000): The candidate gene approach. Alcohol Research and Health 24, 164-168

Lande R, Thompson R (1990): Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. Genetics 124, 743-756

Lander E, Kruglyak L (1995): Genetic dissection of complex traits - guidelines for interpreting and reporting linkage results. Nature Genetics 11, 241-247

Lee SS, Chen Y, Moran C, Cepica S, Reiner G, Bartenschlager H, Moser G, Geldermann H (2003a): Linkage and QTL mapping for Sus scrofa chromosome 2. Journal of Animal Breeding and Genetics 120, 11-19

Lee SS, Chen Y, Moran C, Stratil A, Reiner G, Bartenschlager H, Moser G, Geldermann H (2003b): Linkage and QTL mapping for Sus scrofa chromosome 5. Journal of Animal Breeding and Genetics 120, 38-44

Lee SW, Tomasetto C, Paul D, Keyomarsi K, Sager R (1992): Transcriptional down-regulation of gap-junction proteins blocks junctional communication in human mammary-tumor cell-lines. Journal of Cell Biology 118, 1213-1221

Leisering AGT, Mueller C (1885): Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haus-Säugetiere. Verlag von August Hirschwald, Berlin

Leonard S, Khatib H, Schutzkus V, Chang YM, Maltecca C (2005): Effects of the osteopontin gene variants on milk production traits in dairy cattle. Journal of Dairy Science 88, 4083-4086

Levinson G, Gutman GA (1987a): High-frequencies of short frameshifts in poly-CA/TG tandem repeats borne by bacteriophage-M13 in Escherichia-coli K-12. Nucleic Acids Research 15, 5323-5338

Levinson G, Gutman GA (1987b): Slipped-strand mispairing - a major mechanism for DNA-sequence evolution. Molecular Biology and Evolution 4, 203-221

Lewis MT (2000): Homeobox genes in mammary gland development and neoplasia. Breast Cancer Research 2, 158-169

Li S, Crenshaw EB, Rawson EJ, Simmons DM, Swanson LW, Rosenfeld MG (1990): Dwarf locus mutants lacking 3 pituitary cell-types result from mutations in the Pou-domain gene Pit-1. Nature 347, 528-533

Ling C, Svensson L, Oden B, Weijdegard B, Eden B, Eden S, Billig H (2003): Identification of functional prolactin (PRL) receptor gene expression: PRL inhibits lipoprotein lipase activity in human white adipose tissue. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 88, 1804-1808

Linzell JL, Peaker M (1971): Mechanism of Milk Secretion. Physiological Reviews 51, 564-597

Liou YC, Ryo A, Huang HK, Lu PJ, Bronson R, Fujimori F, Uchida T, Hunter T, Lu KP (2002): Loss of Pin1 function in the mouse causes phenotypes resembling cyclin D1-null phenotypes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 99, 1335-1340

Liu CH, Chang SH, Narko K, Trifan OC, Wu MT, Smith E, Haudenschild C, Lane TF, Hla T (2001): Overexpression of cyclooxygenase-2 is sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice. Journal of Biological Chemistry 276, 18563-18569

Liu G (2005): Detection and characterization of QTL in a porcine Duroc-Pietrain resource population. Dissertation, Rheinische-Friedrich-Wilhelms Universität Bonn

Liu JL, LeRoith D (1999): Insulin-like growth factor I is essential for postnatal growth in response to growth hormone. Endocrinology 140, 5178-5184

Liu KD, Gaffen SL, Goldsmith MA, Greene WC (1997): Janus kinases in interleukin-2-mediated signaling: JAK1 and JAK3 are differentially regulated by tyrosine phosphorylation. Current Biology 7, 817-826

Liu XW, Gallego MI, Smith GH, Robinson GW, Hennighausen L (1998): Functional rescue of Stat5a-null mammary tissue through the activation of compensating signals including Stat5b. Cell Growth & Differentiation 9, 795-803

Long WW, Wagner KU, Lloyd KCK, Binart N, Shillingford JM, Hennighausen L, Jones FE (2003): Impaired differentiation and lactational failure of Erbb4-deficient mammary glands identify ERBB4 as an obligate mediator of STAT5. Development 130, 5257-5268

Looft C, Reinsch N, Karall-Albrecht C, Paul S, Brink M, Thomsen H, Brockmann G, Kuhn C, Schwerin M, Kalm E (2001): A mammary gland EST showing linkage disequilibrium to a milk production QTL on bovine Chromosome 14. Mammalian Genome 12, 646-650

Luparello C, Birch MA, Gallagher JA, Burtis WJ (1997): Clonal heterogeneity of the growth and invasive response of a human breast carcinoma cell line to parathyroid hormone-related peptide fragments. Carcinogenesis 18, 23-29

Luque RM, Kineman RD, Park SJ, Peng XD, Gracia-Navarro G, Castano JP, Malagon MM (2004): Homologous and heterologous regulation of pituitary receptors for ghrelin and growth hormone-releasing hormone. Endocrinology 145, 3182-3189

Lydon JP, Demayo FJ, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery CA, Shyamala G, Conneely OM, Omalley BW (1995): Mice lacking progesterone-receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. Genes & Development 9, 2266-2278

Lynch M, Walsh B (1997): Genetics and analysis of quantitative traits. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.

Ma XP, Dong YL, Matzuk MM, Kumar TR (2004): Targeted disruption of luteinizing hormone beta-subunit leads to hypogonadism, defects in gonadal steroidogenesis, and infertility. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101, 17294-17299

Mahtani MM, Willard HF (1993): A polymorphic X-linked tetranucleotide repeat locus displaying a high-rate of new mutation - implications for mechanisms of mutation at short tandem repeat loci. Human Molecular Genetics 2, 431-437

Malek M, Dekkers JCM, Lee HK, Baas TJ, Rothschild MF (2001): A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. I. Growth and body composition. Mammalian Genome 12, 630-636

Mangalam HJ, Albert VR, Ingraham HA, Kapiloff M, Wilson L, Nelson C, Elsholtz H, Rosenfeld MG (1989): A pituitary Pou domain protein, Pit-1, activates both growth-hormone and prolactin promoters transcriptionally. Genes & Development 3, 946-958

Marklund L, Moller MJ, Hoyheim B, Davies W, Fredholm M, Juneja RK, Mariani P, Coppieters W, Ellegren H, Andersson L (1996): A comprehensive linkage map of the pig based on a wild pig- Large White intercross. Animal Genetics 27, 255-269

Marklund L, Nystrom PE, Stern S, Andersson-Eklund L, Andersson L (1999): Confirmed quantitative trait loci for fatness and growth on pig chromosome 4. Heredity 82, 134-141

Martinet J, Houdebine LM (1999): Mammary gland, mammogenesis, growth factors, lactogenesis. In: (Eds.). Biology of lactation. INRA, Paris

Massague J (1983): Epidermal growth factor-like transforming growth-factor .1. Isolation, chemical characterization, and potentiation by other transforming factors from feline sarcoma virus-transformed rat-cells. Journal of Biological Chemistry 258, 3606-3613

Matsubara Y, Kraus JP, Yangfeng TL, Francke U, Rosenberg LE, Tanaka K (1986): Molecular-cloning of cDNAs encoding rat and human medium-chain acyl-coA dehydrogenase and assignment of the gene to human chromosome-1. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 83, 6543-6547

Matzke P (1980): Kraterzitzen - ein erblicher Defekt. Top Agrar 11, 13-14

Mayer J (1994): Genetische Parameter von Gesäugeanomalien beim Schwein. Dissertation, Technische Universität München

Mayer J, Pirchner F (1995): Gesäugeasymmetrie und Stülpzitzenbefall bei Jungsauen. Archiv für Tierzucht 38, 97-91

McMahon CD, Radcliff RP, Lookingland KJ, Tucker HA (2001): Neuroregulation of growth hormone secretion in domestic animals. Domestic Animal Endocrinology 20, 65-87

Medina D (2005): Mammary developmental fate and breast cancer risk. Endocrine-Related Cancer 12, 483-95

Meinecke B (2005): Allgemeine Endokrinologie. In: von Engelhardt W, Breves G (Eds.). Physiologie der Haustiere. Enke Verlag, Stuttgart

Meyers SN, Rogatcheva MB, Larkin DM, Yerle M, Milan D, Hawken RJ, Schook LB, Beever JE (2005): Piggy-BACing the human genome - II. A high-resolution, physically anchored, comparative map of the porcine autosomes. Genomics 86, 739-752

Mignon C, Fromaget C, Mattei MG, Gros D, Yamasaki H, Mesnil M (1996): Assignment of connexin 26 (GJB2) and 46 (GJA3) genes to human chromosome 13q11->q12 and mouse chromosome 14D1-E1 by in situ hybridization. Cytogenetics and Cell Genetics 72, 185-186

Milan D, Bidanel JP, Iannuccelli N, Riquet J, Amigues Y, Gruand J, Le Roy P, Renard C, Chevalet C (2002): Detection of quantitative trait loci for carcass composition traits in pigs. Genetics Selection Evolution 34, 705-728

Mol JA, Lantinga-van Leeuwen I, van Garderen E, Rijnberk A (2000): Progestin-induced mammary growth hormone (GH) production. In: (Eds.). Biology of the Mammary Gland, Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York

Monaco MH, Gronlund DE, Bleck GT, Hurley WL, Wheeler MB, Donovan SM (2005): Mammary specific transgenic over-expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) increases pig milk IGF-I and IGF binding proteins, with no effect on milk composition or yield. Transgenic Research 14, 761-773

Moody DE, Rosa AJ, Reecy JM (2003): Current status of livestock DNA microarrays. AgBiotechNet 5, 8

Moore SS, Li C, Basarab J, Snelling WM, Kneeland WM, Murdoch B, Hansen C, Benkel B (2003): Fine mapping of quantitative trait loci and assessment of positional candidate genes for backfat on bovine chromosome 14 in a commercial line of Bos taurus. Journal of Animal Science 81, 1919-1925

Morral N, Nunes V, Casals T, Estivill X (1991): CA/GT microsatellite alleles within the cystic-fibrosis transmembrane conductance regulator (Cftr) gene are not generated by unequal crossingover. Genomics 10, 692-698

Muda M, He CM, Martini PGV, Ferraro T, Layfield S, Taylor D, Chevrier C, Schweickhardt R, Kelton C, Ryan PL, Bathgate RAD (2005): Splice variants of the relaxin and INSL3 receptors reveal unanticipated molecular complexity. Molecular Human Reproduction 11, 591-600

Muller EE, Locatelli V, Cocchi D (1999): Neuroendocrine control of growth hormone secretion. Physiological Reviews 79, 511-607

Muller M, Brem G (1990): Nucleotide-sequence of porcine insulin-like growth-factor .1. 5' untranslated region, exon-1 and exon-2 and messenger-RNA. Nucleic Acids Research 18, 364-364

Musilova P, Kubickova S, Vozdova M, Rubes J (2000): Mapping of the oncogene c-myc (MYC) and the breast cancer susceptibility gene (BRCA2) in the pig by FISH. Animal Genetics 31, 154-154

Mustafa, A. (2001): Biology of Lactation (342-460B). Course outline Winter 2001, http://animsci.agrenv.mcgill.ca/courses/460/

Nei M (1978): Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89, 583-590

Neville MC, McFadden TB, Forsyth I (2002): Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia 7, 49-66

Niggemeyer (1993): Stülpzitzen - ein Problem in der Schweinezucht. SUS 3, 11

Nishimori K, Young LJ, Guo QX, Wang ZX, Insel TR, Matzuk MM (1996): Oxytocin is required for nursing but is not essential for parturition or reproductive behavior. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93, 11699-11704

O`Connell JR und Weeks DE (1998): PedCheck: a program for identification of genotype incompatibilities in linkage analysis. American Journal of Human Genetics 63, 259-266

Oka T, Yoshimura M, Lavandero S, Wada K, Ohba Y (1991): Control of growth and differentiation of the mammary-gland by growth-factors. Journal of Dairy Science 74, 2788-2800

Ollivier L (1995): Genetic differences in recombination frequency in the pig (Sus scrofa). Genome 38, 1048-1051

Oltmanns I (2003): QTL-Analyse an den Chromosomen 2, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 und 17 in einer porcinen Ressourcepopulation Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Otto G, Röhe R, Looft H, Kalm E (2005): Jetzt im Paket gegen Tropfsaftverlust vorgehen? SUS 2

Otto SP, Goldstein DB (1992): Recombination and the evolution of diploidy. Genetics 131, 745-751

Ovilo C, Oliver A, Noguera JL, Clop A, Barragan C, Varona L, Rodriguez C, Toro M, Sanchez A, Perez-Enciso M, Silio L (2002): Test for positional candidate genes for body composition on pig chromosome 6. Genetics Selection Evolution 34, 465-479

Paszek AA, Flickinger GH, Fontanesi L, Rohrer GA, Alexander L, Beattie CW, Schook LB (1998): Livestock variation of linked microsatellite markers in diverse swine breeds. Animal Biotechnology 9, 55-66

Pfaffle RW, Dimattia GE, Parks JS, Brown MR, Wit JM, Jansen M, Vandernat H, Vandenbrande JL, Rosenfeld MG, Ingraham HA (1992): Mutation of the Pou-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia. Science 257, 1118-1121

