

Einfluss des *Major*
Histocompatibility-Complex (MHC) auf die
Nematodenanfälligkeit beim Schaf

Petra Feichtlbauer-Huber

Lehrstuhl für Tierzucht
der Technischen Universität München-Weihenstephan

**Einfluss des *Major Histocompatibility-Complex (MHC)* auf die
Nematodenanfälligkeit beim Schaf**

Petra Feichtlbauer-Huber

Vollständiger Abdruck der von der
Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und
Umwelt der Technischen Universität München
zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr.med.vet., Dr.med.vet.habil. J. Bauer
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr.sc.techn.ETH, Dr.agr.habil. H-R. Fries
2. Univ.-Prof. Dr.sc.agr., Dr.agr.habil. L. Dempfle

Die Dissertation wurde am 17.01.2002 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für
Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 11.03.2002 angenommen.

„Jedem, der seine Gedanken niederlegt, blickt schon im Augenblick des Schreibens ein Größerer über die Schulter, sei es ein Vergangener, Lebendiger oder noch Ungeborener. Wohl dem, der diesen Blick fühlt: er wird sich nie wichtiger nehmen, als ein geistiger Mensch sich nehmen darf.“

C. Morgenstern

Für Hans, Franz und Max
Für meine Eltern und Schwiegereltern

Danksagung

Herrn Prof. Dr. R. Fries danke ich für die Unterstützung, die Freiheit bei der Arbeit am Lehrstuhl für Tierzucht und das entgegengebrachte Verständnis.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. L. Dempfle für die Betreuung bei der statistischen Auswertung und wertvolle Lehre. Vor allem sein tatkräftiges Engagement war für das Gelingen dieser Dissertation ausschlaggebend.

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. Johannes Buitkamp für die zur Verfügungstellung von Typisierungsdaten der Scottish Blackface Schafe, seine stete Diskussionsbereitschaft und seine zahlreichen Erläuterungen.

Herrn Dr. Georg Thaller danke ich herzlich für die gewährte Unterstützung, für die fachlichen Anregungen und für den persönlichen Einsatz.

Allen jetzigen und ehemaligen Mitarbeitern und Kollegen des Lehrstuhls für Tierzucht, die mir mit Rat und Tat in fachlichen, technischen und administrativen Belangen zur Seite standen, sei für die angenehme Zeit gedankt. Insbesondere danke ich Frau Sonja Kollers, Frau Dr. Dagmar Ewald, Herrn Dr. André Thaler und Frau Sabine Wiedemann.

Herrn Prof. Dr. M. Stear, Faculty of Veterinary Medicine, University of Glasgow, danke ich für die genomische DNA der Scottish Blackface Schafe und die herzliche Unterbringung während der Arbeiten in Schottland.

Herrn Dr. W. Schwaiger sei für die zur Verfügungstellung von Typisierungsdaten der Scottish Blackface Schafe gedankt.

Für das Durchlesen der Arbeit nach Rechtschreibfehlern möchte ich meinem Bruder Jörg danken.

Einschliessen in meinen Dank möchte ich meinen Mann Hans, der mir in allen Hochs und Tiefs eine Stütze war. Natürlich möchte ich auch meine Eltern und Schwiegereltern erwähnen, die mir oft Mut und neue Kraft schenkten.

Diese Arbeit wurde dankenswerter Weise von der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Bedeutung der Zucht auf Resistenz gegen gastrointestinale Nematoden beim Schaf	1
1.2	Entwicklungszyklus und Pathogenese von <i>O. circumcincta</i>	1
1.2.1	Entwicklungszyklus von <i>O. circumcincta</i>	2
1.2.2	Klinische Symptome und Pathogenese bei Infektionen mit <i>O. circumcincta</i>	3
1.3	Anfälligkeit—Resistenz	4
1.4	Genetisch bedingte Variation der Resistenz gegen Magendarm-Nematoden	5
1.5	Das Merkmal „Eizahl im Kot“ als ein Maß der Resistenz gegen Nematodeninfektionen	7
1.6	Der Major Histocompatibility Complex (MHC)	8
1.6.1	Struktur der MHC-Moleküle	9
1.6.2	Genetische Organisation des <i>MHC</i> -Komplexes	10
1.6.3	Diversität der <i>MHC</i> -Gene und Resistenz gegen Parasiten	13
1.7	Studien zum Einfluss des <i>MHC</i> auf die Nematodenresistenz beim Schaf . .	15
1.8	Typisierung der Polymorphismen im Exon 2 oviner <i>DRB1</i> -Allele mit Hilfe eines angrenzenden Mikrosatelliten	17
1.9	„Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA) zur Typisierung von <i>MHC</i> -Allelen	18
1.10	Mikrosatelliten-Marker	20
1.11	Ziele der Arbeit	21
2	Tiere und Material	22
2.1	Schafhaltung	22
2.2	Datenmaterial	22
2.2.1	Datenerfassung und Datenbeschreibung	23
2.2.2	Bereinigte Daten für die Assoziationsanalyse	26
2.3	Gebrauchsmaterial	26

2.3.1	Geräte	26
2.3.2	Verbrauchsmaterial	27
2.3.3	Chemikalien, Enzyme und Reagenzien	28
2.3.4	Lösungen	30
2.3.5	Primer	32
2.4	Computersoftware zur Datenauswertung	33
3	Methoden	34
3.1	Erhebung phänotypischer Daten	34
3.2	Erhebung genotypischer Daten	34
3.2.1	Konzentrationsmessung von Nukleinsäuren	34
3.2.2	Agarose-Gelelektrophorese	34
3.2.3	Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	35
3.2.4	Sequenzierung mit Hilfe des ABI PRISM [®] 377 Sequencers	37
3.2.5	Mikrosatellitentypisierung mit Hilfe des ABI PRISM [®] 377 Sequencers	39
3.2.6	„Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA) mit Hilfe des ABI PRISM [®] 377 Sequencers (verändert nach Argüello et al. 1998)	40
3.2.7	Sequenzspezifische Oligohybridisierung (SSO)	41
3.2.8	Klonierung von PCR-Produkten mit „überstehenden“ Enden	44
3.3	Statistische Methoden	45
3.3.1	Charakterisierung der typisierten Mikrosatelliten-Loci	45
3.3.2	Assoziationsanalyse zur Resistenz gegen <i>O. circumcincta</i>	46
4	Ergebnisse	52
4.1	Markertypisierung	52
4.1.1	Polymorphismen der <i>DRB1</i> -Allele bei Tieren aus den Jahrgängen 1993 und 1996	52
4.1.2	Charakterisierung der typisierten Mikrosatelliten-Loci bei Tieren aus dem Jahrgang 1996	56
4.2	Assoziationsanalyse zwischen genetischen Markern und der Resistenz (ge- messen an der Höhe der Eizahl im Kot) gegen <i>O. circumcincta</i>	60

4.2.1	Assoziationsanalyse zwischen Allelen des <i>DRB1</i> -Locus und der Resistenz gegen <i>O. circumcincta</i>	61
4.2.2	Assoziationsanalyse zwischen Allelen des Mikrosatelliten DYMS1 und der Resistenz gegen <i>O. circumcincta</i>	77
4.2.3	Assoziationsanalyse zwischen Allelen des Mikrosatelliten OMHC1 und der Resistenz gegen <i>O. circumcincta</i>	82
4.2.4	Assoziationsanalyse zwischen Allelen der Mikrosatelliten BM1815, CSRD226, BM1905 und der Resistenz gegen <i>O. circumcincta</i>	86
4.3	Sequenzierung oviner <i>DQB</i> -Allele und Etablierung der „Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA) zur Typisierung von <i>DQB</i> -Allelen	88
4.3.1	Klonierung und Sequenzierung des zweiten Exons oviner <i>DQB</i> -Allele	88
4.3.2	Typisierung oviner <i>DQB</i> -Allele mittels der „Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA)	93
5	Diskussion	104
5.1	Charakterisierung der typisierten Marker	104
5.2	Assoziationsanalysen zwischen Allelen verschiedener Marker und der Resistenz gegen <i>O. circumcincta</i>	106
5.2.1	Analyse des Jahrgangs 1993 und 1996 am <i>DRB1</i> -Locus mit dem Modell 1 (Regressionsmodell)	107
5.2.2	Analyse des vereinigten Datensatzes der Jahrgänge 1993 und 1996 am <i>DRB1</i> -Locus mit dem Modell 1 (Regressionsmodell)	107
5.2.3	Analyse des vereinigten Datensatzes der Jahrgänge 1993 und 1996 am <i>DRB1</i> -Locus mit dem Modell 2, mit direkter Berücksichtigung der Genotypen	109
5.2.4	Eignung der verwendeten Modelle bei verschiedenen Erbgängen (intermediäre Vererbung, Dominanz, Überdominanz)	110
5.2.5	Analyse von weiteren auf Chromosom 20 lokalisierten Mikrosatelliten mit den Modellen 1 und 2	114
5.2.6	Schlussfolgerungen zur Assoziationsanalyse am <i>DRB1</i> -Locus	115

5.3	Sequenzierung und Typisierung des zweiten Exons oviner <i>DQB</i> -Allele mittels der RSCA	117
5.3.1	Sequenzierung des zweiten Exons oviner <i>DQB</i> -Allele	117
5.3.2	Eignung der RSCA zur Typisierung des zweiten Exons oviner <i>DQB</i> -Allele	118
5.3.3	Vergleich der ABI PRISM [®] 377 Sequencer unterstützten RSCA zu anderen Typisierungsmethoden	120
6	Zusammenfassung	122
A	Anhang	140

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ABI	Applied Biosystems
AS	Aminosäure
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
BoLA	„Bovine Leucocyte Antigen“
bp	Basenpaare
BTA	Bos taurus
B-Zelle	Plasmazelle der B-Reihe
CD	„Cluster of differentiation“
Ci	Curie
cM	Centimorgan
cm	Zentimeter
cpm	gemessene Zerfälle pro Minute
dATP	2'-Desoxyadenosin-5'-triphosphat
dCTP	2'-Desoxycytosin-5'-triphosphat
dGTP	2'-Desoxyguanosin-5'-triphosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSCP	„Double strand conformation analysis“
dTTP	2'-Desoxythymidin-5'-triphosphat
E. coli	Escherichia Coli
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EMBL	„European Molecular Biology Laboratory“
epg	„egg counts per gram“
EtOH	Ethanol
F	Faraday
fec	„faecal egg count“
FG	Freiheitsgrad
FISH	Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung
g	Gramm

GLM	„General Linear Models“
h	Stunde
HLA	„Human Leucocyte Antigen“
HSA	Homo sapiens
HSP	„Heat Shock“-Protein
HVR	hypervariable Region
IFN	Interferon
Il	Interleukin
ISAG	„International Society for Animal Genetics“
kb	Kilobasenpaare
kD	Kilodalton
LB	Luria Bertani Medium
m	milli (10^{-3})
M	mol/l
MHC	„Major Histocompatibility Complex“
min	Minute
Mio.	Millionen
MOPS	3-[N-Morpholin]propansulfonsäure
MQ	Mittelquadrate
MQR	Mittelquadrate des Rests
μ	mikro (10^{-6})
n	nano (10^{-9})
OAR	Ovis aries
OD	optische Dichte
OLA	„Ovine Leucocyte Antigen“
Ω	Ohm
p	pico (10^{-12})
PAA	Polyacrylamid
PBR	Proteinbindestelle
PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion
PIC	„Polymorphism information content“

PNK	Polynukleotidkinase
QTL	„Quantitative Trait Locus“
R^2	Bestimmtheitsmaß
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
RNase	Ribonuklease
rpm	„rotations per minute“
RSCA	„Reference strand mediated conformation analysis“
RT	Raumtemperatur
SAS	Statistical analysis system
SD	Standardabweichung
SDS	Natriumdodecylsulfat
sec	Sekunde
SNP	„Single nucleotide polymorphism“
SOC	Bakterienkulturmedium SOC
SQ	Summenquadrate
SSC	Natriumchlorid-Natriumcitrat-Puffer
SSO	Sequenzspezifische Oligohybridisierung
SSCP	„Single strand conformation polymorphism analysis“
Tab.	Tabelle
TBE	Tris-Borat-EDTA-Puffer
TE	Tris-EDTA-Puffer
Th	T-Helferzelle
TNF	Tumor Nekrose Faktor
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-amino-methan
U	Internationale Enzymeinheit
UNE	„Univeristy of New England“
V/cm	Volt pro cm
W	Watt
\bar{y}	Arithmetisches Mittel der logarithmierten Eizahl im Oktober
°C	Grad Celsius

1 Einleitung

1.1 Bedeutung der Zucht auf Resistenz gegen gastrointestinale Nematoden beim Schaf

Infektionen mit Magendarm-Parasiten sind ein großes Problem für die Haltung von Wiederkäuern. Allein die Verluste durch Trichostrongyriden werden in der amerikanischen Schafproduktion jährlich auf US\$ 20 Mio. geschätzt (Parasites and Parasitological Resources, URL-a).

Strategien zur Kontrolle der Nematodeninfektionen basieren derzeit vor allem auf einer Kombination eines gezielten Weidemanagements und dem regelmässigen Einsatz von Anthelmintika. Neben dem hohen Kostenaufwand ist die Anwendung von Anthelmintika aufgrund von Rückstandsproblemen auf der Weide, der Akkumulation von Derivaten im Fleisch, und der Resistenzentwicklung der Parasiten kritisch zu beurteilen (Jackson 1993). Daher gewinnen alternative Kontrollstrategien wie zum Beispiel die selektive Zucht auf Resistenz verstärkt an Bedeutung (Raadsma et al. 1998).

Die Variabilität der Anfälligkeit für Nematodeninfektionen wird von genetischen Faktoren und umweltbedingten Effekten beeinflusst. Der Anteil der genetisch bedingten Variation (Heritabilität) liegt zwischen 0,11 und 0,55 (Bishop et al. 1996, Raadsma et al. 1997, Baker 1999). Die unterschiedliche Nematodenanfälligkeit einzelner Tiere oder Zuchtlinien beruht auf Resistenzmechanismen der angeborenen und erworbenen Immunität. Da *MHC*-Gene bei der spezifischen Immunantwort eine wichtige Rolle spielen, werden diese als Kandidatengene betrachtet und sind Gegenstand mehrerer Studien (Blattman et al. 1993, Schwaiger et al. 1995, Paterson et al. 1998).

Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, ob *MHC*-Gene die Resistenz gegen *Ostertagia circumcincta* beim Scottish Blackface Schaf beeinflussen.

1.2 Entwicklungszyklus und Pathogenese von *O. circumcincta*

O. circumcincta (neuere Form: *Teladorsagia circumcincta*) ist eine ungefähr 10 mm große, rötlich gefärbte, gastrointestinale Nematodenart (Familie Trichostrongylidae, Unterstamm Nematoda), die den Labmagen von Wiederkäuern parasitiert. Sie spielt besonders in

gemäßigten Klimazonen eine vorherrschende Rolle (Reid und Armour 1975). Aufgrund der wirtschaftlichen Bedeutung ist *O. circumcincta* eine der am besten erforschten Arten.

1.2.1 Entwicklungszyklus von *O. circumcincta*

In den Arbeiten von Armour (1970) und Urquhart et al. (1987) wird der Entwicklungszyklus von *O. circumcincta* ausführlich dargestellt. Informationen dazu können im Internet abgerufen werden (Parasitology 4001, The Trichostrongyloidea, URL-b).

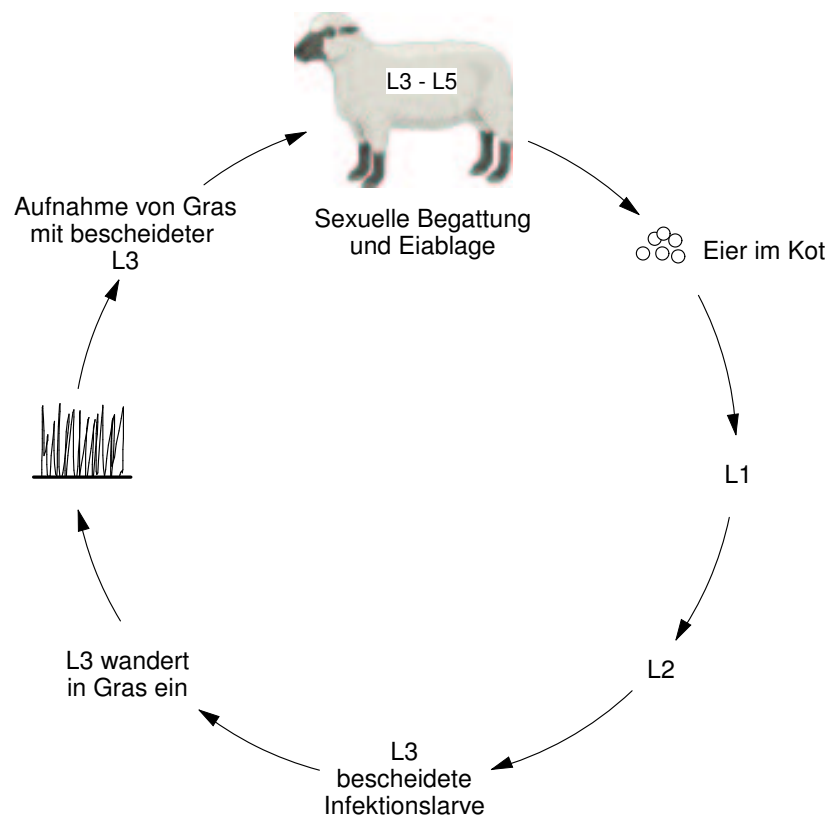


Abb. 1-1: Entwicklungszyklus von *O. circumcincta*

Trichostrongyliden sind Endoparasiten, die einen direkten, exogenen Entwicklungszyklus durchlaufen (Abb. 1-1). Die Wurmeier werden mit dem Kot auf der Weide abgesetzt. Innerhalb von zwei bis drei Wochen entwickelt sich über das erste und zweite Larvenstadium (L1 und L2) die bescheidete Infektionslarve (L3), die noch die Haut der L2 trägt. Bei ausreichender Feuchtigkeit wandert die bescheidete Infektionslarve (L3) aus dem Kot in das Gras (Rossanigo und Gruner 1995), wird von den Weidetieren über die Nahrung aufgenommen und gelangt in den Pansen. Dort induzieren wirtsspezifische Fak-

toren (z. B. Temperatur, pH-Wert) die Häutung der L3 (Abwerfen der Haut der L2), indem Leucin-aminopeptidasen und alkalische Phosphatasen sekretiert werden (Mallet und Lesage 1987). Erst nach dieser Häutung ist die Larve infektiösfähig. Die infektiöse L3 wandert in das Abomasum und dringt in die Labmagendrüsen ein. Nach drei Tagen häutet sie sich zur L4 und entwickelt sich durch eine weitere Häutung zur präadulten Larve (L5). Innerhalb von 16–18 Tagen erreichen die Larven die Geschlechtsreife. Die obligat sexuelle Begattung der Nematoden und die Eiablage findet in der Mukosa des Labmagens statt. Die prepatente Phase („prepatent period“, Zeitpunkt der Infektion durch die L3 bis zum Erscheinen neuer Eier im Kot) dauert bei optimalen Umweltbedingungen zwei Wochen.

Eine wichtige Überlebensstrategie der Parasiten in gemäßigten Klimazonen ist der Übergang der Larven in Ruhestadien, wie zum Beispiel die Überwinterung der L3 im Feld und die Hypobiose der L4 (Armour 1970, McKellar 1993). Beeinflusst wird dies sowohl durch klimatische Bedingungen als auch durch die Kondition des Wirts (z. B. Ernährungszustand, Immunabwehr, Höhe der Wurmlast und Reproduktionsphase) (Dunsmore 1960, Reid und Armour 1975, Coop et al. 1990, Barger 1993, Jorgensen et al. 1998). Desweiteren spielt die genetisch bedingte, unterschiedliche Fähigkeit verschiedener *O. circumcincta*-Stämme Ruhestadien einzulegen eine wichtige Rolle (Connan 1969).

1.2.2 Klinische Symptome und Pathogenese bei Infektionen mit

O. circumcincta

Die klinischen Symptome und die mit der Infektion einhergehenden biochemischen sowie serologischen und hämatologischen Veränderungen werden von Jennings et al. (1966), Armour (1970), Entrocasso et al. (1986), Fox (1993, 1997) sowie Johnstone und Murray (1996, URL - c) eingehend beschrieben.

Infektionen mit gastrointestinalen Nematoden äußern sich durch Appetitverlust, Diarrhö sowie durch eine Beeinträchtigung der Verdauung mit Veränderungen im Protein-, Energie- und Mineralstoffmetabolismus. Gleichzeitig treten Veränderungen im Wasserhaushalt auf, welche sich durch eine reduzierte Gewichtszunahme oder Gewichtsverlust negativ auf Körperkonstitution und Schlachtgewicht auswirken (Fox 1993).

Mit der Entwicklung von *O. circumcincta* in den Labmagendrüsen sind erhebliche pathophysiologische Prozesse verbunden, die eine Veränderung in der Struktur und der Funk-

tion der Magendrüsen bedingen. Durch das Parasitieren der Larven in den Magendrüsen kommt es lokal und im weiteren Umkreis zur Erosion der salzsureproduzierenden Belegzellen und der pepsinogenproduzierenden Hauptzellen. Mit fortschreitender Entwicklung der Larven wird das differenzierte Epithel durch ein unreifes nichtsekretierendes ersetzt. Dies führt zu einem drastischen Anstieg des pH-Werts in der Magenflssigkeit (Murray et al. 1970, McKellar 1993), der die Etablierung weiterer intestinaler Nematodenarten hemmt (Coop et al. 1988). Gleichzeitig steigt die Pepsinogen- und die Gastrinkonzentration im Blut. Die Ursachen dafür sind komplexer Natur (Murray et al. 1970).

Die Diagnose von Ostertagia wird mit Hilfe der Kriterien klinische Symptome, Jahreszeit, Eizahl im Kot, Pepsinogen- und Gastrinkonzentration sowie Antikörper titer im Blut und Ermittlung der Anzahl der adulten Nematoden im Labmagen erstellt (Armour 1970, Vercruyse und Hilderson 1993).

1.3 Anfälligkeit—Resistenz

Ein Individuum ist anfällig (suszeptibel), wenn es die vom Pathogen benötigte physiologische Lebensgrundlage bietet. Im Gegensatz dazu ist ein Individuum resistent, wenn es in der Lage ist, Befall und Besiedelung durch einen Pathogen oder die Einwirkung von schädigenden Faktoren zu verhindern oder zu begrenzen. Die Anfälligkeit und Widerstandsfähigkeit haben eine genetische Grundlage. Beide sind jedoch bei gleichbleibender genetischer Konstitution in bestimmtem Umfang veränderbar.

Bei Infektionen mit gastrointestinalen Nematoden werden Tiere mit geringer Wurmlast als resistent bezeichnet (Raadsma et al. 1998). Dabei kann die Resistenz des Wirts nach Gruner (1991) durch verschiedene, genetisch determinierte Mechanismen ausgelöst werden:

- Hemmung der Etablierung der Infektionslarven;
- Hemmung der vollständigen Entwicklung der Larven;
- Kontrolle der Infektion durch die verstärkte Eliminierung der adulten Wrmer und Hemmung der Wurmfruchtbarkeit.

1.4 Genetisch bedingte Variation der Resistenz gegen Magendarm-Nematoden

Zur Identifikation der Gene, die zur Resistenz gegen Magendarm-Nematoden beitragen, werden vor allem Mausmodelle (*Trichinella spiralis* (Wassom et al. 1984), *Trichuris muris* (Else und Wakelin 1988), *Heligmosomoides polygyrus* (Behnke und Wahid 1991)) herangezogen. Im Rahmen dieser Studien konnte mit Hilfe von *MHC*-congenen Mäusestämmen gezeigt werden, dass *MHC*-Gene maßgeblich zur Resistenz beitragen. Erst durch die effektive Präsentation von parasitären Antigenen durch *MHC*-Moleküle an die T-Zellen, kann eine adäquate adaptive Immunreaktion gegen Parasiten ausgelöst werden (Abb. 1-2, Wakelin und Blackwell 1988). Allerdings gelang es bis jetzt nur in wenigen Studien, bei denen der Wirt einem natürlichen Infektionsrisiko ausgesetzt war, den Einfluss spezieller *MHC*-Gene auf die Resistenz gegen bestimmte Parasiten nachzuweisen (z. B. Marek Krankheit beim Huhn (Briles et al. 1977), Malaria (Hill et al. 1991)).

Die unterschiedliche Resistenz gegen gastrointestinale Nematoden wird neben der Variation der *MHC*-Gene vor allem durch die Variation der Gene, welche die Mechanismen der adaptiven Immunantwort regulieren, bedingt. Aus diesem Grund ist es unerlässlich das komplexe Zusammenspiel der verschiedenen Mechanismen der erworbenen Immunität (T-Zellreaktion, Effektormechanismen), die vor gastrointestinalen Nematoden schützt, zu klären. Die Abbildung 1-2 zeigt eine schematische Darstellung der erworbenen Immunantwort von der Präsentation parasitärer Antigene durch *MHC*-Moleküle bis zur Bildung der Effektormechanismen nach einer Infektion mit intestinalen Nematoden.

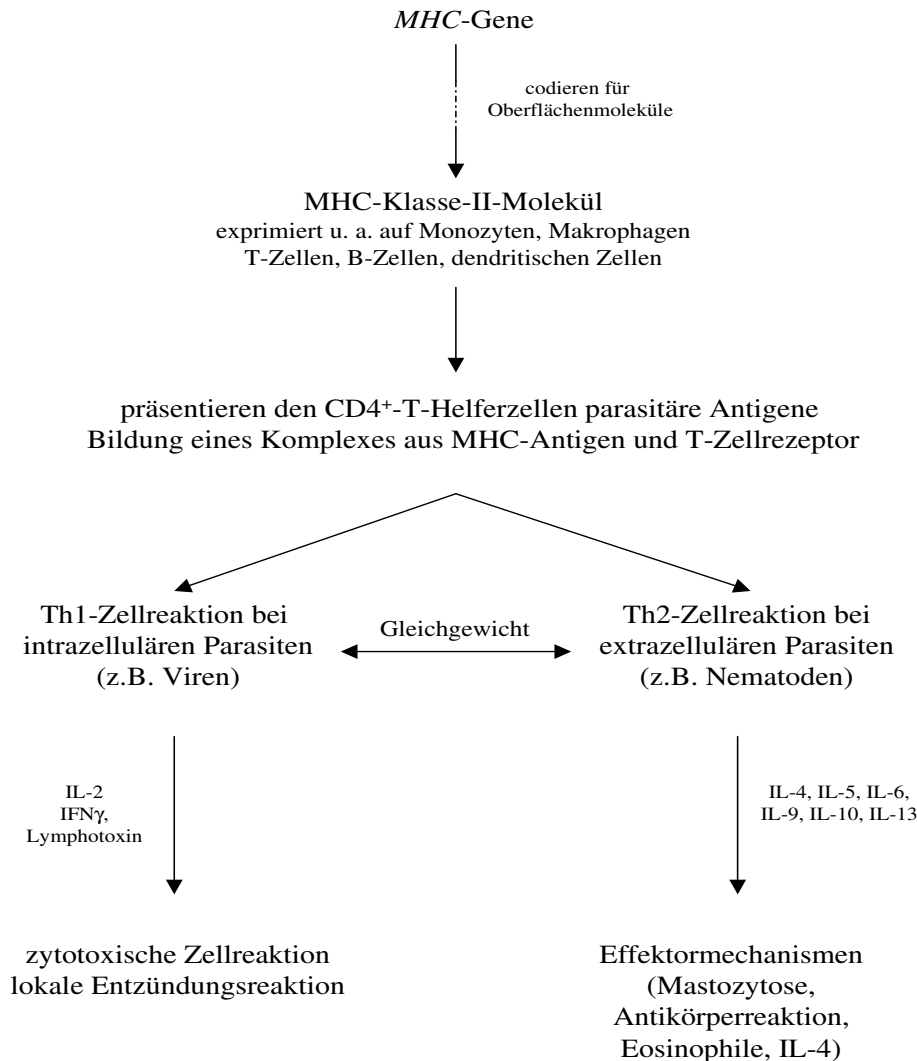


Abb. 1-2: Schema der erworbenen Immunantwort nach einer Infektion mit intestinalen Nematoden bei der Maus. *MHC*-Gene codieren für glykosylierte Oberflächenmoleküle der Klasse-I und -II. MHC-Klasse-II-Moleküle binden Peptide extrazellulärer Parasiten (z. B. gastrointestinale Nematoden) und präsentieren sie an der Zelloberfläche von Immunzellen den T-Zellen (Braciale 1992, Stern et al. 1994). Diese können nach ihrer Stimulation eine Immunantwort einleiten (Zinkernagel und Doherty 1974). Aus naiven $CD4^+$ -T-Helferzellen entwickeln sich entweder T-Helferzellen vom Typ 1 (Th1), die meist gegen intrazelluläre oder vom Typ 2 (Th2), die meist gegen extrazelluläre Parasiten (z. B. gastrointestinale Nematoden) gerichtet sind. Die Th2-Zellantwort ist durch die Sekretion von IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 und IL-13 gekennzeichnet. Die Polarisierung in Richtung Th2-Zellantwort wird vor allem durch die Affinität, mit der parasitäre Antigene an MHC-Moleküle binden und durch IL-4, das von naiven $CD4^+$ -T-Helferzellen produziert wird, bestimmt. IL-4 beeinflusst die Bildung der Th2-abhängigen Zytokine. Diese fördern die Mastozytose, die Bildung von Eosinophilen und die Antikörper-Produktion durch B-Zellen (Reiner und Locksley 1995, Urban et al. 1996). Für eine wirksame Immunreaktion ist das Gleichgewicht zwischen der Th1- und Th2-Antwort von zentraler Bedeutung. Zytokine wie zum Beispiel IL-4, IL-10 und $IFN\gamma$ können eine bereits etablierte Th1- oder Th2-Antwort wieder aufheben und revertieren (Grencis 1993, Else et al. 1994, Mosmann und Sad 1996, Else und Finkelman 1998).

1.5 Das Merkmal „Eizahl im Kot“ als ein Maß der Resistenz gegen Nematodeninfektionen

Die Häufigkeitsverteilung der Nematodeneizahl in einer bestimmten Schafpopulation ist durch eine stark positive Schiefe charakterisiert (Donald 1968). Diese entspricht der Wurmlastverteilung einer Population, da bei Nematodeninfektionen in der Regel eine geringe Anzahl an Individuen eine hohe Wurmlast trägt, während der Großteil der Population mit einer geringen Wurmzahl belastet ist (Schad und Anderson 1985, Anderson und May 1985). Wie auch Langzeitselektionen mit *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* und *Ostertagia spp.* infizierten Herden zeigten, ist die Eizahl im Kot stark mit der Wurmlast korreliert. Es wurden Korrelationskoeffizienten zwischen 0,58 und 0,89 ermittelt (Le Jambre et al. 1971, Roberts und Swan 1981). Durch Selektion war es möglich, die Eizahl gezielt zu erhöhen oder zu erniedrigen (Raadsma et al. 1997). Die Eizahl wird als ein Maß für die Resistenz eingesetzt und findet bei zahlreichen Zuchtprogrammen sowohl in Australien als auch in Neuseeland Anwendung (Albers et al. 1987, Anon 1994, McEwan et al. 1995).

Die Variation der Eizahl zwischen Individuen einer Population aus Scottish Blackface Lämmern, die einem natürlichem Infektionsrisiko mit *O. circumcincta* ausgesetzt waren, basiert neben Effekten bedingt durch Vater, Geschlecht, Zwillings- oder Einlingsgeburt, Ernährungszustand und Witterung vor allem auf genetischen und maternalen Faktoren sowie auf Messfehlern bei der Bestimmung der Eizahl (Bishop et al. 1996, Stear et al. 1997).

Wie aus der Tabelle 1-1 hervorgeht kann bei vier bis acht Wochen alten Lämmern keine, durch die erworbene Immunität bedingte, genetische Variation der Eizahl ermittelt werden. Bei diesen Lämmern geht die Heritabilität gegen Null. Die mit dem Alter steigende Heritabilität ist ein Indiz dafür, dass eine genetische Variation nur für die Resistenz durch eine erworbene Immunität besteht, die sich mit dem Alter der Lämmer zunehmend entwickelt. Bei sechs Monate alten Lämmern beträgt die Heritabilität 0,22 und entspricht den meisten publizierten Schätzwerten (Raadsma et al. 1997). Im Gegensatz dazu sinkt mit dem Alter der Lämmer der maternale Umwelteffekt (Antikörper in der Milch, Weideverhalten der Mutter und maternaler genetischer Effekt). Jedoch ist dieser bei sechs

Monate alten Lämmern immer noch zu beobachten (0,16). Zusätzlich wird die Variation der Eizahl bis zu 30 % durch den Messfehler bei der Bestimmung der Eizahl bedingt. Wird dieser durch das mehrfache Auszählen einer Kotprobe eines Tieres reduziert, steigt die Heritabilität (Bishop et al. 1996).

