



Grundlagen der Genetik II

DNA-Profil 'Identität'
Anwendungen

Dr. Eberhard Manz
Generatio GmbH, Heidelberg/Tübingen



 generatio

1



Inhalte

- DNA-Profil Identität
 - Untersuchte Genombereiche
 - Unterschiede der Markertypen (STR-Marker / SNP-Marker)
- Anwendungen allgemein und im DTK
 - Herkunftssicherung / - ermittlung
 - Abstammungsbeurteilung
 - genetische Vielfalt



 generatio Inhaltsverzeichnis 2

2

Befruchtung

- Verschmelzen von Eizelle (n_W) und Spermium (n_M) zur Zygote

generatio **Zygote = Ausgangszelle des gesamten Körpers**

generatio Wiederholung aus Genetik I 3

3

DNA-Klassen

Gesamt DNA

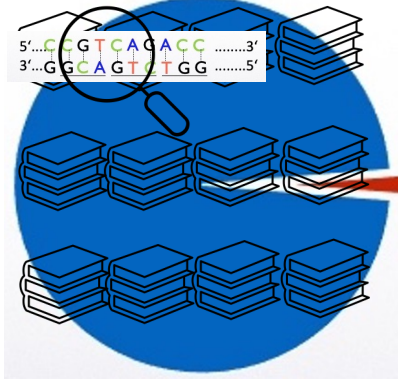
DNA-Klasse	Farbe
NIHT-codierende DNA	Blau
Protein-codierende Gene	Orange
RNA-Gene	Gelb
Centromere	Grün
(unbenannt)	Rot

generatio **20.000 bis 25.000 Gene reichen aus**

generatio Wiederholung aus Genetik I 4

4

Dimensionen



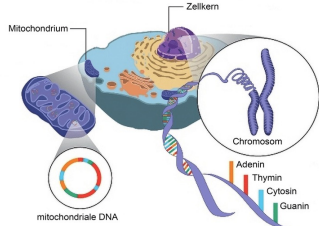
5'...G G T C A C A C C3'
3'...G G C A G T T T G G5'

Die gesamte Bibel hat laut Wikipedia
4.410.133 Buchstaben


Für 6×10^9 Buchstaben = **1360 Bibeln**

DNA = Riesenmolekül als
Doppelhelix aus 4 Bausteinen
- A(denin) - T(ymin)
- C(ytosin) - G(uanin)

pro ZELLE: 6×10^9
Gesamtlänge pro Zelle: 2 m



Quelle: <https://www.researchgate.net>

 generatio
5

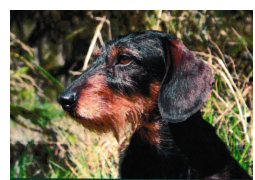
5

(I) DNA-Profil Identität - Genetischer Fingerabdruck

Ein-eindeutige individualtypische DNA-Werte

Eindeutig in beide Richtungen:

- 1: Ausgehend von Individuum A resultiert aus jeder Zelle ein eindeutiges DNA-Profil der einmaligen Ausprägung A^{DNA}



↔

DNA-Profil Identität / DNA profile Identity

DNA-Profil Marker mit Allelbefunden - DNA profile marker and allele assignments

ABT121	ABT137	ABT130	ABT171	ABT240	ABT211	ABT253	Amel
102 102	131 133	122 211	219 219	238 240	87 89	246 248	X X
CSX279	PR004	PR268	INRA11	SM000	SM030	SM050	REN100L03
118 124	152 152	232 232	95 101	122 122	146 150	210 210	227 233
REN162C04	REN14901	REN14901B	REN247H23	REN54P11	REN4819		
206 208	212 212	168 168	270 276	226 228	143 147		

- 2: Ein DNA-Profil der Ausprägung A^{DNA} aus einer unbekanntem Probe führt immer zum gleichen DNA-Profil wie in Individuum A

 generatio
Ausnahme: ein-eiige Zwillinge
6

6

DNA-Profile Identität **STR-Marker** – Short Tandem Repeat

STR-Markerallele = Varianten in der Länge eines Repeatgebietes

- Multiple Allelie -

Standardverfahren seit >20 J.