Plante Y, Gibson JP, Nadesalingam J, Mehrabani-Yeganeh H, Lefebvre S, Vandervoort G, Jansen GB (2001): Detection of quantitative trait loci affecting milk production traits on 10 chromosomes in Holstein cattle. Journal of Dairy Science 84, 1516-1524

Plath A, Einspanier R, Peters F, Sinowatz F, Schams D (1997): Expression of transforming growth factors alpha and beta-1 messenger RNA in the bovine mammary gland during different stages of development and lactation. Journal of Endocrinology 155, 501-511

Plonait H, Bickhardt K (1988): Lehrbuch der Schweinekrankheiten. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

Pritchard CC, Hsu L, Delrow J, Nelson PS (2001): Project normal: Defining normal variance in mouse gene expression. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98, 13266-13271

Rabinowitz D, Laird N (2000): A unified approach to adjusting association tests for population admixture with arbitrary pedigree structure and arbitrary missing marker information. Human Heredity 50, 211-223

Radovick S, Nations M, Du YF, Berg LA, Weintraub BD, Wondisford FE (1992): A mutation in the Pou-homeodomain of Pit-1 responsible for combined pituitary-hormone deficiency. Science 257, 1115-1118

Rajan JV, Wang M, Marquis ST, Chodosh LA (1996): Brca2 is coordinately regulated with Brca1 during proliferation and differentiation in mammary epithelial cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93, 13078-13083

Rathje TA, Rohrer GA, Johnson RK (1997): Evidence for quantitative trait loci affecting ovulation rate in pigs. Journal of Animal Science 75, 1486-1494

Richards RG, Klotz DM, Walker MP, Diaugustine RP (2004): Mammary gland branching morphogenesis is diminished in mice with a deficiency of insulin-like growth factor-I (IGF-I), but not in mice with a liver-specific deletion of IGF-I. Endocrinology 145, 3106-3110

Richert MM, Wood TL (1999): The insulin-like growth factors (IGF) and IGF type I receptor during postnatal growth of the murine mammary gland: Sites of messenger ribonucleic acid expression and potential functions. Endocrinology 140, 454-461

Robic A, Dalens M, Woloszyn N, Milan D, Riquet J, Gellin J (1994): Isolation of 28 new porcine microsatellites revealing polymorphism. Mammalian Genome 5, 580-583

Robic A, Parrou JL, Yerle M, Goureau A, Dalens M, Milan D, Gellin J (1995): Pig microsatellites isolated from cosmids revealing polymorphism and localized on chromosomes. Animal Genetics 26, 1-6

Robic A, Riquet J, Yerle M, Milan D, LahbibMansais Y, DubutFontana C, Gellin J (1996): Porcine linkage and cytogenetic maps integrated by regional mapping of 100 microsatellites on somatic cell hybrid panel. Mammalian Genome 7, 438-445

Rodriguez C, Tomas A, Alves E, Ramirez O, Arque M, Munoz G, Barragan C, Varona L, Silio L, Amillis M, Noguera JL (2005): QTL mapping for teat number in an Iberian-by-Meishan pig intercross. Animal Genetics 36, 490-496

Rohrer GA (2000): Identification of quantitative trait loci affecting birth characters andaccumulation of backfat and weight in a Meishan-White Composite resourcepopulation. Journal of Animal Science 78, 2547-53

Rohrer GA, Alexander LJ, Hu ZL, Smith TPL, Keele JW, Beattie CW (1996): A comprehensive map of the porcine genome. Genome Research 6, 371-391

Rohrer GA, Alexander LJ, Keele JW, Smith TP, Beattie CW (1994): A microsatellite linkage map of the porcine genome. Genetics 136, 231-245

Rohrer GA, Ford JJ, Wise TH, Vallet JL, Christenson RK (1999): Identification of quantitative trait loci affecting female reproductive traits in a multigeneration Meishan-White composite swine population. Journal of Animal Science 77, 1385-1391

Rohrer GA, Wise TH, Lunstra DD, Ford JJ (2001): Identification of genomic regions controlling plasma FSH concentrations in Meishan-White Composite boars. Physiological Genomics 6, 145-151

Rothschild M, Jacobson C, Vaske D, Tuggle C, Wang LZ, Short T, Eckardt G, Sasaki S, Vincent A, McLaren D, Southwood O, van der Steen H, Mileham A, Plastow G (1996): The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93, 201-205

Rothschild MF (2003): Advances in pig genomics and functional gene discovery. Comparative and Functional Genomics 4, 266-270

Rothschild MF, Messer LA, Vincent A (1997): Molecular approaches to improved pig fertility. Journal of Reproduction and Fertility, 227-236

Rothschild MF, Plastow GS (1999): Advances in pig genomics and industry applications. AgBiotechNet 1, 007

Rowe SJ, Windsor D, Haley CS, Burt DW, Hocking PM, Griffin H, Vincent J, De Koning DJ (2006): QTL analysis of body weight and conformation score in commercial broiler chickens using variance component and half-sib analyses. Animal Genetics 37, 269-272

Ruan WF, Kleinberg DL (1999): Insulin-like growth factor I is essential for terminal end bud formation and ductal morphogenesis during mammary development. Endocrinology 140, 5075-5081

Rüsse I, Sinowatz F (1998): Lehrbuch der Embryologie der Haustiere. Paray Verlag

Saji S, Jensen EV, Nilsson S, Rylander T, Warner M, Gustafsson JA (2000): Estrogen receptors a and b in the rodent mammary gland. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97: 337–342

Sakal E, Bignon C, Chapnik-Cohen N, Daniel N, Paly J, Belair L, Djiane J, Gertler A (1998): Cloning, preparation and characterization of biologically active recombinant caprine placental lactogen. Journal of Endocrinology 159, 509-518

Sanchez MP, Bidanel JP, Zhang SQ, Naveau J, Burlot T, Le Roy P (2003): Likelihood and Bayesian analyses reveal major genes affecting body composition, carcass, meat quality and the number of false teats in a Chinese European pig line. Genetics Selection Evolution 35, 385-402

Sato S, Oyamada Y, Atsuji K, Nade T, Sato S, Kobayashi E, Mitsuhashi T, Nirasawa K, Komatsuda A, Saito Y, Terai S, Hayashi T, Sugimoto Y (2003): Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a Meishan x Duroc F2 resource population. Journal of Animal Science 81, 2938-2949

Sawera M, Cirera S, Jorgensen CB, Gorodkin J, Fredholm M (2006): Linkage mapping of gene-associated SNPs to pig chromosome 11. Animal Genetics 37, 199-204

Schaapveld RQJ, Schepens HTG, Robinson GW, Attema J, Oerlemans F, Fransen JAM, Streuli M, Wieringa B, Hennighausen L, Hendriks W (1997): Impaired mammary gland development and function in mice lacking LAR receptor-like tyrosine phosphatase activity. Developmental Biology 188, 134-146

Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO (1995): Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. Science 270, 368-369

Schlotterer C, Tautz D (1992): Slippage Synthesis of Simple Sequence DNA. Nucleic Acids Research 20, 211-215

Schoknecht PA, Nobrega SN, Petterson JA, Ehrhardt RA, Slepetis R, Bell AW (1991): Relations between maternal and fetal plasma-concentrations of placental-lactogen and placental and fetal weights in well-fed ewes. Journal of Animal Science 69, 1059-1063

Schrooten C, Bovenhuis H, Coppieters W, Van Arendonk JAM (2000): Whole genome scan to detect quantitative trait loci for conformation and functional traits in dairy cattle. Journal of Dairy Science 83, 795-806

Schubart K, Massa S, Schubart D, Corcoran LM, Rolink AG, Matthias P (2001): B cell development and immunoglobulin gene transcription in the absence of Oct-2 and OBF-1. Nature Immunology 2, 69-74

Schüler L, Swalve H, Götz K-U (2001): Grundlagen der quantitativen Genetik. Ulmer, Stuttgart

Schulz-Aellen MF, Schmid E, Movva RN (1989): Nucleotide-sequence of porcine preprolactin cDNA. Nucleic Acids Research 17, 3295-3295

Schwabe C, McDonald JK (1977): Relaxin - disulfide homolog of insulin. Science 197, 914-915

Scott DJ, Tregear GW, Bathgate RAD (2005): LGR7-Truncate is a splice variant of the relaxin receptor LGR7 and is a relaxin antagonist in vitro. In: (Eds.). Relaxin and Related Peptides: Fourth International Conference

Shi HY, Lydon JP, Zhang M (2004): Hormonal defect in maspin heterozygous mice reveals a role of progesterone in pubertal ductal development. Molecular Endocrinology 18, 2196-2207

Shyamala G, Yang X, Cardiff RD, Dale E (2000): Impact of progesterone receptor on cell-fate decisions during mammary gland development. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97: 3044–3049

Short TH, Rothschild MF, Southwood OI, McLaren DG, deVries A, vanderSteen H, Eckardt GR, Tuggle CK, Helm J, Vaske DA, Mileham AJ, Plastow GS (1997): Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. Journal of Animal Science 75, 3138-3142

Shyamala G, Ferenczy A (1984): Mammary fat pad may be a potential site for initiation of estrogen action in normal mouse mammary-glands. Endocrinology 115, 1078-1081

Silbernagl S, Despopoulos A (1991): Atlas der Physiologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Silberstein GB, Daniel CW (1987): Reversible inhibition of mammary-gland growth by transforming growth-factor-beta. Science 237, 291-293

Silberstein GB, Vanhorn K, Shyamala G, Daniel CW (1994): Essential role of endogenous estrogen in directly stimulating mammary growth demonstrated by implants containing pure antiestrogens. Endocrinology 134, 84-90

Silva LFP, VandeHaar MJ, Nielsen MSW, Smith GW (2002): Evidence for a local effect of leptin in bovine mammary gland. Journal of Dairy Science 85, 3277-3286

Simoni M, Gromoll J, Nieschlag E (1997): The follicle-stimulating hormone receptor: Biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology. Endocrine Reviews 18, 739-773

Smith GP (1976): Evolution of repeated DNA sequences by unequal crossover. Science 191, 528-535

Spelman RJ, Bovenhuis H (1998): Moving from QTL experimental results to the utilization of QTL in breeding programmes. Animal Genetics 29, 77-84

Spielman RS, Ewens WJ (1998): A sipship test for linkage in the presence of association: The sib transmission/Disequilibrium test. American Journal of Human Genetics 62, 450-458

Sporn MB, Roberts AB (1990): Tgf-Beta - problems and prospects. Cell Regulation 1, 875-882

Spotter A, Distl O (2006): Genetic approaches to the improvement of fertility traits in the pig. Veterinay Journal 172, 234-47 Epub ahead of print 6 Jan 19

Spotter M, Andersson L (1998): Genomic approaches to the improvement of disease resistance in farm animals. Revue scientifique et technique 17, 329-345

Stallings RL, Ford AF, Nelson D, Torney DC, Hildebrand CE, Moyzis RK (1991): Evolution and distribution of (GT)n repetitive sequences in mammalian genomes. Genomics 10, 807-815

Steeghs K, Benders A, Oerlemans F, deHaan A, Heerschap A, Ruitenbeek W, Jost C, vanDeursen J, Perryman B, Pette D, Bruckwilder M, Koudijs J, Jap P, Veerkamp J, Wieringa B (1997): Altered Ca2+ responses in muscles with combined mitochondrial and cytosolic creatine kinase deficiencies. Cell 89, 93-103

Steffens S (1993): Stülpzitzen - ein Problem in der Schweinezucht. SUS 3, 8-11

Stein T, Morris JS, Davies CR, Weber-Hall SJ, Duffy MA, Heath VJ, Bell AK, Ferrier RK, Sandilands GP, Gusterson BA (2004): Involution of the mouse mammary gland is associated with an immune cascade and an acute-phase response, involving LBP, CD14 and STAT3. Breast Cancer Research 6, R75-R91

Steinfelder HJ, Radovick S, Mroczynski MA, Hauser P, McClaskey JH, Weintraub BD, Wondisford FE (1992): Role of a pituitary-specific transcription factor (Pit-1/Ghf-1) or a closely related protein in camp regulation of human thyrotropin-beta subunit gene-expression. Journal of Clinical Investigation 89, 409-419

Sun HS, Yerle M, Pinton P, Chardon P, Rogel-Gaillard C, Lyons LA, Laughlin TF, Tuggle CK (1999): Physical assignments of human chromosome 13 genes on pig chromosome 11 demonstrate extensive synteny and gene order conservation between pig and human. Animal Genetics 30, 304-308

Taylor MJ, Jenkin G, Robinson JS, Thorburn GD, Friesen H, Chan JSD (1980): Concentrations of placental-lactogen in chronically catheterized ewes and fetuses in late pregnancy. Journal of Endocrinology 85, 27-34

Thaller G, Dempfle L, Hoeschele I (1996): Investigation of the inheritance of birth defects in swine by complex segregation analysis. Journal of Animal Breeding and Genetics-Zeitschrift fur Tierzüchtung und Züchtungsbiologie 113, 77-92

Theil PK, Labouriau R, Sejrsen K, Thomsen B, Sorensen MT (2005): Expression of genes involved in regulation of cell turnover during milk stasis and lactation rescue in sow mammary glands. Journal of Animal Science 83, 2349-2356

Themmen APN, Huhtaniemi IT (2000): Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: Elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. Endocrine Reviews 21, 551-583