Tab. 1-1: Heritabilität und Variation der Eizahl, bedingt durch maternalen Umwelteffekt und Messfehler bei der Ermittlung der Eizahl, beim Scottish Blackface Schaf in den Lebensmonaten 1 bis 6 (Bishop et al. 1996)

Alter der Lämmer (Monate)	Heritabilität (h^2)	maternaler Umwelteffekt (d^2)	Messfehler bei der Bestimmung der Eizahl (e^2)
1	0,01	0,36	-
2	0,00	0,20	-
3	0,12	0,27	-
4	0,14	0,06	0,30
5	0,15	0,15	0,39
6	0,22	0,16	0,30

1.6 Der Major Histocompatibility Complex (MHC)

Haupthistokompatibilitätsproteine der Klasse-I und -II sind membranständige glykosylierte Proteine, welche Peptide aus dem Zellinnern binden und an der Zelloberfläche präsentieren (Braciale 1992, Stern et al. 1994). T-Zellen erkennen diese Peptide mit ihren spezifischen Rezeptoren als antigene Strukturen nur im Zusammenhang mit den entsprechenden MHC-Molekülen (MHC-Restriktion). Sie können nach ihrer Stimulation die Immunantwort einleiten (Abb. 1-2, Zinkernagel und Doherty 1974).

Jeder Mensch besitzt nur eine begrenzte Zahl von unterschiedlichen Histokompatibilitäts-Molekülen (heterozygote Individuen maximal 6 Klasse-I-Moleküle) die eine enorme Anzahl (20^9) an Peptidfragmenten präsentieren müssen. Dies wird durch einen selektiven Bindemechanismus ermöglicht. An die antigenen Bindestellen des MHC-Moleküls werden nur Aminosäurereste, die meist an den Positionen zwei und neun des prozessierten

Peptids lokalisiert sind, gebunden (Rammensee et al. 1995, Chelvanayagam und Eastal 1997). Folglich kann ein MHC-Molekül eine große Anzahl an Peptiden präsentieren und gewährleistet somit eine Immunantwort gegen eine Vielzahl von Pathogenen.

1.6.1 Struktur der MHC-Moleküle

Klasse-I- und -II-Moleküle weisen in ihrer Sequenz und Struktur deutliche Homologien auf. Diese Homologien kennzeichnen sie als Mitglieder der Immunoglobulin-Supergenfamilie (Hood et al. 1985, Williams und Barclay 1988). Sie verfügen über immunoglobulin-ähnliche Domänen und eine Peptid-Bindestelle, die in Form einer Tasche aus zwei α -Helices und einer kombinierten β -Faltblattstruktur gebildet werden (Bjorkman et al. 1987, Brown et al. 1993).

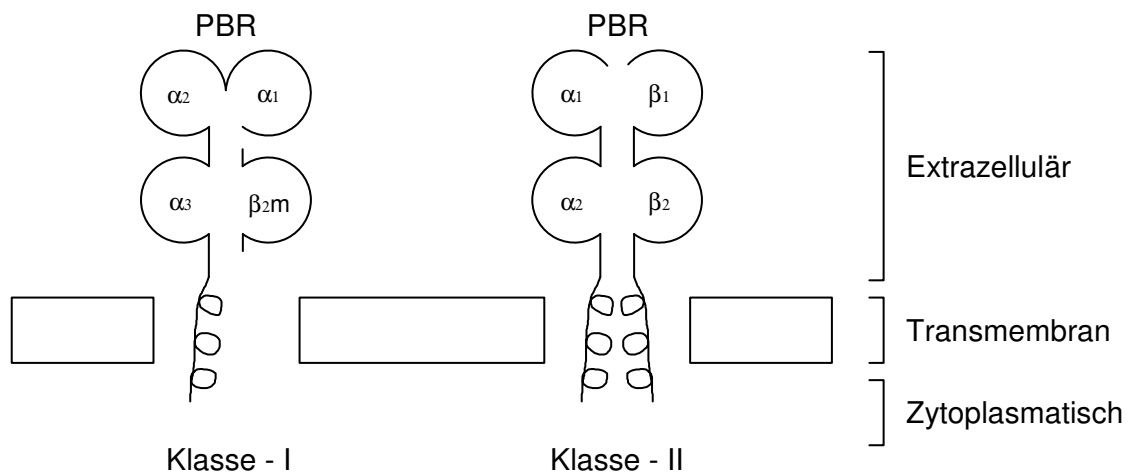


Abb. 1-3: Schematische Darstellung der Struktur der MHC-Klasse-I- und -II-Moleküle, PBR: Peptidbindestelle

Die Klasse-I-Moleküle sind Heterodimere, die aus einer 44 kD α -Kette und einer 12 kD β_2 -Mikroglobulinkette zusammengesetzt sind (Abb. 1-3). Die α -Kette besteht aus drei extrazellulären Domänen (α_1 , α_2 , α_3), einer transmembranen Region und einer zytosolischen Domäne. Die β_2 -Mikroglobulinkette besteht aus einer Domäne und ist nicht kovalent an die α_3 -Domäne gebunden (Guillemot et al. 1988).

Die Klasse-II-Moleküle sind Heterodimere, bestehend aus je einer 33–44 kD α -Kette

und einer nicht kovalent gebundenen 28 kD β -Kette (Abb. 1-3). Beide Ketten sind an ihren transmembranalen und zytoplasmatischen Anteilen miteinander assoziiert und extrazellulär in je zwei Domänen, α_1 und α_2 sowie β_1 und β_2 , unterteilt. Der Polymorphismus der Klasse-II-Moleküle wird weitgehend durch Sequenzvarianten der α_1 - und β_1 -Domäne, welche die Peptidbindestelle (PBR) bilden, bestimmt (Brown et al. 1993).

1.6.2 Genetische Organisation des *MHC*-Komplexes

1.6.2.1 Humaner *MHC*-Komplex

Der *MHC* des Menschen liegt auf Chromosom 6 (HSA 6p21.1–21.3) in einer Region von ca. 3500 kb geclustert vor und wird als *HLA*-Komplex (*Human Leucocyte Antigen*) bezeichnet (Abb. 1-4). Inzwischen wurde die komplette Sequenz sowie eine Genkarte des *HLA*-Komplexes erstellt (The *MHC* sequencing consortium, 1999). Davon haben schätzungsweise 40 % der exprimierten Gene eine Funktion im Immunsystem.

Funktionell unterscheidet man drei Klassen. Den größten Teil des *MHC* bilden Gene, die für die Klasse-I- und Klasse-II-Moleküle codieren. Einige der Klasse-III-Gene codieren Produkte, die eine Rolle in der Immunabwehr spielen, wie zum Beispiel Komponenten des Komplementsystems (Klein und Figueroa 1986). Die Klasse-I-Gene liegen auf der telomeren Seite des Chromosom 6. Zentromerwärts schließt sich die Klasse-III-Region an. Die *HLA*-Klasse-II-Genorte liegen auf der zentromeren Seite des *MHC*-Komplexes. Die *HLA*-Klasse-II-Region wird in die Subregionen *DR*, *DQ*, *DO*, *DM*, *DN* und *DP* untergliedert (Bodmer et al. 1993). Die *DR*- und *DQ*-Subregionen codieren jeweils für die α - und β -Kette der Moleküle.

Für die β -Kette des *HLA-DR*-Locus existieren bis zu 9 Gene. *HLA-DRB6–9* repräsentieren Pseudogene. Es gibt fünf verschiedene Haplotypen (Bodmer et al. 1993), die aus einer unterschiedlichen Anzahl verschiedener *DRB*-Gene zusammengesetzt sind. Der hochgradig polymorphe *HLA-DRB1*-Locus ist bei allen dieser fünf Haplotypen vertreten. Bei den *DR*-Molekülen konzentriert sich der Polymorphismus fast ausschließlich auf die antigenen Bindestellen der ersten extrazellulären Domäne der β -Kette (Marsh und Bodmer 1993), die vom zweiten Exon codiert wird. Dagegen wird die *DR- α* -Kette nur von einem Gen codiert und ist kaum polymorph.

In der *HLA-DQ*-Region sind zwei α - und drei β -Kettengene lokalisiert. Von diesen

werden nur die *DQA1*- und *DQB1*-Gene exprimiert. *DQA2* und *DQB2* sind Pseudogene. DQ-Moleküle sind durch polymorphe α 1- und β 1-Domänen ausgezeichnet.

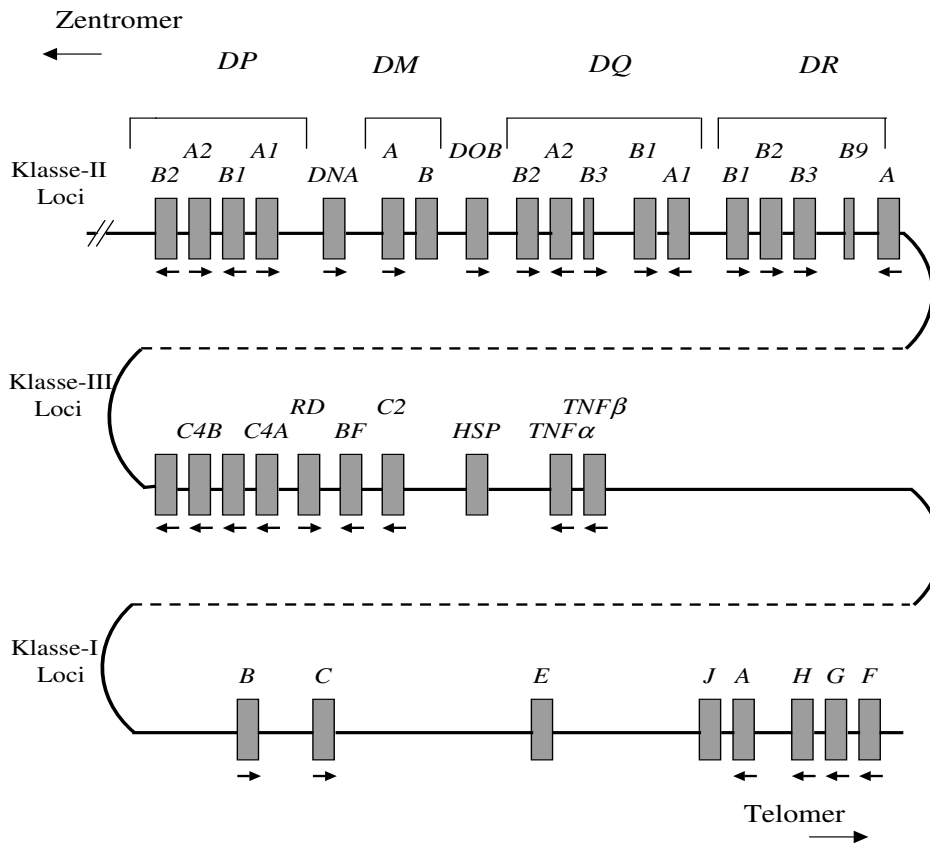


Abb. 1-4: Chromosomale Organisation der *HLA*-Klasse-I-, Klasse-II- und Klasse-III-Gene (verändert nach Roitt et al. 1995)

1.6.2.2 Oviner *MHC*-Komplex

Der ovine *MHC*-Komplex ist auf Chromosom 20 (OAR 20q15–q23) lokalisiert (Hediger et al. 1991). Die Lage der einzelnen Regionen ist wie beim Menschen konserviert. So folgt nach dem zentromerisch gelegenen Klasse-II-Bereich die Klasse-III- und anschließend die Klasse-I-Region (Chardon et al. 1985, Crawford et al. 1995), die in ihrer Komplexität sehr dem humanen *MHC* ähneln.

Es wurden homologe Gene zu *HLA-DRA*, *-DRB*, *-DQA*, *-DQB*, *-DOB* und *-DNA* gefunden, während sich kein Hinweis auf einen homologen *DP*-Locus ergab (Scott et al. 1987, Deverson et al. 1991, Wright et al. 1995, 1996).

Wright et al. (1994) konnten beim Schaf die Existenz der für Wiederkäuer typischen Subregion mit den Genen *DYA*- und *-DYB* nachweisen. Vermutlich ist dieser Genort nahe dem *DNA*-Gen lokalisiert (Abb. 1-5), da diese Gene auch beim Rind miteinander segregieren (Stone und Muggli-Cockett 1993). Anders als beim humanen *MHC*-Komplex sind die Gene *OLA-DYA*, *-DYB*, *-DNA* und *-DOB* in der Klasse-IIb- und die exprimierten Gene *OLA-DRA*, *-DRB*, *-DQA* und *-DQB* in der Klasse-IIa-Region geclustert. Beim Rind sind diese Untergruppen 17 cM voneinander entfernt (Andersson et al. 1988, van Eijk et al. 1995). Das bovine *DYA*-Gen wurde durch Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH) auf BTA 23q12–13 kartiert (Friedl et al. 1996, Skow et al. 1996).

Am genauesten sind die *OLA-DR*- und *OLA-DQ*-Regionen untersucht. Es wurden drei verschiedene *DRB*-Gene nachgewiesen (Ballingall et al. 1992). Davon wird das *DRB1*-Gen exprimiert (Ballingall et al. 1992, 1995), während das *DRB2*-Gen ein nichtfunktionales Pseudogen ist (Scott et al. 1991b). Arbeiten von Dutia et al. (1994) und Ballingall (1992) sprechen für die Expression eines weiteren *DRB*-Gens. Die Existenz weiterer Pseudogene und funktioneller Gene ist nicht auszuschließen (Deverson et al. 1991).

Mit Hilfe überlappender Cosmide gelang es Wright und Ballingall (1994) die Anordnung der ovinen *DQA*- und *DQB*-Gene zu ermitteln. In einem Bereich von etwa 130 kb sind zwei *DQA/B*-Genpaare jeweils „tail-to-tail“ angeordnet (Abb. 1-5). Für das Genpaar *DQA1* und *DQB1* konnte die Expression nachgewiesen werden (Wright und Ballingall 1994). Dagegen werden die Gene *DQA2* und *DQB2* transkribiert, aber nicht translatiert (Deverson et al. 1991). Da einige Tiere aus verschiedenen Schafrassen über kein *DQA1*-Gen verfügen (Scott et al. 1991a, Escayg et al. 1996), existieren vermutlich wie bei der humanen *DRB*-Region verschiedene Haplotypen, die aus einer unterschiedlichen Anzahl verschiedener *DQA*-Gene zusammengesetzt sind. Die funktionalen DQ-Moleküle dieser Schafe sind wahrscheinlich Produkte weiterer exprimierter *DQA*-Gene, die mit einer kompatiblen β -Kette gepaart sind (Wright und Ballingall 1994, Snibson et al. 1998).

Anhand von Sequenzvergleichen des zweiten Exons konnte eine Sequenz (EMBL Accession No. U07034) identifiziert werden, die equivalent zum exprimierten *BoLA-DQB3*-Gen (EMBL Accession No. U77799) ist (van Oorschot et al. 1994). Scott et al. (1991b) bestätigen die Existenz eines *DQB*-Pseudogens.

Wie bei anderen Vertebraten sind auch die *OLA-DQB*-Gene vor allem im zweiten

Exon, das für die antigene Bindestelle codiert, hoch polymorph (Scott et al. 1991b, van Oorschot et al. 1994).

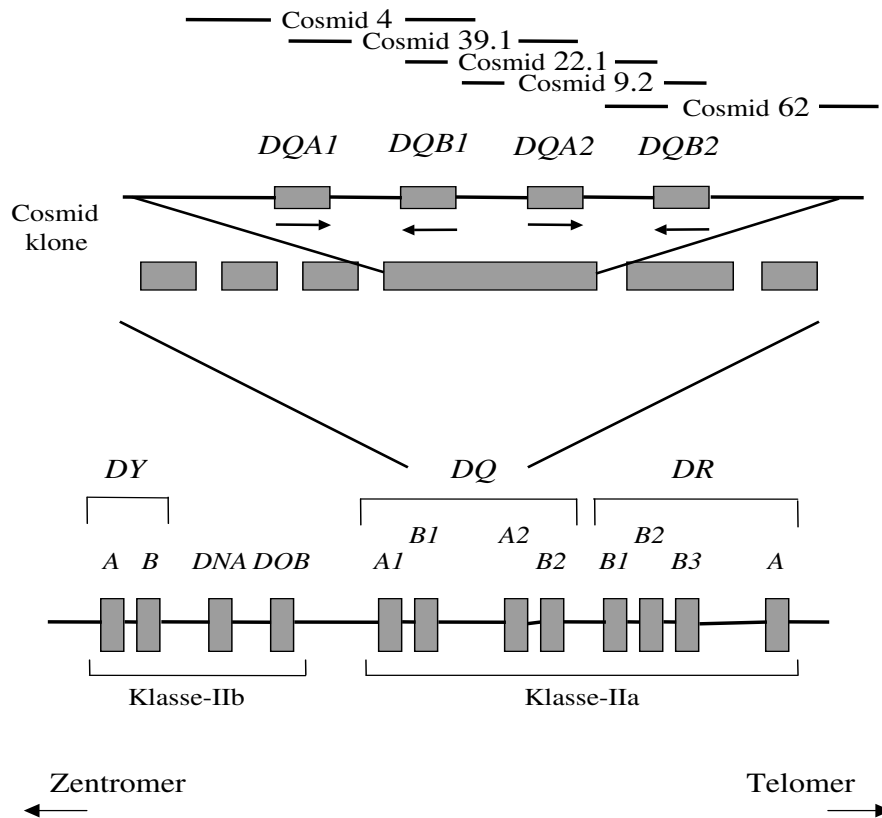


Abb. 1-5: Chromosomale Organisation der *OLA*-Klasse-II-Gene beim Schaf (verändert nach Wright und Ballingall 1994)

1.6.3 Diversität der *MHC*-Gene und Resistenz gegen Parasiten

MHC-Gene sind durch folgende Eigenschaften ausgezeichnet:

- *MHC*-Gene sind im Vergleich zu anderen Genen extrem hoch polymorph (Heterozygotität von 80–90 %) (Klein 1987).
- Die Anzahl der Nukleotid-Differenzen zwischen den Allelen eines *MHC*-Gens ist oft so hoch wie bei homologen Genen außerhalb des *MHC*-Komplexes verschiedener Tierarten (Klein 1987).

- Im Bereich der antigenen Bindestelle übersteigt die Rate der nichtsynonymen die der synonymen Nukleotidsubstitutionen signifikant (Hughes und Nei 1988, 1989).
- Das Beibehalten der Polymorphismen über mehrere Millionen von Jahren (Transspezies Polymorphismus) (Klein 1987, Takahata und Nei 1990).

Als Ursache dieser Eigenschaften werden neben der Hypothese der erhöhten Mutationsrate (Bailey und Kohn 1965), der Genkonversion (Ohta 1982, Mellor et al. 1983) und der sexuellen Selektion (Reusch et al. 2001) vor allem bestimmte Formen der balanzierten Selektion wie zum Beispiel die überdominante Selektion (Doherty und Zinkernagel 1975, Maruyama und Nei 1981, Takahata und Nei 1990, Hughes und Yeager 1998) und die durch Parasiten und Pathogene induzierte frequenzabhängige Selektion (Snell 1968, Bodmer 1972, Hill et al. 1991) diskutiert.

Im Hinblick auf die biologische Funktion der MHC-Moleküle erklärten Doherty und Zinkernagel (1975) als erste den hohen Polymorphismus der *MHC*-Gene durch die Hypothese der überdominanten Selektion (Heterozygotenvorteil). Da Heterozygote über zwei verschiedene *MHC*-Allele pro Genort verfügen, sind diese im Vergleich zu homozygoten Individuen in der Lage, ein größeres Repertoire verschiedener Antigene den T-Zellen zu präsentieren. Dies ermöglicht ihnen ein breiteres Spektrum an Pathogenen durch eine entsprechende Immunantwort abzuwehren (Doherty und Zinkernagel 1975, Lazaro et al. 1999). Somit zeichnen sich Heterozygote im Vergleich zu Homozygoten durch eine höhere Fitness aus. Durch balanzierte Selektion werden Heterozygote bevorzugt und Homozygote reduziert (Black and Salzano 1981, Hedrick und Thomson 1983, Tiercy et al. 1992).

Die Mehrzahl der Polymorphismen der MHC-Moleküle liegen im Bereich der antigenen Bindestellen. Bei Klasse-I- und Klasse-II-Genen übersteigt in diesem Bereich die Rate der nichtsynonymen die der synonymen Nukleotidsubstitutionen. Für den restlichen Bereich und für nahezu alle anderen Gene ist das Gegenteil der Fall. Auf dieser Tatsache aufbauend und unter Berücksichtigung der Funktion der MHC-Moleküle bei der Peptidbindung, welche maßgeblich die Resistenz beeinflusst, konnten Hughes und Nei (1988, 1989) zeigen, dass positive (Darwinische) Selektion eine erhöhte Diversität der Aminosäuren im Bereich der antigenen Bindestellen hervorruft.

Wie anhand von Studien gezeigt wurde, kann für die hohe Heterozygotenrate am *MHC*-

Locus die sexuelle Selektion eine wichtige Rolle spielen. Durch die gezielte Wahl von Geschlechtspartnern, die über eine große Anzahl verschiedener *MHC*-Allele verfügen, wird gewährleistet, dass Nachkommen ein breiteres Spektrum an Parasiten abwehren können (Reusch et al. 2001, Bakker und Zbinden 2001).

Die Hypothese der frequenzabhängigen Selektion besagt, dass Individuen, die seltene *MHC*-Allele tragen, durch selektive Vorteile ausgezeichnet sind, da der Hauptanteil einer Parasitenpopulation in der Regel an das häufigste *MHC*-Allel in der Wirtspopulation angepasst ist. Da die Wirt-Parasiten Interaktion ein dynamischer Prozess ist, ändert sich infolge dessen die Allelfrequenz in der Wirtspopulation. Der Parasit reagiert auf diesen selektiven Druck, indem sich dieser auf genetischer Basis anpasst und neue Antigenvarianten hervorbringt (Bodmer 1972). Folglich wird durch die antagonistische Beziehung die genetische Diversität sowohl des Parasiten-, als auch die des Wirtsgenoms und besonders der *MHC*-Gene gefördert (Anderson und May 1982, Hill et al. 1991).

1.7 Studien zum Einfluss des *MHC* auf die Nematodenresistenz beim Schaf

Hohenhaus und Outteridge (1995) fassen in ihrem Artikel sämtliche Studien zum Einfluss der *MHC*-Gene auf die Nematodenresistenz (*Trichostrongylus colubriformis*, *Haemonchus contortus*) zusammen. Bei diesen Studien wurde der Kandidatengenansatz gewählt, wobei der direkte Zusammenhang zwischen den verschiedenen Allelen des Kandidatengens (*MHC*-Gene) und dem phänotypischen Erscheinungsbild (Eizahl im Kot) untersucht wurde.

Outteridge et al. (1985, 1986, 1988) infizierten Merinoschafe nach einer Impfung mit *T. colubriformis*. Anschließend wurde untersucht, ob bestimmte Tiere eine besonders geringe bzw. hohe Eizahl im Kot aufweisen (gutes bzw. schlechtes Ansprechen auf die Impfung). Die Autoren fanden bei Tieren, die gut auf die Impfung ansprachen, eine Assoziation zwischen dem *OLA*-Klasse-I-Allel *SY1* und einer erhöhten Resistenz gegen *T. colubriformis*. Bei Tieren, die schlecht auf die Impfung ansprachen, zeigte das Allel *SY1* keinen signifikanten Einfluss auf die Eizahl. Da nur bei Tieren mit gutem Ansprechen auf die Impfung ein Effekt des *OLA*-Klasse-I-Allels *SY1* auf die Reduktion der Eizahl

vorliegt, ist vermutlich nicht das *SY1*-Allel, sondern ein anderes Gen für die Resistenz verantwortlich. Dieses Gen ist bei Tieren mit schlechtem Ansprechen auf die Impfung nicht an das *SY1*-Allel gekoppelt (Outteridge 1991). Ebenso konnten Douch und Outteridge (1989) bei New Zealand Romney Schafen eine Assoziation des in geringer Frequenz vertretenen Allels *SY1a+1b* mit einer erhöhten Resistenz gegen Infektionen mit *T. colubriformis*, nachweisen. Auch Stear et al. (1996) berichten von einer Assoziation zwischen dem *OLA*-Klasse-I-Antigen *G1 3br* und der Reduktion der Eizahl bei einer Infektion von Scottish Blackface Schafen mit *O. circumcincta*. Dagegen konnten Cooper et al. (1989) keinen Zusammenhang zwischen ovinen Klasse-I-Antigenen und der Anfälligkeit für *H. contortus* in den Nachkommen von sechs Böcken bestätigen.

Anhand einer RFLP-Studie, konnte unter Verwendung von humanen cDNA-Klonen mit *DRB*-, *DQA*- und *DQB*-Genen, gezeigt werden, dass Gene innerhalb oder nahe der *MHC*-Region einen signifikanten Einfluss auf die Resistenz gegen *T. colubriformis* ausüben (Hulme et al. 1991). Blattman et al. (1993) konnten keine Assoziation zwischen Polymorphismen der *MHC*-Klasse-II-Gene mit der Resistenz gegen *H. contortus* in Merinoschafen, die aus einer resistenten UNE („Univeristy of New England“) Herde stammten, nachweisen. In einer Studie mit Scottish Blackface Schafen, die einem natürlichen Infektionsrisiko mit *O. circumcincta* ausgesetzt waren, konnten hingegen Schwaiger et al. (1995) eine signifikante Assoziation des *DRB1*-Allels *G2* mit einer reduzierten Eizahl feststellen. In der gleichen Herde wurde eine signifikante Erhöhung der Eizahl bei Anwesenheit des im *DY*-Bereich lokalisierten häufigsten Mikrosatellitenallels Q1 entdeckt (Buitkamp et al. 1996). Stear et al. (1996) postulieren, dass wenigstens ein „Resistenzlocus“ der mit dem *DRB*- und *DY*-Locus im Kopplungsungleichgewicht liegt, für die Resistenz verantwortlich ist. Paterson et al. (1998) gelang es beim Soay Schaf ebenfalls einen Effekt bestimmter Mikrosatellitenallele im zweiten Intron des *DRB1*-Gens auf die Resistenz gegen *O. circumcincta* nachzuweisen.

Crawford et al. (1997) verwendeten für ihre QTL-Analyse gegen Nematoden resistente und anfällige Romney-Schafe, die aus einer Langzeitselektion hervorgegangen sind. Sie konnten keine Segregation der auf Chromosom 20, einschließlich der im *MHC*-Komplex lokalisierten Marker und damit der Kandidatengene, mit bestimmten Phänotypen der Nematodenresistenz nachweisen. Auf der ISAG-Konferenz 1998 in Auckland berichten die

Autoren aber von drei *MHC* unabhängigen QTL, die zur Nematodenresistenz beitragen. Auch Meszaros et al. (1999) fanden bei einer Studie mit 4397 Merinoschafen einen für die Resistenz gegen *H. contortus* verantwortlichen QTL. Dieser trägt zu 25 % bis 30 % zur gesamten genetischen Variation bei.

1.8 Typisierung der Polymorphismen im Exon 2 oviner *DRB1*-Allele mit Hilfe eines angrenzenden Mikrosatelliten

MHC-Allele unterscheiden sich oft nur durch die Anordnung bestimmter Sequenzmotive, so dass eine eindeutige Typisierung mittels sequenzspezifischer Oligohybridisierung erst nach Auftrennung der beiden Allele eines Tieres möglich ist. Schafe besitzen wie Primaten und Nagetiere im zweiten Intron einen Mikrosatelliten, dessen Variabilität mit Polymorphismen im zweiten Exon hoch korreliert ist (Rieß 1990, Ammer et al. 1992, Schwaiger et al. 1993, 1996, Epplen et al. 1997, Bergstrom 1998). Die Auftrennung der beiden Allele eines Tieres kann, nach der gemeinsamen Amplifikation des zweiten Exons mit einem im angrenzenden zweiten Intron lokalisierten Mikrosatelliten, über ein denaturierendes Polyacrylamidgel erfolgen (Schwaiger et al. 1993). Nach der Übertragung der aufgetrennten Fragmente auf eine Nylonmembran ist eine Typisierung der Polymorphismen im Exon 2 mit Hilfe einer Hybridisierung von sequenzspezifischen Oligonukleotiden möglich. Um alle hypervariablen Regionen des zweiten Exons zu erfassen, werden nacheinander mehrere sequenzspezifische Oligonukleotide hybridisiert (Abb. 1-6).

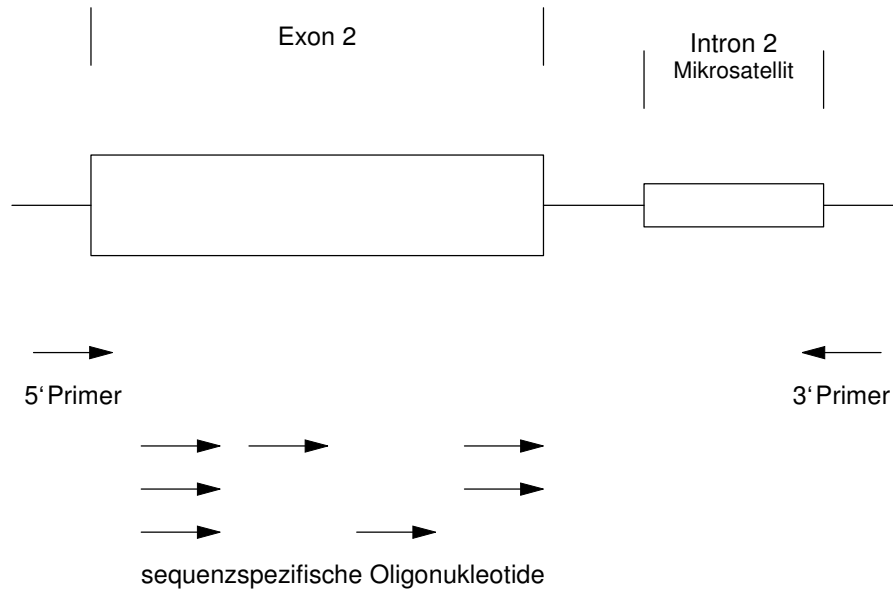


Abb. 1-6: Schematische Darstellung des PCR-Systems zur gleichzeitigen Amplifikation des zweiten Exons des ovinen *DRB1*-Gens mit einem im angrenzenden Intron lokalisierten Mikrosatelliten (verändert nach Schwaiger et al. 1993). Bei der PCR lagert sich der Downstreamprimer am 5'-Ende des zweiten Exons und der Upstreamprimer am 3'-Ende des zweiten Introns an.

1.9 „Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA) zur Typisierung von *MHC*-Allelen

Die „Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA), auch als „Double strand conformation polymorphism“ (DSCP) (Barros et al. 1994, Saad et al. 1997) bekannt, ist eine Form der Heteroduplexanalyse (White et al. 1992, Savage et al. 1996). Diese Methode ermöglicht die Typisierung sowohl einfacher als auch komplex polymorpher Loci. Es können gleichzeitig bekannte und unbekannte Allele bzw. Mutationen detektiert werden (Argüello et al. 1998).

Die RSCA basiert auf der Hybridisierung des fluoreszenzmarkierten PCR-Produkts eines Referenzallels mit dem Amplifikat der zu typisierenden Probe. Durch Erhitzen und langsames Abkühlen werden die PCR-Produkte des Referenzallels und der Probe denaturiert und anschließend renaturiert. Dabei können aufgrund der Ähnlichkeit der Nukleo-

tidsequenz des Referenzallels mit der Probe, Duplexe zwischen den Sense- und Antisensesträngen aller DNA-Moleküle gebildet werden (Abb. 1-7).