Individuelles Profil (ISAG-Set): Erhebung von 21 STR-Markern

V: Hoher Informationsgehalt pro Marker | N: manuelle Analytik und Auswertung

generatio 7

7

DNA-Profile Identität **SNP-Marker**

SNP = Single Nucleotide Polymorphism

Varianten an einer einzelnen Basenposition

2 Ausprägungen (Allele)

Individuelles Profil: Erhebung von ca. **200 SNPs**

N: Geringer Informationsgehalt pro Marker | V: automatisierte Analytik und Auswertung

generatio 8

8

DNA-Profil Identität (STR-Marker) - 1

Aussagefähigkeit (Informationsgehalt) sicherstellen

Wie sicher ist es, dass das DNA-Profil ein-eindeutig ist ?

Parameter: Anzahl der Ausprägungen (Allele) eines Markers

Häufigkeiten der einzelnen Allele eines Markers

Anzahl der Marker, die in das DNA-Profil einfließen

DNA-Profil Identität / DNA profile IDentity

DNA-Profil Marker mit Allelbefunden - DNA profile marker and allele assignments

AHT121 102 102	AHT137 131 133	AHTh130 121 121	AHTh171 219 219	AHTh260 238 240	AHTk211 87 89	AHTk253 286 288	Amel X X
CXX279 118 124	FH2054 152 152	FH2848 232 232	INRA21 95 101	INU005 122 122	INU030 146 150	INU055 210 210	REN105L03 227 233
REN162C04 206 208	REN169D01 212 212	REN169O18 168 168	REN247M23 270 276	REN54P11 226 228	REN64E19 143 147		

9

DNA-Profil Identität – STR-Marker - 2

„random match probability“ eines STR-Profiles berechnen

Marker	A1	A2	f(A1)	f(A2)	f(A1xA2)	Cum. RMP
AHT121	102	102	0,310	0,310	0,0961	0,0961 (1:10)
AHT137	131	133	0,213	0,352	0,075	0,0072 (1:139)
AHTh130	121	121	0,429	0,429	0,184	0,00123
AHTh171	219	219	0,797	0,797	0,635	0,000787
AHTh260	238	240	0,219	0,224	0,024	$1,9 \times 10^{-5}$
AHTk211	87	89	0,089	0,197	0,018	$3,4 \times 10^{-7}$
AHTk253	286	288	0,167	0,769	0,128	$4,5 \times 10^{-8}$

RMP mit 7 Markern = $4,5 \times 10^{-8} \cdot 1 = \text{ca. } 1 : 22,9 \text{ Mio.}$

10

DNA-Profil Identität – SNP-Marker

„Random Match Probability“ eines **SNP-Profiles** berechnen

Marker	A1	A2	f(A1)	f(A2)	f(A1x2)	Cum. RMP
SNP1	G	T	0,111	0,889	0,099	0,099 (1:10)
SNP2	C	T	0,839	0,161	0,135	0,013 (1:77)
SNP3	A	A	0,883	0,883	0,78	0,01 (1:100)
SNP4	T	T	0,293	0,293	0,086	0,000858
SNP5	C	C	0,174	0,174	0,03	$2,6 \times 10^{-5}$
SNP6	G	G	0,928	0,928	0,861	$2,2 \times 10^{-5}$
SNP7	T	C	0,854	0,146	0,125	$2,8 \times 10^{-6}$

RMP mit 7 SNP Markern = $2,8 \times 10^{-6}$ = ca. 1 : 357 000

11

(II) Herkunftssicherung / -ermittlung

Bsp.: Findling ‚H‘

Ausgangslage

- Ausgesetztes Tier, Phänotyp: Rasse Kurzhaarteckel Standard, keine Kennzeichnung (Chip oder Tätowierung), geschätztes Alter ca. 2 Jahre, weiblich

Vorgehen: Probe an Generatio

Erstellen DNA-Profil (STR-Marker)
Datenbankabgleich: keine Übereinstimmung
Suchalgorithmus ‚find parent‘

>> **putatives Muttertier gefunden / kein Treffer für Vattertier**

Absicherung durch zusätzliche Marker beim Nachkommen (Findling) und der gefundenen Mutter >> **Muttertier bestätigt**

Voraussetzung: die zur Mutter vorliegende Probe war durch andere Untersuchungen bereits bestätigt.

