

DNA-Analysen zur Klärung der Abstammung und Identität Vaterschaft

Elisabeth Müller und Petra Kühnlein

In Kürze

Auch bei gezielt verpaarten Hündinnen können Zweifel an der Vaterschaft der Welpen entstehen, z.B. wenn eine zusätzliche Fehlbedeckung vermutet wird. In Extremfällen macht das vorsätzliche illegale "Unterschieben" von Welpen und deren Verkauf mit gefälschten Ahnentafeln durch unseriöse Züchter manchen Hundezuchtverbänden Probleme. Für Züchter und Zuchtverbände ist es deshalb von großem Interesse, die Abstammung exakt klären und Ahnentafeln effizient kontrollieren zu können. Bisher wurde bei unklarer Abstammung oder Zweifel an der Richtigkeit der Ahnentafel mit traditionellen Methoden der Blutgruppentypisierung gearbeitet. Analog zum Menschen ist seit kurzem auch für den Hund eine Abstammungs- und Identitätsbegutachtung mittels DNA-Analyse möglich. Gegenüber den blutgruppenserologischen Verfahren liefert die DNA-Analyse deutlich zuverlässigere Aussagen mit einer Sicherheit von größer als 99,9 %. Anhand eines Falls aus der Praxis soll diese neue Methode beschrieben werden.

Fallbeschreibung

Eine Eurasierhündin war nach der gezielten Verpaarung mit einem Deckrüden kurzzeitig entlaufen. Die Hündin wurde trächtig und warf 8 Welpen. Ein Welpe unterschied sich phänotypisch stark von seinen Geschwistern, so dass der Verdacht entstand, ein fremder Rüde könnte der Vater zumindest eines Welpen sein. Vor dem Eintrag der Welpen ins Zuchtbuch sollte die Abstammung der Welpen geklärt werden.

Für diese DNA-Analyse wurden Abstrich-

proben aus der Maulschleimhaut der Welpen, der Mutterhündin und des Deckrüden entnommen. Von jedem Welpen wurde ein individuelles DNA-Profil erstellt und mit

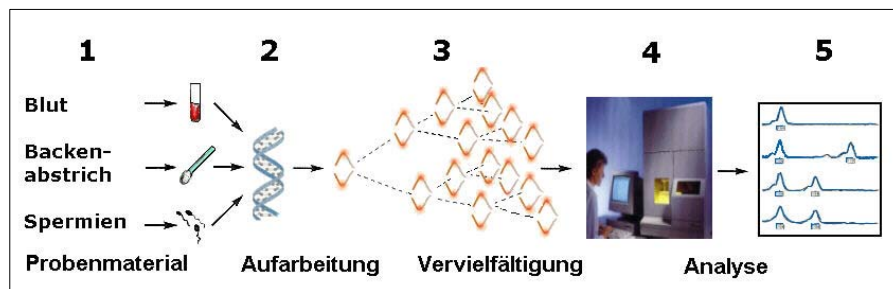


Abb.1: Methodik des DNA-Abstammungsnachweises



den DNA-Profilen der Mutterhündin und des Deckrüden verglichen. Mittels der DNA-Analyse konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass keiner der Welpen vom Deckrüden abstammt.

Wie wurde die Vaterschaft geklärt?

Der Abstammungsbegutachtung liegt die Erstellung von DNA-Profilen zugrunde, s. Abb.1.

Anfertigung der DNA-Profile: Identität des Tieres

Aus dem Probenmaterial, z.B. den Zellen der Maulschleimhaut, wird das Erbgut, die DNA, isoliert. DNA kann aus allen kernhaltigen Körperzellen isoliert werden, sehr gut geeignet ist beispielsweise auch EDTA-Blut. Mit Hilfe der PCR-Methode (Polymerase-Kettenreaktion) erfolgt eine gezielte Vervielfältigung von sogenannten Mikrosatelliten im Reagenzglas. Mikrosatelliten sind DNA-Abschnitte, die bei verschiedenen Individuen Längenunter-

schiede aufweisen. Diese Längenunterschiede können mit einem Analysegerät gemessen werden. Je nach Mikrosatelliten-System gibt es bis etwa 15 verschiedene Längenvarianten. Generell gilt: je mehr Mikrosatelliten-Systeme begutachtet werden, desto exakter und unverwechselbarer ist das DNA-Profil des Individuums. Die Erstellung eines solchen unverwechselbaren DNA-Profiles geht jeder Abstammungsbegutachtung voraus.

Für ein DNA-Profil werden mindestens acht solcher Mikrosatelliten-Systeme un-

tersucht und aus diesen Daten eine individuelle reproduzierbare Zahlenformel für jeden Hund erstellt.

Das DNA-Profil ist charakteristisch für jedes Individuum. Es unterscheidet sich auch bei Geschwistern.

Die Wahrscheinlichkeit einer zufälligen Übereinstimmung zweier nicht verwandter Tiere beträgt bei acht untersuchten Mikrosatelliten 1: 50 Millionen. Das DNA-Profil ist ein unveränderlicher genetischer Fingerabdruck, der die eindeutige Identifizierung eines Individuums ermöglicht.