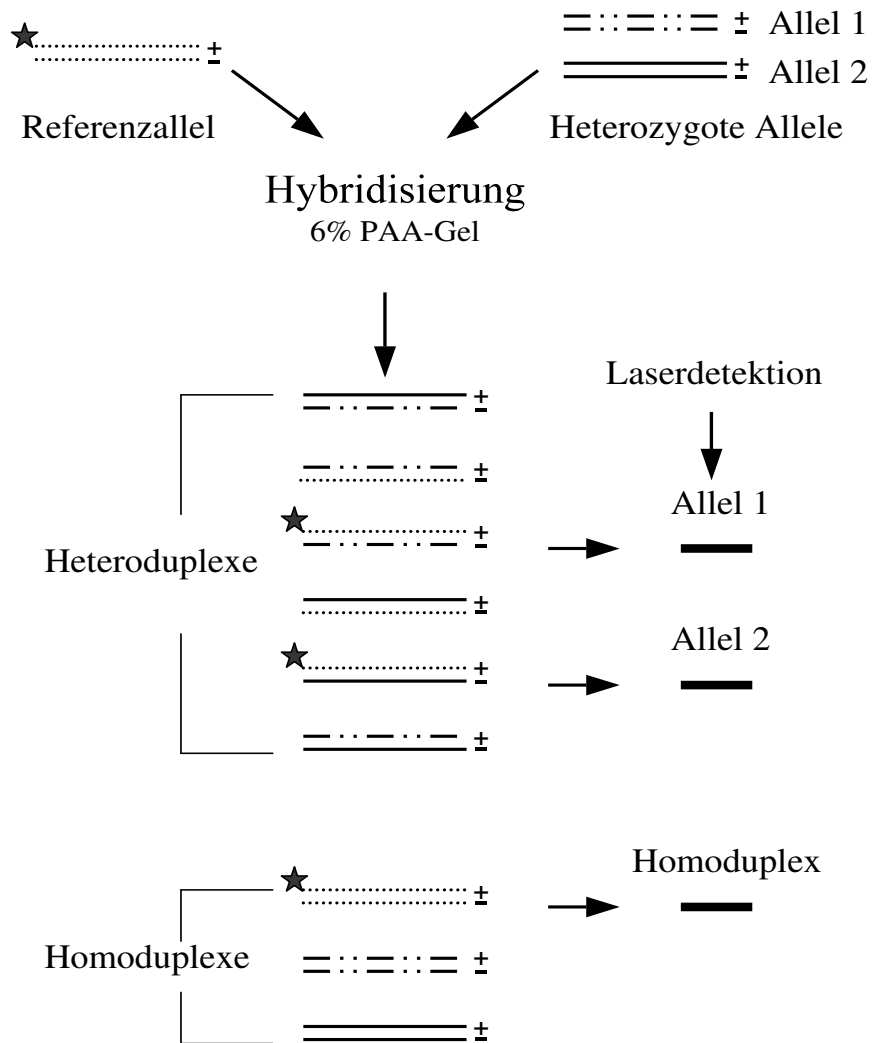


Abb. 1-7: Schematische Darstellung der „Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA), PAA-Gel: Polyacrylamidgel (verändert nach Argüello et al. 1998)

Im komplementären Bereich der Stränge von Referenzallel und Probe bilden sich Wasserstoffbrücken aus. Dagegen ist dies an Stellen mit unterschiedlicher Nukleotidsequenz nicht

möglich und es entsteht eine offene Doppelstrang-Konfiguration. Die daraus resultierenden Konformationsunterschiede zwischen den Heteroduplexen und Homoduplex bewirkt eine unterschiedliche Mobilität der Moleküle während der Elektrophorese im nativen Polyacrylamidgel. Infolge dessen laufen Heteroduplexmoleküle langsamer als Homoduplexmoleküle und es kann ähnlich wie bei der SSCP ein komplexes Bandenmuster detektiert werden (White et al. 1992). Durch die Fluoreszenzmarkierung speziell des Sensestranges werden nur Duplexe, die mit dem markierten Referenzstrang gebildet wurden, detektiert (Argüello et al. 1998).

1.10 Mikrosatelliten-Marker

Für Kopplungs- und Assoziationsanalysen geeignete Markersysteme sollten sich durch Eigenschaften wie zum Beispiel eine geringe Mutationsrate und eine optimale Dichte mit gleichmäßiger Verteilung über das Genom auszeichnen. Bei dichter Lokalisation der Marker können die QTL-Effekte zuverlässiger geschätzt werden. Gleichzeitig ist die hohe Markerdichte eine Voraussetzung für eine markerunterstützte Selektion und ein positionelles Klonieren. Da bei Kopplungsanalysen nur heterozygote Eltern informativ sind, sollten die Marker einen hohen Heterozygotiegrad aufweisen.

Derzeit entsprechen Mikrosatelliten diesen Anforderungen am besten. Sie haben einen durchschnittlichen Abstand von 10000 kb und sind mit oft mehr als 10 Allelen hoch polymorph. Deshalb werden sie beim Nutztier hauptsächlich zur Kartierung von Merkmalen durch Kopplungsanalysen (Montgomery et al. 1994, Kirkpatrick 2000, Ohba et al. 2000) und zur Erstellung von genomweiten Kopplungskarten eingesetzt. De Gortari et al. (1998) schätzen mit Hilfe der Kopplungskarte die genetische Länge des Schafgenoms auf 3190 cM. Zur Erstellung der aktuellsten ovinen Kopplungskarte wurden 1093 Marker mit einem Auflösungsvermögen von 3,4 cM etabliert (Maddox et al. 2001). Beim Rind konnten derzeit bis zu 1600 anonyme Mikrosatelliten kartiert werden (Barendse und Fries 1999).

Seit 1997 werden die Mikrosatelliten mehr und mehr von den biallelischen SNP-Markern („single nucleotide polymorphism“) abgelöst. Mit einer Häufigkeit von etwa einem Basenaustausch auf 1 kb DNA (Chakravarti 1999) haben SNPs eine sehr hohe

Dichte. Sie weisen eine sehr geringe Mutationsrate auf. Durch die derzeitige Entwicklung der DNA-Chiptechnologie wird bald eine schnelle, automatisierte Typisierung von SNPs möglich sein.

1.11 Ziele der Arbeit

In vorausgegangenen Studien mit Scottish Blackface Schafen des Jahrgangs 1993 wurde ein erheblicher Einfluss des ovinen *DRB1*-Gens (Schwaiger et al. 1995) und der im *MHC*-Klasse-I und -II liegenden Marker DYMS1 und OMHC1 (Buitkamp et al. 1996) auf die Eizahl von *O. circumcincta* im Kot festgestellt. Unter Verwendung eines Regressionsmodells konnte eine 58-fache Reduktion der Eizahl gemessen werden, wenn ein Tier statt dem häufigsten *DRB1*-Allel *I* das Allel *G2* besitzt (Schwaiger et al. 1995).

Die Ziele der vorliegenden Arbeit bestanden im einzelnen darin:

1. Verifizierung der signifikanten Effekte des *DRB1*-Locus (Hauptkandidatengen) sowie der Marker DYMS1 und OMHC1 anhand der:
 - Reanalyse des *DRB1*-Locus sowie der Marker DYMS1 und OMHC1 aus dem Jahrgang 1993 mit Hilfe eines optimierten Auswertungsverfahrens;
 - Typisierung und Regressionsanalyse eines unabhängigen Tiermaterials der gleichen Rasse aus dem Jahrgang 1996;
 - Regressionsanalyse des gemeinsamen Datensatzes aus den Jahrgängen 1993 + 1996;
 - Prüfung auf Abweichung von der intermediären Vererbung, Auftreten von partieller oder vollständiger Dominanz sowie Überdominanz anhand der Analyse des *DRB1*-Locus und der anderen Marker mit einem weiteren Modell.
2. Typisierung und Analyse weiterer Marker auf Chromosom 20 zur Abdeckung der Kandidatengenregion
3. Schaffung von Grundlagen für eine Assoziationsstudie zwischen *DQB*-Allelen und der Nematodenresistenz durch die:

- Klonierung und Sequenzierung verschiedener oviner *DQB*-Allele;
- Etablierung der „Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA) zur hochauflösenden Typisierung oviner *DQB*-Allele.

2 Tiere und Material

2.1 Schafhaltung

Die Scottish Blackface Schafe aus den Jahrgängen 1993 und 1996 wurden unter ökonomischen Bedingungen auf einer Farm im Südwesten von Strathclyde im Hochland von Zentralschottland gehalten. Die Tiere waren einem natürlichen Infektionsrisiko mit Nematoden ausgesetzt. Dabei entsprach *O. circumcincta* dem Hauptanteil der Nematodenpopulation (Stear et al. 1995b). Sämtliche Lämmer wurden während der zweiwöchigen Ablammperiode (Ende April bis Anfang Mai) geboren und bis zum Absetzen Ende Juli mit den Muttertieren zusammengehalten. Um eine ähnliche Infektionsintensität zu gewährleisten, standen anschließend alle Jungtiere auf derselben Weide.

Ab Ende Mai erfolgte monatlich eine parasitologische Untersuchung und Bestimmung der Eizahl im Kot der Lämmer. Nach jeder Probenentnahme wurde eine Behandlung mit einem Breitbandanthelmintikum aus der Klasse der Benzimidazole (Albendazol-Sulfoxid; Rycoben 2,5 %, Young’s Animal Health, Leyland, England) durchgeführt. Die verabreichte therapeutische Dosis (5 mg/kg Körpergewicht) richtete sich nach dem schwersten Tier in der Herde, um eine vollständige Entwurmung zu gewährleisten. Bei den Tieren aus den Jahrgängen 1993 und 1996 ergab sich kein Hinweis auf eine Resistenz der Parasiten (Stear, persönliche Mitteilung).

2.2 Datenmaterial

Zur Anfertigung dieser Arbeit wurde die DNA von Scottish Blackface Schafen aus den Jahrgängen 1993 und 1996 sowie die Daten zur Abstammung und Eizahl (Übersichten A 1 und A 2) von Prof. Dr. M. Stear (Faculty of Veterinary Medicine, University of Glasgow, URL-d) zur Verfügung gestellt. Desweiteren wurden zur Reanalyse die von Schwaiger et al. (1995) und Buitkamp et al. (1996) erstellten Typisierungsdaten des *DRB1*-Locus

sowie der Marker DYMS1 und OMHC1 von den Tieren aus dem Jahrgang 1993 verwendet (Übersicht A 3).

2.2.1 Datenerfassung und Datenbeschreibung

2.2.1.1 Stammdaten

In den Übersichten A 1 und A 2 im Anhang sind Abstammungsdaten, Geburtsdatum und Geschlecht der Tiere der Jahrgänge 1993 und 1996 dargestellt. Die Tiere aus den verschiedenen Jahrgängen waren nicht verwandt. 1993 und 1996 bestanden die Herden jeweils aus 10 und 18 Halbgeschwisterfamilien (Tab. 2-1). Von je 200 Lämmern wurden 168 und 150 als Zwillinge geboren. In beiden Jahrgängen war die Anzahl der Nachkommen pro Vater sehr unterschiedlich. Es waren sowohl Väter mit nur einem, als auch Väter mit bis zu 28 Nachkommen vertreten.

Tab. 2-1: Anzahl der Tiere aus den Herden der Jahrgänge 1993 und 1996

Jahrgang	Lämmer	Väter	Anzahl der	
			Mütter mit Nachkommen als Zwilling	Einling
1993	200	10	84	32
1996	200	18	75	50

2.2.1.2 Eizahlen

Es liegen von jeweils 200 Lämmern der Jahrgänge 1993 und 1996 die monatlich (Mai bis Oktober) bestimmten Eizahlen vor. 1993 wurden im August, September und Oktober pro Kotprobe zwei Zählungen durchgeführt. 1996 wurde jede Kotprobe vier mal ausgezählt. In den Übersichten A 1 und A 2 im Anhang sind die Durchschnittswerte angegeben. Jeder Wert entspricht der Eizahl pro Gramm Kot (epg bzw. fec).

In beiden Jahrgängen wird der maximale Mittelwert der Eizahl im Juli erreicht und sinkt in den folgenden Monaten (Tab. 2-2). Im Vergleich zu 1996 nimmt bei den Tieren aus dem Jahrgang 1993 die Eizahl in den Monaten September und Oktober stärker ab.

Tab. 2-2: Mittel-, Maximal- und Minimalwerte der Eizahl in den Monaten Mai bis Oktober bei den Lämmern aus den Jahrgängen 1993 und 1996

Monat	Jahrgang 1993				Jahrgang 1996			
	Tierzahl (n)	Eizahl pro Gramm Kot (epg)			Tierzahl (n)	Eizahl pro Gramm Kot (epg)		
		Mittelwert	Maximum	Minimum		Mittelwert	Maximum	Minimum
Mai	147	49	1150	0	-	-	-	-
Juni	178	137	1750	0	165	521	3050	0
Juli	190	572	1900	0	180	617	3175	0
August	175	285	2275	0	177	201	1250	0
September	190	190	1875	0	179	488	2300	0
Oktober	187	191	1000	0	187	440	2438	0

Die tatsächliche Wurmlast einer Population kann aus der Häufigkeitsverteilung der Eizahl entnommen werden, da die Höhe der Wurmlast mit der Höhe der Eizahl korreliert ist (Kap. 1.5). In der Abbildung 2-1 ist die Häufigkeitsverteilung der Eizahl im Monat Oktober von den Tieren aus den Jahrgängen 1993 und 1996 dargestellt. Im Vergleich zu 1996 zeigt 1993 die Häufigkeitsverteilung der Eizahl eine stärkere positive Schiefe. Das bedeutet, dass 1993 mehr Tiere mit einer geringeren Eizahl und wenig Tiere mit einer hohen Eizahl belastet sind. Dagegen tragen 1996 weniger Tiere eine geringe und mehr Tiere eine höhere Eizahl.

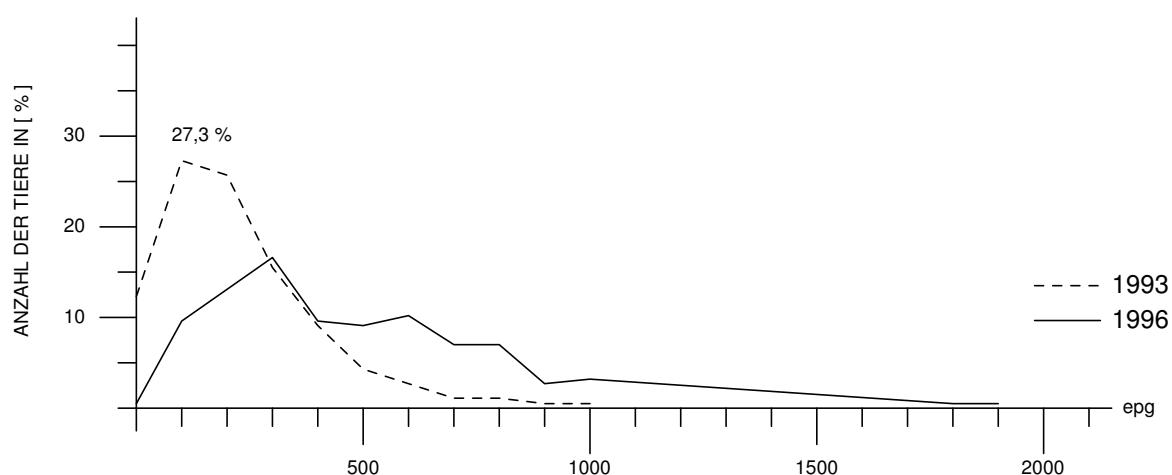


Abb. 2-1: Häufigkeitsverteilung der Eizahl (epg) im Oktober von Lämmern aus den Jahrgängen 1993 und 1996. Auf der x-Achse ist die Eizahl pro Gramm Kot (epg) mit einer Klassenbreite von 100 epg aufgetragen. Auf der y-Achse ist die Anzahl der Tiere in [%] dargestellt.

2.2.1.3 Genotypisierung

Vermutlich tragen *MHC*-Gene zur Nematodenresistenz bei. Deshalb wurden auf Chromosom 20 Marker untersucht, die sowohl innerhalb als auch außerhalb des *MHC* liegen (Abb. 2-2).

In der Abbildung 2-2 ist der relative Abstand der typisierten Marker in Centimorgan (cM) angegeben. Der *DRB1*-Locus (Hauptkandidatengen, amplifiziert mit Primer OLADRB) liegt im *MHC*-Klasse-II-Bereich. 19 cM davon entfernt (zentomerwärts) ist der Marker DYMS1 in der *MHC*-Klasse-IIb-Region lokalisiert (Buitkamp et al. 1996). Bei der genetischen Karte liegt der bovine Mikrosatellit BM1815 zwischen dem *DRB*-Locus und dem DYMS1-Marker. Dieser Marker könnte einen ersten Hinweis darauf geben, dass die 1993 mit der Resistenz assoziierten Allele am *DRB1*-Locus (Schwaiger et al. 1995) und des DYMS1-Markers (Buitkamp et al. 1996) jeweils unabhängig voneinander zur Resistenz beitragen, oder dass beide an ein anderes Resistenzgen gekoppelt sind. Der Mikrosatellit OMHC1 befindet sich im *MHC*-Klasse-I-Bereich. Der Marker CSR226 liegt vermutlich zwischen der Klasse-I-Region und dem *DRB*-Locus. Der bovine Mikrosatellit BM1905 ist telomerisch lokalisiert.

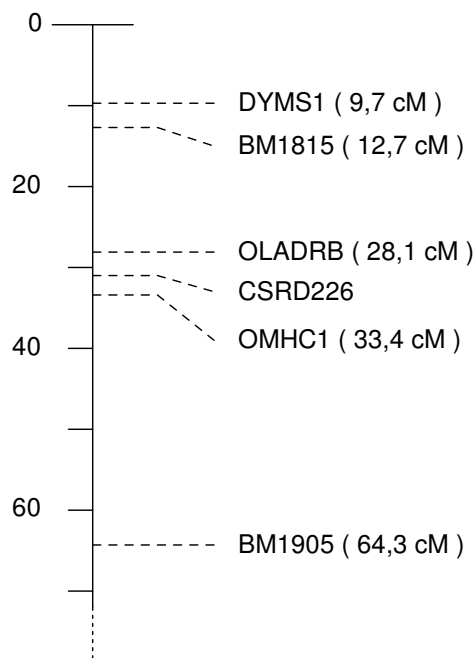


Abb. 2-2: Lokalisation der typisierten Marker auf Chromosom 20 (verändert nach de Gortari et al. 1998)

Die Typisierungsdaten des *DRBI*-Locus sowie der Marker DYMS1 und OMHC1 aus dem Jahrgang 1993 sind in der Übersicht A 3 im Anhang dargestellt. Die Übersicht A 4 zeigt die Typisierungsdaten des *DRBI*-Locus sowie der Marker DYMS1, OMHC1, CSR226, BM1815 und BM1905 für den Jahrgang 1996. In der Tabelle 2-3 ist die Anzahl der pro Marker typisierten Tiere aufgelistet.

Tab. 2-3: Anzahl der pro Marker typisierten Tiere aus den Jahrgängen 1993 und 1996

Jahrgang	Tierzahl (n)					
	<i>DRBI</i>	DYMS1	OMHC1	CSR226	BM1815	BM1905
1993	179	162	154	-	-	-
1996	326	328	330	328	324	330

2.2.2 Bereinigte Daten für die Assoziationsanalyse

Von jeweils 200 Lämmern aus den Jahrgängen 1993 und 1996 (Tab. 2-1) konnte etwa nur die Hälfte bei der Assoziationsanalyse zwischen Markerallelen und der Resistenz gegen *O. circumcincta* berücksichtigt werden (Kap. 4-2).

Die drastische Datenreduktion beruht vor allem auf dem Ausschluss aller Einzelnachkommen bei der Varianzanalyse. Weiterhin entfallen für die Analyse Lämmer mit Fehl Abstammung (geprüft durch Mikrosatelliten) sowie mit fehlender Eizahl und Genotypisierung. Desweiteren wurde bei jedem Marker für sämtliche Modelle die Verteilung der Residuen untersucht. Es wurden alle Einzelbeobachtungen, deren Residuen um mehr als drei Standardabweichungen vom Mittelwert abwichen, ausgeschlossen.

Bei der Analyse wurde nur mit den Eizahlen vom Oktober gearbeitet, da ab diesem Zeitpunkt mit einer Heritabilität von 0,22 ein genetischer Einfluss auf die Resistenz, welche durch die erworbene Immunität verursacht wird, bestand (Kap. 1.5).

2.3 Gebrauchsmaterial

2.3.1 Geräte

ABI PRISM [®] 377 DNA Sequencer	Applied Biosystems/Perkin Elmer
Agarose-Gelelektrophoresekammer	AGS

Elektrophorese Spannungsgerät	Biotec Fisher, PHERO-stab 500 Electrophoresis Powersupply LKB Bromma, 2297 Macrodrive 5
Hybridisierungsöfen	Hybrid, MWG Biotech
Messgerät für β -Strahlung	LB 122, Berthold, β -Counter
Photometer	Pharmacia LKB GmbH, Ultrospec III
Schüttelinkubator	Sanjo, Typ IOX400.XX2.C
Thermoblock	Eppendorf Thermostat 5320
Thermocycler (96-well)	PTC-100TN Programmable Thermal Controller, MJ Research, INC Biometra, UNO Thermoblock
Tisch-Kühlzentrifuge	Eppendorf Zentrifuge 5402
Tisch-Laborzentrifuge	Bachhofer, Typ HAB
Vakuummembranpumpe	Vaccubrand GmbH + Co
Vakuumpumpe mit Vakuumpumpe	Savant, Speed Vac [®] Plus SC 110A und Universal Vacuum
UV Lampe/Photodokumentationsanlage	INTAS, (365 nm, 5,2 mW/cm ²)

2.3.2 Verbrauchsmaterial

Electroporationsküvetten (1 mm)	Eurogentec, CE-0001
Microcon-30 Microconcentratoren	Amicon, 42410
Microcon-100 Microconcentratoren	Amicon, 42413
Nylonmembran Hybond TM -N ⁺	Amersham Pharmacia, RPN203B
PCR-Folie (Microseal TM) 'A' Film M7	MJ-Research, Inc. Cat. No. MSA-5001
Röntgenfilme	Kodak Scientific Imaging Film X-OMAT TM AR 35 × 43, Cat. 165 1678 Fuji, Siemens, 3221397
Rotilabo [®] -Verschlussfilm für Mikrotiterplatten	Roth, H7691

2.3.3 Chemikalien, Enzyme und Reagenzien

40 % Acrylamid (NF-Acrylamid/Bis 29:1)	Roth, A124-1
Agar (Luria Agar)	Gibco BRL, 12945-030
Agarose Type I (Low EEO)	Sigma, A6013
Alconox [®]	Sigma
Ammoniumperoxidsulfat	Serva, 13375
Borsäure	Roth, 6943.1
D(+)-Glukose	Merck, 8337
D(+)-Sucrose	Sigma, S0389
Desoxyribonukleotide (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	MBI Fermentas, R0181
Dextranblau	Fluka, 31393
Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaktion Kit	Perkin Elmer, 403044
Elektrokompetente Zellen TOP10F ⁻	Invitrogen, C664-55
Essigsäure 96 %	Merck, 1.00063
Ethanol (EtOH)	Fisher Scientific, 100986
Ethidiumbromid (10 mg/ml)	Amresco, X328
Ficoll Type 400	Sigma, F4375
Formamid	Fluka, 47670
	Amresco, 0606-UL-APP
[γ - ³² P]-dATP (10 mCi/ml)	Amersham Pharmacia, PB10204
Glycerol	Sigma, 6-7757
Harnstoff, ultra pure	Life Technologies, Gibco BRL, 15505-027
HCl (25 %)	Merck, 1.00316
Hefe Extrakt	DIFCO Laboratories, 0123-01-7
Isopropanol	Merck, 1.09634.2500
Kaliumacetat	Fisher, 104820.1000
Kanamycin Sulphat	Gibco BRL, 11815-032
KCl	Merck, 7478966
Lennox L (Low Salt Agar)	Gibco BRL, 22700-025

Längenstandard	Perkin Elmer,
GeneScan – 1000 TM ROX	401098
GeneScan – 500 TM ROX	401734
GeneScan – 500 TM TAMRA	401733
MgCl ₂	Merck, 9655288
Mineralöl	Sigma, M-5904
MOPS	Sigma, R-5503
(3-[N-Morpholin]propansulfonsäure)	
Na-Acetat	Merck, 101539
Na-Citrat (tri-Natrium-Citrat-2-Hydrat)	Merck, 1.12005.1000
NaCl	Fisher, 1.06404.5000
Na ₂ -EDTA (Ethylendiamintetraacetat)	Sigma, ED299
Na ₂ HPO ₄ •2H ₂ O	Merck, 106580
NaH ₂ PO ₄ •H ₂ O	Merck, 106346
Natriumhydroxyd (Plätzchen)	Merck, 1.06404.5000
PCR-Kit	Eurobio, 018910
MgCl ₂ (50 mM)	
Taq DNA-Polymerase (500 U)	
PCR-Puffer (10×), ohne MgCl ₂	
Phenol	Biometra, 220-945
pUC19 DNA/ <i>Msp</i> I (<i>Hpa</i> II) Marker	MBI Fermentas, SM0221
QIAGEN Plasmid Mini Kit	QIAGEN, 12125
QIAquick PCR Purification Kit	QIAGEN, 28104
Restriktionsenzym <i>Xho</i> I	MBI Fermentas, EL0014
T4 DNA-Ligase	
Ligationspuffer (10×)	
RNase A	Sigma, R-5503
S(–)-Methyl-1-Butanol (Isoamylalkohol)	Merck, 100979
SDS (Natriumdodecylsulfat)	Roth, 2326.2
TEMED (Tetramethylethyldiamin)	Amresco, 0761-25-UL-APP
Tetenal Entwickler Röntgenfilm	Siemens, 3246071

Tetenal Fixierer Röntgenfilm	Siemens, 3205300
Tris (Tris-HCl)	Roth, 9090.3
TrisBase (Tris-(hydroxymethyl)-amino-methan)	Roth, 4855.2
Triton X-100	Serva, 37240
Trypton	DIFCO Laboratories, 0123-01-1
Zero Background TM /Kan Cloning Kit (pZErO TM -2)	Invitrogen, K2600-01

2.3.4 Lösungen

Die Lösungen wurden nach Bedarf autoklaviert. Für jeden Ansatz wurde bidestilliertes Wasser verwendet.

Church-Puffer	0,3 M Na ₂ HPO ₄ •2H ₂ O 0,2 M NaH ₂ PO ₄ •H ₂ O 7 % SDS 0,001 M EDTA
Ladepuffer für native PAA-Gele (6×)	2 % Dextranblau 15 % Ficoll in H ₂ O
Luria-Agarplatten (Low Salt)	1,0 % Trypton 0,5 % Hefe Extrakt 0,5 % NaCl 1,5 % Agar pH 7,5
Luria Broth-Medium (Low Salt)	1,0 % Trypton 0,5 % Hefe Extrakt 0,5 % NaCl pH 7,5

P1 (Resuspendierungspuffer)	50 mM Tris-Cl, pH 8,0 10 mM EDTA vor Gebrauch 100 μ g RNase A/ml zugeben
P2 (Lysis Puffer)	200 mM NaOH 1 % SDS
P3 (Neutralisationspuffer)	3 M Kaliumacetat, pH 5,5
Proteinase K-Puffer	20 mM Tris-Cl, pH 7,4 4 mM EDTA 100 mM NaCl
QBT (Equilibrierungspuffer)	750 mM NaCl 50 mM MOPS, pH 7,0 15 % Isopropanol 0,15 % Triton X-100
QC (Waschpuffer)	1 M NaCl 50 mM MOPS, pH 7,0 15 % Isopropanol
QF (Elutionspuffer)	1,25 M NaCl 50 mM Tris-Cl, pH 8,5 15 % Isopropanol
SOC-Medium	2,00 % Trypton 0,50 % Hefe Extrakt 0,05 % NaCl 2,50 mM KCl 10 mM MgCl ₂ 20 mM Glukose
SSC (20 \times)	3 M NaCl 0,3 M Na-Citrat, pH 7,0

TBE (10×)	0,89 M Tris-Cl 0,89 M Borsäure 0,02 M Na ₂ -EDTA
TE-Puffer	10 mM Tris-Cl, pH 8,0 1 mM EDTA

2.3.5 Primer

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Primer zur Mikrosatellitentypisierung, RSCA, Sequenzierung und Klonierung eingesetzt (Tab. 2-4).

Tab. 2-4: Sequenzen (5'-3') und Fluoreszenzmarkierung der verwendeten Primer

Name	Primersequenz	Fluoreszenzmarkierung	Referenz*
<u>Mikrosatellitentypisierung</u>			
OLADRB	up TAC CCA GAG/T TGA GTG AAG TAT C dn TCT CTG CAG CAC ATT TCC TGG	HEX	Schwaiger et al. 1995
BM1905	up GTC CAT GGG TTC ACA AAG AG dn ACG CCT GCT GAT GCT GTA G	HEX	Bishop et al. 1994
CSR226	up TGG AGA ATT CCA TGG TTA GAG GAG dn GAT GGC TGG AAG CAG ATA CTC TAA	FAM	Davies et al. 1995
DYMS1	up AAC ACC ATC AAA CAG TAA GAG dn CAT AGT AAC AGA TCT TCC TAC A	TAMRA	Buitkamp et al. 1996
OMHC1	up ATC TGG TGG GCT ACA GTC CAT G dn GCA ATG CTT TCT AAA TTC TGA GGA A	TET	Groth und Wetherall 1994, Crawford et al. 1995
BM1815	up AGA GGA TGA TGG CCT CCT G dn CAA GGA GAC AAG TCA AGT TCC C	TET	Crawford et al. 1995, Morkos et al. 1994
<u>RSCA und Klonierung</u> [°]			
JM05	up TACTCGAGTCTCCCCGAGAGGATTCGTG		van Oorschot et al. 1994 [†]
JM06	dn TACTCGAGCTCGCCGCTGCCAGGTGAAGG	TAMRA	van Oorschot et al. 1994 [†]
JM07	dn TACTCGAGGCCGCTGCAAGGAGGTGATGAG	FAM	van Oorschot et al. 1994 [†]
<u>Sequenzierung</u>			
Sp6	up AAGCTATTTAGGTGACACTATAG		Invitrogen 1997
T7	dn CCCTATAGTGAGTCGTATTAC		Invitrogen 1997

* <http://46:46//sol.marc.usda.gov/genome/sheep/sheep.html>

[°] bei Klonierung ohne Fluoreszenzmarkierung

[†] modifiziert

Für die Analyse mit dem ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencer wurde jeweils ein Primer am 5'-Ende mit einem der fluoreszierenden Farbstoffe FAM, TAMRA, TET oder HEX markiert. Sämtliche Primer wurden zur Synthese bei der Firma Eurogentec in Auftrag gegeben. Für die sequenzspezifische Oligohybridisierung (SSO) wurden die verwendeten Oligonukleotide von Herrn Dr. Winfried Mäueler an der Universität Bochum hergestellt (Tab. 2-5).

Tab. 2-5: Primersequenzen (5'–3') für die sequenzspezifische Oligohybridisierung (SSO).

Die Namen der Oligonukleotide resultieren aus den Aminosäuren an den entsprechenden Positionen (fett gedruckt) im Exon 2 des *DRB1*-Gens. Bei den Oligonukleotiden ZB TKK, ZB STS, ZB HKS bezeichnen die fettgedruckten Triplets die Aminosäure-Position 11. I = Inosin

Name	Primersequenz	Referenz
ZB TKK	AGTATA CTAAGAA AGAGTGTCITT	Schwaiger et al. 1995
ZB STS	AGTAT TCTACGAGC GAGTGTC	Schwaiger et al. 1995
ZB HKS	TATCATA AAGAGCG AGTGTCATTT	Schwaiger et al. 1995
Z28D	GTGIGG TCCTGGAC AGATA	Schwaiger et al. 1995
Z32H	AGATA CTTCCATA AATGGAGAA	Schwaiger et al. 1995
Z32Y	AGATA CTTCTATA AIGGAGA	Schwaiger et al. 1995
Z37F	GGAGAAGAG TTCGTG CGITTC	Schwaiger et al. 1995
Z59K	CCG IICGCCA AGTACTGGAA	Schwaiger et al. 1995
Z67F	GCCAGAAGG ACTTCCT GGAG	Schwaiger et al. 1995
Z78Y	TGTGTCTGCAG TACGTG TCCA	Schwaiger et al. 1995
Z86F	AAACTCTCA AAAGAC CCCGTAGT	Schwaiger et al. 1995
Z86G	AACTCTCA CCGAC CCCGTAG	Schwaiger et al. 1995
Z86I	AAACTCTCA ATGAC CCCGTAGT	Schwaiger et al. 1995

2.4 Computersoftware zur Datenauswertung

ABI PRISM[®] 377

Perkin Elmer Applied Biosystems

DNA Sequencing 1.4 Analysis Software

GeneScan[™] 3.1 Analysis Software

Genotyper[®] 2.1 Analysis Software

Sequencher[™] 3.0

Gene Codes Corporation

VOSTROG package V5.0

Zharkikh et al. (1991)

SAS 6.12 TS020

Statistikpaket, SAS Institute Inc., Cary,
North Carolina, USA

3 Methoden

3.1 Erhebung phänotypischer Daten

Die Erhebung der phänotypischen Daten wurde von der Faculty of Veterinary Medicine, University of Glasgow unter der Leitung von Dr. M. Stear (URL-d) durchgeführt.