12

(III) Abstammungsbeurteilung – a) Ausschluss

Abgleich der DNA-Profile von Eltern und Nachkommen

	AHT121	AHT137	AHT130	AHT171	AHT260	AHTk211	AHTk253	Amel								
V	92	108	131	133	121	121	219	219	242	248	87	91	286	286	178	214
N	102	102	131	133	121	121	219	219	238	240	87	89	286	288	214	214
M	102	102	131	133	121	121	219	219	238	250	87	87	288	288	214	214

Befund: Das Profil des Nachkommen ist an 3 Markern nicht von den Profilen der Elterntiere ableitbar.
 2 Ausschlüsse beim Vater, **rot**
 1 ungerichteter Ausschluss, **gelb** (Vater oder Mutter)

Abzuklären: Stammen die untersuchten Proben von den angegebenen Tieren (Verwechslungen bei der Probenahme, im Labor müssen ausgeschlossen werden können, Nachbeprobung falls erforderlich)

13

(III) Abstammungsbeurteilung – b) Bestätigung

Abgleich der DNA-Profile von Eltern und Nachkommen

	AHT121	AHT137	AHT130	AHT171	AHT260	AHTk211	AHTk253	Amel								
V	92	102	131	133	121	121	219	219	240	240	89	91	286	286	178	214
N	102	102	131	133	121	121	219	219	238	240	87	89	286	288	214	214
M	102	102	131	133	121	121	219	219	238	250	87	87	288	288	214	214

Abzuklären: **H1:** das Profil des Nachkommen passt, weil die angegebenen Elterntiere die biologischen Elterntiere sind
H2: das Profil des Nachkommen ist durch Zufall in Übereinstimmung mit den Profilen der Tiere, die als Elterntiere angegeben worden sind.

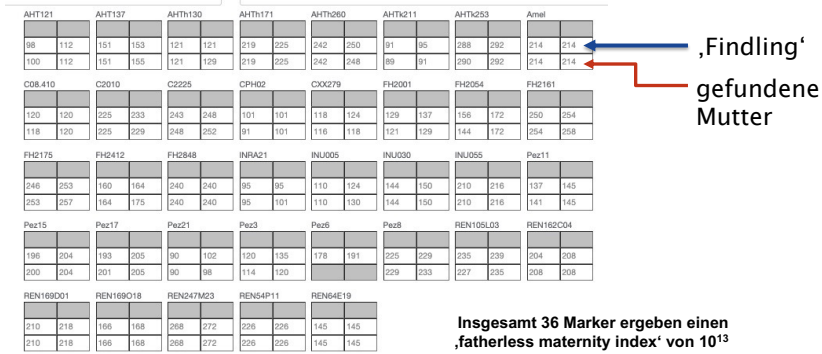
Statistische Berechnung: Ausgehend von den Allelfrequenzen erfolgt die Berechnung eines ‚cumulative Co-Parentage Index‘

14

(II) Abstammungsbeurteilung – c) nur 1 Elterntier

Abgleich der DNA-Profile von Nachkomme und 1 Elter

Siehe Folie 12: Findling ‚H‘ im Abgleich mit der gefundenen Mutter



15

(III) Genetische Vielfalt – SNP-Marker-Informationen

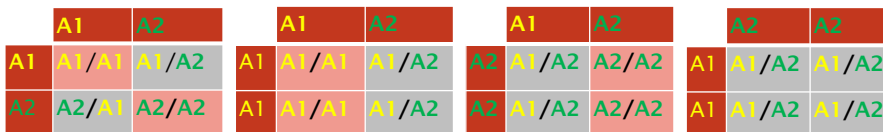
Ausmaß der Homozygotie (Reinerbigkeit)

Ansatz: Je mehr homozygote SNPs - desto geringer ist die Vielfalt

Empfehlung: Homozygotie reduzieren

Problem: Homozygotie ist bei di-allelischen Merkmalen unausweichlich.

SNPs haben nur 2 Allele, Individuen sind entweder:



16

(III) Genetische Vielfalt – **STR-Marker**-Informationen

Vielfalt und Verteilung der Allele als Maß

STR-Marker haben in der Population **multiple Allele** (Bsp.: **A1**, **A2**, **A3**, **A4**). Beim Individuum immer Kombinationen von 2 Allelen:

A1 | **A1** **A1** | **A2** **A2** | **A3** **A3** | **A4**
A2 | **A2** **A1** | **A3** **A2** | **A4**
A3 | **A3** **A1** | **A4**
A4 | **A4**

Abnahme der Vielfalt: „Anreicherung“ einzelner Allele in vielen Markern.