Thiede MA (1994): Parathyroid hormone-related protein - a regulated calcium-mobilizing product of the mammary-gland. Journal of Dairy Science 77, 1952-1963

Thomsen PD, Fredholm M, Christensen K, Schwerin M (1990): Assignment of the porcine growth-hormone gene to chromosome-12. Cytogenetics and Cell Genetics 54, 92-94

Thorn SR, Purup S, Cohick WS, Vestergaard M, Sejrsen K, Boisclair YR (2006): Leptin does not act directly on mammary epithelial cells in prepubertal dairy heifers. Journal of Dairy Science 89, 1467-1477

Topper YJ, Freeman CS (1980): Multiple hormone interactions in the developmental biology of the mammary-gland. Physiological Reviews 60, 1049-1106

Trakooljul N (2004): Molecular and association analyses of the androgen receptor gene as a candidate for production and reproduction traits in pigs. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Trakooljul N, Ponsuksili S, Schellander K, Wimmers K (2004): Polymorphisms of the porcine androgen receptor gene affecting its amino acid sequence and expression level. Biochimica Et Biophysica Acta-Gene Structure and Expression 1678, 94-101

Ün C (2002): QTL Untersuchungen auf Gesäugequalität mittels Mikrosatellitenmarker auf Chromosomen 1, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 und 18 in einer porcinen Ressourcepopulation. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Vallette-Kasic S, Pellegrini-Bouiller I, Sampieri F, Gunz G, Diaz A, Radovick S, Enjalbert A, Brue T (2001): Combined pituitary hormone deficiency due to the F135C human Pit-1 (pituitary-specific factor 1) gene mutation: Functional and structural correlates. Molecular Endocrinology 15, 411-420

van Rens B, van der Lende T (2002): Litter size and piglet traits of gilts with different prolactin receptor genotypes. Theriogenology 57, 883-893

VanBaale MJ, Ledwith DR, Thompson JM, Burgos R, Collier RJ, Baumgard LH (2005): Effect of increased milking frequency in early lactation with or without recombinant bovine somatotropin. Journal of Dairy Science 88, 3905-3912

Varadin M, Filipovic M (1975): Klinisches Bild der Milchdrüse bei Sauen und einige Besonderheiten ihres Sekretes. Zuchthygiene 10, 109-118

Vincent AL, Tuggle CK, Rothschild MF (1998): The prolactin receptor gene is associated with increased litter size In pigs. ASL-R1487 Iowa State University

Visvader JE, Venter D, Hahm K, Santamaria M, Sum EYM, O'Reilly L, White D, Williams R, Armes J, Lindeman GJ (2001): The LIM domain gene LMO4 inhibits differentiation of mammary epithelial cells in vitro and is overexpressed in breast cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 98, 14452-14457

Vonderhaar BK (1999): Prolactin involvement in breast cancer. Endocrine-Related Cancer 6, 389-404

Vonderhaar BK, Greco AE (1979): Lobulo-alveolar development of mouse mammary-glands is regulated by thyroid-hormones. Endocrinology 104, 409-418

Vonderhaar BK, Tang E, Lyster RR, Nascimento MCS (1986): Thyroid-hormone regulation of epidermal growth-factor receptor levels in mouse mammary-glands. Endocrinology 119, 580-585

Wada Y, Akita T, Awata T, Furukawa T, Sugai N, Inage Y, Ishii K, Ito Y, Kobayashi E, Kusumoto H, Matsumoto T, Mikawa S, Miyake M, Murase A, Shimanuki S, Sugiyama T, Uchida Y, Yanai S, Yasue H (2000): Quantitative trait loci (QTL) analysis in a Meishan x Gottingen cross population. Animal Genetics 31, 376-384

Wagner KU, Krempler A, Triplett AA, Qi YY, George NM, Zhu JQ, Rui H (2004): Impaired alveologenesis and maintenance of secretory mammary epithelial cells in Jak2 conditional knockout mice. Molecular and Cellular Biology 24, 5510-5520

Walling GA, Visscher PM, Andersson L, Rothschild MF, Wang LZ, Moser G, Groenen MAM, Bidanel JP, Cepica S, Archibald AL, Geldermann H, de Koning DJ, Milan D, Haley CS (2000): Combined analyses of data from quantitative trait loci mapping studies: Chromosome 4 effects on porcine growth and fatness. Genetics 155, 1369-1378

Wallis M (1971): Structural relationships among growth hormones and prolactins. Biochemical Journal 125, P54-P56

Wang MH, Guo M, Shugart YY (2005): Application of family-based association testing to assess the genotype-phenotype association involved in complex traits using single-nucleotide polymorphisms. BMC Genetics 6, 68

Wattrang E, Almqvist M, Johansson A, Fossum C, Wallgren P, Pielberg G, Andersson L, Edfors-Lilja I (2005): Confirmation of QTL on porcine chromosomes 1 and 8 influencing leukocyte numbers, haematological parameters and leukocyte function. Animal Genetics 36, 337-345

Wayne ML, McIntyre LM (2002): Combining mapping and arraying: An approach to candidate gene identification. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 99, 14903-14906

Wei XL, Xu H, Kufe D (2006): MUC1 oncoprotein stabilizes and activates estrogen receptor alpha. Molecular Cell 21, 295-305

Wiesner E, Willer S (1977): Problematik des Auftretens von Kraterzitzen beim Schwein. Monatszeitschrift Veterinärmedizin 33, 189-190

Wilde CJ, Addey CVP, Boddy LM, Peaker M (1995): Autocrine regulation of milk secretion by a protein in milk. Biochemical Journal 305, 51-58

Wilde CJ, Addey CVP, Li P, Fernig DG (1997): Programmed cell death in bovine mammary tissue during lactation and involution. Experimental Physiology 82, 943-953

Wilde CJ, Knight CH, Flint DJ (1999): Control of milk secretion and apoptosis during mammary involution. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia 4, 129-136

Wilk JB, DeStefano AL, Joost O, Myers RH, Cupples LA, Slater K, Atwood LD, Heard-Costa NL, Herbert A, O'Connor GT, Gottlieb DJ (2003): Linkage and association with pulmonary function measures on chromosome 6q27 in the Framingham Heart Study. Human Molecular Genetics 12, 2745-2751

Wilkie PJ, Paszek AA, Beattie CW, Alexander LJ, Wheeler MB, Schook LB (1999): A genomic scan of porcine reproductive traits reveals possible quantitative trait loci (QTLs) for number of corpora lutea. Mammalian Genome 10, 573-578

Willham RL, Whatley JA (1963): Genetic variation in nipple number in swine. Zeitschrift für Tierzüchtung und Züchtungsbiologie 78, 350-363

Wimmers K, Chomdej S, Ponsuksili S, Schellander K (2002a): Polymorphism in the porcine transforming growth factor-beta 1 gene. Animal Genetics 33, 234-U234

Wimmers K, Chomdej S, Schellander K, Ponsuksili S (2002b): Linkage mapping of SNPs in the porcine relaxin gene. Animal Genetics 33, 323-324

Winter A, Kramer W, Werner FAO, Kollers S, Kata S, Durstewitz G, Buitkamp J, Womack JE, 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. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 99, 9300-9305

Wintermantel TM, Bock D, Fleig V, Greiner EF, Schutz G (2005): The epithelial glucocorticoid receptor is required for the normal timing of cell proliferation during mammary lobuloalveolar development but is dispensable for milk production. Molecular Endocrinology 19, 340-349

Wintero AK, Fredholm M, Andersson L (1994): Assignment of the Gene for Porcine Insulin-Like Growth-Factor-1 (Igf1) to Chromosome-5 by Linkage Mapping. Animal Genetics 25, 37-39

Wintero AK, Fredholm M, Thomsen PD (1992): Variable (dG-dT)n.(dC-dA)n sequences in the porcine genome. Genomics 12, 281-288

Wojcik SF, Schanbacher FL, McCauley LK, Zhou H, Kartsogiannis V, Capen CC, Rosol TJ (1998): Cloning of bovine parathyroid hormone-related protein (PTHrP) cDNA and expression of PTHrP mRNA in the bovine mammary gland. Journal of Molecular Endocrinology 20, 271-280

Wysolmerski JJ, Broadus AE, Zhou J, Fuchs E, Milstone LM, Philbrick WM (1994): Overexpression of parathyroid hormone-related protein in the skin of transgenic mice interferes with hair follicle development. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 91, 1133-1137

Wysolmerski JJ, McCaugherncarucci JF, Daifotis AG, Broadus AE, Philbrick WM (1995): Overexpression of parathyroid hormone-related protein or parathyroid-hormone in transgenic mice impairs branching morphogenesis during mammary-gland development. Development 121, 3539-3547

Wysolmerski JJ, Philbrick WM, Dunbar ME, Lanske B, Kronenberg H, Karaplis A, Broadus AE (1998): Rescue of the parathyroid hormone-related protein knockout

mouse demonstrates that parathyroid hormone-related protein is essential for mammary gland development. Development 125, 1285-1294

Wysolmerski JJ, Stewart AF (1998): The physiology of parathyroid hormone-related protein: An emerging role as a developmental factor. Annual Review of Physiology 60, 431-460

Yang Y-P, Womack JE (1998): Parallel Radiation Hybrid Mapping: a powerful tool for high-resolution genomic comparision. Genome Research 8, 731-736

Yang YM, Spitzer E, Kenney N, Zschiesche W, Li ML, Kromminga A, Muller T, Spener F, Lezius A, Veerkamp JH, Smith GH, Salomon DS, Grosse R (1994): Members of the fatty-acid-binding protein family are differentiation factors for the mammary-gland. Journal of Cell Biology 127, 1097-1109

Young WS, Shepard E, Amico J, Hennighausen L, Wagner KU, LaMarca ME, McKinney C, Ginns EI (1996): Deficiency in mouse oxytocin prevents milk ejection, but not fertility or parturition. Journal of Neuroendocrinology 8, 847-853

Yu TP, Rothschild MF, Tuggle CK (1993): A MspI restriction-fragment-length-polymorphism at the swine Pit-1 locus. Journal of Animal Science 71, 2275-2275

Yu TP, Schmitz CB, Rothschild MF, Tuggle CK (1994): Expression pattern, genomic cloning and RFLP analyses of the swine Pit-1 gene. Animal Genetics 25, 229-233

Yu TP, Sun HS, Wahls S, Sanchez-Serrano I, Rothschild MF, Tuggle CK (2001): Cloning of the full length pig PIT1 (POU1F1) CDNA and a novel alternative PIT1 transcript, and functional studies of their encoded proteins. Animal Biotechnology 12, 1-19

Yu TP, Tuggle CK, Schmitz CB, Rothschild MF (1995): Association of Pit1 polymorphisms with growth and carcass traits in pigs. Journal of Animal Science 73, 1282-1288

Zhao L, Roche PJ, Gunnersen JM, Hammond VE, Tregear GW, Wintour EM, Beck F (1999): Mice without a functional relaxin gene are unable to deliver milk to their pups. Endocrinology 140, 445-453

Zietzschmann O (1943): Die allgemeine Decke. In: Ellenberger W, Baum H (Eds.). Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. Springer Verlag, Berlin

Zinser GM, Welsh J (2004): Accelerated mammary gland development during pregnancy and delayed postlactational involution in vitamin D-3 receptor null mice. Molecular Endocrinology 18, 2208-2223

Zou ZQ, Anisowicz A, Hendrix MJC, Thor A, Neveu M, Sheng SJ, Rafidi K, Seftor E, Sager R (1994): Maspin, a serpin with tumor-suppressing activity in human mammary epithelial-cells. Science 263, 526-529

8 Anhang

Tabelle 32: Auflistung der verwendeten Primer auf den Chromosomen 1 bis 18 in der DUMI-Population und in den kommerziellen Familien mit der Primersequenz, der Position auf dem Chromosom und der Art der Markierung

SSC	Marker	Primersequenz 5`- 3`	Position[1]	IRD³
1	SW1824	AGTAAATATGGAATTAAAATCGCTG TCAAGCTGGAAACAGGTGTG	3 cM	700
	SW1515	CTCCGGTTTCCATTTGTGG GATCCCTGCCCCCAACAC	16,4cM	700
	SWR2300	TTAGTCTCCACTGTGCGGC TCAAGGGATACACAGAAGGATG	33,4 cM	800
	SW1851	GGCTTGGACATTCTCATTGG GGTTGAGGAACCCTGATGTG	44,6cM	700
	S0312	TTCTAGCTAAAAATAATTGAGGGG AAGCCGATGTCAAGTGTAATG	59,1 cM	800
	SW2166	AATGAGCCATGGCTATTCTTG AAGTGTGGCCCTAAAAGAGC	70,3 cM	700
	S0113	AGCCTCCGTGTAATATAATCCTTG AGGACATCTCTCATTCTCTGGCAG	80,5 cM	700
	RLN	TGAAACGCCTAGCAGAA CAGCCAATTAGGTCTCGAGC	83,7cM	-
	S0155	TGTTCTCTGTTTCTCCTCTGTTTG AAAGTGGAAAGAGTCAATGGCTAT	93,9cM	700
	SW1957	TGGGCTTTGATATCATCAGTG AGCTTTCCCACCAGTATTCC	110,5 cM	700
	SW373	TTTGCTGCAAAGCAATGTTC GGTAGGATTCAATAACACCTGG	119,5 cM	800
	S0056	AAGCCACATCTCTCTTCT ATAAGTTGCCCCCTACAC	127,1 cM	700
	SW1301	TGGATAAGCAATGAGGTCCC TAGTGGATTTATAATGTGCTAACCC	140,5cM	800
	SW2512	TCTGTCCATCCCTCCATCTC AGAAAGTGAAAATTGAGCTGGG	144 cM	700
2	SW2443	GAGCACAGAAGATTTTTAGGGC TTAGTTTTCTCCTGGGCTGTG	0 cM	800
	SW2623	TCGGAGAATGAGGTAGCTGC GATTCCACTCTGCTCGAGATG	10 cM	800
	SW2445	TCCCCTTATCCAGGAGCAC GAAGATGGGAAGTTTGTCTTGG	31,2 cM	800
	S0141	GATCTGGTCTGTCTTGTGTCCT AGACCCCAACTCTTGGTCTCAT	31,2 cM	700