Ab Mai wurde den Lämmern der Jahrgänge 1993 und 1996 alle vier Wochen rektal Kotproben entnommen und die Eizahl pro Gramm Kot (epg bzw. fec) ermittelt. Dafür wurde die modifizierte McMaster Methode eingesetzt (Gordon and Whitlock 1939). Es wurden jeweils 3 g Kot untersucht. Jedes, aus einem Aliquot gezählte Ei repräsentiert 50 Eier pro Gramm Kot. 1993 wurden von August bis Oktober pro Kotprobe zwei und 1996 von jeder Kotprobe vier Wiederholungen ausgezählt.

3.2 Erhebung genotypischer Daten

3.2.1 Konzentrationsmessung von Nukleinsäuren

Die Konzentration der genomischen DNA und der Plasmid-DNA wurde durch die Messung der Absorption bei 260 nm im Spektralphotometer bestimmt. Eine DNA-Lösung der Konzentration $50 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ weist bei einer Wellenlänge von 260 nm die Absorptionseinheit 1 OD auf (Sambrook et al. 1989).

Zur Konzentrationsmessung von Oligonukleotiden wurde die Absorption einer 1:250 Verdünnung bei 260 nm photometrisch gemessen und die Konzentration nach Sambrook et al. (1989) ermittelt.

3.2.2 Agarose-Gelelektrophorese

Für die Beurteilung der Qualität und der Quantität der genomischen DNA und der Plasmid-DNA sowie zur Kontrolle der PCR-Produkte bzw. der Restriktionsverdauung wurden Agarosegele verwendet.

DNA-Fragmente länger als 500 bp (genomische DNA, Plasmid-DNA) wurden in 0,8%igen Agarosegelen mit $1\times\text{TBE}$ bei 6–8 V/cm über einen Zeitraum von 0,5–1,75 h aufgetrennt. Zur Größenbestimmung wurde ungeschnittene Lambda-Phagen-DNA verwendet.

Für Auftrennung von DNA-Fragmenten kleiner als 500 bp (PCR-Produkte, Restriktionsverdau) wurden 2,0 %ige Agarosegele eingesetzt. Die Fragmentauftrennung erfolgte bei 6–8 V/cm in 0,5–1,75 h mit 1×TBE . Der *MspI* verdaute Marker pUC19 diente als Längenstandard.

3.2.3 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

3.2.3.1 Standardreaktion

Die Standard-PCR wurde in Mikrotiterplatten durchgeführt. Zum Verdunstungsschutz wurde das PCR-Gemisch in jeder Kavität mit 2 Tropfen Mineralöl überschichtet und die Platte mit einem Verschlussfilm abgedeckt. In den Tabellen 3-1 und 3-2 ist jeweils die Zusammensetzung einer PCR-Standardreaktion und das Temperatur-/Zeitprogramm dargestellt.

Tab. 3-1: Zusammensetzung einer PCR-Standardreaktion (20 µl)

Komponenten	Konzentration der Stocklösungen	Endkonzentrationen (20 µl)
DNA		50 ng
PCR-Puffer	10 x	1 x
MgCl ₂	50 mM	1,5* - 2 - 3 mM
dNTPs	1 mM/Nukleotid	0,1 mM/Nukleotid
Primer A	10 pmol/µl	3 - 5 - 7 - 10 pmol/µl
Primer B	10 pmol/µl	3 - 5 - 7 - 10 pmol/µl
Taq-Polymerase	5 U/µl	0,025 U/µl
Wasser		ad 20 µl

* für Sequenzierung

Tab. 3-2: Temperatur-/Zeitprogramm einer Standard-PCR

Funktion	Temperatur [°C]	Zeit [min]	Zyklenzahl
Initialdenaturierung	94	5	1
Denaturierung	94	1	
Annealing	55-65	1	30
Extension	72	1	
Schlußextension	72	10	1
Abkühlung	4	00.00.00	

3.2.3.2 Optimierung der PCR-Reaktion

Um ein spezifisches PCR-Produkt zu erlangen, mussten für jeden Primer die Parameter Annealingtemperatur, Zeitverlauf, Magnesiumchlorid- und Taq-Polymerase-Konzentration optimiert werden (Tab. 3-3).

Tab. 3-3: Optimale PCR-Bedingungen für die in der Arbeit eingesetzten Primer

Primer	Annealing- Temperatur		MgCl ₂ [mM]	Primer- Konzentration [pmol/20 µl]
	[°C] / Zyklenzahl			
<u>Mikrosatelliten</u>				
OLADRB	58-55/3	55/27	1,5	10
DYMS1	61-58/3	58/27	1,5	7
OMHC1	62-57/5	57/27	1,5	3
CSR226	58-55/3	55/27	3,0	7
BM1815	63-58/5	58/27	1,5	7
BM1905	62-59/3	59/27	3,0	7
<u>Klonierung</u>				
JM05/JM06	65/30		1,5	7
JM05/JM07	65/30		1,5	7
<u>RSCA</u>				
<u>genomische DNA</u>				
JM05/JM06	63-57/5	57/27	1,5	7
JM05/JM07	63-57/5	57/27	1,5	7
<u>Plasmid-DNA</u>				
JM05/JM06	65/25		1,5	5
JM05/JM07	65/25		1,5	5
<u>Kolonie-PCR</u>				
Sp6/T7	55/30		1,5	7

Bei einigen PCR-Systemen konnte nur mit einer Touch-Down-PCR ein optimales Amplifikat erzielt werden (Tab. 3-3). In den ersten drei Zyklen wird die Annealingtemperatur jeweils um 1 °C gesenkt, die restlichen Zyklen werden mit konstanter Temperatur, die beim dritten Touch-Down-Schritt erreicht wird, durchgeführt.

Beim Mikrosatelliten BM1815 gelang es erst mit einem veränderten Zeitprogramm eine Nebenbandenbildung nahezu zu unterbinden. Zur Amplifikation genomischer DNA mit den Primersystemen JM05/JM06 und JM05/JM07 wurde ebenfalls ein verändertes Zeitprogramm eingesetzt (Tab. 3-4).

Tab. 3-4: Modifizierte Zeitprogramme zur PCR

Funktion	Zeit	
	BM1815	RSCA (genom. DNA)
Denaturierung	30 sec	30 sec
Annealing	10 sec	30 sec
Extension	5 sec	1 min

Für die ausreichend starke Amplifikation genomischer DNA mit den Primersystemen OLADRB und JM05/JM06 bzw. JM05/JM07 mussten die Konzentration der Taq-Polymerase jeweils auf 0,03 U/ μ l und 0,05 U/ μ l erhöht werden.

3.2.4 Sequenzierung mit Hilfe des ABI PRISM[®] 377 Sequencers

3.2.4.1 Sequenzierreaktion und Probenaufbereitung

Die Sequenzierreaktion wurde nach dem Kettenabbruchprinzip nach Sanger et al. (1977) durchgeführt. Verwendet wurden Sequenzieransätze mit 10 μ l und 20 μ l Reaktionsvolumen (Tab. 3-5).

Tab. 3-5: Kleiner und großer Sequenzieransatz (modifiziert nach ABI User's Manual, PRISM[™]-Tips 5)

Reagenzien	kleiner Ansatz	großer Ansatz
	(10 μ l)	(20 μ l)
Sequenziermix	4 μ l	4 μ l
Primer (1 pmol/ μ l)	1,6 μ l	3,2 μ l
Templat	bis 4,4 μ l	bis 12,8 μ l
H ₂ O	ad 10 μ l	ad 20 μ l

Als Templat dienten PCR-Fragmente und Plasmide. Für die Direktsequenzierung wurde die benötigte Templatmenge (ng) an Hand der Formel – Basenlänge des PCR-Produkts dividiert durch 10 – ermittelt (ABI User's Manual, PRISM[™]-Tips 5). Für die Sequenzierreaktion mit Plasmiden wurde bei Ansätzen mit 10 μ l und 20 μ l jeweils 300 ng und 500 ng Templat eingesetzt. Die PCR-Produkte wurden mittels des QIAquick PCR Purification Kit aufgereinigt (Qiagen 1997). Die Plasmide wurden mit dem Plasmid Mini Kit der

Firma Qiagen nach den Angaben des Herstellers isoliert (Qiagen 1997a).

Für die Sequenzierung von PCR-Fragmenten wurden genspezifische Primer und für Plasmid-DNA die Primer Sp6 und T7 verwendet. Der Reaktionsansatz wurde mit zwei Tropfen Mineralöl überschichtet und mit einem Verschlussfilm für Mikrotiterplatten abgedeckt.

Der Reaktionsansatz wurde in einen Thermocycler gestellt und das in Tabelle 3-6 dargestellte Temperaturprogramm gestartet.

Tab. 3-6: Thermocycler-Protokoll für die Sequenzierreaktion

<u>Funktion</u>	<u>Temperatur</u>	<u>Zeit</u>
Aufheizen	96 °C	00.00.00
Denaturierung	94 °C	23 sec
Hybridisierung	52 °C	15 sec
Extension	60 °C	4 min
Abkühlung	4 °C	00.00.00

Die Schritte Denaturierung, Hybridisierung und Extension wurden 24 mal wiederholt.

Anschließend wurden die Proben nach einem modifizierten Protokoll aus dem ABI User's Manual, PRISMTM-Tips 5 über eine Ethanol-fällung mit Zentrifugation präzipitiert (50 μ l, 100 % EtOH, 0,3 M NaAc, 20 min, 14000 rpm) und gewaschen (200 μ l, 70 % EtOH, 15 min, 14000 rpm).

Das in der Speed Vac 3 min lang getrocknete Pellet wurde in 4 μ l Formamid resuspendiert und 3 min bei 95 °C denaturiert.

3.2.4.2 Auftrennung der Sequenzierprodukte

Die Sequenzierprodukte wurden in einem denaturierenden 5 %-Polyacrylamidgel mit 1680 V während 10 h bei 51 °C Geltemperatur aufgetrennt. Als Elektrophoresepuffer diente 1 \times TBE. Die optimale Lademenge betrug 1,0–1,6 μ l.

3.2.4.3 Analyse und Auswertung der Sequenzierreaktion

Zur Laserdetektion der Fragmente wurde die Sequenzierreaktion mit fluoreszenzmarkierten Abbruchnukleotiden durchgeführt. Der ABI PRISM[®] 377 Sequencer kann, aufgrund der

spezifischen Emissionscharakteristika, vier Fluoreszenzfarben unterscheiden. Dafür ist bei der Sequenzierung das Filterset A notwendig (Kap. 3.2.5.3). Die Daten wurden mit Hilfe der DNA Sequencing Analysis Software verarbeitet und analysiert.

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der Sequencher™ Software. Die erhaltenen Sequenzen wurden dann mit Sequenzen der Datenbank des Europäischen Molekularbiologischen Laboratoriums (EMBL, URL-e) verglichen.

3.2.5 Mikrosatellitentypisierung mit Hilfe des ABI PRISM® 377 Sequencers

Die Polymorphismen der Mikrosatelliten können durch Amplifikation mit Hilfe der PCR und durch die anschließende Auftrennung in einem Polyacrylamidgel dargestellt werden (Weber und May 1989, Tautz 1989). Der Nachweis der Längenvariationen erfolgte über fluoreszenzmarkierte Primer und die Analyse mit dem ABI PRISM® 377 DNA Sequencer.

3.2.5.1 Amplifikation der Mikrosatelliten und Probenaufbereitung

Bei der Amplifikation der Mikrosatelliten wurde wie in Kapitel 3.2.3 dargestellt verfahren. Je nach Konzentration der PCR-Produkte wurden diese 1:3 bis 1:60 verdünnt. Die mit den Primern OLADRB, DYMS1, CSRD226 und BM1905 gewonnenen PCR-Produkte wurden zur einer Probe vereinigt (Set 1). Das Set 2 bestand aus dem Gemisch mit PCR-Produkten der Primer OMHC1 und BM1815. Von diesen Proben wurde 1 μ l zu 2 μ l Formamid gegeben, mit 0,3 μ l Längenstandard versetzt und 3–5 min bei 95 °C denaturiert.

3.2.5.2 Mikrosatellitenauftrennung

Je nach Fragmentlänge wurden die Mikrosatelliten 4–6 h mit 3000 V und bei 51 °C Geltemperatur in einem denaturierenden 5 %-Polyacrylamidgel aufgetrennt. Für die Elektrophorese wurde 1 \times TBE eingesetzt. Die Lademenge betrug 2,3 μ l.

3.2.5.3 Analyse und Auswertung der Mikrosatelliten

Die Laserdetektion der Mikrosatelliten mit Hilfe des ABI PRISM® 377 DNA Sequencers entspricht dem Prinzip der Sequenzierung (Kap. 3.2.4.3). Pro Spur können drei Fluoreszenzspektren für die Marker sowie einer für den Längenstandard geladen und ausgewertet werden.

Je nach Markierung der Primer wurden folgende Filter verwendet:

Filter A	HEX	(grün)
	FAM	(blau)
	TAMRA	(gelb)
	ROX	(rot)
Filter C	HEX	(gelb)
	FAM	(blau)
	TET	(grün)
	TAMRA	(rot)

Das Set 1 und Set 2 wurde jeweils mit dem Längenstandard GeneScan – 1000TM ROX (Filter A) und GeneScan – 500TM TAMRA (Filter C) versetzt.

Die Rohdaten wurden mit der GeneScanTM Analysis Software verarbeitet und die Allelgrößen anhand des internen Längenstandards, der Fragmente genau definierter Größe enthält, in Basenpaaren ermittelt.

Die Allellängen wurden mittels der Genotyper[®] Software ausgegeben und für die weitere Auswertung in Exceltabellen exportiert.

3.2.6 „Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA) mit Hilfe des ABI PRISM[®] 377 Sequencers (verändert nach Argüello et al. 1998)

Mit Hilfe der RSCA können in einem nativen Polyacrylamidgel Allele gleicher Länge aufgetrennt werden (Kap. 1.9). Die Hybridisierung der zu typisierenden Allele mit einem Referenzallel, bedingt eine Konformationsänderung, welche die Mobilität im Gel beeinflusst und damit eine Auftrennung der verschiedenen Allele erlaubt. Die Fluoreszenzmarkierung des Referenzalls ermöglicht den Nachweis der aufgetrennten Fragmente mit Hilfe des ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencers. Die Bestimmung der Fragmentlängen erfolgt analog zur Mikrosatellitenanalyse (Kap. 3.2.5).

3.2.6.1 Herstellung der Heteroduplexe und Probenaufbereitung

Die PCR-Bedingungen zur Amplifikation der zu typisierenden Allele und des Referenzallels sind in Kapitel 3.2.3 beschrieben. Für die PCR der Allele mit genomischer DNA

wurden unmarkierte Primer eingesetzt. Zur Herstellung des Referenzallels wurde Plasmid-DNA, in die das entsprechende Allel inkloniert war, als Templat verwendet.

Für die Hybridisierung wurden die PCR-Produkte des Referenzallels und der zu typisierenden Probe im Verhältnis 1:3 bis 1:4 zusammengemischt. Nach der Überschichtung der Proben mit Mineralöl wurden diese zur Bildung der Homo- und Heteroduplexe im Thermocycler reannealt. Das Temperaturprogramm ist in Tabelle 3-7 dargestellt.

Tab. 3-7: Temperaturprogramm für die Heteroduplexbildung

Funktion	Temperatur [°C]	Zeit [min]
Denaturierung	94	4
Reannealing	55	5
Abkühlung	15	5

Nach der Hybridisierung wurde 1 μ l vom 1:3 verdünnten Produkt zu 2 μ l Ficoll gegeben und mit 0,3 μ l Längenstandard GeneScan – 500TM ROX versetzt.

3.2.6.2 Auftrennung der Heteroduplexe

Die Fragmente wurde in einem nativen 6 %-Polyacrylamidgel (ohne Harnstoff) bei 1680 V mit 40 °C Geltemperatur 3,5 h lang aufgetrennt. Die Elektrophorese wurde mit 1×TBE durchgeführt. Von der Probe wurden 2,3 μ l geladen.

3.2.6.3 Analyse und Auswertung

Die Bestimmung der Fragmentlängen wurde analog zur Mikrosatellitentypisierung durchgeführt (Kap. 3.2.5.3). Jeder Fragmentlängenwert in Basenpaaren entsprach einem charakteristischen Mobilitätswert für ein bestimmtes Allel, das mit einem definierten Referenzallel hybridisiert wurde.

3.2.7 Sequenzspezifische Oligohybridisierung (SSO)

Für die eindeutige Typisierung der Polymorphismen im Exon 2 des *DRB1*-Gens ist die Auftrennung der beiden Allele eines Tieres notwendig. Dies ist durch die gemeinsame Amplifikation des zweiten Exons mit einen im angrenzenden Intron liegenden Mikrosatelliten, dessen Länge mit den Polymorphismen im zweiten Exon korreliert ist, möglich (Kap. 1.8).

3.2.7.1 PCR und Auftrennung der PCR-Produkte im Polyacrylamidgel

Mit Hilfe des Primers OLADRB wurde das Exon 2 des *DRB1*-Gens gemeinsam mit dem angrenzenden Mikrosatelliten amplifiziert. Die PCR-Bedingungen sind in Kapitel 3.2.3 beschrieben.

2 μ l PCR-Produkt wurden mit 4 μ l Formamid gemischt und 5 min bei 95 °C denaturiert. Davon wurde ein 2,5 μ l Aliquot in die Geltasche eines 6,0%igen denaturierenden Polyacrylamidgels geladen und 5 h lang bei 65 W mit 1×TBE aufgetrennt.

3.2.7.2 Transfer der aufgetrennten PCR-Produkte auf Membranen

Aufgrund der Silanisierung bleibt nach dem Öffnen der Gelplatten das Gel auf der Plattenunterseite haften. Auf das Gel wurde eine Nylonmembran mit entsprechender Größe unter Vermeidung von Luftblasen gelegt und mit drei Lagen Filterpapier bedeckt. Diese Schichten wurden mit der Plattenoberseite abgedeckt und zur Förderung des Transfers der PCR-Produkte vom Gel auf die Membran mit ungefähr einem Kilogramm Gewicht beschwert. Nach dem Blotten über Nacht wurde die Membran vorsichtig vom Gel abgezogen und zur Fixierung der transferierten DNA 2 h lang bei 70 °C gebacken.

3.2.7.3 Radioaktive Markierung der Oligonukleotide (verändert nach Thein und Wallace 1986)

10 pmol Oligonukleotid (20–24 bp) wurden mit 5 μ l [γ -³²P]-dATP (50 μ Ci/ μ l) und 1 U T4 Polynukleotidkinase (PNK) in einem Gesamtvolumen von 10 μ l in 1×Polynukleotidkinasepuffer phosphoryliert. Nach einstündiger Inkubation bei RT wurde die Reaktion mit 400 μ l 0,05 M EDTA abgestoppt.

3.2.7.4 Hybridisierung (verändert nach Church und Gilbert 1984)

Alle Hybridisierungen erfolgten in Glasröhren in temperierbaren Drehinkubatoren. Die Membranen wurden für 10 min mit 20 ml 6×SSC bei RT äquilibriert und 1 h lang mit 10 ml Church-Puffer auf Hybridisierungstemperatur prähybridisiert. Dann wurde der Church-Puffer erneuert und 100 μ l (10⁶ cpm/ml) vom markierten Oligonukleotid zugegeben und 2 h lang bei der optimalen Hybridisierungstemperatur (T_H) hybridisiert (Tab. 3-8). Diese wurde entsprechend der Basenzusammensetzung errechnet (Thein und Wallace 1986).

Nach der Hybridisierung wurden die Membranen mehrere Male gewaschen. Im ersten Waschschrift wurden 10 ml $2\times$ SSC, versetzt mit 0,1 % SDS, zugegeben und 5 min bei RT inkubiert. Nach dem Entfernen der Waschlösung wurde dieser Schritt wiederholt. Danach wurden die Membranen 5 min lang mit 10 ml vorgewärmtem $1\times$ SSC und 0,1 % SDS bei Hybridisierungstemperatur gewaschen. Der anschließende Waschgang erfolgte mit ebenfalls vorgewärmtem 0,5 %igem SSC, gemischt mit 0,1 % SDS, bei Hybridisierungstemperatur. Dieser Schritt wurde drei mal wiederholt.

Die Membranen wurden mit Filterpapier abgetrocknet, in Klarsichtfolie eingeschlagen und auf Röntgenfilme mit Verstärkerfolie 16 h lang bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Röntgenkassetten exponiert. Bei schwachen Signalen wurde die Expositionsdauer auf bis zu 48 h erhöht.

Zur Entfernung des radioaktiven Oligonukleotids wurden die Membranen mindestens 2 h lang bei $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ in einer Stripplösung (5 mM EDTA, pH 8,0, 0,1 % SDS) gewaschen.

Der Hybridisierungsvorgang wurde für alle in Tabelle 3-8 dargestellten Oligonukleotide wiederholt.

Tab. 3-8: Hybridisierungstemperaturen der Oligonukleotide

Primer	Schmelz-	Hybridisierungs-
	Temperatur (T_M)	Temperatur (T_H)
	[$^{\circ}\text{C}$]	[$^{\circ}\text{C}$]
ZB TKK	63	61
ZB STS	64	61
ZB HKS	62	61
Z28D	65	61
Z32H	56	51
Z32Y	53	50
Z37F	65	60
Z59K	64	58
Z67F	64	61
Z78Y	65	64
Z86F	64	61
Z86G	64	65
Z86I	64	63

3.2.7.5 Entwicklung und Auswertung der Röntgenfilme

Die Entwicklung der Röntgenfilme erfolgte mittels handelsüblicher Chemikalien nach Angaben des Herstellers.

Ausgewertet wurde das Vorhandensein einer Bande.

3.2.8 Klonierung von PCR-Produkten mit „überstehenden“ Enden

3.2.8.1 Vorbereitung der PCR-Fragmente zur Klonierung

Die Klonierung von PCR-Fragmenten erfolgte durch die Ligation mit pZErOTM-2 Vektoren nach dem Protokoll des Herstellers (Invitrogen 1997). Kompatible Enden von Vektor und PCR-Produkt wurden durch den Verdau mit dem Restriktionsenzym *Xho*I erzeugt. Der Reaktionsansatz ist in Tabelle 3-9 dargestellt.

Die Ansätze wurden 2 h bei 37 °C inkubiert und anschließend das Enzym durch 20 minütiges Erhitzen im Wasserbad bei 65 °C inaktiviert. Zum Abtrennen der Primer und der durch den Verdau entstandenen Fragmente wurde der gesamte Ansatz mit Hilfe der Microcon-100 Säulen aufgereinigt.

Tab. 3-9: Reaktionsansatz für den Verdau von PCR-Produkten

Komponenten	eingesetztes Volumen (100 µl)
PCR-Produkt	20 µl
Puffer + BSA (10 x)	10 µl
Enzym (40 U/µl)	4 µl
Wasser	66 µl

3.2.8.2 Ligation

Die aufgereinigten PCR-Fragmente wurden mit Hilfe des Enzyms T4 DNA-Ligase in einen pZErOTM-2 Vektor ligiert. Es wurde ein zweifacher molarer Überschuss von Insert zu Vektor angestrebt. Der Ligationsansatz ist in Tabelle 3-10 dargestellt.

Die Inkubation erfolgte 30 min bei 16 °C im Wasserbad. Anschließend wurde die Ligase 10 min bei 65 °C inaktiviert.

Tab. 3-10: Ligationsansatz

Komponenten	eingesetztes Volumen (10 μ l)
pZErO TM -2 (linearisiert)	x μ l
verdautes Insert	y μ l
Ligationspuffer (10 x, mit ATP)	1 μ l
T4 DNA-Ligase (4 U/ μ l)	0,5 μ l
Wasser	ad 10 μ l

3.2.8.3 Transformation von Plasmid-DNA

Elektrotransformation (Elektroporation) Für die Transformation der Bakterien (*E. coli*) wurde eine Elektroporation mit 1600V, 201 Ω und 25 μ F durchgeführt.

Dazu wurden 40 μ l Zellsuspension auf den gesamten Ligationsansatz pipettiert und 1 min auf Eis inkubiert. Nach der Transformation wurde die Lösung in 1 ml SOC-Medium resuspendiert. Die Zellsuspension wurde 1–2 h bei 37 °C mit 200–220 rpm inkubiert. Davon wurden 100 μ l auf LB-Agarplatten (mit 25–50 μ g/ml Kanamycin) ausgestrichen und bei 37 °C im Brutschrank über Nacht inkubiert.

Gewinnung des Plasmids Die Isolierung der Plasmid-DNA wurde mit dem Plasmid Mini Kit von der Firma Qiagen nach Angaben des Herstellers durchgeführt (Qiagen 1997a). Verwendet wurden 5 ml LB-Medium, inokuliert mit einer Einzelkolonie.

Alternativ wurde das Insert durch die Kolonie-PCR gewonnen. Dabei diente für die PCR (Tab. 3-3) eine Einzelkolonie als Templat. Für die Amplifikation wurden die Primer Sp6 und T7 eingesetzt.

3.3 Statistische Methoden

3.3.1 Charakterisierung der typisierten Mikrosatelliten-Loci

3.3.1.1 Berechnung der Allelfrequenz

Die Allelfrequenzen der verschiedenen Marker wurden anhand der Elterntiere ermittelt. Die Frequenz eines Allels q_i ergibt sich aus dem Verhältnis der absoluten Häufigkeit des Allels x_i und der Gesamtzahl der im Untersuchungspanel vertretenen Allele.

Die Allelfrequenz q_i wird nach folgender Formel berechnet:

$$q_i = \frac{x_i}{\sum_{i=1}^n x_i} \quad (1)$$

3.3.1.2 Informationsgehalt der Marker (PIC)

Der Markerpolymorphismus kann durch die von Botstein et al. (1980) beschriebene Kennzahl PIC („polymorphism information content“) dargestellt werden und dient als ein Maß für den Informationsgehalt eines Markers. Er ist abhängig von der Anzahl der Markerallele (n) und deren Frequenz (q_i) in der Population.

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^n q_i^2 \right) - \left(\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2q_i^2 q_j^2 \right) \quad (2)$$

Der Polymorphiegrad kann am Anteil der Individuen, die für den entsprechenden Marker heterozygot sind geschätzt werden. Durch den Markerpolymorphismus wird die Wahrscheinlichkeit, eine genetische Kopplung zwischen Allelen eines Locus und eines Markers zu detektieren, maßgeblich beeinflusst.

Die Werte des PIC liegen zwischen 0 und 1. Dabei kennzeichnen Werte höher als 0,5 einen hoch informativen Marker (Botstein et al. 1980).

3.3.2 Assoziationsanalyse zur Resistenz gegen *O. circumcincta*

Zur Schätzung des Einflusses bestimmter Markerallele auf die Eizahl und damit auf die Resistenz gegen *O. circumcincta* wurden lineare Modelle eingesetzt und Varianzanalysen durchgeführt. Als Basiskonzept für das Schätzverfahren unabhängiger Einflussvariablen auf ein abhängiges Merkmal wurde die „Methode der kleinsten Quadrate“ herangezogen. Dabei wurden die Einflussfaktoren so geschätzt, dass bei den Stichprobendaten die Summe der quadrierten Abweichungen zwischen Beobachtungswert und Schätzwert ein Minimum wird.

Zur Analyse der Daten wurde das Statistik Paket SAS eingesetzt und die Varianzanalyse-Prozedur PROC GLM (General Linear Models) verwendet. Der Test der Effekte auf Signifikanz unter der globalen Nullhypothese wurde mit Hilfe der Summenquadrate (SQ) Typ III durchgeführt.

3.3.2.1 Einflussfaktoren

Die Effekte bedingt durch Vater, Mutter und Geschlecht üben einen maßgeblichen Einfluss auf das Merkmal Eizahl aus (Bishop et al. 1996, Stear et al. 1997, Kap. 1.5). Deshalb wurden diese Faktoren im Modell als Haupteffekte berücksichtigt. Der Muttereffekt war dabei innerhalb des Vaters genestet.

Die Datensätze der Tiere aus dem Jahrgang 1993 und 1996 wurden sowohl separat als auch gemeinsam mit zwei linearen Modellen analysiert. Bei der Analyse des gemeinsamen Datensatzes wurde dementsprechend der Faktor Jahr als Haupteffekt in das Modell aufgenommen. Die Väter und Mütter aus beiden Jahrgängen gehen als genestete Effekte innerhalb des Jahrgangs in das Modell ein. Der Einflussfaktor Mutter ist dann innerhalb der Faktorkombination $Jahr \times Vater$ genestet.

Für sämtliche Marker entstanden bei der Analyse mit dem zweiten Modell mehrere Teildatensätze (Sets), zwischen denen keinerlei Verbindung („disconnected“) hinsichtlich der eingesetzten Mütter und den Genotypen bestand (Searle 1971). Zum Beispiel wurden bei der Analyse des *DRB1*-Locus (Primer OLADRB) 13 Sets gebildet. Diese Teildatensätze resultieren aus der für *MHC*-Gene typischen großen Anzahl von Allelen von denen einige selten vertreten oder spezifisch für den jeweiligen Jahrgang sind. Innerhalb dieser Datensätze waren die Einflussfaktoren Mutter und Genotyp kreuzklassifiziert. Die einzelnen Datensätze (Sets) wurden als Haupteffekte bei der Analyse berücksichtigt. Gleichzeitig geht der Genotyp als genesteter Effekt innerhalb dieser Datensätze in das Modell ein. Die Mutter ist bei der Analyse des gemeinsamen Datensatzes innerhalb der Faktorkombination aus $Set \times Jahr \times Vater$ genestet.

3.3.2.2 Statistische Modelle

Für den *DRB1*-Locus sowie für die Mikrosatelliten DYMS1 und OMHC1 wurde unter Verwendung von zwei linearen Modellen der Einfluss bestimmter Allele und Genotypen

auf das Merkmal Eizahl ermittelt. Bei den Markern CSRD226, BM1815 und BM1905 wurde nur der Einfluss der Genotypen auf die Resistenz untersucht.

Im folgenden werden die zwei verwendeten Modelle am Beispiel des *DRB1*-Locus mit dem vereinigten Datensatz aus den Jahrgängen 1993 und 1996 erklärt. Bei der Analyse der übrigen Marker wurden die Modelle entsprechend angepasst.