Ansatz: Paarungen so planen, dass ‚seltene Allele‘ weitergegeben werden.
Homozygotie an sich ist kein Nachteil, allein die Allelfrequenzen bedingen den ‚Vielfaltswert‘

17


DNA-Programm des DTK

Welpenerfassung – Zuchttiertypisierung – verbindliche Probennutzung

- **Welpenerfassung**
 - Zuchtwarte **bei der Wurfabnahme**, GOcard mit Blutstropfen
 - **Effekt:** Alle Welpen aus DTK-Zucht haben eine genetische Herkunftssicherung, da deren Elterntiere immer ein DNA-Profil Identität haben.
- **Zuchttiertypisierung und Abstammungsbeurteilung**
 - ID-Profil, Pflichttests, optionale Tests
 - Abstammungsbeurteilung ohne Kosten der Typisierung der Elterntiere (haben ihr ID-Profil aus der Zuchtzulassung)
- **Integration von Importieren**
 - Einsendung einer Probe + Erstellung ID-Profil

18

Korrekte Probenahme bei Anwendung der GOcard


 generatio 19

19

Integration der Züchter und Tierhalter

Nutzung der Archivproben

- **Zuchtzulassung**
 - Identität + Abstammungsbeurteilung
 - DNA-Tests (Pflichttests, optionale Tests)
- **Nutzerkonto** unter <https://atc.generatio.de>
 - Bitte nur 1 Konto betreiben
 - E-Mail-Adresse fungiert als ‚Ausweis‘
- **Empfehlung:** Zuerst einloggen/registrieren und dann das im Nutzerbereich verfügbare **Online-Formular** verwenden

 generatio 20

20

Tierakte/Probe nicht im Nutzerkonto

Zum Shop generatio
DE | EN
Mein Konto

Warenkorb

Meine Tierakte » 3

Meine Aufträge » 1

Community » 0

Zertifikate » 0

Herzlich Willkommen im ATC

Datum absteigend

Aufträge	Anlagedatum	Probennummer	Tiername
	01.02.2022		Tier 1
	02.03.2020		Tier 2
	02.03.2020		Tier 3

DNA-Tests bestellen

Archivprobe nutzen »

~~Mit Probeneinsendung »~~

Ziel: Zuchtzulassung
Check der Erbanlagen
• Tierakte anlegen bzw. übernehmen
• Probenregistrierung bzw. -aktivierung
• Durchführung der bestellten Tests
• ATC-Zertifikate
• Berechnung des Infollevel

Nur Probeneinsendung

Ziel: Tiererfassung für Zuchtvereine
Eigenes Probenarchiv
• Online-Tierakte mit Stammdaten, Bildern, Tagebuch übertragen
• Community-Funktionen (teilen, übertragen)
• Probenregistrierung
• Probenlagerung

Nur Probeneinsendung

Ziel: Tiererfassung für Zuchtvereine
Eigenes Probenarchiv
• Online-Tierakte mit Stammdaten, Bildern, Tagebuch übertragen
• Community-Funktionen (teilen, übertragen)
• Probenregistrierung
• Probenlagerung

Technische Möglichkeiten
21

21

Bitte nur diese Option, wenn Tierakte nicht im Nutzerkonto

Tierakte/Probe nicht im Nutzerkonto

Warenkorb

Meine Tierakte » 3

Meine Aufträge » 1

Community » 0

Zertifikate » 0

Archivprobe nutzen

DNA-Tests zu Tier im Account beauftragen

Für ein bereits angelegtes Tier können Sie DNA-Tests bequem direkt aus der Tierakte bestellen. Bitte öffnen Sie hierzu Ihre Tierakten und wählen Sie das gewünschte Tier aus.

Tierakten anzeigen »

Tierakte von Zuchtverein anfordern

Wenn Ihnen der Name und die Zuchtbuchnummer vorliegt, dass Tier aber noch nicht Ihrem Account zugeordnet ist, füllen Sie bitte den Antrag zur Übertragung der Tierakte aus.