Abstammungsbegutachtung: Ist der Vater der Vater?

Ziel des Abstammungsnachweises ist die Abklärung, ob die angegebenen Eltern eines Tieres aufgrund ihres DNA-Profiles tatsächlich als biologische Eltern in Frage

kommen.

Ein Nachkomme erbt 50% seines Erbguts von der Mutter und 50% vom Vater. Vorausgesetzt die Mutterschaft gilt als gesichert, so müssen grundsätzlich alle nicht-mütterlichen Anteile im DNA-Profil des Nachkommen vom Vater vererbt worden sein. Stimmt nur ein Anteil im DNA-Profil nicht überein, kann die Vaterschaft mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Analoges gilt im umgekehrten Fall für die Mutter.

Die Abbildung zeigt beispielhaft die Analyse von vier Mikrosatelliten-Systemen der Elterntiere und dreier Welpen. Die Mikrosatelliten sind als spitze Erhebungen (Peaks) zu erkennen. Ein Individuum hat pro Mikrosatelliten-System zwei Längenvarianten, wobei eine Längenvariante von der Mutter und eine vom Vater stammt. Dort wo nur eine Längenvariante sichtbar

ist, sind die Merkmale von Vater und Mutter identisch und überlagern sich deshalb, s. Abb. 2-5.

Während bei Mikrosatelliten-System D9 der Deckrüde noch als Vater in Frage kommt, sprechen die Ergebnisse der Systeme D3, D6 und D7 gegen eine Vaterschaft des Deckrüden. Bei System D6 beispielsweise müssen die Nachkommen 1 und 2 vom Vater die Längenvariante 289 erhalten haben, Nachkomme 3 die Längenvariante 273. Der Deckrüde weist aber weder Längenvariante 289 noch 273 auf.

Der Fall der Eurasier

Die nachfolgende Tabelle (s.S. 180, Abb. 6) zeigt die ermittelten DNA-Profile der Mutterhündin, des Deckrüden und von drei Nachkommen. Ein Mikrosatelliten-System besteht immer aus einer väterlichen und einer mütterlichen Längenvariante. Ein

Nachkomme muss eine der mütterlichen und eine der väterlichen Längenvarianten eines bestimmten Mikrosatelliten-Systems haben.

Hat er abweichende Längenvarianten muss er als Nachkomme des Vaters oder der Mutter ausgeschlossen werden (orangeunterlegte Flächen in Abb. 6).

Im Falle der drei Eurasierwelpen wurden bei jeweils sechs der neun untersuchten Mikrosatelliten-Systeme vom Deckrüden abweichende Längenvarianten gefunden. So können beispielsweise beim Mikrosatelliten-System D3 die Längenvarianten 108 und 112 der Welpen nicht vom Deckrüden stammen. Die Abstammung der Nachkommen vom Deckrüden konnte so ausgeschlossen werden.