Modell 1: Lineares Modell mit Regression auf die Anzahl Allele

$$y_{jklpm} = \mu + sex_j + \alpha_k + s_{kl} + d_{klp} + b_1 x_{1\ jklpm} + \dots + b_n x_{n\ jklpm} + e_{jklpm}$$

Modell 2: Lineares Modell mit direkter Berücksichtigung der Genotypen

$$y_{ijklpnm} = \mu + set_i + sex_j + \alpha_k + s_{kl} + d_{iklp} + (mhc_1 \times mhc_2)_{in} + e_{ijklpnm}$$

$y_{jklpm}, y_{ijklpnm}$	$\log(epg_{jklpm} + \delta)$ bzw. $\log(epg_{ijklpnm} + \delta)$ mit $\delta = 15$, epg entspricht der Eizahl pro Gramm Kot des Lammes im 6. Monat
μ	„Mittelwert“ von y
set_i	fixer Effekt des Teildatensatzes i ($i = 1, \dots, 13$)
sex_j	fixer Effekt des Geschlechts $j = 1$ (männlich), 2 (weiblich)
α_k	fixer Effekt des Jahres $k = 1$ (1993), 2 (1996)
s_{kl}	fixer Effekt des Vaters l genestet innerhalb des Jahres k
d_{klp}	(fixer) Effekt der Mutter p genestet innerhalb $Jahr \times Vater$
d_{iklp}	(fixer) Effekt der Mutter p genestet innerhalb $Teildatensatz \times Jahr \times Vater$
b_n	Regressionskoeffizienten ($n = 1, \dots, 21$), b_n gibt die Regression von y auf die Anzahl des Allels n wider
$x_{n\ jklpm}$	Anzahl des Allels n beim Tier $jklpm$ ($x = 0, 1, 2$)
$(mhc_1 \times mhc_2)_{in}$	Einfluss des Genotypen n ($n = 1, \dots, 66$) am <i>DRB1</i> -Locus genestet innerhalb der Teildatensätze i
$e_{jklpm}, e_{ijklpnm}$	Restgrösse von y_{jklpm} bzw. $y_{ijklpnm}$, die nicht durch die anderen Effekte des Modells erklärt werden können

Das Modell 1 (Regressionsmodell) hat eine Besonderheit. Es gilt bei jedem Tier:

$$\sum_{n=1}^{21} x_n \text{ }_{jklpm} = 2$$

Die Spalten der Matrix für die Regressionen (b_1, \dots, b_{21}) sind voneinander linear abhängig, da eine der vorhandenen Spalten als Linearkombination der anderen dargestellt werden kann. Damit hat diese Matrix keinen vollen Spaltenrang, so dass nicht alle 21 Regressionskoeffizienten schätzbar sind. Um eine Lösung zu erhalten, wird ein Regressionskoeffizient auf Null gesetzt. In der folgenden Auswertung wurde der Regressionskoeffizient b_I (für das Allel I) auf Null gesetzt. Somit kann zum Beispiel die Differenz zwischen dem Regressionskoeffizienten für das Allel D und dem für das Allel I geschätzt werden.

Da das Regressionsmodell bei intermediärer Vererbung gültig ist, können zur Interpretation der oben genannten Ergebnisse die Erwartungswerte für die Eizahl der Genotypen betrachtet werden:

$$\begin{aligned} Ey_{II} &= \mu + sex_j + \alpha_k + s_{kl} + d_{klp} + 0 \\ Ey_{ID} &= \mu + sex_j + \alpha_k + s_{kl} + d_{klp} + b_D \\ Ey_{DD} &= \mu + sex_j + \alpha_k + s_{kl} + d_{klp} + 2b_D \end{aligned}$$

Der Erwartungswert für die Eizahl des Genotypen II dient als Ausgangs- oder Vergleichsniveau. Die Erwartungswerte der anderen Genotypen stellen eine Abweichung von II dar. Beim Genotyp ID trägt nur das Allel D zur Abweichung bei. Beim Genotyp DD gehen beide Allele in die Differenz ein.

Wie in der Abbildung 3-1 dargestellt wird, ist das Regressionsmodell bei intermediärer Vererbung optimal (keine Dominanz oder Überdominanz). Dominanz bezeichnet hier jegliche Abweichung von der intermediären Vererbung (partielle, vollständige Dominanz und Überdominanz).

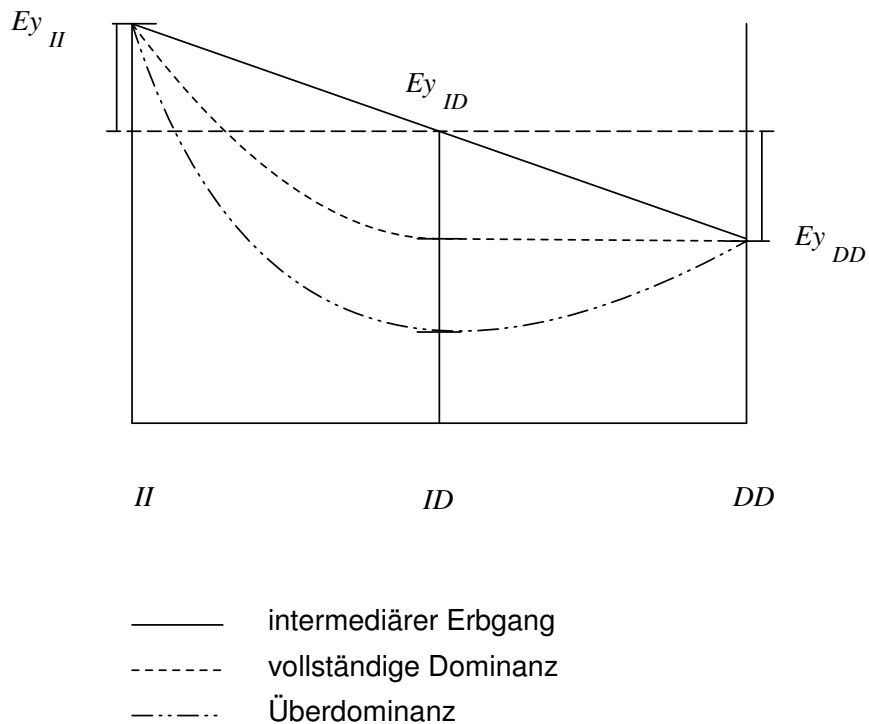


Abb. 3-1: Erwartungswerte der Eizahl (Ey) verschiedener Genotypen bei intermediärer Vererbung, vollständiger Dominanz und Überdominanz. Auf der x-Achse sind die Genotypen aufgetragen. Auf der y-Achse sind die Erwartungswerte (Ey) der entsprechenden Genotypen dargestellt.

Bei intermediärer Vererbung entspricht der Erwartungswert für die Eizahl des Heterozygoten (ID) dem Mittelwert der jeweiligen Homozygoten (II und DD). Bei vollständiger Dominanz von Allel D liegt der Erwartungswert des Heterozygoten ID auf der Höhe des Homozygoten DD . Bei Überdominanz zeigt der Heterozygote ID im Vergleich zu den Homozygoten II und DD einen niedrigeren Erwartungswert für die Eizahl (Falconer und Mackay 1996). Dementsprechend ist die Dominanz als eine Abweichung von der linearen Regression zu interpretieren und kann mit Hilfe des Regressionsmodells nicht erfasst werden.

Das Modell 2 lässt die Schätzung des Genotypeffekts zu. Es ermöglicht damit die Schätzung von Dominanz, da der Wert des Heterozygoten mit den beiden zugehörigen Homozygoten verglichen und getestet werden kann.

Zur Klassifikation der Schätzwerte im Ergebnisteil wurden folgende Grenzen der Irrtumswahrscheinlichkeiten für die angegebenen Signifikanzniveaus gewählt:

$p < 0,001$	***	höchst signifikant
$p < 0,01$	**	hoch signifikant
$p < 0,05$	*	signifikant
$p > 0,05$	n. s.	nicht signifikant

3.3.2.3 Logarithmische Transformation des Merkmals Eizahl

Die Anwendung der beiden Modelle bzw. der verwendeten Testverfahren setzt eine Normalverteilung der Residuen ($e_{jklpm}, e_{ijklpnm}$) voraus. Um eine Normalverteilung möglichst gut zu approximieren, wird eine logarithmische Transformation der Eizahlen durchgeführt, wobei der Wert δ zu den ursprünglichen Eizahlen addiert wird ($\log_{10}(epg + \delta)$). Der beste δ -Wert wird anhand der Häufigkeitsverteilung der Residuen, die das Verhalten einer Stichprobe aus einer Normalverteilung mit Mittelwert Null widerspiegeln soll, ermittelt. Die Güte der approximativen Normalverteilung wird über die Maßzahlen der Schiefe und Kurtosis, welche bei Normalverteilung Null sind, beurteilt (Precht 1987).

$$\text{Schiefe}(e) = E\left(\frac{e - E_e}{\sigma_e}\right)^3 \quad (3)$$

$$\text{Kurtosis}(e) = E\left(\frac{e - E_e}{\sigma_e}\right)^4 - 3 \quad (4)$$

e Restgröße

E_e Erwartungswert der Restgröße

σ_e Standardabweichung der Restgröße

4 Ergebnisse

4.1 Markertypisierung

4.1.1 Polymorphismen der *DRB1*-Allele bei Tieren aus den Jahrgängen 1993 und 1996

Zur Typisierung der *DRB1*-Allele wurden sowohl die Polymorphismen im Exon 2 als auch die Allellängen eines im angrenzenden Intron liegenden Mikrosatelliten erfasst. Die Bezeichnung der Allele, die anhand der kombinierten Typisierung der exonischen und intronischen Polymorphismen unterschieden werden können, erfolgte in Großbuchstaben. Diese Allelbezeichnung wurde von Schwaiger et al. (1995) übernommen, da beim Schaf noch keine offizielle Nomenklatur für *DRB1*-Allele existiert.

Bei den Tieren aus den Jahrgängen 1993 und 1996 wurden die exonischen Polymorphismen mit Hilfe der sequenzspezifischen Oligohybridisierung (SSO) typisiert. Mit Hilfe von 13 Oligonukleotiden (Tab. 2-5) wurden im Exon 2 des *DRB1*-Gens 8 hypervariable Regionen typisiert (Tab. 4-1, Abb. 4-1). Die verwendeten Oligonukleotide wurden auf der Basis von *DRB1*-Sequenzdaten von Schaf, Ziege und Rind für polymorphe Positionen innerhalb des zweiten Exons des *DRB1*-Gens abgeleitet (Andersson et al. 1991, Ammer et al. 1992, Schwaiger et al. 1993, 1995). Mit den Oligonukleotiden ZB TKK/ZB STS/ZB HKS und Z32H/Z32Y wurden schafspezifische Aminosäuren an den Positionen 11 und 32 erfasst.

Die Mikrosatellitenlänge der Tiere des Jahrgangs 1993 wurde im Rahmen der SSO über die Allelauftrennung im Polyacrylamidgel bestimmt (Schwaiger et al. 1995). Die Mikrosatellitentypisierung des Jahrgangs 1996 erfolgte mit Hilfe des ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencers. Die Allelbezeichnung der Mikrosatelliten am *DRB1*-Locus bezieht sich auf die Fragmentlänge und ist dementsprechend in Basenpaaren angegeben (Tab. 4-1). Die Fragmentlängen resultieren aus der Länge der zweiten Exons und der Länge des angrenzenden Mikrosatelliten, da diese mit dem Primersystem OLADRB gleichzeitig amplifiziert wurden.

Wie aus der Tabelle 4-1 hervorgeht konnten im Jahrgang 1993 durch die kombinierte Typisierung der exonischen und intronischen Polymorphismen 19 verschiedene Allele

detektiert werden. Bei den Tieren aus dem Jahrgang 1996 wurden 18 Allele gefunden. Gleichzeitig wird in dieser Tabelle dargestellt welche exonischen und intronischen Polymorphismen miteinander korreliert sind. Für jedes Allel ist die Mikrosatellitenlänge und das entsprechende Hybridisierungsmuster der 13 Oligonukleotide dargestellt.

Tab. 4-1: Darstellung der verschiedenen *DRB1*-Allele beim Scottish Blackface Schaf aus den Jahrgängen 1993 und 1996, die durch die kombinierte Typisierung der intronischen und exonischen Polymorphismen ermittelt wurden. Die umrahmten Allele zeigen ein identisches Hybridisierungsmuster, sind aber an unterschiedlich lange Mikrosatelliten gekoppelt.

<i>DRB1</i> -Allele		Mikrosatellit (bp)	Hybridisierungsmuster der verschiedenen Oligonukleotide												
1993	1996		TKK	STS	HKS	28D	32H	32Y	37F	59K	67F	78Y	86F	86G	86I
A	A	462	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
B	B	490	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-
C	C	496	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+
D	D	500	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-
E	-	498	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-
F	F	512	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-
G1	G1	524	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
G2	G2	524	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
-	H0	534	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
H1	-	534	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
-	H3	536	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-
H2	-	534	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+
I	I	540	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+
K	K	546	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+
L	L	554	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+
M	M	562	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+
N	N	580	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+
O	O	584	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+
P	-	852	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
Q	-	>800	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
R	-	876	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
-	T	872	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
-	U	914	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
-	V	944	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-

Wie aus der Tabelle 4-1 ersichtlich ist, zeigten die für den Jahrgang 1993 spezifischen Allele *P*, *Q*, *R*, die für den Jahrgang 1996 spezifischen Allele *T*, *U*, *V*, die Allele *N*, *O* und die Allele *H2*, *I*, *K* jeweils ein gleiches Hybridisierungsmuster auf, waren aber an unterschiedlich lange Mikrosatelliten gekoppelt. Dagegen waren die Allele *G1* und *G2* sowie die Allele *H0*, *H1* und *H2* jeweils mit einem gleich langen Mikrosatelliten korreliert. Die jahrgangstypischen Allele traten in sehr geringer Frequenz auf.

In der Abbildung 4-1 sind die Aminosäure-Sequenzen der im Jahrgang 1993 und 1996 typisierten Allele mit den polymorphen Bindestellen für die Oligonukleotide dargestellt.

	ZB TKK		Z32Y				Z86G					
Oligonukleotide	ZB STS		Z32H				Z86F					
	ZB HKS	Z28D	Z37F		Z59K	Z67F	Z78Y	Z86I				
	11	21	31	41	51	61	71	81				
<i>HLA-DRB1</i>	EQSKSECHFFNGTERVRFVLDYFYNQEEYVRFDSVGEYRAVTELGRPDAEYWN SQKDLLEQRRRAVD TYCRHNYGVGESFTVQRR											
<i>OLA-DRB1 A</i>	-YYR	-x-x-	-x-2-	-H-G-	-F-	-x-W-	-x-	-2-	-xxxxxx-	-2-	-x-	
<i>OLA-DRB1 B</i>	-YH	-x-x-	-x-	-2-G-	-2-	-x-W-	-x-	-2-	-F-	-xxxxxx-	-F-	-x-
<i>OLA-DRB1 C</i>	-VH	-x-x-	-x-	-G-	-2-	-x-W-	-x-	-2-	-F-	-xxxxxx-	-I-	-x-
<i>OLA-DRB1 D</i>	-Y222	-x-x-	-x-2-	-G-	-2-	-x-W-	-x-	-K-	-2-	-xxxxxx-	-x-	
<i>OLA-DRB1 E</i>	-YH	-x-x-	-x-	-2-G-	-2-	-x-W-	-x-	-2-	-F-	-xxxxxx-	-x-	
<i>OLA-DRB1 F</i>	-YH	-x-x-	-x-	-G-	-2-	-x-W-	-x-	-2-	-2-	-xxxxxx-	-F-	-x-
<i>OLA-DRB1 G1</i>	-YT-K	-x-x-	-x-	-G-	-2-	-x-W-	-x-	-2-	-2-	-xxxxxx-	-x-	
<i>OLA-DRB1 G2*</i>	-Y-T	-x-	-x-	-G-TL	-w-	-A-	-K-	-EI-	-RK-	-x-	-x-	
<i>OLA-DRB1 H0</i>	-YT-K	-x-x-	-x-	-G-	-2-	-x-W-	-x-	-2-	-2-	-xxxxxx-	-I-	-x-
<i>OLA-DRB1 H1</i>	-YT-K	-x-	-x-	-G-	-2-	-x-W-	-x-	-2-	-2-	-xxxxxx-	-2-	-x-
<i>OLA-DRB1 H3</i>	-YT-K	-x-x-	-x-	-H-G-	-2-	-x-W-	-x-	-K-	-F-	-xxxxxx-	-x-	
<i>OLA-DRB1 H2</i>	-YT-K	-x-x-	-x-	-H-G-	-2-	-x-W-	-x-	-K-	-F-	-xxxxxx-	-I-	-x-
<i>OLA-DRB1 I*</i>	-YT-K	-S-	-x-	-H-G-	-TL-	-W-	-A-	-K-	-F-	-RA-	-I-	-x-
<i>OLA-DRB1 K</i>	-YT-K	-x-x-	-x-	-H-G-	-2-	-x-W-	-x-	-K-	-F-	-xxxxxx-	-I-	-x-
<i>OLA-DRB1 L*</i>	-YT-K	-x-	-x-	-G-	-Y-	-W-	-A-	-K-	-F-	-R-T-	-I-	-x-
<i>OLA-DRB1 M*</i>	-Y-T	-x-	-x-	-G-	-W-	-A-	-K-	-EI-	-R-	-TE-	-I-	-S-
<i>OLA-DRB1 N O</i>	-YT-K	-x-x-	-x-	-H-G-	-2-	-x-W-	-x-	-K-	-2-	-xxxxxx-	-I-	-x-
<i>OLA-DRB1 P Q R T U V</i>	-YT-K	-x-x-	-x-2-	-G-	-2-	-x-W-	-x-	-2-	-2-	-xxxxxx-	-x-	

Ab. 4-1: Darstellung der abgeleiteten AS-Sequenz des zweiten Exons der bei den Tieren aus den Jahrgängen 1993 und 1996 typisierten ovinen *DRB1*-Allele, verglichen mit der humanen *HLA-DRB1*-Konsensussequenz (EMBL Accession No. AF142463). Der Name des Oligonukleotids gibt die Aminosäure an der korrespondierenden Position innerhalb des zweiten Exons des *DRB1*-Gens an. Zum Beispiel sind die Oligonukleotide Z86F, Z86G und Z86I jeweils spezifisch für das 86. Codon Phenylalanin, Glycin und Isoleucin. *das Exon 2 dieser Allele wurde 1993 sequenziert (Schwaiger et al. 1996). – entspricht der AS der *HLA-DRB1*-Konsensussequenz. 2: hybridisiert mit keinem Oligonukleotid. x: polymorphe Position, für die kein Oligonukleotid konstruiert wurde.

4.1.2 Charakterisierung der typisierten Mikrosatelliten-Loci bei Tieren aus dem Jahrgang 1996

Die Typisierung des Mikrosatelliten am *DRB1*-Locus und der Marker DYMS1, OMHC1, CSRD226, BM1815 und BM1905 bei den Tieren aus dem Jahrgang 1996 erfolgte mit Hilfe des ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencers. Die Allellängen sind in Basenpaaren angegeben.

4.1.2.1 Fragmentlängen und Anzahl der Allele pro Marker

Für die Multiplexanalyse mehrerer Mikrosatelliten-Loci in einer Spur wurden unterschiedliche Fluoreszenzmarkierungen verwendet und verschiedene Mikrosatelliten unterschiedlicher Fragmentlängenbereiche mit der gleichen Farbmarkierung kombiniert.

In der Tabelle 4-2 ist für jeden Marker der gefundene Fragmentlängenbereich sowie die Anzahl der Allele im Vergleich zur publizierten Allelgröße und Allelzahl dargestellt.

Tab. 4-2: Fragentlänge und Anzahl der Allele der typisierten Marker

Marker	erwartete Fragmentlänge (bp)*	Anzahl publizierter Allele*	analysierte Fragmentlänge (bp)	Anzahl gefundener Allele
OLADRB	461 - >800	19	462 - 944	18
BM1905	170 - 199	11	192 - 194	2
CSRD226	149 - 195	18	204 - 242	12
DYMS1	180 - 224	17	180 - 226	16
OMHC1	182 - 210	11	182 - 206	11
BM1815	140 - 170	6	137 - 163	12

* <http://46:46//sol.marc.usda.gov/genome/sheep/sheep.html>
<http://46:46//sol.marc.usda.gov/genome/cattle/cattle.html>
 Schwaiger et al. (1996)

Mit Ausnahme der Marker CSRD226 und BM1905 lagen bei sämtlichen analysierten Markern die Fragmentlängen und die Anzahl der Allele im erwarteten Bereich. Beim Scottish Blackface Schaf war der Mikrosatellit CSRD226 um etwa 50 bp länger und weniger polymorph. Im Gegensatz zum Rind war der Marker BM1905 beim Scottish Blackface Schaf mit zwei Allelen kaum polymorph.

4.1.2.2 Allelfrequenz und PIC der typisierten Mikrosatelliten

In der Tabelle 4-3 sind sämtliche Allellängen der verschiedenen Mikrosatelliten aufgeführt

(GeneScan-Fragmentgrößen). n gibt die Anzahl der Tiere (Eltern und Nachkommen) aus denen die identischen Allelgrößen und ihre Standardabweichung (SD) ermittelt wurden. Pro Marker wurden die PIC-Werte und die Allelfrequenzen (q_i) (Kap. 3.3.1.1) anhand von n Elterntieren ermittelt.

Der PIC-Wert gibt über den Polymorphiegrad jedes einzelnen Mikrosatelliten Auskunft. Die Anzahl der Allele je Locus lag zwischen 2 und 18 (Tab. 4-3). Mit Ausnahme des Mikrosatelliten BM1905 waren sämtliche Marker mit einem PIC über 0,79 hoch polymorph.

Tab. 4-3: Allelgrößen, Standardabweichung (SD), Allelfrequenzen (q_i) und PIC-Wert der typisierten Mikrosatelliten bei den Tieren aus dem Jahrgang 1996. Die Allelgröße und deren Standardabweichung wurde aus n Eltern und Nachkommen ermittelt. Die Allelfrequenzen und PIC-Werte wurden aus n Elterntieren berechnet.

Gen-/MS-Locus	Allelgröße (bp)	Allelgröße (gemittelt)	SD	Allelfrequenz (q_i)	PIC-Wert	MS-Locus	Allelgröße (bp)	Allelgröße (gemittelt)	SD	Allelfrequenz (q_i)	PIC-Wert		
OLADRB	462 (A)	462,10	0,30	0,05	0,85	CSRD226	204	203,90	0,04	0,01	0,79		
	490 (B)	490,29	0,09	0,004			206	205,65	0,08	0,14			
	496 (C)	495,67	0,04	0,05			210	209,67	0,05	0,30			
	500 (D)	500,14	0,45	0,21			212	211,69	0,13	0,15			
	512 (F)	512,89	0,11	0,04			214	213,60	0,10	0,03			
	524(G1/G2)	524,36	0,30	0,11			216	215,87	0,05	0,01			
	534 (H0)	534,16	0,45	0,01			218	217,51	0,08	0,07			
	536 (H3)	536,42	0,32	0,01			220	219,47	0,19	0,05			
	540 (I)	539,49	0,02	0,26			222	221,47	0,22	0,21			
	546 (K)	545,91	0,10	0,04			224	223,75	0,05	0,003			
	554 (L)	553,12	0,04	0,09			240	240,85	0,01	0,003			
	562 (M)	562,62	0,02	0,05			242	242,10	0,02	0,02			
	580 (N)	579,43	0,06	0,04			Tierzahl		(n=328)	(n=142)			
	584 (O)	583,17	0,08	0,02			OMHC1	182	182,47	0,02		0,07	0,84
	872 (T)	871,95	0,54	0,01				188	188,60	0,04		0,02	
914 (U)	914,65	0,44	0,01	190	190,26	0,08		0,25					
944 (V)	943,95	0,56	0,01	192	192,20	0,06		0,14					
Tierzahl		(n=326)	(n=142)		194	194,14		0,02	0,07				
					196	196,09		0,01	0,09				
					198	198,10		0,05	0,16				
					200	200,07		0,00	0,05				
					202	201,81		0,38	0,02				
					204	203,94		0,08	0,10				
					206	205,95		0,05	0,004				
					Tierzahl		(n=330)	(n=141)					

MS-Locus	Allelgröße (bp)	Allelgröße (gemittelt)	SD	Allelfrequenz (q_i)	PIC-Wert
DYMS1	180	179,57	0,09	0,004	0,84
	182	181,25	0,12	0,05	
	196	195,78	0,11	0,14	
	200	200,60	0,35	0,03	
	202	201,87	0,02	0,04	
	204	204,39	0,08	0,06	
	206	206,53	0,07	0,02	
	208	208,03	0,04	0,004	
	210	210,62	0,07	0,02	
	212	212,30	0,03	0,01	
	216	215,98	0,39	0,07	
	218	217,80	0,15	0,16	
	220	219,92	0,35	0,27	
	222	222,61	0,42	0,09	
	224	224,41	0,08	0,01	
	226	226,03	0,23	0,01	
Tierzahl		(n=328)		(n=141)	

MS-Locus	Allelgröße (bp)	Allelgröße (gemittelt)	SD	Allelfrequenz (q_i)	PIC-Wert
BM1815	137	136,76	0,06	0,03	0,84
	139	139,02	0,07	0,14	
	141	140,05	0,04	0,03	
	147	146,83	0,03	0,02	
	149	148,90	0,04	0,05	
	151	150,98	0,04	0,14	
	153	153,80	0,05	0,01	
	155	155,77	0,19	0,08	
	157	156,85	0,01	0,07	
	159	159,59	0,04	0,24	
	161	161,02	0,06	0,01	
163	163,47	0,03	0,19		
Tierzahl		(n=324)		(n=139)	
BM1905	192	192,82	0,01	0,13	0,20
	194	194,71	0,09	0,87	
Tierzahl		(n=330)		(n=142)	

4.2 Assoziationsanalyse zwischen genetischen Markern und der Resistenz (gemessen an der Höhe der Eizahl im Kot) gegen *O. circumcincta*

Das *DRB1*-Allel *G2* (Schwaiger et al. 1995), das *DYMS1*-Allel 216 und das *OMHC1*-Allel 194 (Buitkamp et al. 1996) zeigte im Jahrgang 1993 bei der Regressionsanalyse nach dem Modell 1 jeweils einen signifikanten Einfluss auf die Eizahl (Tab. 4-4). Der Marker BM1815 war nicht mit der Resistenz assoziiert (Buitkamp, persönliche Mitteilung).

Tab. 4-4: Ergebnisse der Assoziationsanalyse am *DRB1*-Locus (OLADRB) sowie mit den Markern *DYMS1* und *OMHC1* bei den Lämmern aus dem Jahrgang 1993

Marker	Allel	Schätzwert für Alleleffekt	Signifikanzniveau	Referenz
OLADRB	<i>G2</i>	-1,76	**	Schwaiger et al. 1995
<i>DYMS1</i>	216 (Q1) [°]	+2,41	**	Buitkamp et al. 1996
<i>OMHC1</i>	194 (L)	+0,90	**	Buitkamp et al. 1996

[°] () Nomenklatur nach Buitkamp et al. (1996)

Bei der Regressionsanalyse des *DRB1*-Locus sowie der Marker *DYMS1* und *OMHC1* aus dem Jahrgang 1993 addierten die Autoren zur logarithmischen Transformation der Eizahl den Wert $\delta = 1$. Außerdem wurden seltene Allele (bei weniger als fünf Tieren vertreten) von der Analyse ausgeschlossen.

In den folgenden Kapiteln werden die Ergebnisse der mit Hilfe des ersten Modells durchgeführten Reanalyse des *DRB1*-Locus sowie der Mikrosatelliten *DYMS1* und *OMHC1* aus dem Jahrgang 1993 dargestellt. Weiterhin werden die Ergebnisse der analogen Auswertung dieser Marker aus dem Jahrgang 1996 und des gemeinsamen Datensatzes der Jahrgänge 1993 und 1996 aufgeführt.

Im Rahmen dieser Analysen wurde mit dem Modell 1 für jeden Marker die Nullhypothese, dass die Allele keinen Unterschied in ihrem Einfluss auf die Eizahl zeigen, geprüft. Das Modell 1 ist nur bei intermediärer Vererbung optimal und berücksichtigt nicht voll den Einfluss von Dominanz oder Überdominanz (Kap. 3.3.2.2).

Die Ergebnisse der Auswertung des *DRB1*-Locus (Hauptkandidatengen) mit dem Mo-

dell 2 werden am ausführlichsten dargestellt. Die Analysen dazu sowie die der Mikrosatelliten DYMS1 und OMHC1 wurden mit dem gemeinsamen Datensatz der Jahrgänge 1993 und 1996 vorgenommen. Weiterhin sind die Ergebnisse der mit dem Modell 2 ausgewerteten Marker BM1815, CSRD226 und BM1905 aus dem Jahrgang 1996 aufgelistet.

Im Rahmen dieser Analysen wurde anhand des zweiten Modells für jeden Marker die globale Nullhypothese, dass sich die Genotypen nicht in ihrem Einfluss auf die Eizahl unterscheiden, geprüft. Im Anschluss daran wurden einzelne Kontraste zwischen den Genotypen getestet, sowie ob Dominanz oder Überdominanz vorliegt (Kap. 3.3.2.2).

Bei den Analysen sämtlicher Marker nach den Modellen 1 und 2 wurde zur logarithmischen Transformation der Eizahl der Wert δ zu den Originaldaten addiert, bei dem die beste Annäherung der Residuen an die Normalverteilung zu erreichen ist (Kap. 3.3.2.3). Desweiteren wurden bei allen Analysen sämtliche Allele berücksichtigt, für die ein Schätzwert ermittelt werden konnte.

Die für die Analysen angefertigten SAS-Programme und ausführlichen Ergebnistabellen sind jeweils in den Übersichten A 5 bis A 12 und A 13 bis A 32 im Anhang dargestellt.

4.2.1 Assoziationsanalyse zwischen Allelen des *DRB1*-Locus und der Resistenz gegen *O. circumcincta*

4.2.1.1 Berücksichtigte Tierzahl und deren Allel- bzw. Genotypfrequenzen

1993 und 1996 wurden von je 200 Lämmern 120 bzw. 118 und 108 einbezogen, da bei den hier verwendeten Modellen nur Geschwisterpaare berücksichtigt werden können (Tab. 2-1, Tab. 4-5).

Tab. 4-5: Anzahl der bei der Assoziationsanalyse am *DRB1*-Locus berücksichtigten Tiere der Jahrgänge 1993, 1996 und 1993 + 1996

Jahrgang	Lämmer		Väter		Mütter	
	Modell 1	Modell 2	Modell 1	Modell 2	Modell 1	Modell 2
1993	118	120	9	9	59	60
1996	108	108	14	14	54	54
1993 + 1996	226	228	23	23	113	114

Die Tabelle 4-6 zeigt die Anzahl der Allele und Genotypen am *DRB1*-Locus der für die Varianzanalyse relevanten Tiere.

Tab. 4-6: Anzahl der in die Auswertung eingehenden Allele und Genotypen am *DRB1*-Locus der Jahrgänge 1993, 1996 und 1993 + 1996

Jahrgang	Allele		Genotypen
	Modell 1	Modell 2	
1993	15	16	46
1996	17	17	39
1993 + 1996	21	22	66

Aus den Tabellen 4-7 bis 4-9 kann für die Jahrgänge 1993, 1996 und 1993 + 1996 die Häufigkeit der bei der Analyse berücksichtigten Allele und Genotypen entnommen werden.

Tab. 4-7: Allele und Genotypen am *DRB1*-Locus der Lämmer aus dem Jahrgang 1993.

Für jedes Allel sind in der letzten Spalte und in der letzten Zeile jeweils die entsprechenden Randhäufigkeiten angegeben.

Allel	A	B	C	D	E	F	G1	G2	H1	H2	I	L	M	N	O	R	Total
A		1	1	4		2	1	1		2	8	4				1	25
B											2						2
C				2							3						5
D				1		2	1			1	9	2	1	2	3		22
E						1					2						3
F						2	2	3	1		8	3				1	20
G1											1	1					2
G2											5	2	2	2	2		13
H1											1						1
H2											2						2
I											14	3	1	4	2		24
L													1				1
M																	
N																	
O																	
R																	
Total		1	1	7		7	4	4	1	3	55	15	5	8	7	2	120

Tab. 4-8: Allele und Genotypen am *DRB1*-Locus der Lämmer aus dem Jahrgang 1996. Für jedes Allel sind in der letzten Spalte und in der letzten Zeile jeweils die entsprechenden Randhäufigkeiten angegeben.

Allel	A	C	D	F	G1	G2	H0	H3	I	K	L	M	N	O	T	U	V	Total
A			2						1									3
C		1	2			1	1				1							6
D			7	1	2	13			3	3	1	1	2			2		35
F					1				2									3
G1						4			2									6
G2						5		1	13	3	1		3	4	2		3	35
H0									1					1				2
H3																		
I									4		2	3						9
K																		
L											6	1						7
M												1	1					2
N																		
O																		
T																		
U																		
V																		
Total		1	11	1	3	23	1	1	26	6	11	6	6	5	2	2	3	108

Tab. 4-9: Allele und Genotypen am *DRB1*-Locus der Lämmer aus dem vereinigten Datensatz 1993+1996. Für jedes Allel sind in der letzten Spalte und in der letzten Zeile jeweils die entsprechenden Randhäufigkeiten angegeben.