Fortsetzung Tabelle 32

SSC	Marker	Primersequenz 5`- 3`	Position[1]	IRD³
2	SW240	AGAAATTAGTGCCTCAAATTGG AAACCATTAAGTCCCTAGCAAA	42 cM	700
	FSHB	GACCCCACCTGAGAATTTCCATAT AATGGTTTCTAATCCACAGTAGGC	53,5 cM	-
	SW1564	ATCAGAACATAGAACGTGTGTG GTTATATACCTGTTGGGAGACG	55 cM	700/800
	SW834	GTGAGGGATGGACAGGTCAT AAAAAATCCACCCTCAACACA	64,3 cM	700
	S0226	GGTTAAACTTTTNCCCCAATACA GCACTTTTAACTTTCATGATGCTCC	68 cM	700
	SW1517	CAAATGATTTTATCCATCCTTGC TCTTAGTGATGCATTCTTAAGCTG	76,9 cM	cy5/800
	SWR2157	ATCAGTACTTTTAGCAATGATAGCC AAAGAGACTTAAGGTTCCCCAG	89,2 cM	700
	SW1879	AGACACATGCACATGTGTTTTAC AGCATTTGTTTCTGGTTACTTTTAG	102 cM	cy7/800
	SWR308	TCCAGTCCCTTGGTCTCTTG TTAGCCTGGGAACTTCCATG	128,2 cM	800
3	APR22	CAAAAGTTGGCTAAAGGAGGG TGCAGCTTGTGGAATGATTG	0 cM	700
	SW72	ATCAGAACAGTGCGCCGT TTTGAAAATGGGGTGTTTCC	17,8 cM	700
	SE47329	GCGACCTCTGACTTATTCTGC AAAACCAGGCTAGGATCGTG	33 cM	cy5
	S0032	CAAATTGCTGATTCACGCTTGACAT CAGCAGTAGCATCACCCCATCCT	50,6 cM	700
	S0164	TATGCCGTTTGCGCAGTCCTA AGGCCACCAGGGAACTCCATT	60,5 cM	700
	SW2570	TTCGACACACAGGTTTTAGGG GTGGAGGCTTCTGAAATGTACC	72,3 cM	700
	S0216	TCCACCACTGCCAGTCACTT CTGGGCTTTGAACCCACA	86,1 cM	cy5
	S0002	GAAGCCCAAAGAGACAACTGC GTTCTTTACCCACTGAGCCA	102,2 cM	700
	SW2532	TTCGACACACAGGTTTTAGGG GTGGAGGCTTCTGAAATGTACC	129,3 cM	700
4	S0227	GATCCATTTATAATTTTAGCACAAAGT GCATGGTGTGATGCTATGTCAAGC	4,1 cM	700
	S0301	CCGTCTTACTTAGGATGTTT TGATGTGTTTATGTGTTTGA	27 cM	700
	S0001	TGGATGGGTCTCATTCTCAG TGATTCCTAGCCTGAGAAGC	41,8 cM	700
	SW839	GGAAACCAGGATAACAGGAGG TAACCCACTGTACCACCAAGG	62,3 cM	700
	S0214	CCCTGCAAGCGTTCATCTCA GGCTGTGCCAAGTCCATTAG	79,3 cM	800

Fortsetzung Tabelle 32

SSC	Marker	Primersequenz 5`- 3`	Position[1]	IRD³
4	SW524	ACCAGGTTGAGTCACATCTGC AGGTCTGGTACCCGTCCTG	99,3 cM	700
	SW58	TCCTACCAGAAATCCTACCACA ATGGGAAGAGAATCTGACAAGG	107,9 cM	cy7
	S0097	GACCTATCTAATGTCATTATAGT TTCCTCCTAGAGTTGACAAACTT	120 cM	700
	SW856	AGGGGGTGGGTGATTGTG AACTTCCCCATGCTGCTG	130 cM	800
5	S0005	TCCTTCCCTCCTGGTAACTA GCACTTCCTGATTCTGGGTA	88,2 cM	700
	SW1482	ATTGCAGACTACAGTTCTTGCC ACTTACGGGCTGATGCTGTC	39,9 cM	700
	IGF1	GCTTGGATGGACCATGTTG CACTTGAGGGGCAAATGATT	118,7 cM	700
	SW967	AGCAGACTGTTCATCTGTTCAG GGGGCAGCTGAAAAGTCC	145,9 cM	800
	PTHLH	TAGCCCTGCTCCCTGAAC GAGCTCCTCCACCGAGC		-
6	S0035up	GGCCGTCTTATACTCTCAGCATA CCAAATAAACAGCAGGCAGCCT	7,3 cM	700
	SW2406	AATGTCACCTTTAAGACGTGGG AATGCGAAACTCCTGAATTAGC	21,4 cM	CY7
	SW1057	TCCCCTGTTGTACAGATTGATG TCCAATTCCAAGTTCCACTAGC	47,1 cM	Cy5
	S0087	GACAAGCTCCAGGAAGCTTTCCTG ATTGCCTTGTGATCCCAAGGGGCA	62,8 cM	700
	SW1067	TGCTGGCCAGTGACTCTG CCGGGGGATTAAACAAAAAG	71,4 cM	800
	TGFβ	GAAGCAGTAGTTGGTATCCA CCTACTCATCCATCTGAGTG	73,4 cM	-
	SW193	TGCCATCCTTTCTTTCATTACG TCACTCTGAGGGGTCCTGAC	76,5 cM	700
	S0220	CAAGCAAGTTGAGGAGCCCAGA AGAGGATCGAAGGAACAAGAGGAA	78 cM	800
	S0300	CGTCACCCTGCTATCCTGT TGTCATTTACTGTCACCAA	78,4 cM	800
	SWR987	TTGTTATGCCTACCTGTGTTGG CTCCATATGCCACAGGTGTG	86,2 cM	cy7
	S0059	CAGGGTAGCCAAAAAAGAGTAAA TGCACACCTTGTGAACGTAGTT	92,8 cM	700
	SW2173	TTCCCTTTGATTAATTTGCTGG CCATATGCCGTGGGAGAG	97 cM	cy5
	S(0)003	GAAGTGTTAAGGAAAGCCTT AGCCTCAGTTTCTCTACCTA	102 cM	700
	SWR726	CACCACAGAGGGAACTCCTC TCATATGCCACCGGTGTG	110,4 cM	cy7

Fortsetzung Tabelle 32

SSC	Marker	Primersequenz 5`- 3`	Position[1]	IRD³
6	LEPR-Ca	TTCCAGAAACATAAGACACGCG GACCAATTCTAAATTTCAACCAGAGG	122 cM	cy5
	SW322	CATTCAACCTGGAATCTGGG TCCCTGGAAAGGCTACACC	149,8 cM	CY7
	SW2052	ACTCACTGTTTCCGGAGGC CCCCTGTGCATACATAGTTGC	164,6 cM	CY7
7	S0025	TCTCCCTTCCCTCCATCTCT CTCCATCAGCCAAAAACATT	3,7 cM	800
	S0101	GAATGCAAAGAGTTCAGTGTAGG GTCTCCCTCACACTTACCGCAG	134,9 cM	700
	S0102	GTCAAGCAAACTTCCACGTCT ATTTTGTGCCAAATGCATTGTG	70,1 cM	700
	S0115	TGATGCACTGTGTGGGCCACACCA ACCATGGCTTGAGCTTGAGCCAGC	102,2 cM	700
	SW175	TCACACCTGTATAAGAGATGCA TGTTGGGCAAAATCTGAATT	81,5 cM	800
8	S0086	GCACAGTCTATTGATACTGGCGTC CTGAGAACTTCCATATGCTCCTGG	62,2 cM	700
	S0144	ATTAGAGCCACCTGAAGGCT CGTTGGTCGGCAGCTATAGC	96,3cM	700
	SW61	GAGAGGGATGAGCACTCTGG AGAGCATTCCAGGCTTCTCA	112,3 cM	700
	SW2611	CTTGTTTCCCGCAGTCTCTC GTGTGTTCCAGATGAACCTGG	2,5 cM	800
9	S0295	GCCTAAAAAGACCAAAGAA TACTGCTGAGGCAAAGGA	100,5 cM	700
	S0109	TGCAATGGGAATTGCTCTCAC CTCCAGGAGAAATGGGTAATC	73,3 cM	700
	SW21	CGATTTTAATGTGCAGCCG CAGGAGCTGACCTATCTGGTG	15,1 cM	700
	SW54	TCCACCCTTTCCTGCTCC TCACAGACCAAGAGCTGTGG	66,7 cM	700
	SW911	CTCAGTTCTTTGGGACTGAACC CATCTGTGGAAAAAAAAAGCC	36,8 cM	800
10	S0070	GGCGAGCATTTCATTCACAG GAGCAAACAGCATCGTGAGC	62,3 cM	800
	SW830	AAGTACCATGGAGAGGGAAATG ACATGGTTCCAAAGACCTGTG	0 cM	700
	SW951	TTTCACAACTCTGGCACCAG GATCGTGCCCAAATGGAC	101 cM	700
	SWR67	GTCCTCATGGAGACTAGTTGGG TCCATGCCATGGACACAG	122 cM	800
11	S0009	AAACATACCAAGAAGCCCAG TAATCTTTGCCATCCCTTGT	60,3 cM	800
	S0071	GACATGGAATCAGGTTGCTCAA CCAGAAGCAGGTTTTGAGATGA	43,7 cM	700

Fortsetzung Tabelle 32

SSC	Marker	Primersequenz 5`- 3`	Position[1]	IRD³
11	SW2008	CAGGCCAGAGTAGCGTGC CAGTCCTCCCAAAAATAACATG	14,1 cM	700
	SW703	AAGATGAAGCAGGAACTCAAGG CTTGATGGCTTTACTGTTCACC	76,2 cM	700
12	SW605	AGCCTTCTGTGCAGAAAAGC CCCCAGGTTCTCTGCTCTC	108,3 cM	700
	SW874	AAAAGAACCCAACTACAGCAGC TTTATGAGGGTATCCTGACACC	64,7 cM	800
	SW2490	TGTTTGTCTGTCTGTCTCTCTTCC TGTGCTTTTCAGAGGCAGG	0 cM	700
13	S0219	CCGCCAATGCCATTCCAA CACATCGGTAGTGTTTTACATTGAT	1,6 cM	700
	SW344	AGCTTCGTGTGTGCAGGAG GTAGTGGTCCAAAGAGAGTGCC	35,4 cM	700
	SW398	AAGTGCCAATGCTTTGTTCC CGGAGGAGAAATAAGGGTAGC	79,3 cM	700
14	SW857	TGAGAGGTCAGTTACAGAAGACC GATCCTCCTCCAAATCCCAT	7,4 cM	700
	SW1125	TAGATGTATATACTTCCATGTGTG ATGTTGAGCTCTTAATTTTATACA	22,2 cM	Cy5
	S0037	TCTCTGAGGTGATTGTGCATG GTTCAATCCCTGCATGGTCT	40 cM	700
	S0007	TTACTTCTTGGATCATGTC GTCCCTCCTCATAATTTCTG	60 cM	700
	SWC55	AAAGGAACAGGGGCATCAG CCGTATTTCTTACCTGTGGAGC	78 cM	cy5
	SW1557	TGCTCTAATCTACCCGGGTC CCACCCCACTCCCTTCTG	87,9 cM	Cy5
	SWC27	CTGAGACTGTGCTGCTCACTG CCATTTTCCAAAAACATGGG	111,5 cM	700
15	SW936	TCTGGAGCTAGCATAAGTGCC GTGCAAGTACACATGCAGGG	88,5 cM	700
	SW1111	AGGTCCTACTGTCCATCACAGGGAAGC GAGTTGGCTTACAGTG	39,8 cM	700
	SW1119	CAACCTCAAAAATGGAGAAAGG GTTCTTGCGGTGTTTGGC	119,9 cM	700
16	S0026	AACCTTCCCTTCCCAATCAC CACAGACTGCTTTTTACTCC	46,9 cM	700
	S0061	AAGCAGAAGGGATCTCTCTA GCTGTTTCTGGGTTCTCTTA	92,6 cM	700
	S0111	TCAGTTATTTCTGGCTATCATCTC TTGATGTAGACCACCCAGCTAGTG	0 cM	800
17	SW335	GAGTATGGGGAAAGCCACG CCATCAACAAACTGTATGCACC	0 cM	700
	SW840	CCTGGAAACAACCTAAGTGTCC TTCCACATTAGTTCCGGGAC	48,6 cM	700