Abb. 2-5: Mikrosatelliten-Systeme zur Abstammungsbegutachtung

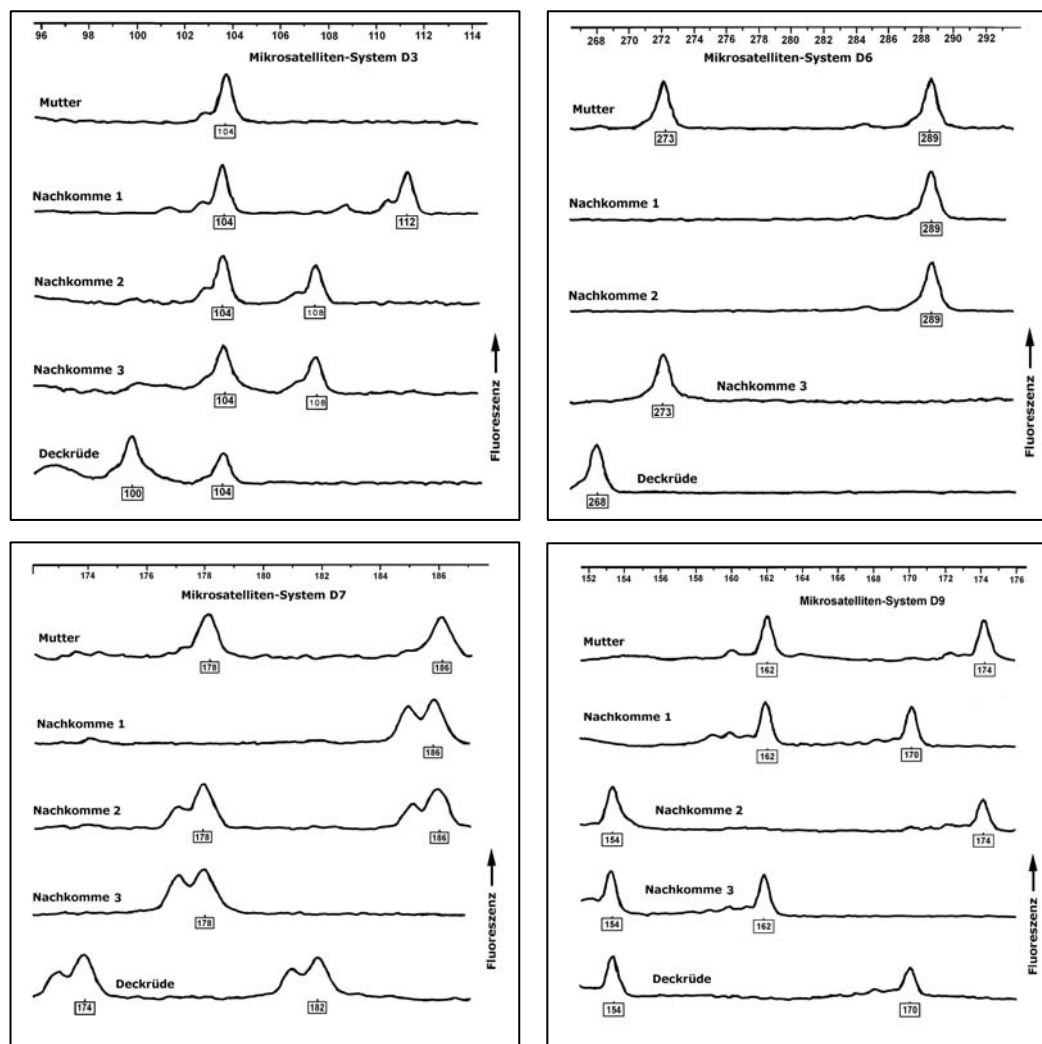


Abb. 6: Ermittelte DNA-Profile

Mikrosatelliten System	D1	D2	D3	D6	D7	D8	D9	D12	D13
Untersuchtes Tier									
Mutterhündin	109;113	117;123	104;104	273;289	178;186	230;234	162;174	137;150	167;167
Welpen 1	109;113	123;123	104;112	289;289	186;186	226;230	162;170	137;150	167;212
Welpen 2	109;113	123;132	104;108	289;289	178;186	230;234	154;174	137;137	167;212
Welpen 3	109;113	123;132	104;108	273;273	178;178	230;234	154;162	150;150	167;208
Deckrüde	109;109	123;123	100;104	268;268	174;182	230;234	154;170	147;147	224;267

wertvoller Zuchtkatzen. Von jeder Katze wird dazu ein individuelles und fälschungssicheres DNA-Profil angefertigt, das über die gesamte Lebenszeit des Tieres erhalten bleibt und sich auch nach dem Tod des Tieres aus den verschiedenen Geweben nachweisen lässt.

Was wird für die Untersuchung benötigt?

Generell ist jedes Körpermaterial geeignet, das DNA enthält. Üblicherweise wird für die Erstellung des DNA-Profiles eine EDTA-Blutprobe (ca. 0,5 ml) oder ein Abstrich aus der Mundschleimhaut verwendet. Ein Abstammungsgutachten ist ein Vergleich des genetischen Codes vom Nachkomme und möglichen Eltern. Probenmaterial muss daher sowohl von den zu begutachtenden Welpen als auch von Vater und Mutter eingeschickt werden.

Bei welchen Hunderassen funktioniert der Test?

Prinzipiell ist dieses Verfahren für jede Hunderasse, bei der eine ausreichende Anzahl definierter polymorpher Mikrosatelliten zur Verfügung steht, die Methode der Wahl, wenn es um Fragestellungen ihrer Herkunft geht.

Da die Aussagekraft dieses Verfahrens wesentlich von der Häufigkeit der untersuchten Merkmale, also der Längenvarianten, innerhalb der Population beeinflusst wird, müssen die Häufigkeiten aus einer repräsentativen Studie berechnet werden.

Das Mikrosatelliten-Verfahren wird inzwischen routinemäßig angewandt bei den folgenden Rassen: Dackel, West Highland White Terrier und Parson Jack Russel Terrier, Eurasier und Deutsche Schäferhunde. Die Liste der Hunderassen, bei denen eine Abstammungsuntersuchung notwendig ist, wird ständig erweitert. Eine Ausschlussdiagnostik in Bezug auf die Vaterschaft ist bei allen Hunderassen möglich.

wenn Probenmaterial von den Welpen, der Mutter und beiden Vätern vorliegt.

DNA-Profil zur Abstammungs- und Identitätsbegutachtung bei Katzen

Nach den Tests für Hunde, Pferde und Rinder ist jetzt auch für die Katzen eine DNA-Abstammungs- und Identitätsbegutachtung möglich. Diese Methode bietet größtmögliche Sicherheit über die Abstammung

Es kann geklärt werden, ob Vater oder Mutter eines Katzenwelpen auch als tatsächliche biologische Eltern in Frage kommen.

Anschrift der Autorinnen:

Dr. Elisabeth Müller

Dr. Petra Kühnlein

Steubenstrasse 4, D - 97688 Bad Kissingen

<http://www.Laboklin.de>

E-Mail: Info@laboklin.de