Allel	A	B	C	D	E	F	G1	G2	H0	H1	H2	H3	I	K	L	M	N	O	R	T	U	V	Total
A		1	1	6		2	1	1			2		9		4				1				28
B													2										2
C			1	4				1	1				3		1								11
D				8		3	3	13			1		12	3	3	2	4	3			2		58
E						1							2										3
F						2	3	3		1			10		3				1				23
G1								4					3		1								8
G2								5				1	18	3	3	2	5	6		2		3	48
H0													1					1					2
H1													1										1
H2													2										2
H3																							
I													18		5	4	4	2					33
K																							
L															6	2							8
M																1	1						2
N																							
O																							
R																							
T																							
U																							
V																							
Total		1	2	18		8	7	27	1	1	3	1	81	6	26	11	14	12	2	2	2	3	228

In den Jahrgängen 1993 und 1996 ändert sich vor allem die Frequenz der Allele *I* und *G2* sehr stark. Während 1993 das Allel *I* 79 mal im Untersuchungspanel vertreten war, erschien es 1996 nur 35 mal. 1993 waren 14 Tiere homozygote Träger dieses Allels, 1996 nur 4. Das Allel *G2* verhält sich genau umgekehrt. 1993 wiesen 17 Tiere dieses Allel auf. Es gab keine Homozygoten. 1996 trat das Allel *G2* mit 5 Homozygoten 58 mal auf.

Wie aus der folgenden Frequenztabelle (Tab. 4-10) hervorgeht, waren im Jahrgang 1993 + 1996 die Allele *D*, *I* und *G2* mit einem Anteil von 56 % vertreten.

Tab. 4-10: Frequenzen (q_i) der *DRB1*-Allele aus den Jahrgängen 1993, 1996 und 1993 + 1996

Allel	Allelfrequenz (q_i) im Jahrgang		
	1993	1996	1993 + 1996
<i>A</i>	0,104	0,014	0,061
<i>B</i>	0,013	-	0,007
<i>C</i>	0,025	0,032	0,029
<i>D</i>	0,121	0,213	0,167
<i>E</i>	0,013	-	0,007
<i>F</i>	0,113	0,019	0,068
<i>G1</i>	0,025	0,041	0,033
<i>G2</i>	0,071	0,267	0,164
<i>H0</i>	-	0,014	0,007
<i>H1</i>	0,008	-	0,004
<i>H2</i>	0,021	-	0,011
<i>H3</i>	-	0,005	0,002
<i>I</i>	0,329	0,162	0,250
<i>K</i>	-	0,027	0,013
<i>L</i>	0,067	0,083	0,075
<i>M</i>	0,021	0,037	0,029
<i>N</i>	0,033	0,028	0,031
<i>O</i>	0,029	0,023	0,026
<i>R</i>	0,008	-	0,004
<i>T</i>	-	0,009	0,004
<i>U</i>	-	0,009	0,004
<i>V</i>	-	0,014	0,007

4.2.1.2 Logarithmische Transformation der Eizahlen

Die Anwendung der Modelle 1 und 2 zur Analyse des *DRB1*-Locus erfordert eine Normalverteilung der Residuen. Deshalb wurden die Eizahlen nach der Addition des Wertes δ logarithmisch transformiert ($\log_{10}(epg+\delta)$). Der Additionswert δ , bei dem die beste Annäherung der Residuen an die Normalverteilung zu erzielen ist, wird durch diejenigen Werte der Schiefe und Kurtosis, die am stärksten gegen Null gehen angezeigt (Kap. 3.3.2.3). In den Tabellen 4-11 und 4-12 sind für die Jahrgänge 1993, 1996 und 1993 + 1996 die mit verschiedenen Additionswerten δ ermittelten Werte der Schiefe und Kurtosis dargestellt.

Tab. 4-11: Schätzwerte der Schiefe und Kurtosis der Residuen am *DRB1*-Locus für die Jahrgänge 1993, 1996 und 1993 + 1996, ermittelt mit dem Modell 1: Lineares Modell mit Regression auf die Anzahl Allele

δ	1993 / 118 Tiere		1996 / 108 Tiere		1993+1996 / 226 Tiere	
	Schiefe	Kurtosis	Schiefe	Kurtosis	Schiefe	Kurtosis
1	-0,250	1,027	-0,859	3,091	-0,435	2,082
5	-0,104	0,498	-0,290	0,787	-0,316	0,792
10	-0,030	0,213	-0,167	0,421	-0,256	0,305
15	0,010	0,167	-0,127	0,305	-0,230	0,077
50	0,095	0,116	-0,090	0,075	-0,170	-0,302
100	0,130	0,220	-0,074	-0,053	-0,140	-0,344

Tab. 4-12: Schätzwerte der Schiefe und Kurtosis der Residuen am *DRB1*-Locus für die Jahrgänge 1993 + 1996, ermittelt mit dem Modell 2: Lineares Modell mit direkter Berücksichtigung der Genotypen

δ	1993+1993 / 228 Tiere	
	Schiefe	Kurtosis
1	-0,201	3,693
5	-0,128	2,380
10	-0,099	1,901
15	-0,084	1,663
50	-0,060	1,146
100	-0,044	1,016

Bei der Analyse des Jahrgangs 1993 und 1993 + 1996 mit dem Modell 1 wurde durch die Addition des Wertes $\delta = 15$ die beste Annäherung der Residuen an die Normalverteilung erzielt (Tab. 4-11), da im Vergleich zu anderen δ -Werten die Werte der Schiefe und Kurtosis am stärksten gegen Null gehen (1993: 0,010 und 0,167, 1993 + 1993: -0,230 und 0,077). Um die Ergebnisse zwischen den Jahrgängen 1993 und 1996 vergleichen zu können, wurde für die Analyse des Jahrgangs 1996 ebenfalls die \log_{10} -Transformation der Eizahlen mit dem Wert $\delta = 15$ durchgeführt, obwohl durch die Addition von δ -Werten größer 15 eine bessere Annäherung der Residuen an die Normalverteilung zu erzielen wäre. Dies war auch für die Auswertung des Datensatzes 1993 + 1996 mit dem Modells 2 zutreffend (Tab. 4-12).

4.2.1.3 Ergebnisse der Assoziationsanalyse am *DRB1*-Locus

Modell 1: Lineares Modell mit Regression auf die Anzahl der Allele

Bei der Analyse der Jahrgänge 1993, 1996 und 1993 + 1996 wurde der Regressionskoeffizient für das Allel *I* auf Null gesetzt, da dieses am häufigsten im Untersuchungspanel vertreten war (Tab. 4-10, Kap. 3.3.2.2). Im folgenden sind für alle Jahrgänge neben der mit Hilfe des Modells 1 durchgeführten Varianzanalyse, die Schätzwerte für den Einfluss des jeweiligen Allels auf die Eizahl im Kot im Vergleich zum Allel *I* dargestellt.

Varianzanalyse des Jahrgangs 1993

Für das Allel *H1* konnte kein Schätzwert für die Eizahl ermittelt werden. Dieses Allel trat nur bei den Vollgeschwistern b83 und b84 auf. Somit war kein Vergleich des Alleleffekts anderen Alleleffekten möglich. Es wurde deshalb von der Analyse ausgeschlossen. Die Ergebnisse der Analyse sind in der Tabelle 4-13 dargestellt.

Tab. 4-13: Varianzanalyse des *DRB1*-Locus mit Modell 1 für den Jahrgang 1993

Varianzanalyse

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	Signifikanzniveau
Geschlecht	1	0.044	0.044	0.28	n.s.
Vater	8	1.906	0.238	1.50	n.s.
Mutter(Vater)	50	8.554	0.171	1.08	n.s.
Rest	44	6.996	0.159		

Regression

Allel	Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau
<i>A</i>	-0.154	0.380	n.s.
<i>B</i>	-0.458	0.389	n.s.
<i>C</i>	-0.639	0.467	n.s.
<i>D</i>	-0.406	0.214	n.s.
<i>E</i>	-0.754	0.881	n.s.
<i>F</i>	-0.386	0.165	*
<i>G1</i>	-0.517	0.485	n.s.
<i>G2</i>	-0.652	0.325	+
<i>H2</i>	1.069	0.603	n.s.
<i>I</i>	0.000		
<i>L</i>	-0.321	0.284	n.s.
<i>M</i>	-0.199	0.564	n.s.
<i>N</i>	0.287	0.678	n.s.
<i>O</i>	-0.386	0.382	n.s.
<i>R</i>	-0.381	0.410	n.s.

+ $p < 0,051$

Wie aus den Ergebnissen der Regressionsanalyse (Tab. 4-13) ersichtlich ist, war das am häufigsten vertretene Allel *I* mit den höchsten Schätzwerten für die Eizahl gekoppelt. Da mit Ausnahme der Allele *H2* und *N* sämtliche Allele negative Schätzwerte für die Eizahl zeigten, waren diese im Vergleich zu *I* mit einer geringeren Eizahl assoziiert. Jedoch war nur das Allel *F* signifikant. Das in der Analyse von Schwaiger et al. (1995) hoch signifikant mit Reduktion der Eizahl assoziierte Allel *G2* (Tab. 4-4) grenzte bei der Reanalyse an die Signifikanzschwelle.

Das unterschiedliche Ergebnis basiert auf dem, mit $\delta = 1$ von Schwaiger et al. (1995) anderes gewählten Additionswert bei der \log_{10} -Transformation der Eizahlen und auf dem Ausschluss der seltenen Allele *B*, *E*, *H1* und *R* (Kap. 5.2).

Varianzanalyse des Jahrgangs 1996

Im Rahmen der Varianzanalyse des Jahrgangs 1996 konnte bei sämtlichen Allelen ein Schätzwert für die Eizahl ermittelt werden (Tab. 4-14).

Tab. 4-14: Varianzanalyse des *DRB1*-Locus mit Modell 1 für den Jahrgang 1996

Varianzanalyse

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	Signifikanzniveau
Geschlecht	1	0.651	0.651	6.10	*
Vater	13	1.327	0.102	0.96	n.s.
Mutter(Vater)	40	4.724	0.118	1.11	n.s.
Rest	37	3.947	0.107		

Regression

Allel	Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau
A	-0.238	0.508	n.s.
C	-0.161	0.180	n.s.
D	-0.058	0.168	n.s.
F	-0.285	0.330	n.s.
G1	-0.637	0.586	n.s.
G2	-0.448	0.346	n.s.
H0	-0.675	0.497	n.s.
H3	-0.572	0.686	n.s.
I	0.000		
K	0.378	0.367	n.s.
L	-0.418	0.418	n.s.
M	-0.323	0.403	n.s.
N	-0.172	0.273	n.s.
O	-0.019	0.508	n.s.
T	-1.139	0.467	*
U	-0.337	0.406	n.s.
V	0.089	0.686	n.s.

Wie 1993 waren, mit Ausnahme von *K* und *V*, sämtliche Allele im Vergleich zu *I* mit einer geringeren Eizahl gekoppelt. Dabei zeigte das Allel *T* einen signifikanten Effekt. Allerdings war dieses Allel mit zwei von 108 Tieren in der Population sehr selten vertreten (Tab. 4-8, Tab. 4-10). Wie der hohe Schätzfehler widerspiegelt, war aufgrund der geringen Frequenz von *T* keine genaue Schätzung der Eizahlen möglich. Im Jahrgang 1996 konnte das 1993 signifikant mit der Reduktion der Eizahl assoziierte Allel *F* nicht bestätigt werden. Im Gegensatz zu 1993 wirkte sich das Geschlecht 1996 signifikant auf die Eizahl aus.

Varianzanalyse der Jahrgänge 1993 + 1996

Um den Einfluss eines Allels auf die Eizahl möglichst genau schätzen zu können, wurden die Jahrgänge 1993 und 1996 zur Vergrößerung des Datenumfangs vereinigt und erneut analysiert. Für das Allel *H1*, das ausschließlich im Jahrgang 1993 auftrat, konnte kein Schätzwert ermittelt werden. Wie 1993 wurde es von der Analyse ausgeschlossen. Die Ergebnisse der Analyse sind in Tabelle 4-15 dargestellt.

Tab. 4-15: Varianzanalyse des *DRB1*-Locus mit Modell 1 für die Jahrgänge 1993 + 1996

Varianzanalyse

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	Signifikanzniveau
Geschlecht	1	0.497	0.497	3.94	*
Jahr	1	3.172	3.172	25.13	***
Vater(Jahr)	21	3.870	0.183	1.46	n.s.
Mutter(Jahr*Vater)	90	13.383	0.149	1.18	n.s.
Rest	92	11.612	0.126		

Regression

Allel	Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau
A	-0.218	0.280	n.s.
B	-0.335	0.322	n.s.
C	-0.329	0.166	n.s.
D	-0.271	0.122	*
E	-1.119	0.565	n.s.
F	-0.367	0.129	**
G1	-0.430	0.315	n.s.
G2	-0.507	0.199	*
H0	-0.181	0.573	n.s.
H2	0.935	0.517	n.s.
H3	-0.780	0.522	n.s.
I	0.000		
K	0.317	0.383	n.s.
L	-0.253	0.192	n.s.
M	-0.169	0.225	n.s.
N	-0.078	0.258	n.s.
O	-0.410	0.276	n.s.
R	-0.414	0.362	n.s.
T	-0.978	0.398	*
U	-0.385	0.386	n.s.
V	-0.302	0.573	n.s.

Wie 1993 und 1996 waren, mit Ausnahme von *H2* und *K*, sämtliche Allele im Vergleich zu *I* mit geringeren Eizahlen assoziiert (Tab. 4-13, Tab. 4-14). Davon zeigte das Allel *F* einen hoch signifikanten Effekt. Die Allele *G2*, *T* und *D* waren signifikant mit einer geringeren Eizahl gekoppelt.

Im Gegensatz zum häufig vertretenen Allel *G2* konnten aufgrund der sehr geringen Frequenz des, für den Jahrgang 1996 typischen Allels *T*, keine genauen Schätzwerte zur Eizahl ermittelt werden. Im Vergleich zu *G2* war der Schätzfehler für dieses Allel fast doppelt so hoch.

Der Einflussfaktor Jahr zeigte einen höchst signifikanten Effekt auf die Eizahl. Dieser kann durch eine andere Zusammensetzung der Umweltfaktoren und durch unterschiedliches Tiermaterial der Jahrgänge 1993 und 1996 erklärt werden. Wie 1996 hatte das Geschlecht im Gesamtmaterial einen signifikanten Einfluss auf die Eizahl.

Modell 2: Lineares Modell mit direkter Berücksichtigung der Genotypen

Wie in der Tabelle 4-16 dargestellt ist, konnte bei der Analyse am *DRB1*-Locus mit dem Modell 2 der Gesamtdatensatz (66 Genotypen) 13 Teildatensätzen (Sets) zugeordnet werden, zwischen denen keine Verbindung hinsichtlich der eingesetzten Mütter und Genotypen bestand (Kap. 3.3.2.1).

Tab. 4-16: Einteilung Gesamtmaterials aus den Jahrgängen 1993 + 1996 in 13 Teildatensätze (Sets) am *DRB1*-Locus

Set	Genotypen
1	<i>AB, AD, AF, AG2, AI, AL, AR, BI, CC, CD, CI, CL, DD, DH2, DI, DL, DM, DO, EF, EI, FF, FG2, FI, FL, FR, G1F, G1I, G2C, G2D, G2H3, G2I, G2K, G2N, G2O, G2V, H0O, II, IL, IM, IN, IO, LM, LL, MM, MN</i>
2	<i>DF, DK, DN, DU</i>
3	<i>G2G2, G2L, G2T</i>
4	<i>AC, AG1</i>
5	<i>DG1, G1L</i>
6	<i>FH1, H1I</i>
7	<i>CH0, H0I</i>
8	<i>G1G2</i>
9	<i>G1D</i>
10	<i>H2I</i>
11	<i>AH2</i>
12	<i>FG1</i>
13	<i>G2M</i>

Im Rahmen der folgenden Varianzanalyse wurde die globale Nullhypothese, dass sich die Genotypen nicht in ihrem Einfluss auf die Eizahl unterscheiden, geprüft. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 4-17 dargestellt.

Tab. 4-17: Varianzanalyse des *DRB1*-Locus mit Modell 2 für die Jahrgänge 1993 + 1996

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	Signifikanzniveau
Set	12	2.356	0.196	1.43	n.s.
Geschlecht	1	0.139	0.139	1.01	n.s.
Jahr	1	1.326	1.326	9.64	**
Vater(Jahr)	21	1.200	0.095	0.69	n.s.
Mutter(Set*Jahr*Vater)	79	10.872	0.138	1.00	n.s.
MHC1*MHC2(Set)	53	7.837	0.148	1.07	n.s.
Rest	60	8.254	0.138		

Die Ergebnisse der Varianzanalyse zeigen ähnlich der Regressionsanalyse einen hoch signifikanten Effekt des Einflussfaktors Jahr auf die Eizahl (Tab. 4-15). Jedoch konnte kein signifikanter Einfluss der Genotypen auf die Eizahl nachgewiesen werden. Somit kann die Nullhypothese nicht abgelehnt werden.

Trotz des nicht signifikanten Tests der Globalhypothese wurden weitere Analysen durchgeführt, weil gezeigt werden kann, dass dieser Globaltest bei dieser Versuchsanlage mit vielen Stufen (Genotypen), sehr kleinen Blöcken (Mütter) und hoher Unbalanziertheit keine hohe Mächtigkeit hat. Die Ergebnisse der weiteren Analysen müssen mit der entsprechenden Vorsicht interpretiert werden, da es sich um viele Einzeltests mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ handelt (im entsprechenden Fall wird nicht mehr darauf hingewiesen). Im Rahmen dieser Analysen wurde untersucht, ob Dominanz und Überdominanz vorliegt.

Pro Teildatensatz (Set 1 bis 7) wurde die Differenz der Effekte auf die Eizahl der einzelnen Genotypen zum jeweils häufigsten Genotypen geschätzt. Dies war für die Sets 8 bis 13 nicht möglich, da diese nur aus je einem Genotypen bestanden. Dementsprechend wurde für das Set 1 die Differenz zu *II* geschätzt. Somit gibt der Genotyp *II* das Vergleichsniveau an, anhand dessen sämtliche Effekte der anderen Genotypen verglichen werden können. Da für die weitere Auswertung nur das Set 1 Bedeutung hat, sind in der Tabelle 4-18 die geschätzten Differenzwerte der Eizahl für diesen Teildatensatz dargestellt. Für das Set 2 bis 7 sind die Schätzwerte im Anhang (Übersicht A 17) nachzulesen.

Tab. 4-18: Schätzwerte für die Eizahl (Ey) sämtlicher Genotypen im Set 1 am *DRB1*-Locus im Vergleich zum häufigsten Genotypen *II* für die Jahrgänge 1993+1996

Genotypen	Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau (t-Test)
<i>MN-II</i>	-0.643	0.238	**
<i>DI-II</i>	-0.702	0.262	**
<i>FI-II</i>	-0.650	0.277	*
<i>G2I-II</i>	-0.787	0.325	*
<i>IM-II</i>	-0.032	0.374	n.s.
<i>DD-II</i>	-0.412	0.377	n.s.
<i>FL-II</i>	-0.557	0.385	n.s.
<i>IL-II</i>	-0.359	0.422	n.s.
<i>G2D-II</i>	-1.202	0.432	**
<i>AD-II</i>	-0.479	0.438	n.s.
<i>FG2-II</i>	-1.031	0.438	*
<i>G2N-II</i>	-0.552	0.461	n.s.
<i>BI-II</i>	-0.737	0.477	n.s.
<i>AI-II</i>	-0.626	0.480	n.s.
<i>G2O-II</i>	-1.393	0.519	**
<i>DH2-II</i>	0.664	0.525	n.s.
<i>H0O-II</i>	-0.591	0.525	n.s.
<i>IO-II</i>	0.000	0.525	n.s.
<i>CD-II</i>	-0.331	0.529	n.s.
<i>CI-II</i>	-1.154	0.533	*
<i>FF-II</i>	-0.337	0.593	n.s.
<i>CC-II</i>	-0.682	0.598	n.s.
<i>G1I-II</i>	-0.297	0.598	n.s.
<i>AF-II</i>	-1.240	0.607	*
<i>G1F-II</i>	-1.261	0.617	*
<i>G2K-II</i>	-0.614	0.622	n.s.
<i>DL-II</i>	-0.140	0.644	n.s.
<i>DM-II</i>	-0.070	0.673	n.s.
<i>G2C-II</i>	-1.080	0.680	n.s.
<i>CL-II</i>	-0.965	0.682	n.s.
<i>AL-II</i>	-0.697	0.684	n.s.
<i>G2H3-II</i>	-1.657	0.685	*
<i>IN-II</i>	-0.001	0.689	n.s.
<i>AR-II</i>	-0.877	0.710	n.s.
<i>AG2-II</i>	-1.158	0.738	n.s.
<i>G2V-II</i>	-1.284	0.738	n.s.
<i>DO-II</i>	0.007	0.748	n.s.
<i>FR-II</i>	-0.494	0.792	n.s.
<i>LM-II</i>	-0.152	0.853	n.s.
<i>EI-II</i>	-1.042	0.866	n.s.
<i>AB-II</i>	-0.565	0.872	n.s.
<i>LL-II</i>	-0.123	1.002	n.s.
<i>EF-II</i>	-2.176	1.019	*
<i>MM-II</i>	-0.123	1.131	n.s.

Mit Ausnahme der Genotypen *DH2* und *DO* waren sämtliche Genotypen im Vergleich zu *II* mit einer geringeren Eizahl assoziiert. Dies war für die Genotypen *G2D*, *G2O* und *MN* hoch signifikant und für die Genotypen *AF*, *CI*, *DI*, *EF*, *FG2*, *FI*, *G1F*, *G2H3*, *G2I* und *G2V* signifikant zutreffend. Keiner der Homozygoten zeigte im Vergleich zu *II* signifikant geringere Schätzwerte für die Eizahlen.

Die Abbildung 4-2 veranschaulicht, wie sich die Heterozygoten im Vergleich zu den entsprechenden Homozygoten bezüglich ihres Einflusses auf die Eizahlen verhalten. Da der Genotyp *II* als Vergleichsniveau fungiert, wurden zum direkten Vergleich die Schätzwerte der Eizahl für die Heterozygoten mit dem Allel *I* und den entsprechenden Homozygoten dargestellt. Die Schätzwerte der Eizahl für die Genotypen *IC-CC*, *ID-DD*, *IF-FF*, *IL-LL* und *IM-MM* wurden aus der Tabelle 4-18 entnommen.

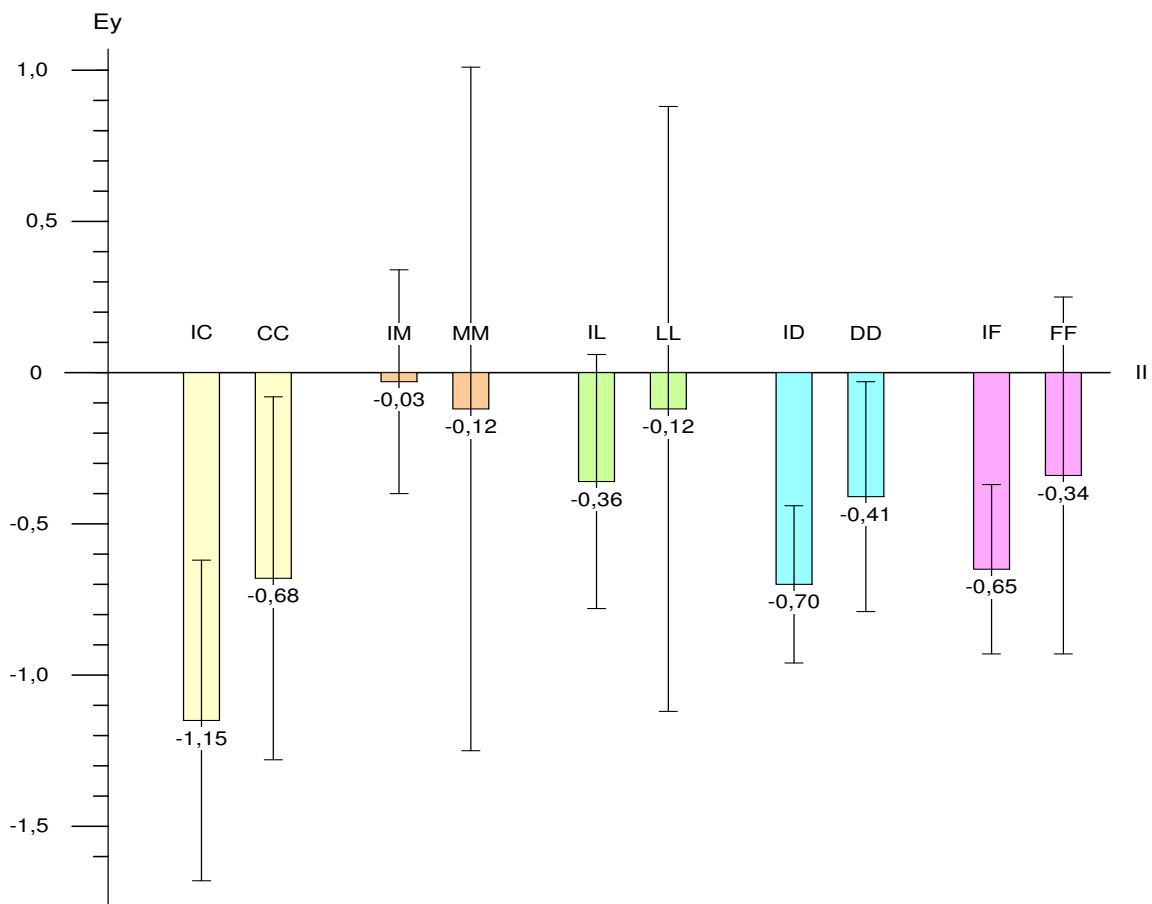


Abb. 4-2: Schätzwerte für die Eizahl (*Ey*) am *DRB1*-Locus der Heterozygoten im Vergleich zu den entsprechenden Homozygoten in den Jahrgängen 1993+1996. Die x-Achse entspricht dem Nullniveau (*II*). Auf der y-Achse ist die Differenz der Schätzwerte für die Eizahl (*Ey*) der verschiedenen Genotypen zu *II* angegeben.

Von den in der Abbildung 4-2 dargestellten Genotypen waren mit Ausnahme von *IM* alle Heterozygoten im Vergleich zu den entsprechenden Homozygoten mit einer geringeren Eizahl assoziiert. Liegt keine Dominanz oder Überdominanz vor, müssten die Schätzwerte der Heterozygoten dem Durchschnitt aus den Schätzwerten der beiden Homozygoten entsprechen (Kap. 3.3.2.2). Dies war für keinen der Heterozygoten zutreffend, da mit Ausnahme von *IM* für alle Heterozygoten deutlich geringere Eizahlen geschätzt wurden. In diesem Fall ist davon auszugehen, dass eine Abweichung von der intermediären Vererbung vorliegt.

Die Abbildung 4-3 veranschaulicht am Beispiel der Genotypen *II-IC-CC* wie sich die geschätzte Eizahl des heterozygoten Genotypen *IC* und die durchschnittliche geschätzte Eizahl der beiden entsprechenden Homozygoten *II* und *CC* unterscheidet. Der Durchschnitt der geschätzten Eizahl von *II* und *CC* betrug $-0,34$ und lag damit deutlich über dem Schätzwert von *IC* ($-1,15$). Gleichzeitig war die geschätzte Eizahl von *IC* wesentlich kleiner als die von *CC* ($-0,68$).

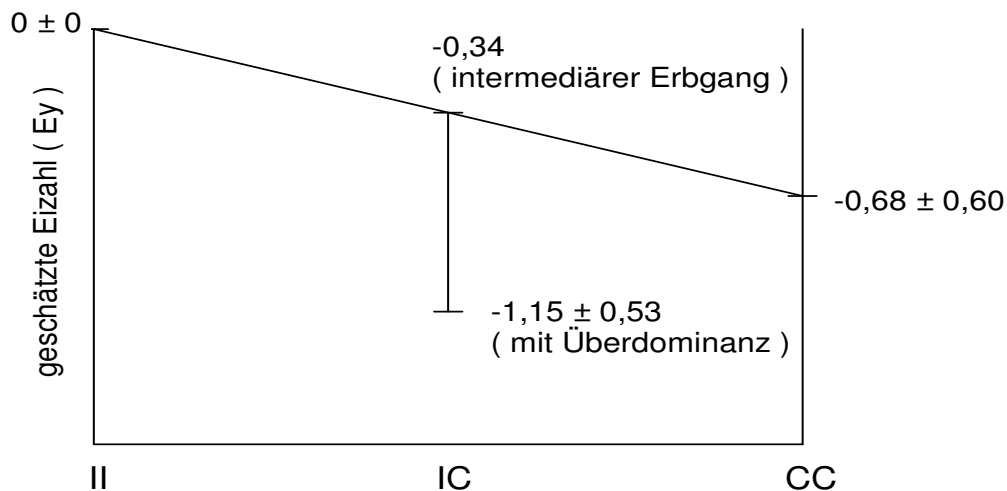


Abb. 4-3: Höhe der geschätzten Eizahl (*Ey*) des heterozygoten Genotypen *IC* im Vergleich zum Durchschnitt der beiden entsprechenden Homozygoten *II* und *CC* am *DRB1*-Locus in den Jahrgängen 1993 + 1996. Auf der x-Achse sind die Genotypen aufgetragen. Auf der y-Achse sind die Schätzwerte für die Eizahl (*Ey*) der entsprechenden Genotypen dargestellt.

In weiteren Analysen wurde für die in der Abbildung 4-2 dargestellten Genotypen *IC-CC*, *ID-DD*, *IF-FF*, *IL-LL* und *IM-MM* die Eizahl der Heterozygoten im Vergleich zum Durchschnitt der entsprechenden Homozygoten geschätzt (Tab. 4-19).

Tab. 4-19: Schätzwerte für die Eizahl (*E_y*) der Heterozygoten im Vergleich zum Durchschnitt der beiden entsprechenden Homozygoten am *DRB1*-Locus der Jahrgänge 1993 + 1996

<u>Genotypen</u>	<u>Schätzwert</u>	<u>Schätzfehler</u>	<u>Signifikanzniveau</u>
<i>IC-((CC+II)/2)</i>	-0.813	0.620	n.s.
<i>ID-((DD+II)/2)</i>	-0.496	0.212	*
<i>IF-((FF+II)/2)</i>	-0.481	0.297	n.s.
<i>IL-((LL+II)/2)</i>	-0.297	0.501	n.s.
<i>IM-((MM+II)/2)</i>	0.030	0.678	n.s.

Mit Ausnahme von *IM* waren alle Heterozygoten im Vergleich zum Durchschnitt der Homozygoten mit einer geringeren Eizahl assoziiert. Der Genotyp *ID* zeigte einen signifikanten Unterschied zum Mittelwert der entsprechenden Homozygoten.

Im folgenden wurde geprüft, ob die Abweichung der Heterozygoten im Vergleich zum Durchschnitt der entsprechenden Homozygoten zufällig ist (Tab. 4-19, Abb. 4-2). Dazu wurde die Nullhypothese, dass die durchschnittliche gewichtete Abweichung der Heterozygoten vom Durchschnitt der entsprechenden Homozygoten Null ist, geprüft (Tab. 4-20). Aufgrund der Unbalanziertheit der Versuchsanlage ergaben sich ungleich genaue Kontraste. Der ungewichtete Durchschnitt dieser Kontraste war daher ebenso ungenau. Um diesen Effekt zu eliminieren, wurde ein gewichteter Durchschnitt dieser Kontraste gebildet, wobei der Wichtungsfaktor proportional dem reziproken Wert der Varianz des Kontrastes war (Tab. 4-20).

Tab. 4-20: Test der Nullhypothese, dass die durchschnittliche gewichtete Abweichung der Heterozygoten vom Durchschnitt der entsprechenden Homozygoten am *DRB1*-Locus der Jahrgänge 1993 + 1996 Null ist

<u>Schätzwert</u>	<u>Schätzfehler</u>	<u>Signifikanzniveau</u>
-0.466	0.163	**

Wie aus der Tabelle 4-20 hervorgeht, konnte die Nullhypothese abgelehnt werden. Es wurde hoch signifikant eine durchschnittliche gewichtete Abweichung von der intermediären Vererbung nachgewiesen. Das heißt die heterozygoten Genotypen *IC*, *ID*, *IF* und *IL* tragen signifikant zur Reduktion der Eizahl bei.

Da mit Ausnahme von *IM* alle Heterozygoten im Vergleich zu den entsprechenden Homozygoten geringere Eizahlen zeigten wurde geprüft, ob Überdominanz vorliegt. Dazu wurde die Differenz der Eizahl zwischen den Heterozygoten und den entsprechenden besseren Homozygoten geschätzt. Das Ergebnis ist in Tabelle 4-21 dargestellt.