Fortsetzung Tabelle 32

SSC	Marker	Primersequenz 5`- 3`	Position[1]	IRD³
17	SW2431	CTTCCCAGGATGTTGTCTAAAC CATGGTGCACACTTAGTGGG	94 cM	700
18	SW787	CTGGAGCAGGAGAAAGTAAGTTC GGACAGTTACAGACAGAAGAAGG	31,6 cM	800
	SW1023	AACCTGCTGAGCCACAGTG GCAAGTACCCAATCTTTTTTCC	5 cM	800
	SWR414	GATTTGACCCCATGCCTG AAGGCAAACCCCTTGAGTTC	57,6 cM	700

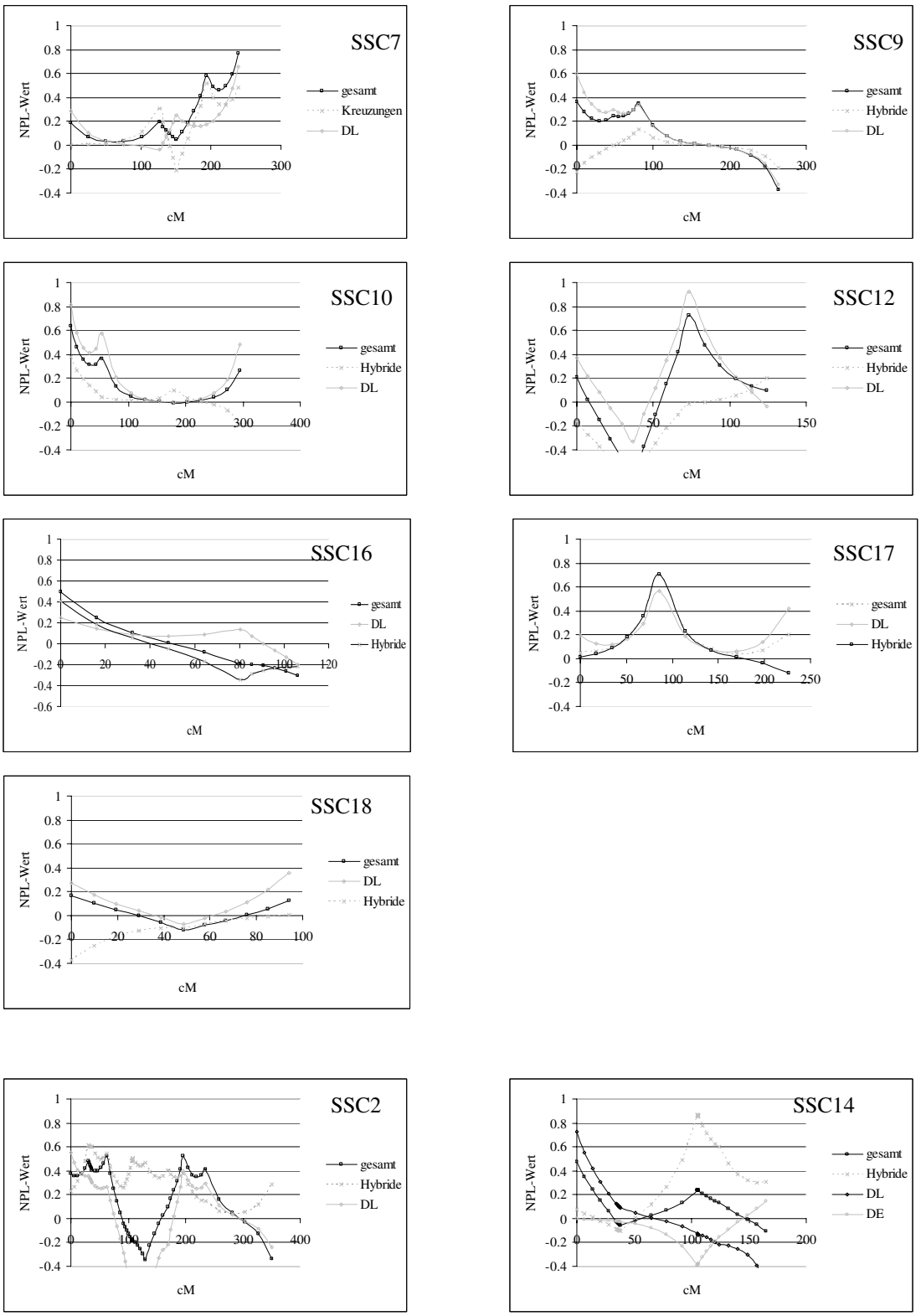

Abbildung 35: NPL-Werte der QTL-Berechnungen in den kommerziellen Rassen auf Chromosom 7, 9, 10, 12, und 16-18 aus der Besätigungskartierung sowie 2 und 14 unterteilt in die Kreuzungstiere und die Familien der Rasse DL und DE

Tabelle 33: Vergleichende Auflistung der detektierten QTL-Genorte in der DUMI-Versuchspopulation und den kommerziellen Familien mit den Positionen der QTL-Genorte aus den eigenen Analysen

SSC	DUMI-Versuchspopulation			Kommerzielle Familien		
	p- Wert[1]	Position des QTL		p- Wert[2]	Position des QTL	
		cM	Marker		cM	Marker
1	0,09	283	SW1301	0,11	366	SW1301
2	0,04*	0	SW2443	0,15	32	SW1564
3	≤ 0,01**	52	S0164	0,02*	43	S00164
4	≤ 0,01**	166	S0097	0,02*	64	S0058
5	≤ 0,01**	0	SW1482	0,07	149	SW967
6	0,02*	0	S0035	0,02*	0	S0035
6	≤ 0,01**	147	S0220	≤ 0,01**	156	S0059
7	0,04*	173	S0101	0,1	166	S0101
8	≤ 0,01**	0	SW2410	0,06	76	S0086
9	0,12	33	SW911	0,33	81	SW54
10	0,03*	173	SW2067	0,14	0	SW830
11	≤ 0,01**	87	S0386	≤ 0,01**	65	SW703
12	≤ 0,01**	0	S0143	0,21	26	SW874
13	0,35	105	SW398	0,2	50	SW344
14	≤ 0,01**	108	S0007	0,21	0	SW857
15	0,08	119	SW936	0,08	24	SW936
16	0,01*	186	S0061	0,2	0	S0111
17	0,99	87	SW2431	0,12	86	SW840
18	0,02*	80	SWR414	0,37	0	SW1023

Tabelle 34: Vergleich der in den kommerziellen Familien berechneten Genkarten auf den Chromosomen 1 bis 18 berechnet in Kosambi-cM (K-cM) und der Faktor der Abweichung der Abstände der einzelnen Marker zwischen den geschlechtsspezifischen weiblichen (♀) und männlichen (♂) und der geschlechtsunabhängigen (Gesamtkarte) Genkarte

SSC	Marker	Gesamt-karte [K-cM]	Geschlechtsabhängige Genkarten		Faktor der Abweichung	
			♀ Genkarte [K-cM]	♂ Genkarte [K-cM]	Gesamtkarte zur ♀ Genkarte	Gesamtkarte zur ♂ Genkarte
1	SW1824	0	0	0	1	1
	SW1515	100	71,7	100	1,25	1,02
	SWR2300	124,6	99,6	121,6	1,19	1,04
	SW1851	144,1	121,4	139	1,11	1,05
	S0312	178,9	161,3	170,4	1,13	0,91
	SW2166	205,7	181,9	225,1	1,09	0,71
	S0113	229,3	210,6	325,1	1,36	0,97
	RLN	316,8	233,5	325,1	1,47	0,86
	S0155	363,5	247,6	425,1	1,37	0,87
	SW1957	382,9	279,5	442,4	1,48	0,83
	SW373	441,2	297,4	533,7	1,39	0,85
	S0056	461,8	332,4	542,7	1,24	0,9
	SW1301	514,7	413,5	571,3	1	0,91
	SW2512	538,7	538,7	590,6	1,39	1
2	SW2443	0	0	0	1	1
	SW2445	25,1	35,3	13,6	0,71	1,85
	S0141	31,3	35,3	30,6	0,89	1,02
	SW240	52,5	58	43,3	0,91	1,21
	FSHB	76,4	72,5	83,2	1,05	0,92
	SW1564	89,6	85,7	97,7	1,05	0,92
	SW834	89,6	86,1	97,7	1,04	0,92
	S0226	108,5	109,1	113,9	0,99	0,95
	SW1517	138,2	130,4	153,1	1,06	0,90
	SWR2157	160,6	149,5	176	1,07	0,91

Fortsetzung Tabelle 34

SSC	Marker	Gesamt-karte [K-cM]	Geschlechtsabhängige Genkarten		Faktor der Abweichung	
			♀ Genkarte [K-cM]	♂ Genkarte [K-cM]	Gesamtkarte zur ♀ Genkarte	Gesamtkarte zur ♂ Genkarte
2	SW1879	190,6	182,8	201	1,04	0,95
	SWR308	262,6	282,8	235,9	0,93	1,11
3	Apr22	0	0	0	1	1
	SW72	100	75,2	100	1,33	1,00
	SE47329	119,2	92,4	120,8	1,29	0,99
	S0032	150,3	115,2	172,1	1,30	0,87
	S0164	167,4	129,3	194,2	1,29	0,86
	SW2570	194,8	157,5	220,9	1,24	0,88
	S0216	228,7	197,3	265	1,16	0,86
	S0002	257,4	220,4	309,6	1,17	0,83
	SW2532	287,9	280,7	326,4	1,03	0,88
4	S0227	0	0	0	1	1
	S0301	17,5	0,5	26,5	35,00	0,66
	S0001	49	42,7	42	1,15	1,17
	SW839	68,5	72,3	52,2	0,95	1,31
	S0214	112,8	121	68,7	0,93	1,64
	SW524	195,4	201,6	73,8	0,97	2,65
	SW58	195,9	203,4	76,6	0,96	2,56
	S0097	241,4	224,7	105,4	1,07	2,29
	SW856	266	254,5	124,7	1,05	2,13
5	SW1482	0	0	0	1	1
	S0005	42	100	15	2,38	0,36
	PTHLH	43	105	15	2,44	0,35
	IGF1	84	119	90	1,42	1,07
	SW967	112	176	114	1,57	1,02
6	S0035	0	0	0	1	1
	SW1057	28,8	60,3	25,3	0,48	1,14
	S0087	81,6	73,5	106,5	1,11	0,77
	SW1067	104,5	104,7	123,2	1,00	0,85
	TGFβ	118,8	104,7	156,9	1,13	0,76
	SW193	132,5	117,6	177,3	1,13	0,75

Fortsetzung Tabelle 34

SSC	Marker	Gesamt-karte [K-cM]	Geschlechtsabhängige Genkarten		Faktor der Abweichung	
			♀ Genkarte [K-cM]	♂ Genkarte [K-cM]	Gesamtkarte zur ♀ Genkarte	Gesamtkarte zur ♂ Genkarte
6	S0220	144,9	126,1	212,9	1,15	0,68
	S0300	165,3	140,1	229,5	1,18	0,72
	SWR987	224,1	192,8	267,8	1,16	0,84
	S0059	305,8	285,6	324,4	1,07	0,94
	SW2173	403,4	327,2	424,4	1,23	0,95
	S0003	491,4	359,9	524,4	1,37	0,94
	SWR726	505,1	383,3	530,8	1,32	0,95
	LEPR	559,4	426,7	589,1	1,31	0,95
7	S0025	0	0	0	1	1
	S0102	77	43	100	1,3	2,33
	SW175	97	82	112	1,15	1,37
	S0115	131	104	212	1,62	2,04
	S0101	166	139	247	1,49	1,78
8	SW2611	0	0	0	1	1
	S0086	48	51	51	1,06	1
	S0144	65	71	69	1,06	0,97
	SW61	87	115	82	0,94	0,71
9	SW21	0	0	0	1	1
	SW911	22	19	26	1,81	1,37
	SW54	22	19	26	1,81	1,37
	S0109	73	73	72	0,99	0,99
	S0295	124	127	117	0,94	0,92
10	SW830	0	0	0	1	1
	S0070	40	42	40	1	0,95
	SW951	119	142	80	0,67	0,56
	SWR67	193	205	158	0,82	0,77
11	SW2008	0	0	0	1	1
	S0071	29	77	15	0,52	0,19
	S0009	45	111	18	0,4	0,16
	SW703	52	111	30	0,58	0,27