Da in diesem Fall eine Probe des Tieres durch den Zuchtverein bereits eingereicht wurde, sparen Sie die Kosten und den Aufwand für eine neue Probeneinsendung und profitieren von den bereits vorliegenden Archivdaten.

Angaben zu Tier oder Probe

Bitte geben Sie alle Ihnen bekannten Informationen zu dem gesuchten Tier an, um uns die Suche im Archiv zu ermöglichen:

Tier(e):

Proben- oder Zuchtbuchnummer(n):

Untersuchungswünsche

Beschreibung:

Bitte beschreiben Sie mit eigenen Worten welche Untersuchung(en) wir durchführen sollen, z.B.: Test auf Braun-Träger oder E-Lokus. Falls etwas unklar ist, melden wir uns bei Ihnen.

Technische Möglichkeiten
22

22

11

Neu bei Generatio

Einloggen Zum Shop DE | EN

generatio Leistungen DNA-Programme **Anleitungen** Wissen FAQ News Über uns

Home » Anleitungen » **Nutzung von Archivproben**

Anleitungen

- Webshop Bestellungen
- Probenentnahme » Sie haben bereits ein Tier getestet und möchten weitere Tests durchführen lassen?
- Probenversand » In Ihrem Online Konto finden Sie unter *Meine Tierakte* ein Warenkorb-Symbol am Ende jeder Tierakte/Zeile. Mit einem Klick auf das Symbol werden Sie zum Abschnitt *DNA-Test bestellen* der Tierakte weitergeleitet. Wenn Sie im Menü auf der linken Seite auf *Allgemein* klicken, können Sie überprüfen, in welcher Tierakte Sie sich befinden. Möchten Sie den gleichen Test für verschiedene Tiere bestellen, müssen Sie den Vorgang für jedes Tier in der jeweiligen Tierakte wiederholen.
- Nutzung von Archivproben**
- Formulare

Nutzung von Archivproben

Eigene Archivproben nutzen

Anfrage zu Proben aus DNA-Programmen

In unseren DNA-Programmen können Zuchtvereine und Züchtergemeinschaften sich in Belangen der DNA-Diagnostik organisieren und dadurch langfristige und stabile Testabläufe etablieren. Dadurch kann es vorkommen, dass eine Probe Ihres Tieres bereits bei uns im Archiv ist, welche Sie für weitere Tests nutzen können.


In unserem Archiv befinden sich Proben zu Hunden folgender Vereine:

generatio Generatio kümmert sich um alles 23

23

Frage vorab: Begriffserläuterungen zum B-Locus

B-Lokus: Erbanlage für braune Fellfarbe

B/B  n TYRP1-Gen
n TYRP1-Gen

Autosomal-rezessiv: Wirkung tritt ein, wenn beide Gene defekt sind

3 Mutationen sind bekannt: bc, bd, bs

- ★ **b-c** (Exon 2) Cystein-Substitution
- ★ **b-d** (Exon 5) Prolin-Deletion
- ★ **b-s** (Exon 5) Stop-codon


generatio Ein in den Melanozyten aktives TYRP1-Gen ist Voraussetzung für die schwarze Fellfarbe 24

24

Begriffserläuterung B-Locus

Allele	Befund
b-c B	B/b
b-d B	B/b
b-s B	B/b
b-c b-d B	B/b2cd
b-c b-d	b/b

Beide Gene defekt


 Ein in den Melanozyten aktives TYPR1-Gen ist Voraussetzung für die schwarze Fellfarbe 25

25

Danke für Ihre Aufmerksamkeit

Generatio GmbH
Sitz der Gesellschaft: 69115 Heidelberg, Blumenstr. 49
Labor Tübingen : 72076 Tübingen, Paul-Ehrlich-Str. 23

- Kontinuierliche DNA-Programme für Zuchtvereine
 - Welpen- und Zuchttierfassung
 - Identitäts- und Abstammungsbeurteilungen
 - DNA-Tests zu Erbkrankheiten und Eigenschaften
- Individualdiagnostik
 - Einzeltests
 - Paneldiagnostik (Pferd)
 - NGS
- Wissenschaftliche Studien

 26

26