Tab. 4-21: Schätzwerte für die Eizahl (*Ey*) der Heterozygoten im Vergleich zum entsprechenden besseren Homozygoten am *DRB1*-Locus der Jahrgänge 1993 + 1996

Genotypen	Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau
<i>IC-CC</i>	-0.473	0.815	n.s.
<i>ID-DD</i>	-0.290	0.304	n.s.
<i>IF-FF</i>	-0.312	0.525	n.s.
<i>IL-LL</i>	-0.235	0.909	n.s.
<i>IM-MM</i>	0.091	1.192	n.s.

Mit Ausnahme von *IM* waren alle Heterozygoten im Vergleich zum besseren Homozygoten mit einer geringeren Eizahl assoziiert. Allerdings war keiner der Heterozygoten signifikant besser.

Im Anschluss daran wurde die Nullhypothese, dass die durchschnittliche Überdominanz Null ist, geprüft (Tab. 4-22).

Tab. 4-22: Test der Nullhypothese, dass die durchschnittliche Überdominanz am *DRB1*-Locus der Jahrgänge 1993 + 1996 Null ist

Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau
-0.244	0.447	n.s.

Wie die Tabelle 4-22 zeigt, konnte die Nullhypothese nicht abgelehnt werden.

Jedoch kann aus den vorliegenden Ergebnissen gefolgert werden, dass beim Scottish Blackface Schaf eine Resistenz gegen *O. cirrucumcineta*, die nicht auf intermediärer Vererbung beruhen könnte, vorliegt.

4.2.2 Assoziationsanalyse zwischen Allelen des Mikrosatelliten DYMS1 und der Resistenz gegen *O. circumcincta*

4.2.2.1 Anzahl der für die Analyse relevanten Tiere und Allelfrequenzen

In der Tabelle 4-23 ist die bei der Assoziationsanalyse des Markers DYMS1 berücksichtigte Tierzahl der Jahrgänge 1993, 1996 und 1993 + 1996 und deren Allelfrequenz dargestellt.

Tab. 4-23: Anzahl der bei der Assoziationsanalyse des Markers DYMS1 in den Jahrgängen 1993, 1996 und 1993 + 1996 berücksichtigten Tiere und deren Allelfrequenzen

Allel	Allelfrequenz (q_i) im Jahrgang		
	1993	1996	1993 + 1996
180 (B) [°]	0,029	0,005	0,017
182	-	0,023	0,012
196 (H)	0,137	0,095	0,116
200 (K1)	0,034	0,023	0,029
200* (K2)	0,009	-	0,005
202	-	0,005	0,003
204 (L)	0,078	0,159	0,120
206	-	0,018	0,009
208	-	0,018	0,009
210 (N)	0,059	0,023	0,041
212 (O)	0,015	-	0,008
214 (P)	0,005	-	0,003
216 (Q1)	0,049	0,068	0,059
218 (R)	0,255	0,145	0,200
220 (S)	0,304	0,300	0,302
222 (Z)	0,025	0,105	0,065
224	-	0,014	0,007
Anzahl Lämmer	100	110	210

[°] () Nomenklatur nach Buitkamp et al. (1996)

Wie beim *DRB1*-Locus existierten beim Marker DYMS1 für den jeweiligen Jahrgang typische Allele. Die Allele 200*, 212 und 214 waren ausschließlich 1993 vertreten. Dagegen waren nur im Jahrgang 1996 Träger der Allele 182, 202, 206, 208 und 224 zu finden. Wie aus der Tabelle 4-23 ersichtlich ist, änderte sich mit dem Jahrgang die Frequenz fast aller Allele sehr stark.

4.2.2.2 Ergebnisse der Assoziationsanalyse mit dem Marker DYMS1

Zur logarithmischen Transformation der Eizahlen wurde bei sämtlichen Analysen mit den Modellen 1 und 2 der Wert $\delta = 10$ addiert (Kap. 3.3.2.3).

Modell 1: Lineares Modell mit Regression auf die Anzahl der Allele

In den Jahrgängen 1993 und 1996 war das Allel 220 am häufigsten vertreten (Tab. 4-23). Deshalb wurde bei der Analyse der Regressionskoeffizient b_{220} (für das Allel 220) gleich Null gesetzt (Kap. 3.3.2.2).

Varianzanalyse des Jahrgangs 1993

Bei der Analyse des Markers DYMS1 wurde das Allel 200* nicht berücksichtigt. Da dieses Allel ausschließlich bei den Vollgeschwistern b53 und b54 auftrat, war ein Vergleich des Alleleffekts auf die Vollgeschwister beschränkt und es konnte kein Schätzwert für die Eizahl ermittelt werden.

Die Schätzwerte für den Einfluss der einzelnen Allele auf die Eizahl im Vergleich zum Allel 220, sowie deren Schätzfehler und Signifikanzniveaus sind in der Tabelle 4-24 dargestellt.

Tab. 4-24: Schätzwerte für die Eizahl der Allele des Markers DYMS1, deren Schätzfehler und Signifikanzniveaus im Jahrgang 1993

Allel	Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau
180 (B) [°]	-0.616	0.665	n.s.
196 (H)	0.005	0.165	n.s.
200 (K1)	0.651	0.914	n.s.
204 (L)	0.030	0.276	n.s.
212 (O)	0.000	0.627	n.s.
214 (P)	0.682	1.100	n.s.
216 (Q1)	1.264	0.448	**
218 (R)	-0.014	0.182	n.s.
220 (S)	0.000		
222 (Z)	0.360	0.412	n.s.

[°] () Nomenklatur nach Buitkamp et al. 1996

Im Jahrgang 1993 war das Allel 216 hoch signifikant mit der Erhöhung der Eizahl assoziiert. Dieses Ergebnis entspricht dem Befund von Buitkamp et al. (1996) (Tab. 4-4).

Varianzanalyse des Jahrgangs 1996

Die Tabelle 4-25 zeigt die Ergebnisse der Analyse mit dem Marker DYMS1 des Jahrgangs 1996. Bei der Regressionsanalyse konnten bei sämtlichen Allelen Schätzwerte für die Eizahl ermittelt werden.

Tab. 4-25: Schätzwerte für die Eizahl der Allele des Markers DYMS1, deren Schätzfehler und Signifikanzniveaus im Jahrgang 1996

Allel	Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau
180	0.586	0.472	n.s.
182	-0.282	0.257	n.s.
196	0.046	0.164	n.s.
200	0.184	0.446	n.s.
202	-0.732	0.548	n.s.
204	0.142	0.107	n.s.
206	0.708	0.309	*
208	-0.526	0.374	n.s.
210	0.231	0.367	n.s.
216	0.294	0.159	n.s.
218	0.230	0.140	n.s.
220	0.000		
222	-0.241	0.201	n.s.
224	0.470	0.442	n.s.

Im Gegensatz zu 1993 waren die Allele 180 und 218 mit einer höheren und das Allel 222 mit einer niedrigeren Eizahl assoziiert. Im Jahrgang 1996 war das geringfrequente Allel 206 (Tab. 4-23) signifikant mit der Erhöhung der Eizahl gekoppelt. Dieses Allel war bei den Tieren aus dem Jahrgang 1993 nicht vertreten. Im Gegensatz zu 1993 zeigte das Allel 216 im Jahrgang 1996 keine signifikante Assoziation mit einer erhöhten Eizahl.

Varianzanalyse der Jahrgänge 1993 + 1996

Analog zum *DRB1*-Locus wurden die Datensätze der Jahrgänge 1993 und 1996 zusammengeführt und mit Hilfe des Regressionsmodells ausgewertet (Tab. 4-26). Beim ausschließlich im Jahrgang 1993 vertretenen Allel 200* konnte wiederum kein Schätzwert für die Eizahl ermittelt werden. Es wurde analog zur Analyse des Jahrgangs 1993 ausgeschlossen.

Tab. 4-26: Schätzwerte für die Eizahl der Allele des Markers DYMS1, deren Schätzfehler und Signifikanzniveaus in den Jahrgängen 1993 + 1996

Allel	Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau
180	-0.206	0.369	n.s.
182	-0.254	0.329	n.s.
196	0.074	0.114	n.s.
200	0.685	0.446	n.s.
202	-0.649	0.721	n.s.
204	0.092	0.111	n.s.
206	0.812	0.400	*
208	-0.612	0.471	n.s.
210	0.231	0.473	n.s.
212	0.000	0.552	n.s.
214	0.728	0.715	n.s.
216	0.418	0.166	*
218	0.101	0.114	n.s.
220	0.000		
222	-0.030	0.195	n.s.
224	0.465	0.568	n.s.

Wie die Ergebnisse zeigen, konnte im gemeinsamen Datensatz 1993 + 1996 die Assoziation mit der Erhöhung der Eizahl sowohl beim 1993 hoch signifikanten Allel 216 (Tab. 4-24), als auch beim 1996 signifikanten Allel 206 (Tab. 4-25) bestätigt werden.

Modell 2: Lineares Modell mit direkter Berücksichtigung der Genotypen

Bei der Analyse des Markers DYMS1 konnte der Gesamtdatensatz (50 Genotypen) 11 Teildatensätzen zugeordnet werden (Tab. 4-27, Kap. 3.3.2.1). Zwischen den Sets bestand keinerlei Verbindung bezüglich der eingesetzten Mütter und Genotypen.

Tab. 4-27: Einteilung der Genotypen des Markers DYMS1 in 11 Sets für die Jahrgänge 1993 + 1996

Set	Genotypen
1	180*220, 182*218, 182*220, 196*196, 196*204, 196*216 196*218, 196*220, 200*204, 200*220, 202*220, 204*204 204*218, 204*220, 204*222, 206*220, 206*222, 208*210 208*222, 210*218, 210*220, 212*218, 214*220, 216*216 216*218, 216*220, 216*222, 216*224, 218*218, 218*220 218*222, 218*224, 220*220, 220*222
2	180*200, 200*218
3	200**218, 200*110
4	180*210, 200*210
5	182*196, 182*222
6	196*208, 204*208
7	196*222, 222*222
8	210*216
9	212*220
10	180*204
11	180*218

Im Rahmen der Varianzanalyse des Markers DYMS1 konnte kein signifikanter Unterschied der Genotypen im Einfluss auf die Eizahl nachgewiesen werden (Tab. 4-28). Wie bei der Auswertung des *DRB1*-Locus, hatte der Einflussfaktor Jahr einen signifikanten Effekt auf die Eizahl.

Tab. 4-28: Varianzanalyse mit Modell 2 des Markers DYMS1 für die Jahrgänge 1993 + 1996

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	Signifikanzniveau
Set	10	1.141	0.114	0.68	n.s.
Geschlecht	1	0.232	0.232	1.38	n.s.
Jahr	1	1.106	1.106	6.59	*
Vater(Jahr)	20	4.849	0.242	1.44	n.s.
Mutter(Set*Jahr*Vater)	73	13.169	0.180	1.07	n.s.
DYMS11*DYMS12(Set)	39	5.536	0.142	0.85	n.s.
Rest	65	10.912	0.168		

4.2.3 Assoziationsanalyse zwischen Allelen des Mikrosatelliten OMHC1 und der Resistenz gegen *O. circumcincta*

4.2.3.1 Anzahl der für die Analyse relevanten Tiere und Allelfrequenzen

Die bei sämtlichen Varianzanalysen des *MHC*-Klasse-I-Markers OMHC1 berücksichtigten Tiere der Jahrgänge 1993, 1996 und 1993 + 1996 und deren Allelfrequenzen sind aus der Tabelle 4-29 zu entnehmen.

Tab. 4-29: Anzahl der bei der Assoziationsanalyse des Markers OMHC1 in den Jahrgängen 1993, 1996 und 1993 + 1996 berücksichtigten Tiere und deren Allelfrequenzen

Allel	Allelfrequenz (q_i) im Jahrgang		
	1993	1996	1993 + 1996
182 (G) [°]	0,133	0,023	0,078
184 (D)	0,006	-	0,003
188 (H)	0,061	0,009	0,035
190 (I)	0,244	0,254	0,249
192 (K)	0,089	0,246	0,168
194 (L)	0,056	0,040	0,048
196 (M)	0,233	0,063	0,148
198 (N)	0,150	0,107	0,129
200 (O)	0,067	0,116	0,091
202 (P)	0,017	0,009	0,013
204 (Q)	0,050	0,129	0,090
210 (R)	0,033	-	0,017
Anzahl Lämmer	90	112	202

[°] () Nomenklatur nach Buitkamp et al. (1996)

Die Allele 184 und 210 waren nur im Jahrgang 1993 vertreten. Wie auch beim *DRB1*-Locus und beim Marker DYMS1 war die Frequenz der meisten Allele in den Jahrgängen 1993 und 1996 sehr unterschiedlich.

4.2.3.2 Ergebnisse der Assoziationsanalyse mit dem Marker OMHC1

Bei der mit Hilfe der Modelle 1 und 2 durchgeführten Varianzanalyse des Markers OMHC1 wurde bei sämtlichen Jahrgängen zur \log_{10} -Transformation der Eizahl der Wert $\delta = 100$ addiert (Kap. 3.3.2.3).

Modell 1: Lineares Modell mit Regression auf die Anzahl der Allele

Sowohl 1993 als auch 1996 war das Allel 190 am häufigsten vertreten. Um die Effekte der anderen Allele mit dem des Allels 190 vergleichen zu können, wurde der Regressionskoeffizient b_{190} gleich Null gesetzt (Kap. 3.2.3.2).

Varianzanalyse des Jahrgangs 1993

Die Ergebnisse zur Assoziationsanalyse des Jahrgangs 1993 mit dem Marker OMHC1 sind in der Tabelle 4-30 dargestellt. Neben den Schätzwerten für den Einfluss der einzelnen Allele auf die Eizahl, werden die Schätzfehler und Signifikanzniveaus gezeigt.

Tab. 4-30: Schätzwerte für die Eizahl der Allele des Markers OMHC1, deren Schätzfehler und Signifikanzniveaus im Jahrgang 1993

Allel	Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau
182 (G) [°]	0.093	0.157	n.s.
184 (D)	0.018	0.307	n.s.
188 (H)	-0.512	0.307	n.s.
190 (I)	0.000		
192 (K)	0.201	0.149	n.s.
194 (L)	0.189	0.145	n.s.
196 (M)	0.020	0.137	n.s.
198 (N)	0.018	0.158	n.s.
200 (O)	0.002	0.212	n.s.
202 (P)	-0.111	0.185	n.s.
204 (Q)	0.054	0.146	n.s.
210 (R)	-0.122	0.200	n.s.

[°] () Nomenklatur nach Buitkamp et al. (1996)

Mit Ausnahme der OMHC1-Allele 188, 202 und 210 waren alle mit einer Erhöhung der Eizahl assoziiert. Jedoch zeigte keines der Allele einen signifikanten Einfluss auf die Eizahl.

Dagegen fanden Buitkamp et al. (1996) eine hoch signifikante Assoziation des Allels 194 mit einer Steigerung der Eizahl (Tab. 4-4). Im Gegensatz zu dieser Arbeit wählten Buitkamp et al. (1996) für die \log_{10} -Transformation der Eizahlen den Additionswert $\delta = 1$ und schlossen das Allel 184 aufgrund der geringen Frequenz aus.

Varianzanalyse des Jahrgangs 1996

Das Allel 188 des Markers OMHC1 aus dem Jahrgang 1996 wurde von der Regressionsanalyse ausgeschlossen, da der Vergleich des Effekts auf die Eizahl auf das Geschwisterpaar y157 und y158 beschränkt war (Tab. 4-31). Folglich konnten keine Schätzwerte für die Eizahl ermittelt werden.

Tab. 4-31: Schätzwerte für die Eizahl der Allele des Markers OMHC1, deren Schätzfehler und Signifikanzniveaus im Jahrgang 1996

Allel	Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau
182	-0.490	0.337	n.s.
190	0.000		
192	-0.139	0.115	n.s.
194	0.007	0.163	n.s.
196	-0.122	0.116	n.s.
198	0.023	0.122	n.s.
200	-0.028	0.138	n.s.
202	0.396	0.247	n.s.
204	-0.039	0.119	n.s.

Im Gegensatz zu 1993 waren die Allele 182, 192, 196, 200 sowie 204 mit einer Reduktion der Eizahl und das Allel 202 mit einer Erhöhung der Eizahl gekoppelt. Wie 1993 war im Jahrgang 1996 kein Indiz für eine signifikante Assoziation eines OMHC1-Allels mit der Eizahl gegeben.

Varianzanalyse der Jahrgänge 1993 + 1996

In der Tabelle 4-32 sind die Ergebnisse der Regressionsanalyse des Marker OMHC1 mit dem Datensatz der Jahrgänge 1993 + 1996 dargestellt. Wie daraus hervorgeht, war das Allel 210 signifikant mit einer Reduktion der Eizahl assoziiert. Dieses im Jahrgang 1993 selten vertretene Allel konnte bei den Tieren im Jahrgang 1996 nicht detektiert werden.

Tab. 4-32: Schätzwerte für die Eizahl der Allele des Markers OMHC1, deren Schätzfehler und Signifikanzniveaus in den Jahrgängen 1993 + 1996

Allel	Schätzwert	Schätzfehler	Signifikanzniveau
182	-0.035	0.103	n.s.
184	0.042	0.328	n.s.
188	-0.487	0.328	n.s.
190	0.000		
192	-0.043	0.086	n.s.
194	0.173	0.106	n.s.
196	-0.029	0.086	n.s.
198	0.042	0.093	n.s.
200	0.028	0.102	n.s.
202	0.080	0.153	n.s.
204	0.007	0.089	n.s.
210°	-0.410	0.182	*

° Für das Allel 210 ergab sich im Gesamtmaterial ein niedrigerer Schätzwert für die Eizahl, weil für das wichtigste Vergleichsallel (192) im Jahrgang 1996 eine wesentlich niedrigere Eizahl geschätzt wurde als 1993

Modell 2: Lineares Modell mit direkter Berücksichtigung der Genotypen

Bei der Varianzanalyse des Markers OMHC1 wurde der Gesamtdatensatz, bestehend aus 46 Genotypen in 6 Teildatensätze unterteilt (Tab. 4-33, Kap. 3.3.2.1).

Tab. 4-33: Einteilung der Genotypen des Markers OMHC1 in 6 Sets für die Jahrgänge 1993 + 1996

Set	Genotypen
1	182*182, 182*190, 182*192, 182*194, 182*198, 182*204 190*190, 190*192, 190*194, 190*196, 190*198, 190*200 190*202, 190*204, 190*210, 192*192, 192*194, 192*196 192*198, 192*200, 192*204, 192*210, 194*196, 194*198 194*200, 196*196, 196*200, 196*204, 198*200, 198*204 198*210, 200*202, 200*204, 204*204
2	184*188, 188*188, 188*198
3	188*196, 188*202, 188*204
4	182*188, 188*190, 188*194
5	182*196, 182*202
6	182*200

Die Varianzanalyse ergab keinerlei Hinweise auf die Existenz von Genotypen, welche sich im Einfluss auf die Eizahl von *O. circumcincta* unterscheiden (Tab. 4-34). Wie bei

der Analyse des *DRBI*-Locus und des Markers OMHC1 zeigte der Einflussfaktor Jahr einen hoch signifikanten Effekt auf die Eizahl.

Tab. 4-34: Varianzanalyse mit Modell 2 des Markers OMHC1 für die Jahrgänge 1993 + 1996

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	Signifikanzniveau
Set	5	0.317	0.063	1.24	n.s.
Geschlecht	1	0.039	0.039	0.76	n.s.
Jahr	1	0.448	0.448	8.76	**
Vater(Jahr)	20	1.163	0.058	1.14	n.s.
Mutter(Set*Jahr*Vater)	74	4.046	0.055	1.07	n.s.
OMHC11*OMHC12(Set)	40	2.021	0.050	0.99	n.s.
Rest	60	3.073	0.051		

4.2.4 Assoziationsanalyse zwischen Allelen der Mikrosatelliten BM1815, CSR226, BM1905 und der Resistenz gegen *O. circumcincta*

Die Tabelle 4-35 zeigt die bei der Varianzanalyse der Marker BM1815, CSR226 und BM1905 des Jahrgangs 1996 berücksichtigte Anzahl der Lämmer und Genotypen. Zusätzlich ist der pro Marker gewählte Additionswert δ zur logarithmischen Transformation der Eizahl dargestellt.

Tab. 4-35: Anzahl der berücksichtigten Lämmer und Genotypen, sowie die Additionswerte δ zur logarithmischen Transformation der Eizahl bei der Varianzanalyse der Marker BM1815, CSR226 und BM1905 des Jahrgangs 1996

Marker	Lämmer	Genotypen	Additionswert δ
BM1815	106	31	100
CSR226	104	24	15
BM1905	112	3	100

Der Gesamtdatensatz der Marker BM1815, CSR226 und BM1905 wurde jeweils in 4, 3 und 2 Teildatensätze (Sets) untergliedert, zwischen denen keine Verbindung hinsichtlich der eingesetzten Mütter und Genotypen bestand (Tab. 4-36, Kap. 3.3.2.1).

Tab. 4-36: Einteilung der Genotypen der Marker BM1815, CSR226 und BM1905 in Sets für den Jahrgang 1996

Set \ Marker	BM1815	CSR226	BM1905
1	139*149, 139*151, 139*155 139*157, 139*159, 141*151 147*155, 149*149, 149*151 149*155, 149*159, 151*151 151*153, 151*155, 151*157 151*159, 151*163, 155*155 155*157, 155*159, 157*157 157*159, 159*159, 159*163 161*163, 163*163	204*210, 204*214, 206*210 206*214, 206*218, 206*222 210*210, 210*212, 210*214 210*218, 210*220, 210*222 212*214, 212*222, 214*222 216*242, 218*242, 220*222 222*222, 222*242	192*194, 194*194
2	137*139, 157*163	212*242, 242*242	192*192
3	139*139, 139*147	214*220, 218*220	
4	155*163		

Tab. 4-37: Varianzanalyse mit Modell 2 der Marker BM1815, CSR226 und BM1905 für den Jahrgang 1996

Marker	Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	Signifikanzniveau
BM1815	Set	3	0.061	0.020	0.29	n.s.
	Geschlecht	1	0.111	0.111	1.60	n.s.
	Vater	11	0.460	0.042	0.60	n.s.
	Mutter(Set*Vater)	38	2369	0.062	0.90	n.s.
	BM18151*BM18152(Set)	27	1.331	0.049	0.71	n.s.
	Rest	25	1.735	0.069		
CSR226	Set	2	0.147	0.073	1.40	n.s.
	Geschlecht	1	0.162	0.162	3.11	n.s.
	Vater	11	0.870	0.079	1.52	n.s.
	Mutter(Set*Vater)	38	2.412	0.063	1.22	n.s.
	CSR2261*CSR2262(Set)	21	1.298	0.062	1.18	n.s.
	Rest	30	1.567	0.052		
BM1815	Set	1	0.001	0.001	0.01	n.s.
	Geschlecht	1	0.743	0.743	7.60	**
	Vater	13	2.756	0.212	2.17	*
	Mutter(Set*Vater)	41	5.566	0.136	1.39	n.s.
	BM19051*BM19052(Set)	1	0.368	0.368	3.77	+
	Rest	54	5.275	0.098		

+ $p < 0,057$

Wie aus der Tabelle 4-37 ersichtlich ist, zeigten weder die Genotypen des Markers BM1815 noch des Markers CSR226 einen signifikanten Einfluss auf die Eizahl. Beim Marker BM1905 hatte der Einflussfaktor Geschlecht einen hoch signifikanten und der Einflussfaktor Vater einen signifikanten Effekt. Der Einfluss der Genotypen auf die Eizahl grenzte an die Signifikanzschwelle.

4.3 Sequenzierung oviner *DQB*-Allele und Etablierung der „Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA) zur Typisierung von *DQB*-Allelen

Die erstmalige Etablierung der ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencer unterstützten RSCA zur Typisierung des hoch polymorphen zweiten Exons oviner *DQB*-Gene, setzt die Kenntnis der Sequenzabfolge voraus. Da zum Zeitpunkt der Arbeit nur 12 verschiedene ovine *DQB*-Sequenzen publiziert waren (van Oorschot et al. 1994) und vom Scottish Blackface Schaf keine *DQB*-Sequenzinformationen zur Verfügung standen, wurde zuerst eine Reihe von *DQB*-Allelen sequenziert.

4.3.1 Klonierung und Sequenzierung des zweiten Exons oviner *DQB*-Allele

Zunächst wurden 11 unverwandte Scottish Blackface Schafe aus dem Jahrgang 1996 mit unterschiedlichen *DRB1*-Allelen ausgewählt und das klonierte Exon 2 des *DQB*-Gens sequenziert. Die Tabelle 4-38 zeigt die *DRB1*- und *DQB*-Typisierung dieser Tiere.

Für die Amplifikation des zweiten Exons der *DQB*-Allele wurden zwei Primersysteme (JM05/JM06 und JM05/JM07) eingesetzt. Mit Hilfe dieser Primer können mindestens zwei *DQB*-Gene amplifiziert werden. Jedoch liefern diese Primer kein genspezifisches Produkt (van Oorschot et al. 1994).

Es wurden 16 neue Allele gefunden, so dass derzeit für 28 Allele die Sequenzinformation des zweiten Exons vorliegt. Die Abbildung 4-4 zeigt die Aminosäure-Sequenz des zweiten Exons der 16 neuen, sowie der bereits publizierten ovinen Allele *DQB*1* (EMBL Accession No. M84611) und *DQB*2* (EMBL Accession No. L08792) im Vergleich mit der Aminosäure-Sequenz des bovinen Allels *BoLA-DQB*0101* (EMBL Accession No. L23944). Ergänzend ist die humane *DQB*-Sequenz *HLA-DQB1*03011* (EMBL Accession

No. U83582) angegeben. Die Nomenklatur wurde am Beispiel von van Oorschot et al. (1994) durchgeführt und bei *OLA-DQB*13* fortgesetzt.

Mit wenigen Ausnahmen lagen sämtliche Allele in mindestens drei verschiedenen Klonen vor. Allele, von denen nur zwei Klone sequenziert wurden, konnten zusätzlich durch Direktsequenzierung bestätigt werden.

Mit dem Primerpaar JM05/JM06 konnten sechs und mit JM05/JM07 10 verschiedene ovine *DQB*-Allele identifiziert werden. Ein Individuum (G062/E) zeigte mit dem Primer JM05/JM06 nur ein Allel. Mit dem Primerpaar JM05/JM07 ergab sich kein PCR-Produkt. Dagegen konnte bei den Tieren W97/E und R151/E mit dem Primerpaar JM05/JM07 jeweils nur ein Allel und mit dem Primerpaar JM05/JM06 kein Allel amplifiziert werden. Bei sieben Tieren ergab sich jeweils mit beiden Primersystemen ein PCR-Produkt, wobei das Tier W7/E vier verschiedene *DQB*-Allele aufwies (Tab. 4-38). Dies ist ein Hinweis auf die gleichzeitige Amplifikation von mindestens zwei *DQB*-Genen mit den Primersystemen JM05/JM06 und JM05/JM07.

Tab. 4-38: *DRB1*- und *DQB*-Typisierung der sequenzierten Scottish Blackface Schafe

Tier	<i>OLA-DRB1*</i>		<i>OLA-DQB*</i>			
	Allel 1	Allel 2	JM05/JM06		JM05/JM07	
			Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2
R37/E	546	580	24	-	13	28
O246/E	580	914	24	20	13	-
PUR12/E	512	914	18	20	26	-
G116/E	462	554	27	-	15	-
G062/E	500	500	23	-	-	-
W57/E	580	580	24	-	13	-
W7/E	462	554	27	21	15	14
R151/E	540	540	-	-	17	-
O233/E	540	944	-	-	25	22
W97/E	540	872	-	-	15	-
y181	562	562	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	16	19

n.s.: nicht sequenziert

-: ein bzw. kein Allel vorhanden

Van Oorschot et al. (1994) gehen davon aus, dass die Allele *OLA-DQB*1* und *-DQB*2* unterschiedlichen Genen zuzuordnen sind. Im Vergleich zu *DQB*1* zeigt das Allel *DQB*2* signifikante Sequenzunterschiede, wie zum Beispiel eine Deletion von drei Basen an der

Aminosäureposition 44 und ein unterschiedliches 3'-Ende (Abb. 4-4). Unter den 16 neu sequenzierten Allelen war jedoch keines dabei, das ebenso wie das mit dem Primerpaar JM05/JM07 amplifizierte Allel *OLA-DQB*2* eine Basendeletion an der Position 44 aufweist.

Das in dieser Arbeit sequenzierte Allel *OLA-DQB*25* wies neben der Basendeletion an der Position 57 an den Positionen 5, 20, 22, 29, 43 und 56 die gleichen Aminosäuren wie die publizierten Allele *OLA-DQB*12* (EMBL Accession No. U07034), sowie *BoLA-DQB3*1* (EMBL Accession No. U77799) und *BoLA-DQB3*1.2* (EMBL Accession No. X79349) auf. Anhand dieser Basendeletion und Aminosäuren können diese Allele eindeutig von anderen *DQB*-Sequenzen der Wiederkäuer unterschieden werden. Die charakteristischen Aminosäurepositionen sind in der Abbildung 4-5 grau gekennzeichnet.

Die hypervariablen Regionen (HVR) des zweiten Exons der *DQB*-Sequenzen wurden von der Maus und vom Menschen (Lundberg und McDevitt 1992) auf ovine und bovine *DQB*-Sequenzen übertragen (van Oorschot et al. 1994). Diese Regionen sind in den Abbildungen 4-4 und 4-5 unterstrichen.

	HVRI	HVRII	HVRIII	HVRIV	HVRV					
	1	11	21	31	41	51	61	71		
<i>BoLA-DQB*0101</i>	<u>YQFKGL</u> LCYFTNGTERVRYVTRYIYNQEENVRFDSWDEYRAVTP <u>LG</u> RPDAEYFNSQKDFLEQTRAEADTVCRHNYQVEAP									
<i>OLA-DQB*1</i>	---I-H-----	H-----	F-----	H-----	W-----	IM-R---	V-----	AA	JM05/JM06	
<i>OLA-DQB*2</i>	H-----	L-----	R-Y-----	G-----	*---RQ---	W-----	IT-RV---	V-----	A-LI	JM05/JM07
<i>OLA-DQB*13</i>	V-----	S-N-----	F-----	RS---	W-----	IM-----	N-LI	12	JM05/JM07	
<i>OLA-DQB*14</i>	-----	L-----	Y-----	RS---	W-----	I-----	AV-----	N-LI	3	JM05/JM07
<i>OLA-DQB*15</i>	V-----	H-----	YA-----	W---	E-I-----	N-LI	17	JM05/JM07		
<i>OLA-DQB*16</i>	F-----	S-N-----	HL-----	RH-----	R-----	N---N-LI	5	JM05/JM07		
<i>OLA-DQB*17</i>	V-----	R-Y-----	E---	W-----	IM-----	V-----	N---A-LI	7+	JM05/JM07	
<i>OLA-DQB*18</i>	F-----	L---F-R-YA-----	G-----	W---	I--RV--V-----	D--	8	JM05/JM06		
<i>OLA-DQB*19</i>	---ICH-----	F-----	H-----	W---	I--R---V-----	N---G-LI	4	JM05/JM07		
<i>OLA-DQB*20</i>	H-----	S-N-----	R-Y-----	W---	I--RV-----	R-H--	7+	JM05/JM06		
<i>OLA-DQB*21</i>	V-----	L---L-R-YA-----	G-----	RS---	W-----	I--RV-----	R-Y--	4	JM05/JM06	
<i>OLA-DQB*22</i>	---PS-----	L---LH-R-F-----	G---G---P-QRQ---	W---	I-----	V-----	A-LI	2+	JM05/JM07	
<i>OLA-DQB*23</i>	FL-M-Q-----	L-----	Y-----	G---P-QRQ-----	A	7+	JM05/JM06			
<i>OLA-DQB*24</i>	F---CH-----	R-YA-----	G---P-QRQ---	W---	IM-RV--V-----	N--R-Y--	14+	JM05/JM06		
<i>OLA-DQB*25</i>	---I-Q-----	L-K-Q---RQ-H-----	NVN-F---S---Q---	H*	V-----	L-LI	2+	JM05/JM07		
<i>OLA-DQB*26</i>	V--M-----	S-N-----	R-Y--Y---G-----	L-----	W---EGE--RV---T---K---L-LI	8	JM05/JM07			
<i>OLA-DQB*27</i>	H---R-----	H-----	R-YA-----	RS---	W---	E-I-----	V-R-----	R-Y--	9	JM05/JM06
<i>OLA-DQB*28</i>	-----	L---F--RQ-D-----	G-----	RQ---	W---	IM-RV--V-----	A-LI	4	JM05/JM07	
<i>HLA-DQB1*03011</i>	<u>YQFKAM</u> CYFTNGTERVRYVTRYIYNREEYARFDSWDEYRAVTP <u>LG</u> PPDAEYWNSQKEVLERTRAEALDTVCRHNYQLELG									

Ab. 4-4: Aminosäure-Sequenzen des zweiten Exons der 16 neu sequenzierten ovinen Allele *DQB*13* bis *DBQ*28* sowie der bereits publizierten ovinen Allele *DQB*1* (EMBL Accession No. M84611) und *DQB*2* (EMBL Accession No. L08792) verglichen mit der Aminosäure-Sequenz des bovinen Allels *BoLA-DQB*0101* (EMBL Accession No. L23994). Zusätzlich ist in der letzten Zeile die humane Sequenz *HLA-DQB1*03011* (EMBL Accession No. U83582) dargestellt. Unterstrichene Aminosäuren kennzeichnen die hypervariablen Regionen (HVR). – entspricht der AS der *BoLA-DQB*0101*-Sequenz. * repräsentiert eine Basendeletion. Die Zahlen in der rechten Spalte geben die Anzahl der sequenzierten unabhängigen Klone an. † zusätzliche Bestätigung der Sequenz durch Direktsequenzierung. JM05/JM06 und JM05/JM07 entsprechen den eingesetzten Primerpaaren.