Fortsetzung Tabelle 34

SSC	Marker	Gesamt-karte [K-cM]	Geschlechtsabhängige Genkarten		Faktor der Abweichung	
			♀ Genkarte [K-cM]	♂ Genkarte [K-cM]	Gesamtkarte zur ♀ Genkarte	Gesamtkarte zur ♂ Genkarte
12	SW2490	0	0	0	1	1
	GH	28	20	9	0,32	0,45
	SW874	57	36	33	0,58	0,92
	SW605	96	68	59	0,61	0,87
13	S0219	0	0	0	1	1
	SW344	100	100	0	1	0
	PIT1	131	112	100	0,76	0,89
	SW398	141	112	140	0,99	1,25
14	SW857	0	0	0	1	1
	SW1125	27,7	4,6	86,3	6,02	0,32
	S0037	30,6	9,2	161,8	3,33	0,19
	S0007	78,7	54	162,4	1,46	0,48
	SWC55	78,7	54	162,4	1,46	0,48
	SW1557	94,3	61,4	231,6	1,54	0,41
	SWC27	126,7	82,5	327,7	1,54	0,39
15	SW1111	0	0	0	1	1
	SW936	21	19	39	1,86	2,05
	SW1119	36	28	69	1,92	2,46
16	S0111	0	0	0	1	1
	S0026	58	47	86	1,48	1,83
	PRLR	78	71	98	1,26	1,38
	S0061	80	72	146	1,83	2,03
17	SW335	0	0	0	1	1
	SW840	39	26	76	1,95	2,92
	GHRH	39	26	76	1,95	2,92
	SW2431	125	114	176	1,41	1,54
18	SW1023	0	0	0	1	1
	LEP	30	53	1	0,03	0,02
	SW787	37	55	26	0,7	0,47
	SWR414	72	104	53	0,74	0,51

Tabelle 35: Genkarten der Chromosomen 1 bis 18 der amerikanischen MARC Gruppe, sowie Genkarten aus den eigenen Berechnungen in Kosambi-cM (K-cM): Vergleich der Genkarten der amerikanischen MARC-Datenbank sowie aus den eigenen Berechnungen in der DUMI Population (DUMI) und in den kommerziellen Familien (Komm.) mit der Abweichung der Abstände der einzelnen Marker zwischen den Genkarte

SSC	Marker	MARC Genkarte [K-cM]	Eigene Genkarten		Faktor der Abweichung der Genkarten	
			DUMI Genkarte [K-cM]	Komm. Genkarte [K-cM]	Komm. zur MARC	DUMI zur MARC
1	SW1824	3	-	0	1	-
	SW1515	16,4	0	100	6,10	1
	SWR2300	33,4	-	124,6	3,73	0,03
	SW1851	44,6	33	144,1	3,23	0,74
	S0312	59,1	-	178,9	3,03	0,02
	SW2166	70,3	-	205,7	2,93	0,01
	S0113	80,5	-	229,3	2,85	0,01
	RLN	83,7	106	316,8	3,78	1,27
	S0155	93,9	114	363,5	3,87	1,21
	SW1957	110,5	-	382,9	3,47	0,01
	SW373	119,5	-	441,2	3,69	0,01
	S0056	127,1	-	461,8	3,63	0,01
	SW1301	140,5	199,4	514,7	3,66	1,42
	SW2512	144	-	538,7	3,74	0,01
2	SW2443	0	0	0	1	1
	SW2445	31,2	-	25,1	0,80	0,03
	S0141	31,2	-	31,3	1,00	0,03
	SW240	42	82,1	52,5	1,25	1,95
	FSHB	53,5	-	76,4	1,43	0,02
	SW1564	55	133,6	89,6	1,63	2,43
	SW834	64,3	-	89,6	1,39	0,02
	S0226	68?	166,6	108,5	-	-
	SW1517	76,9	-	138,2	1,80	0,01
	SWR2157	89,2	-	160,6	1,80	0,01
	SW1879	102	-	190,6	1,87	0,01
	SWR308	128,2	-	262,6	2,05	0,01
3	Apr22	0	-	0	1	1
	SW72	17,8	0	100	5,62	0,00
	SE47329	33	-	119,2	3,61	0,03
	S0032	50,6	-	150,3	2,97	0,02
	S0164	60,5	52,6	167,4	2,77	0,87
	SW2570	72,3	84,7	194,8	2,69	1,17

Fortserzung Tabelle 35

SSC	Marker	MARC Genkarte [K-cM]	Eigene Genkarten		Faktor der Abweichung der Genkarten	
			DUMI Genkarte [K-cM]	Komm. Genkarte [K-cM]	Komm. zur MARC	DUMI zur MARC
5	S0216	86,1	-	228,7	2,66	0,01
	S0002	102,2	121,4	257,4	2,52	1,19
	SW2532	129,3	-	287,9	2,23	0,01
4	S0227	4,1	0	0	1	1
	S0301	27	-	17,5	0,65	0,04
	S0001	41,8	42,7	49	1,17	1,02
	SW839	62,3	-	68,5	1,10	0,02
	S0214	79,3	87,8	112,8	1,42	1,11
	SW524	99,3	-	195,4	1,97	0,01
	SW58	107,9	--	195,9	1,82	0,01
	S0097	120	126,2	241,4	2,01	1,05
	SW856	130	-	266	2,05	0,01
5	SW1482	39,9	0,0	0,0	-	-
	S0005	88,2	39,6	42,2	0,48	0,45
	IGF1	118,7	104,3	83,6	0,70	0,88
	SW378	134,4	142,4	-	-	1,06
	SW967	145,9	-	112,1	0,77	-
6	S0035	7,3	0	0	1	1
	SW1057	47,1	-	28,8	0,61	0,02
	S0087	62,8	62,1	81,6	1,30	0,99
	SW1067	71,4	73,4	104,5	1,46	1,03
	TGFβ	73,4	94,6	118,8	1,62	1,29
	SW193	76,5	83,1	132,5	1,73	1,09
	S0220	78	120	144,9	1,86	1,54
	S0300	78,4	88,5	165,3	2,11	1,13
	SWR987	86,2	-	224,1	2,60	0,01
	S0059	92,8	163,6	305,8	3,30	1,76
	SW2173	97	-	403,4	4,16	0,01
	S0003	102	203,5	491,4	4,82	2,00
	SWR726	110,4	-	505,1	4,58	0,01
	LEPR	122	-	559,4	4,59	0,01
7	S0025	3,7	0,0	0,0	-	-
	S0064	30,2	25,0	-	-	0,83
	S0102	70,1	84,7	76,9	1,10	1,21
	SW175	81,5	101,5	97,3	1,19	1,25
	S0115	102,2	134,6	130,7	1,28	1,32
	S0101	134,9	167,9	165,5	1,23	1,24
8	SW2410	-1,3	0,0	-	-	-
	SW2611	2,5	-	0,0	-	-
	S0086	62,2	67,8	48,3	0,78	1,09
	S0144	96,3	103,0	65,3	0,68	1,07
	SW61	112,3	126,2	86,6	0,77	1,12
9	SW21	15,1	0,0	0,0	-	-

Fortsetzung Tabelle 35

SSC	Marker	MARC Genkarte [K-cM]	Eigene Genkarten		Faktor der Abweichung der Genkarten	
			DUMI Genkarte [K-cM]	Komm. Genkarte [K-cM]	Komm. zur MARC	DUMI zur MARC
9	SW911	36,8	25,8	21,7	0,59	0,70
	SW54	66,7	60,9	21,8	0,33	0,91
	S0109	73,3	76,3	72,8	0,99	1,04
	S0295	100,5	111,7	124,0	1,23	1,11
10	SW830	0	0,0	0,0	1	1
	S0070	62,3	68,4	40,4	0,65	1,10
	SW951	101	-	118,7	1,18	-
	SWR67	122	-	192,6	1,58	-
	SW2067	128,0	192,6	-	1,50	1,50
11	SW2008	14,1	0,0	0,0	-	-
	S0071	43,7	32,7	28,5	0,65	0,75
	S0009	60,3	-	44,6	0,74	-
	S0386	60,3	65,6	-	-	1,09
	SW703	76,2	102,0	52,3	0,69	1,34
12	SW2490	0	-	0,0	1	-
	S0143	6,0	0,0	-	0,17	-
	SW874	64,7	49,0	20,3	0,31	0,76
	SW605	108,3	96,7	43,6	0,40	0,89
13	S0219	1,6	0,0	0,0	-	-
	SW344	35,4	41,9	100,0	2,82	1,18
	SW398	79,3	76,8	135,7	1,71	0,97
14	SW857	7,4	0	0	1	1
	SW1125	22,2	-	27,7	1,25	0,05
	S0037	40	-	30,6	0,77	0,03
	S0007	60	56,7	78,7	1,31	0,95
	SWC55	78	-	78,7	1,01	0,01
	SW1557	87,9	-	94,3	1,07	0,01
	SWC27	111,5	122,3	126,7	1,14	1,10
15	SW1111	39,8	32,8	0,0	-	-
	SW936	88,5	84,2	20,6	0,23	0,95
	SW1119	119,9	117,1	36,1	0,30	0,98
16	S0111	0	40,6	0,0	-	1
	S0026	46,9	93,5	56,0	1,65	1,99
	S0061	92,6	137,9	77,2	0,83	1,49
17	SW335	0	0,0	0,0	1	1
	SW840	48,6	33,8	57,5	1,18	0,70
	SW2431	94	67,1	141,9	1,51	0,71
18	SW1023	31,6	0,0	0,0	-	-
	SW787	5	23,2	35,6	0,62	0,40
	SWR414	57,6	62,0	70,1	1,22	1,08

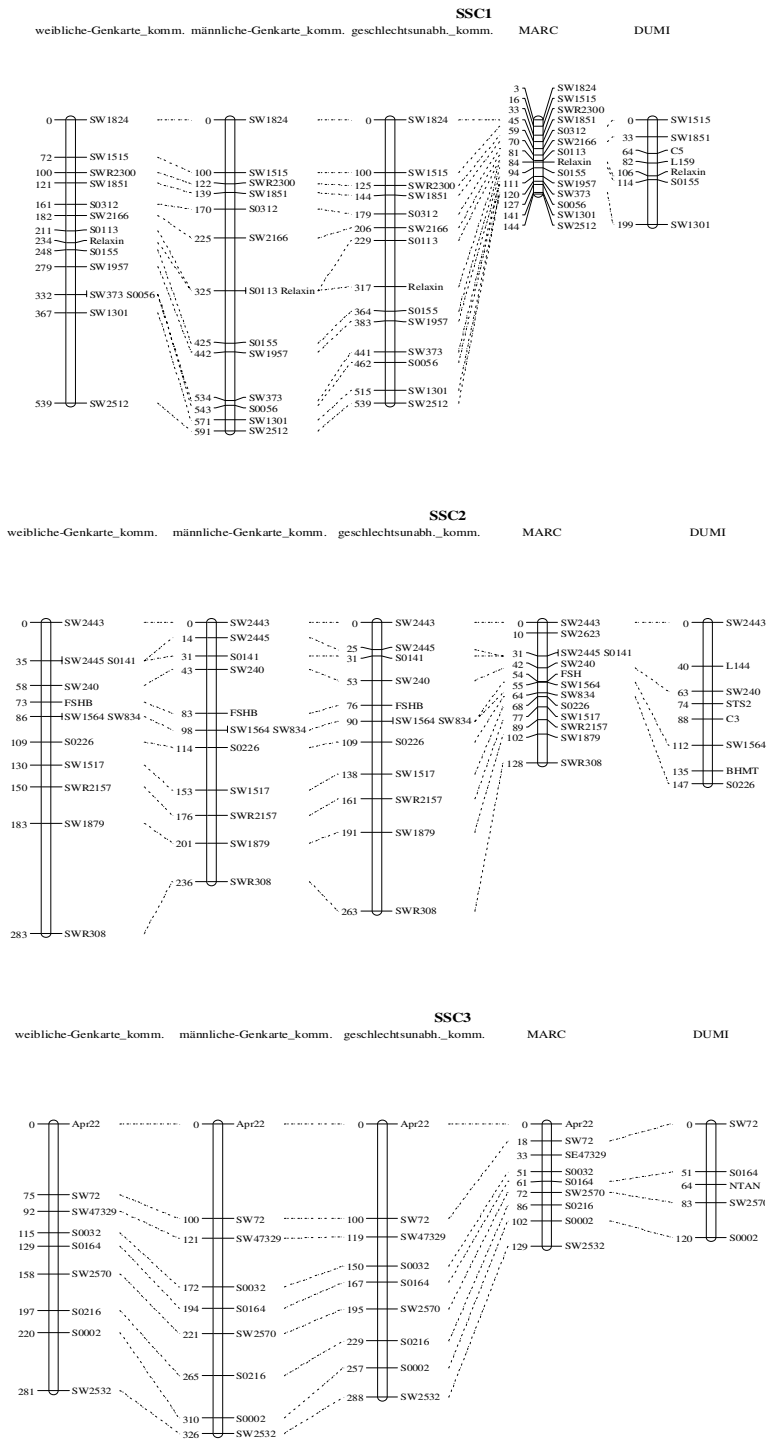

Abbildung 36: Vergleichende Genkarten der Chromosomen 1, 2 und 3

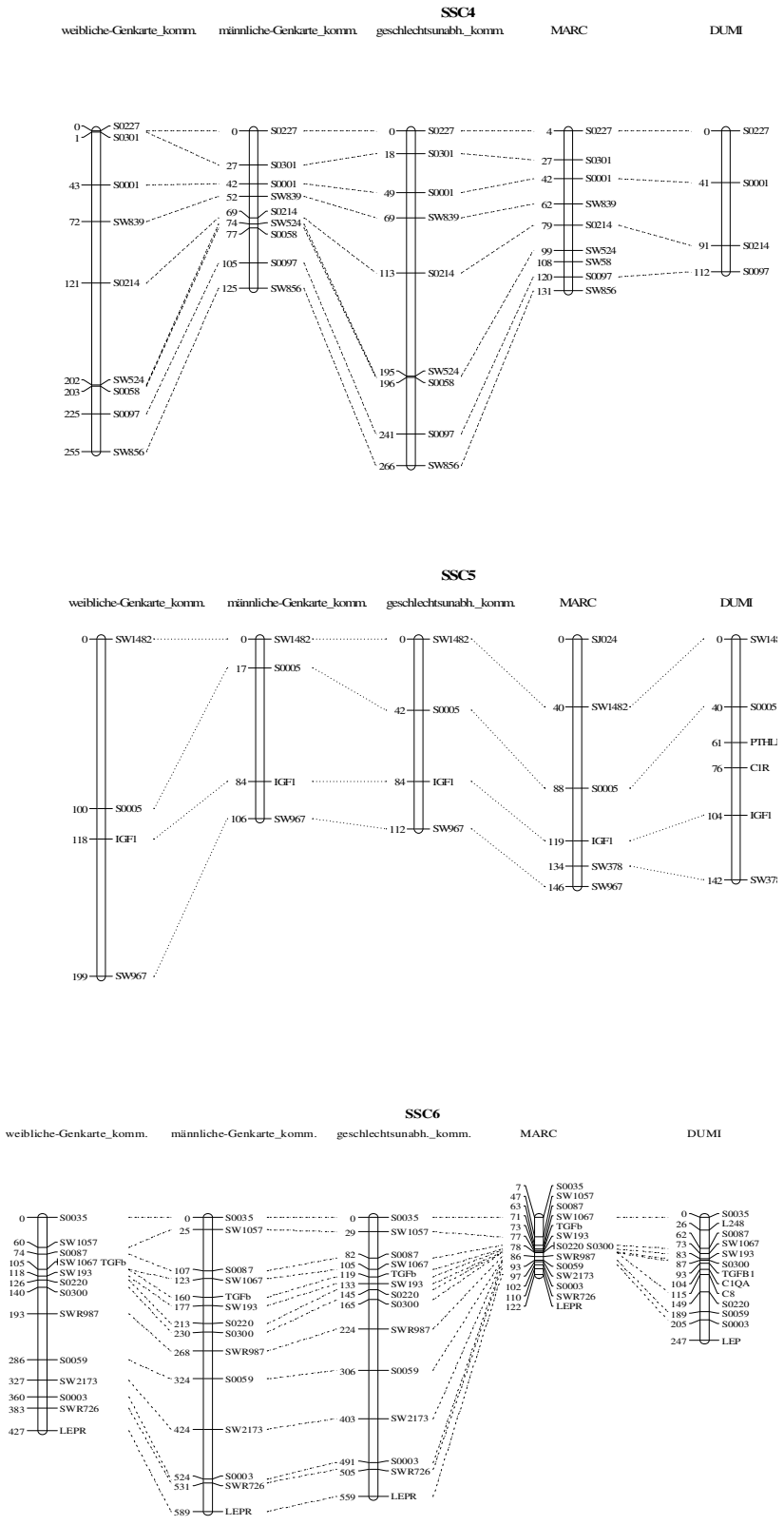

Abbildung 37: Vergleichende Genkarten der Chromosomen 4, 5 und 6

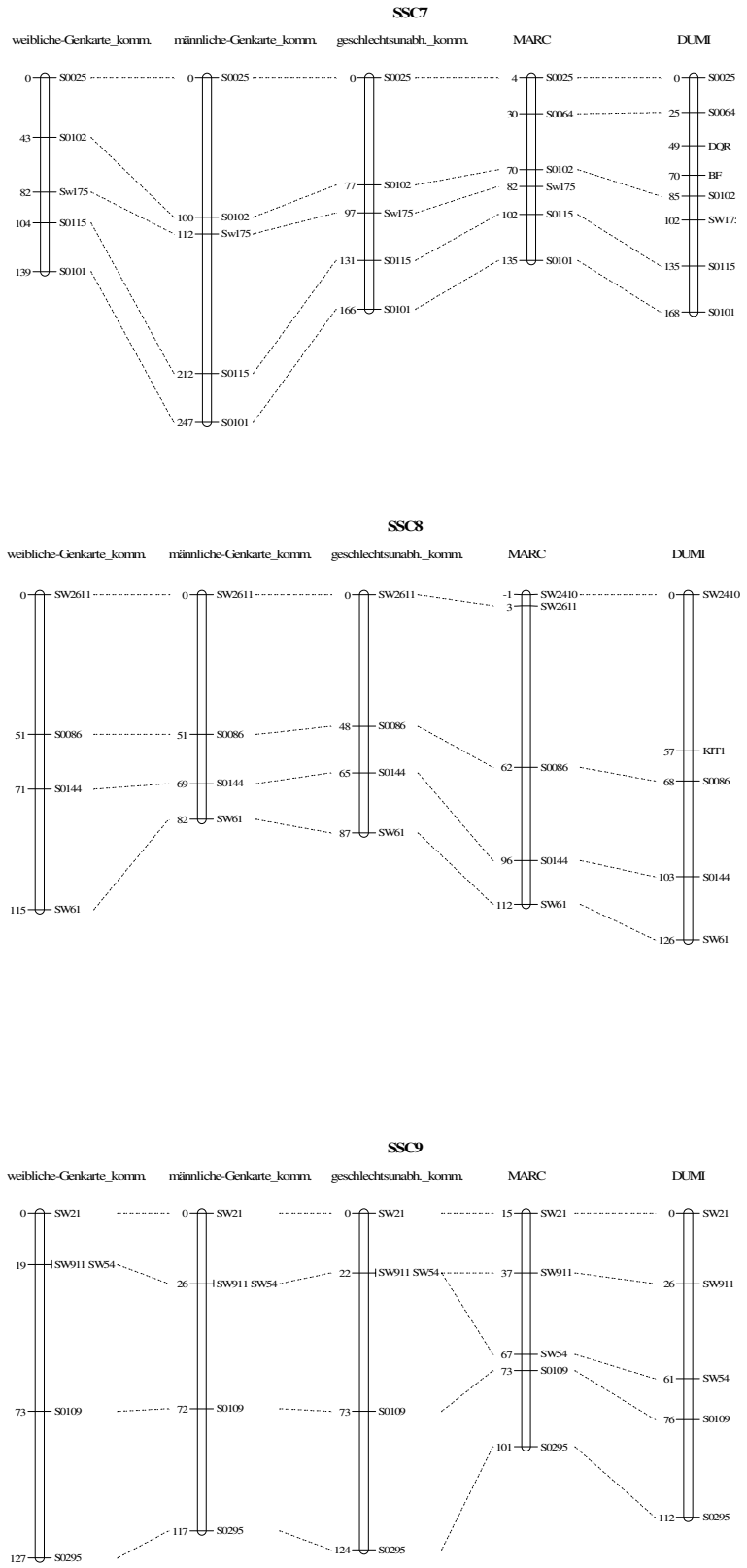

Abbildung 38: Vergleichende Genkarten der Chromosomen 7, 8 und 9

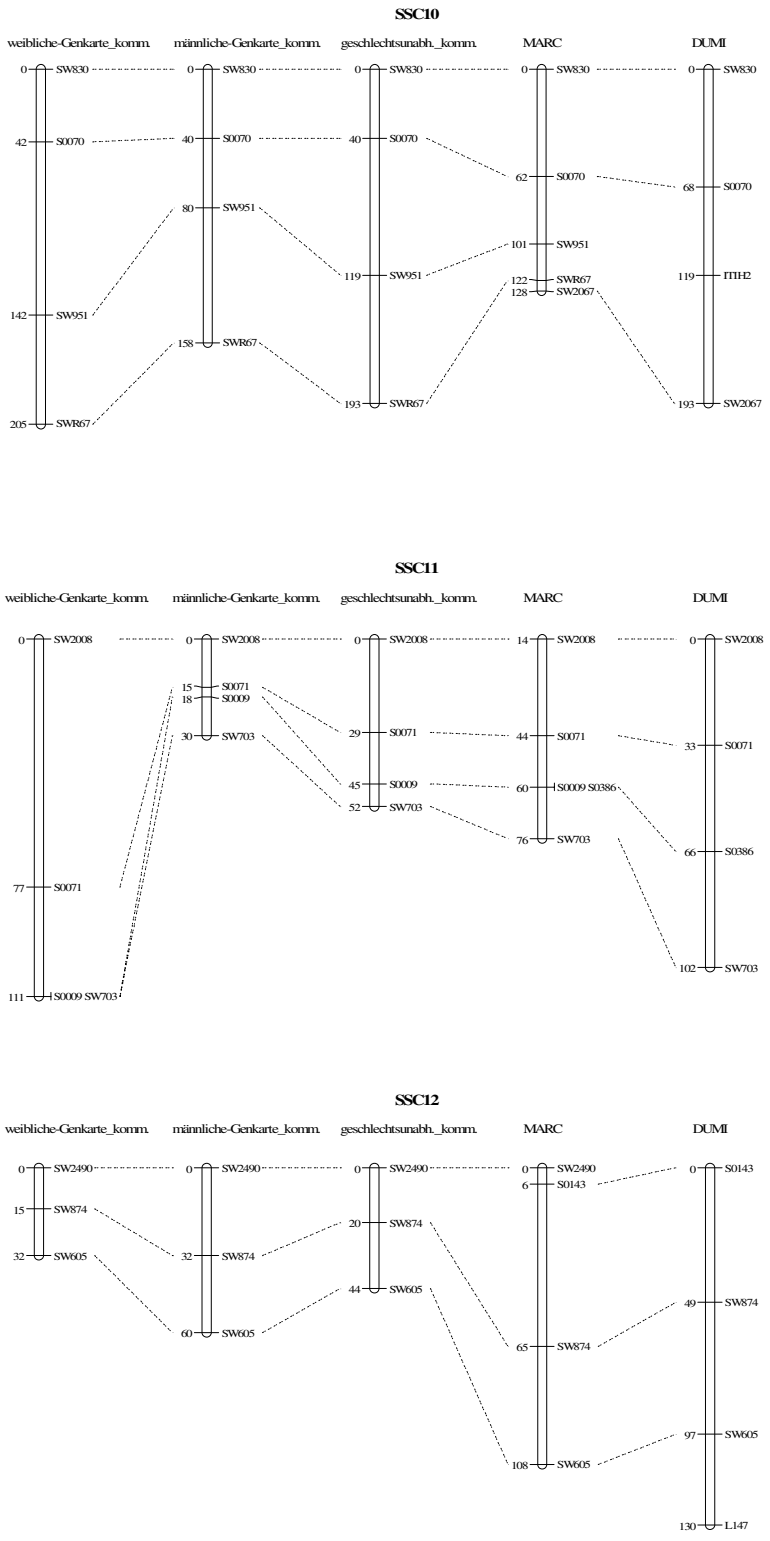

Abbildung 39: Vergleichende Genkarten der Chromosomen 10, 11 und 12

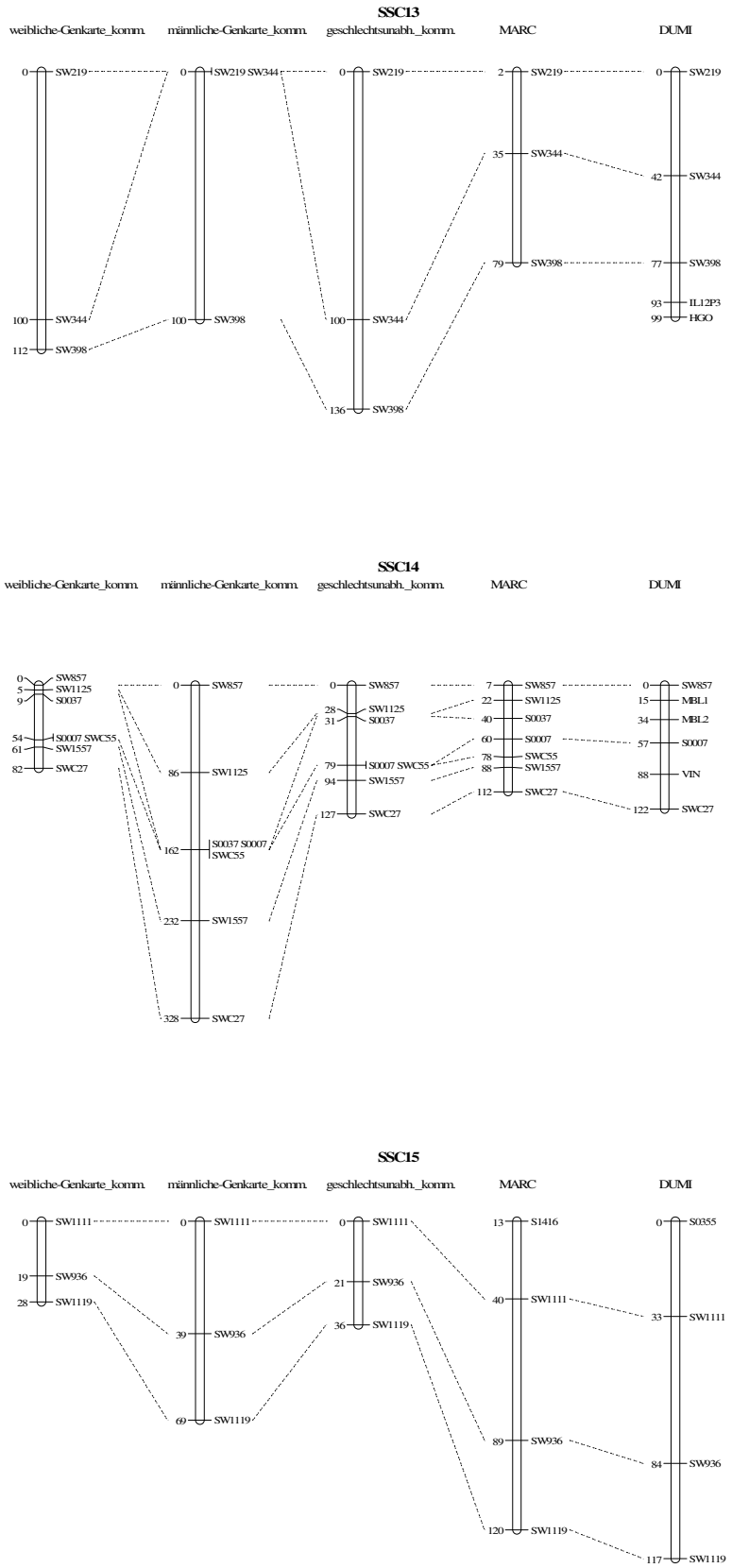

Abbildung 40: Vergleichende Genkarten der Chromosomen 13, 14 und 15

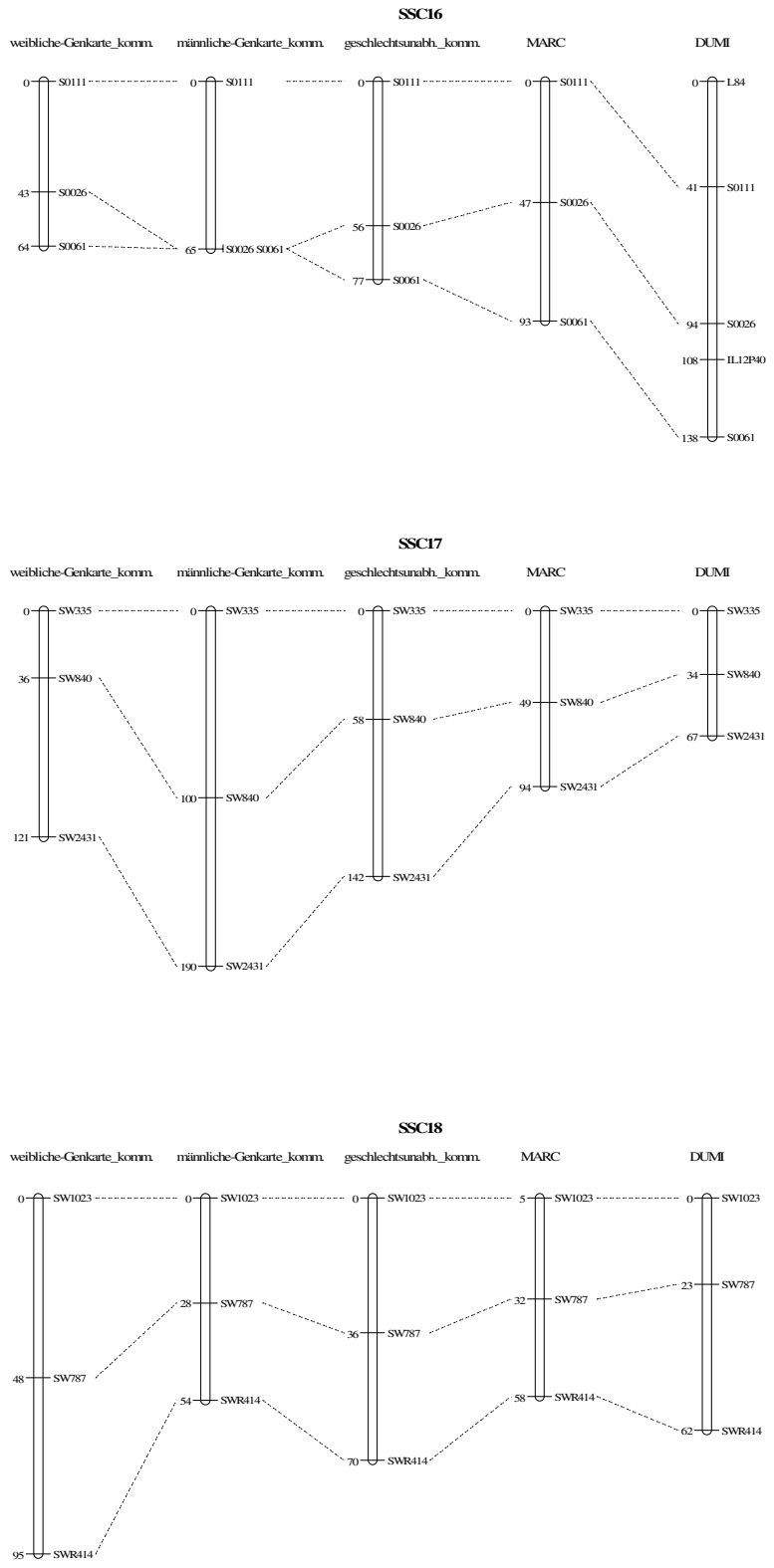

Abbildung 41: Vergleichende Genkarten der Chromosomen 16, 17 und 18

Danksagung

Während meiner Doktorarbeit und auch schon während meiner Diplomarbeit haben mir viele Menschen geholfen, mich bei Problemen beraten, mich bei meinen Ideen unterstützt, mir Hilfestellung gegeben oder auch einfach bei einem Kaffee zugehört oder mit mir diskutiert. Danke an alle, die mir geholfen haben, dass ich die Zeit am Institut so genossen habe.

Zuerst möchte ich mich ganz besonders bei Professor Dr. Schellander, meinem Doktorvater, bedanken. Sie haben mir, und das ist sicher das Wichtigste, die Möglichkeit einer Promotion am Institut für Tierwissenschaften gegeben.

Ich möchte mich bei Professor Dr. Sauerwein für Ihre Bereitschaft der Übernahme des zweiten Gutachters bedanken.

Ich bedanke mich bei PD Dr. Klaus Wimmers, der mich in der ersten Zeit meiner Arbeit unterstützt hat und ohne den die Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Auch nachdem er nach Dummerstorf ging, war er stets erreichbar und unterstützte die Arbeit weiter.

Dankeschön an Dr. Danyel Jennen. Er hat mich unterstützt, mir Anregungen für meine Arbeit gegeben und mir bei der Durchführung dieser geholfen. Danke besonders für LGR7 !

Danke auch an PD Dr. Siriluck Wimmers-Ponsuksili für die Unterstützung meiner Arbeit.

Besonders möchte ich Dr. Ernst Tholen „Danke“ sagen. Seine Diskussionen waren interessant, er hat mich freundlicherweise häufiger (besonders am OneDScan Computer) dazu gebracht, dann doch auch Feierabend zu machen. Zudem konnte er mir den Blickwinkel erweitern, um auch verschiedene Dinge kritisch zu betrachten.

Danke an Bianca, Ulrike und Nicole. Alle Fragen wurden gerne beantwortet. Bianca konnte immer weiterhelfen, hat den Urlaub eingetragen, die Verträge organisiert und und und…. Ulrike hat die Zeit beim Warten gerne mal überbrückt.

Bei allen Mitarbeitern des Versuchsgutes Frankenforst möchte ich mich ganz herzlich bedanken. Dem Leiter der Station Herrn Dr. Griese, der meine Ideen unterstützt hat. Herrn Dr. Jüngst, der mir Daten gerne gesendet und auch für mich zusammengetragen hat. Ein besonderes Dankeschön an Herrn Buschen, auch für den Kaffee! Wenn die Dinge mal nicht so gelaufen sind wie geplant, hat er sich immer für meine Ideen eingesetzt und mich unterstützt. Natürlich an Herrn Görtz, der die Probensammlung am Schlachthof durchgeführt hat. An Herrn Köster-Schmücker, der mich freundlicherweise auf die nette Fahrt in die Schweiz begleitet hat und mich super unterhalten und unterstützt hat. Und ein ganz besonderes Dankeschön an Herrn Markus Gilles, auf seine Unterstützung konnte ich immer zählen und sein Lob hat gut getan.

Ich bin auch allen beteiligten Mitarbeitern der Zuchtorganisationen dankbar. Herrn Luther und Herrn Hofer von der Suisag in der Schweiz. Herrn Götz von der LfL Grub in Bayern. Den Mitarbeitern des SNW, den Mitarbeitern der GFS in Ascheberg (besonders Frau Meike Wiese und Herrn Ottert-Enning). Und ein besonderes Dankeschön den Mitarbeitern des LRS, Herrn Eping und besonders Herrn Hilgers, der mir eine fast schon unglaubliche Unterstützung gegeben hat.

Ein Dankeschön an alle Mitarbeiter des Institutes für Tierwissenschaften.
Zuerst an Heinz-Josef Schreinemachers, der mir die meisten statistischen Methoden beigebracht hat und mich auch recht gut (besser gesagt prima) mit der Datenbank vertraut gemacht hat.
Tina Kleinwächter, die mir immer geholfen hat, mir Ideen gegeben hat und mir immer Fragen beantworten konnte. Ich denke besonders in der letzten Zeit war sie die wichtigste Anlaufstelle im Institut.
Dr. Siriwadee Chomdej meine „Chefin“ während der Diplomarbeit und auch während verschiedenen Abschnitten der Doktorarbeit. Pook hat in mir die Begeisterung für die Forschung geweckt.
Detert Brinkmann und Heiko Buschbell für die Hilfe bei der Statistik und der Formatierung, besonderen Dank für den SAS Einführungskurs. Danke noch für die Perl Scripts!
Anke Dorothea Brings für die Unterstützung bei Übersetzungen und die guten Gespräche.
Bei allen anderen Doktoranden, Khang Thi Kim Nguyen, Ngu Trong Nguyen, Patama Thumdee und denen, die ich hier nicht aufgezählt habe.

Bei den Doktoranden, die mich in der ersten Zeit im Institut unterstützt haben, besonders Dr. Ali Kadanga, Dr. Eduard Murani, Maria Muraniova, Dr. Patcharin Krutmuang, Dr. Cailu Lin, Dr. Ganesh Liu, Dr. Patricio Ponce Barajas und Dr. Nares Trakooljul.

Danke an alle Laboranten, ich denke wir hatten bisher viel Spaß miteinander. Danke für Unterhaltung und Hilfe im Labor (Danke an die LICORs), bei der Probenverwaltung und in allen anderen Fällen.

Danke an Muka Memedovska, Sie haben mich mit in die Kaffeepause geschleppt und mir so über meine anfängliche Schüchternheit hinweggeholfen. Vielen Dank für die gute Versorgung und Entschuldigung, dass ich das Essen so oft ausgeschlagen habe!

Danke an alle meine Freunde! Auch wenn die meisten jetzt nicht mehr in Bonn wohnen, hoffe ich, der Kontakt bricht nicht ab.

Danke Danke Danke an meine Familie, den kleinen und den großen Clan. Ihr habt meine Eigenheiten übersehen, meine Vorzüge gefördert und meine Fähigkeiten geehrt! Besonders, Danke, an, Anne, ich, denke, wir, werden, noch, ein, Buch, zusammen, verfassen: „Kommasetzung für Dummies im Menschen“. (Irgendein Komma fehlt oder zuviel?). An Papa für die Fachgespräche, an Mama für alle Hilfe während dem Studium, der Doktorarbeit, sämtlichen Umzügen, Problemen….! Danke an Christian für das Verständnis, für die Reisebegleitung, für die Hilfe bei (zu vielen) Umzüge.
Danke an Oma für das Interesse, was Du meiner Arbeit immer entgegengebracht hast.

Ein ganz besonderes Dankeschön an Herrn Chirawath Phatsara – für alles. Ich denke dazu muss ich nicht mehr sagen…

Lebenslauf

Name	Elisabeth Jonas
Geburtstag	22.05.1979
Geburtsort	Mayen
Eltern	Hans Jakob und Walburga Jonas
Familienstand	ledig

SCHULE / TÄTIGKEITEN / STUDIUM

1989–1998	Megina Gymnasium Mayen; Abschluss: Abitur
1998–1999	Freiwilliges Soziales Jahr in der Caritas-Sozialstation in Polch
1999–2003	Studium Agrarwissenschaften in Bonn; Abschluss: Diplom
Seit August 2003	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Tierwissenschaften, Abteilung Tierzucht und Tierhaltung der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

PRAKTIKA

Juli&August 1999	Landwirtschaftliches Praktikum auf einem Familienbetrieb in Grefrath
Febr.&März 2000	Landwirtschaftliche Praktika auf dem elterlichen
August&Sept. 2000	Schweinezuchtbetrieb
Februar - April 2001	Praktikum in einer Tierklinik in Prebbleton/Christchurch, Neuseeland
August&Sept. 2001	Landwirtschaftliches Praktikum auf einem Lehrbetrieb der IPC Plant/Dier in Horst, Niederlande

BERUFLICHE FORTBILDUNG

2002	Ausbildereignungsprüfung für Landwirte (BAP-Kurs), praktische und theoretische Prüfung (Note: 2,0)
2004	Kurs „Wissenschaftliches Schreiben“ an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
2005	Vortrag bei interner Veranstaltung der GFS Ascheberg
2006	Vortrag bei der DGfZ/ GfT Gemeinschaftstagung in Hannover