	HVRI	HVRII	HVRIII	HVRIV	HVRV						
	1	11	21	31	41	51	61	71			
<i>BoLA-DQB3*1</i>	<u>YQFI</u>	<u>YQCYFTNGTERVRSV</u>	<u>KKQIYNRQEH</u>	<u>HVRFDSVDNEFRAVS</u>	<u>PLGQ</u>	<u>RD</u>	<u>AEYFN</u>	<u>SH*DFLKQ</u>	<u>TRAEVDTVCRHNYQLELL</u>		
<i>OLA-DQB*12</i>	---	---	R	---	---	RK	---	*	E-----T-----?	JM05/JM07	
<i>OLA-DQB*25</i>	---	G	---	L	R	---	N	---	RQ-----*	E-----I	2+ JM05/JM07
<i>HLA-DQB1*03011</i>	YQFKAMCYFTNGTERVRYVTRYIYNREEYARFDS	SDVEVYRAVTP	LGPPDAEYWNSQKEVLER	TRAE	LD	TVCRHNYQLELG					

Ab. 4-5: Darstellung der ovinen Allele *DQB*12* (EMBL Accession No. U07034) und *DQB*25*, verglichen mit der bovinen Aminosäure-Sequenz *DQB3*1* (EMBL Accession No. U77799). Zusätzlich ist in der letzten Zeile die Sequenz für *HLA-DQB1*03011* (EMBL Accession No. U83582) angegeben. – entspricht der AS der *BoLA-DQB3*1*-Sequenz. * repräsentiert eine Basendeletion. Graue Unterlegung: für Wiederkäuer untypische Aminosäuren. Die Zahlen in der rechten Spalte geben die Anzahl der sequenzierten unabhängigen Klone an. † zusätzliche Bestätigung der Sequenz durch Direktsequenzierung. JM05/JM06 und JM05/JM07 entsprechen den eingesetzten Primerpaaren.

4.3.2 Typisierung oviner *DQB*-Allele mittels der „Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA)

4.3.2.1 Etablierung der RSCA

Zur Typisierung oviner *DQB*-Allele wurde die ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencer unterstützte RSCA, welche auf der Methode der Heteroduplexanalyse basiert, etabliert. Dazu wurde die von Argüello et al. (1998) beschriebene Methode modifiziert (Kap. 1.9) und zur Allelauftrennung und -detektion erstmals der ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencer eingesetzt.

Da bei dieser Methode speziell der Sensestrang des Referenzallels fluoreszenzmarkiert wird, können nur Duplexe, die mit dem markierten Referenzstrang gebildet wurden, laserdetektiert werden. Mit Hilfe der GeneScan[™] Analysis Software werden die Duplexe als Peak dargestellt. Liegt eine vom Referenzallel unterschiedliche Probe vor, werden ein Peak für das Referenzallel (Homoduplex) und ein oder zwei Peaks (Heteroduplex) für die jeweiligen Allele der Probe aufgezeigt. Mit jeder zu typisierenden Probe läuft ein fluoreszenzmarkierter Längenstandard mit. Unter konstanten Elektrophoresebedingungen ist die Laufgeschwindigkeit der Duplexe relativ zum Längenstandard konstant, so dass für jedes einzelne Allel ein spezifischer Wert, der repräsentativ für seine Mobilität ist, ermittelt werden kann. Wie bei der Mikrosatellitenanalyse wurden mit Hilfe der Genotyper[®] Analysis Software die entsprechenden Mobilitätswerte ermittelt und in Basenpaaren (bp) dargestellt.

Etablierung der PCR- und Gellaufbedingungen Zur Etablierung der RSCA wurde die DNA von Tieren eingesetzt, deren *DQB*-Allele durch Sequenzierung ermittelt wurden (Tab. 4-38). Dadurch kann die Zuverlässigkeit dieser Typisierungsmethode kontrolliert werden.

Zuerst wurden die PCR-Bedingungen zur Amplifikation des Referenzallels optimiert (Kap. 3.2.3.2). Dazu wurden die von van Oorschot et al. (1994) entwickelten Primersysteme JM05/JM06 und JM05/JM07 eingesetzt, wobei die 5'-Enden der Primer JM06 und JM07 jeweils mit dem Fluoreszenzfarbstoff TAMRA und HEX markiert wurden (Tab. 2-4). Als Templat diente die aus der Sequenzierung stammende Plasmid-DNA, die das zweite Exon des entsprechenden *DQB*-Allels enthielt. Dies geschah zur Sicherstellung,

dass nur ein Allel in der Referenz-DNA vorliegt.

Bei der Amplifikation des zweiten Exons der zu typisierenden *DQB*-Allele mit den Primern JM05/JM06 und JM05/JM07 diente genomische DNA als Templat (Kap. 3.2.3.2).

Im folgenden wurden die optimalen Bedingungen für die Herstellung der Heteroduplex-DNA ermittelt. Das jeweilige Referenzallel wurde mit den PCR-Produkten der Proben-DNA hybridisiert (Kap. 3.2.6).

Im nächsten Schritt wurden die elektrophoretischen Bedingungen für die Auftrennung der *DQB*-Allele über ein nichtdenaturierendes Polyacrylamidgel mit Hilfe des ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencers ermittelt (Kap. 3.2.6). Eine optimale Fragmentauflösung konnte bei Verwendung eines 6%igen Polyacrylamidgels ohne Harnstoff, mit einer Spannung von 1680 V und 40 °C Geltemperatur in 3,5 h erreicht werden.

Zur Berechnung der Mobilitätswerte (bp) der Allele wurde der Längenstandard GeneScan – 500[™] ROX eingesetzt.

Etablierung der Referenzallele mit dem besten Auflösungsvermögen Der Einsatz verschiedener Referenzallele erlaubt die gezielte Beeinflussung der Konformation und damit die Kontrolle über die Laufgeschwindigkeit sowie das Auftrennungsvermögen der verschiedenen Heteroduplexe im Polyacrylamidgel.

Zur Ermittlung der Referenzallele mit dem besten Auflösungsvermögen der *DQB*-Allele vom Typ JM06 und JM07 wurden jeweils sechs verschiedene Referenzallele mit den aus genomischer DNA gewonnenen *DQB*-Allelen hybridisiert. Die mit Hilfe der Genotyper[®] Analysis Software ermittelten Mobilitätswerte (bp) sind in den Tabellen 4-39 und 4-40 dargestellt.

Tab. 4-39: Mobilitätswerte (bp) der *DQB*-Allele vom Typ JM06 mit verschiedenen Referenzallelen

Tier	JM05 / JM06		Mobilitätswerte (bp) mit Referenzallel											
	<i>OLA-DQB*</i>		<i>DQB*18</i>		<i>DQB*20</i>		<i>DQB*21</i>		<i>DQB*23</i>		<i>DQB*24</i>		<i>DQB*27</i>	
	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2
O246/E	24	20	391	306	400	291	347	338	329	355	291	347	346	325
G116/E	27	-	350	-	347	-	341	-	353	-	351	-	288	288
W57/E	24	-	391	-	400	-	347	-	329	-	291	-	346	-
W7/E	27	21	350	322	347	347	n.t.	n.t.	353	351	351	343	288	322
PUR12/E	18	20	291	306	329	291	321	338	351	355	347	347	340	325
G062/E	23	-	-	428	462	-	370	-	289	-	354	-	364	-

-: nur ein Allel vorhanden

n.t.: Mobilitätswert nicht ermittelt

Tab. 4-40: Mobilitätswerte (bp) der *DQB*-Allele vom Typ JM07 mit verschiedenen Referenzallelen

Tier	JM05 / JM07		Mobilitätswerte (bp) mit Referenzallel											
	<i>OLA-DQB*</i>		<i>DQB*13</i>		<i>DQB*14</i>		<i>DQB*15</i>		<i>DQB*17</i>		<i>DQB*22</i>		<i>DQB*28</i>	
	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2
O246/E	13	-	286	-	311	-	325	-	341	-	448	-	407	-
G116/E	15	-	319	-	330	-	286	-	315	-	441	-	363	-
W57/E	13	-	286	-	311	-	325	-	341	-	448	-	407	-
W7/E	15	14	319	319	330	288	286	334	315	344	441	441	363	367
R37/E	13	28	286	364	311	382	325	379	341	352	448	405	407	288
R151/E	17	-	325	-	322	-	309	-	289	-	404	-	324	-

-: nur ein Allel vorhanden

Nach der Hybridisierung mit dem Referenzallel *DQB*23* (JM05/JM06) zeigten die Allele *DQB*20*, *DQB*21* und *DQB*27* trotz erheblicher Sequenzunterschiede (Abb. 4-4) mit 355 bp, 351 bp und 353 bp ähnliche Migrationsraten (Abb.4-6, Tab. 4-39). Im Gegensatz dazu war mit dem Referenzallel *DQB*18* eine optimale Auftrennung dieser Allele möglich (306 bp, 322 bp und 350 bp).

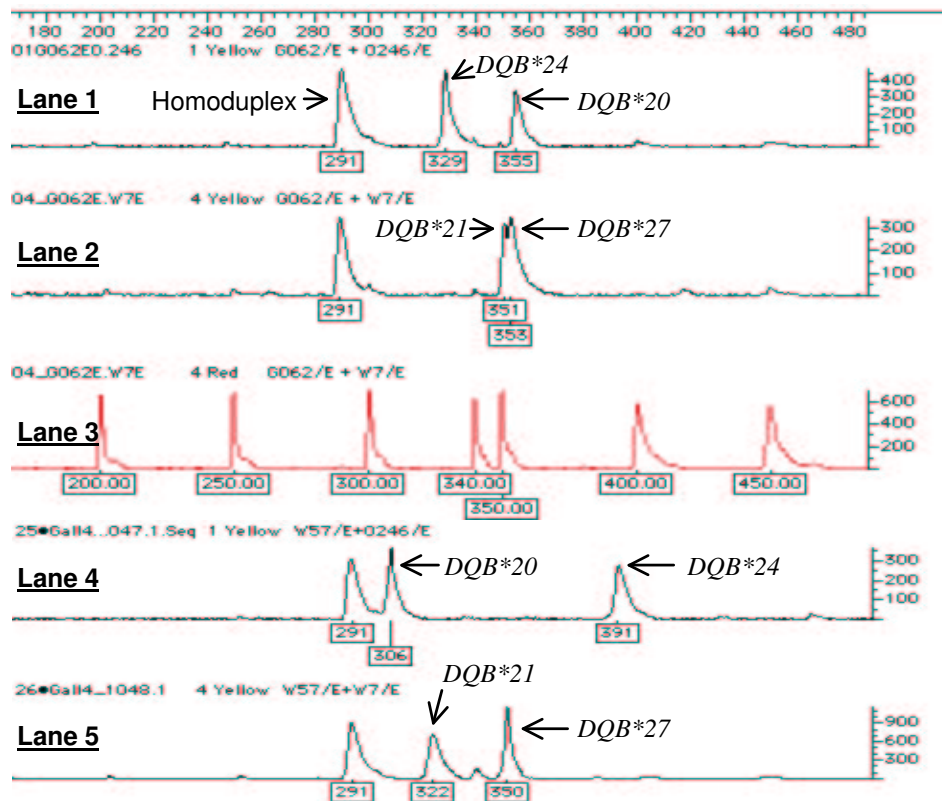


Abb. 4-6: Genotypergebnisse nach der Duplexauftrennung der jeweils heterozygoten Tiere O246/E und W7/E mit den Referenzallelen *DQB*23* und *DQB*18* (JM05/JM06). In den Zeilen 1 und 4 sowie 2 und 5 sind die Mobilitätswerte der Allele in Basenpaaren (bp) der heterozygoten Tiere O246/E und W7/E, nach der Auftrennung der Duplexe mit den zwei Referenzallelen *DQB*23* (Zeile 1 und 2) und *DQB*18* (Zeile 4 und 5), dargestellt. In der dritten Zeile ist der Längenstandard GeneScan – 500TM ROX abgebildet. In den übrigen Zeilen repräsentiert der erste Peak das Homoduplex des Referenzallels, während die folgenden zwei Peaks den Heteroduplexen der beiden verschiedenen *DQB*-Allelen entsprechen.

Wie mit dem Referenzallel *DQB*23* war auch mit den Referenzallelen *DQB*21* und *DQB*24* keine optimale Allelauftrennung zu erzielen (Tab. 4-39). Wird Letzteres als Referenzallel verwendet, lassen sich die Allele *DQB*18* und *DQB*20* nicht trennen. Die Referenzallele *DQB*13* und *DQB*22* vom Typ JM07 erwiesen sich ebenfalls aufgrund ähnlicher Mobilitätsraten verschiedener Allele als nicht geeignet zur Typisierung von *DQB*-Allelen (Tab. 4-40).

Um eine optimale Auflösung der Duplexe zu erzielen, wurden für die Primersysteme JM05/JM06 und JM05/JM07 jeweils zwei Referenzallele ausgewählt, welche in Kombination die beste Auflösung der einzelnen *DQB*-Allele erlaubten. Zur Typisierung der Allele vom Typ JM06 wurden die Referenzallele *DQB*20* und *DQB*27* eingesetzt (Abb. 4-7). Bei der Typisierung der Allele vom Typ JM07 waren die Referenzallele *DQB*17* und *DQB*28* am besten geeignet (Tab. 4-39, Tab. 4-40).

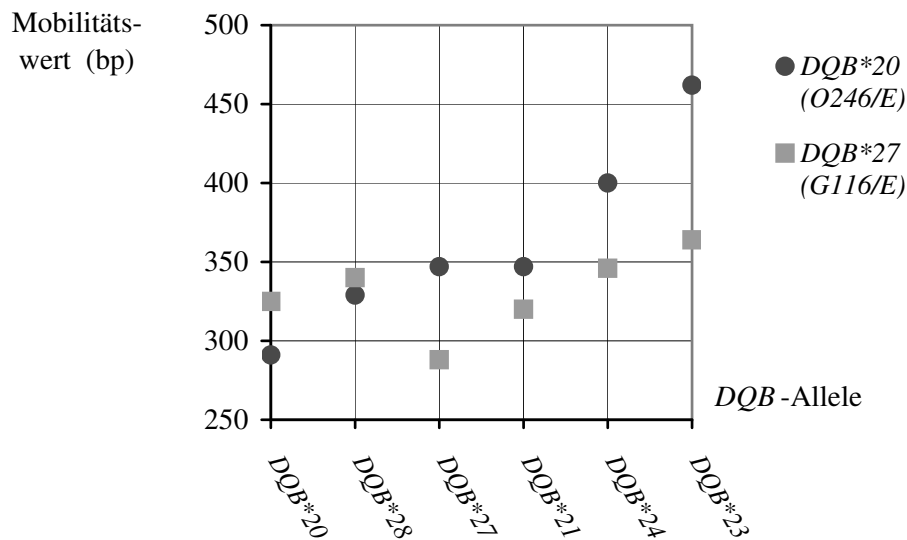


Abb. 4-7: Mobilitätswerte (bp) der *DQB*-Allele vom Typ JM06, die mit den besten Referenzallelen *DQB*20* und *DQB*27* ermittelt wurden. Auf der x-Achse sind die verschiedenen *DQB*-Allele, auf der y-Achse die Mobilitätswerte in Basenpaaren (bp) angegeben.

Wie aus der Abbildung 4-7 ersichtlich ist, ermöglicht der Einsatz von mindestens zwei Referenzallelen eine sichere Typisierung der *DQB*-Allele. Während mit dem Referenzallel *DQB*20* keine Auftrennung der Allele *DQB*21* und *DQB*27* möglich war, konnten diese mit Hilfe des zweiten Referenzallels *DQB*27* eindeutig zugeordnet werden. Zudem können anhand neuer Kombinationen der Mobilitätswerte zweier Referenzallele auch unbekannte Allele zuverlässig typisiert werden.

Anhand der beiden ausgewählten Referenzallele vom Typ JM06 (*DQB*20*, *DQB*27*) und vom Typ JM07 (*DQB*17*, *DQB*28*) wurde für jedes einzelne *DQB*-Allel der spezifische Mobilitätswert ermittelt (Tab. 4-41, Tab. 4-42). Die mit Hilfe dieser Referenzallele aufgetrennten *DQB*-Allele wiesen mit Ausnahme der mit dem Referenzallel *DQB*20* hybridisierten Allele *DQB*21* und *DQB*27* keine Überlappung in den Mobilitätswerten auf. Gleichzeitig sind die Mobilitätswerte der einzelnen *DQB*-Allele zuverlässig reproduzierbar, da die Standardabweichungen (SD) der, aus mehreren Allelen von verschiedenen Gelläufen gemittelten, Mobilitätswerte mit nur drei Ausnahmen unter 1,0 lagen.

Tab. 4-41: Mobilitätswerte (bp) der *DQB*-Allele vom Typ JM06, aufgetrennt mit den Referenzallelen *OLA-DQB*20* und *OLA-DQB*27*

Referenzallel	detektiertes Allel	Mittelwert	Median	SD	Maximum	Minimum	Vorkommen
<i>OLA-DQB*20</i>	<i>OLA-DQB*18</i>	328,93	329,11	0,56	329,37	328,30	3
	<i>OLA-DQB*20</i>	290,99	290,20	0,49	291,39	290,24	5
	<i>OLA-DQB*21</i>	347,54	347,44	0,18	347,83	347,34	6
	<i>OLA-DQB*23</i>	462,02	461,85	0,68	462,81	460,94	7
	<i>OLA-DQB*24</i>	400,55	400,35	1,36	401,98	399,02	5
	<i>OLA-DQB*27</i>	347,54	347,44	0,18	347,83	347,34	6
<i>OLA-DQB*27</i>	<i>OLA-DQB*18</i>	340,14	340,01	0,52	340,83	339,59	5
	<i>OLA-DQB*20</i>	325,39	325,22	0,76	324,25	326,69	10
	<i>OLA-DQB*21</i>	321,79	321,28	1,11	323,06	321,03	3
	<i>OLA-DQB*23</i>	364,54	364,44	0,44	365,73	363,99	21
	<i>OLA-DQB*24</i>	345,78	345,84	0,32	346,23	345,28	19
	<i>OLA-DQB*27</i>	287,68	287,80	0,65	288,42	286,90	7

Mittelwert: Mobilitätswert (bp), gemittelt von mehreren Allelen aus verschiedenen Gelläufen
Vorkommen: Anzahl der Allele aus denen der Mittelwert gebildet wurde
SD: Standardabweichung

Tab. 4-42: Mobilitätswerte (bp) der *DQB*-Allele vom Typ JM07, aufgetrennt mit den Referenzallelen *OLA-DQB*17* und *OLA-DQB*28*

Referenzallel	detektiertes Allel	Mittelwert	Median	SD	Maximum	Minimum	Vorkommen
<i>OLA-DQB*17</i>	<i>OLA-DQB*13</i>	340,98	340,77	0,36	341,56	340,64	7
	<i>OLA-DQB*14</i>	344,03	344,91	0,63	344,77	343,28	6
	<i>OLA-DQB*15</i>	314,85	314,32	0,67	315,63	314,26	4
	<i>OLA-DQB*26</i>	349,63	349,55	0,10	349,70	349,56	2
	<i>OLA-DQB*neu</i>	347,88	347,73	0,58	348,71	347,09	8
<i>OLA-DQB*28</i>	<i>OLA-DQB*13</i>	407,35	407,58	0,87	408,18	406,20	6
	<i>OLA-DQB*14</i>	366,61	366,50	0,38	367,03	366,30	3
	<i>OLA-DQB*15</i>	363,11	363,09	0,10	363,22	363,02	3
	<i>OLA-DQB*26</i>	373,95	372,81	1,61	375,09	372,81	2
	<i>OLA-DQB*neu</i>	287,77	287,55	0,92	288,83	286,44	6

Mittelwert: Mobilitätswert (bp), gemittelt von mehreren Allelen aus verschiedenen Gelläufen
Vorkommen: Anzahl der Allele aus denen der Mittelwert gebildet wurde
SD: Standardabweichung

4.3.2.2 *DQB*-Familientypisierung

Aufgrund der kodominanten Vererbung der *DQB*-Allele kann die Zuverlässigkeit der mit Hilfe der RSCA erstellten Typisierungsergebnisse sowie die Eignung der ausgewählten Referenzallele anhand der Typisierung eines Familienmaterials geprüft werden. Deshalb wurde die Typisierung der mit Hilfe der Primersysteme JM05/JM06 und JM05/JM07 amplifizierten *DQB*-Allele von vier Halbgeschwisterfamilien mit insgesamt sieben Müttern vorgenommen (Tab. 4-43, Tab. 4-44). Dazu wurden für das Primersystem JM05/JM06 die Referenzallele *DQB*20* und *DQB*27* eingesetzt. Die Allele vom Typ JM07 wurden mit den Referenzallelen *DQB*17* und *DQB*28* aufgetrennt. Von den *DQB*-Allelen der Mütter dieser Halbgeschwisterfamilien waren die spezifischen Mobilitätswerte aus den Etablierungsarbeiten bereits bekannt.

Wie aus den Tabellen 4-43 und 4-44 ersichtlich ist, konnten bei sämtlichen Nachkommen die Allele der Eltern wiedergefunden werden. Neben den bereits bekannten Allelen befand sich unter den nicht sequenzierten Vätern (G200/R und G175/R) ein neues *DQB*-Allel (*OLA-DQB*neu*), für das zum Zeitpunkt der Arbeit noch keine Mobilitätswerte vorlagen. Aufgrund der bei beiden Vätern identischen Mobilitätswerte ist von einem *DQB*-Allel mit gleicher Sequenzabfolge auszugehen.

Tab. 4-43: Mobilitätswerte (bp) der *DQB*-Allele vom Typ JM06, ermittelt mit den Referenzallelen *DQB*20* und *DQB*27* bei vier Halbgeschwisterfamilien

Tier	<i>OLA-DQB</i> -Allele		Mobilitätswert (bp) mit Referenzallel			
	<i>OLA-DQB*</i>		<i>OLA-DQB*20</i>		<i>OLA-DQB*27</i>	
G199/R	23	-	462	-	364	-
R37/E	24	-	400	-	346	-
y075	23	-	462	-	364	-
y076	23	24	462	400	364	346
0246/E	24	20	400	291	346	325
y183	23	24	462	400	364	346
y184	23	20	462	291	364	325
PUR12/E	18	20	329	291	340	325
y197	23	18	462	329	364	340
y198	23	20	462	291	364	325
G200/R	-	-	-	-	-	-
G062/E	23	-	462	-	364	-
y112	23	-	462	-	364	-
W57/E	24	-	400	-	346	-
y095	24	-	400	-	346	-
y096	24	-	400	-	346	-
G175/R	-	-	-	-	-	-
G116/E	27	-	347	-	288	-
y116	27	-	347	-	288	-
G179/R	23	-	462	-	364	-
W7/E	27	21	347	347	288	322
y097	23	21	462	347	364	322
y098	23	27	462	347	364	288

grau unterlegt: Vater -: nur ein bzw. kein Allel
fett gedruckt: Mutter

Tab. 4-44: Mobilitätswerte (bp) der *DQB*-Allele vom Typ JM07, ermittelt mit den Referenzallelen *DQB*17* und *DQB*28* bei vier Halbgeschwisterfamilien

Tier	<i>OLA-DQB</i> -Allele		Mobilitätswert (bp) mit Referenzallel			
	<i>OLA-DQB*</i>		<i>OLA-DQB*17</i>		<i>OLA-DQB*28</i>	
G199/R	-	-	-	-	-	-
R37/E	13	28	341	352	407	288
y075		<i>n.t.</i>		<i>n.t.</i>		<i>n.t.</i>
y076	13	-	341	-	407	-
0246/E	13	-	341	-	407	-
y183	13	-	341	-	407	-
y184	-	-	-	-	-	-
PUR12/E	26	-	350	-	374	-
y197	26	-	350	-	374	-
y198	-	-	-	-	-	-
G200/R	<i>neu</i>	-	348	-	288	-
G062/E	-	-	-	-	-	-
y112	<i>neu</i>	-	348	-	288	-
W57/E	13	-	341	-	407	-
y095	<i>neu</i>	13	341	-	407	-
y096	<i>neu</i>	13	341	-	407	-
G175/R	<i>neu</i>	-	348	-	288	-
G116/E	15	-	315	-	363	-
y116	<i>neu</i>	15	348	315	288	363
G179/R	-	-	-	-	-	-
W7/E	15	14	315	344	363	367
y097	14	-	344	-	367	-
y098	15	-	315	-	363	-

grau unterlegt: Vater -: nur ein bzw. kein Allel
fett gedruckt: Mutter n.t.: nicht typisiert

4.3.2.3 *DRB1-DQB*-Haplotypenbildung

Gleich der Typisierung eines Familienmaterials kann anhand der *DRB1-DQB*-Haplotypenbildung die Zuverlässigkeit der mit Hilfe der RSCA ermittelten Typisierungsergebnisse kontrolliert werden. Wie beim Menschen sind auch beim Schaf die *DR*- und *DQ*-Gengruppen eng gekoppelt und werden in der Regel als Haplotypen kodominant vererbt (Kap. 1.6.2). Die Haplotypen können anhand der Familientypisierung der *DRB1*- und *DQB*-Allele, sowie durch die Typisierung *DRB1*- und *DQB*-homozygoter Tiere abgeleitet werden.

Die Vererbung der elterlichen Haplotypen an ihre Nachkommen ist in Abbildung 4-8 dargestellt.

	<i>DRB1</i>	<i>DQB/JM06</i>	<i>DQB/JM07</i>
G199/R Vater	500	<i>DQB*23</i>	
	500	<i>DQB*23</i>	
R37/E Mutter	580	<i>DQB*24</i>	<i>DQB*13</i>
	546		<i>DQB*28</i>
y075/Lamm	500	<i>DQB*23</i>	n.t.
	546		n.t.
y076/Lamm	500	<i>DQB*23</i>	
	580	<i>DQB*24</i>	<i>DQB*13</i>
O246/E Mutter	580	<i>DQB*24</i>	<i>DQB*13</i>
	914	<i>DQB*20</i>	
y183/Lamm	500	<i>DQB*23</i>	
	580	<i>DQB*24</i>	<i>DQB*13</i>
y184/Lamm	500	<i>DQB*23</i>	
	914	<i>DQB*20</i>	
PUR12/E Mutter	512	<i>DQB*18</i>	<i>DQB*26</i>
	914	<i>DQB*20</i>	
y197/Lamm	500	<i>DQB*23</i>	
	512	<i>DQB*18</i>	<i>DQB*26</i>
y198/Lamm	500	<i>DQB*23</i>	
	914	<i>DQB*20</i>	

	<i>DRB1</i>	<i>DQB/JM06</i>	<i>DQB/JM07</i>
G200/R Vater	524/G2		<i>DQB*neu</i>
	562		
G062/E Mutter	500	<i>DQB*23</i>	
	500	<i>DQB*23</i>	
y112/Lamm	524/G2		<i>DQB*neu</i>
	500	<i>DQB*23</i>	
W57/E Mutter	580	<i>DQB*24</i>	<i>DQB*13</i>
	580	<i>DQB*24</i>	<i>DQB*13</i>
y095/Lamm	524/G2		<i>DQB*neu</i>
	580	<i>DQB*24</i>	<i>DQB*13</i>
y096/Lamm	524/G2		<i>DQB*neu</i>
	580	<i>DQB*24</i>	<i>DQB*13</i>
G175/R Vater	524/G2		<i>DQB*neu</i>
	524/G2		<i>DQB*neu</i>
G116/E Mutter	554	<i>DQB*27</i>	<i>DQB*15</i>
	490		
y116/Lamm	524/G2		<i>DQB*neu</i>
	554	<i>DQB*27</i>	<i>DQB*15</i>

	<i>DRB1</i>	<i>DQB/JM06</i>	<i>DQB/JM07</i>
G179/R Vater	500	<i>DQB*23</i>	
	500	<i>DQB*23</i>	
W7/E Mutter	554	<i>DQB*27</i>	<i>DQB*15</i>
	462	<i>DQB*21</i>	<i>DQB*14</i>
y097/Lamm	500	<i>DQB*23</i>	
	462	<i>DQB*21</i>	<i>DQB*14</i>
y098/Lamm	500	<i>DQB*23</i>	
	500	<i>DQB*27</i>	<i>DQB*15</i>

Abb. 4-8: Darstellung der Vererbung oviner *DRB1-DQB*-Haplotypen am Beispiel von vier typisierten Halbgeschwisterfamilien. Pro Familienmitglied sind über und unter dem Strich die ovinen *DRB1-DQB*-Haplotypen der beiden homologen Chromosomen dargestellt. Dabei wird immer die Reihenfolge Vater-Mutter-Nachkomme eingehalten. n.t.: nicht typisiert

Wie die Abbildung 4-8 zeigt, war bei sämtlichen typisierten Halbgeschwisterfamilien eindeutig eine Vererbung der *DRB1*- und *DQB*-Allele als Haplotypen zu erkennen. Zum Beispiel war der Haplotyp *DRB1*500-DQB*23* bei allen Halbgeschwisterfamilien zu finden. Desweiteren lagen die Allele *DRB1*580*, *DQB*24* und *DQB*13* sowie die Allele *DRB1*554*, *DQB*27* und *DQB*15* in zwei Familien als Haplotypen vor. Diese Ergebnisse bestätigen die zuverlässige Typisierung von *DQB*-Allelen mit Hilfe der RSCA.

5 Diskussion

5.1 Charakterisierung der typisierten Marker

Die Polymorphismen im zweiten Exon der *DRB1*-Allele spiegeln sich auf Proteinebene in der Variabilität der Antigenbindungsstelle der MHC-Klasse-II-Moleküle wieder. Die dadurch beeinflusste Affinität, mit der Peptide an die MHC-Moleküle binden, kann sich

erheblich auf die Effektivität der sich entwickelnden Immunantwort und damit auf die Resistenz auswirken. Deshalb wurden im Rahmen dieser Arbeit die exonischen Polymorphismen des *DRB1*-Gens mit Hilfe der sequenzspezifischen Oligohybridisierung erfasst.

Die hohe Korrelation zwischen den Polymorphismen im Exon 2 und der Variabilität des im zweiten Intron lokalisierten Mikrosatelliten des *DRB1*-Gens beim Scottish Blackface Schaf aus dem Jahrgang 1993 (Schwaiger et al. 1993, 1996) und dem Jahrgang 1996 entspricht den Befunden bei Primaten, Nagetieren, Rinder und Ziegen (Rieß et al. 1990, Ammer et al. 1992, Eppelen et al. 1997, Bergstrom et al. 1998). Mit wenigen Ausnahmen war jeder exonischer Polymorphismus mit einem bestimmten Mikrosatelliten unterschiedlicher Länge gekoppelt (Tab. 4-1).

Wie bei Scottish Blackface Schafen aus dem Jahrgang 1993 (Schwaiger et al. 1996) konnten auch bei den Tieren aus dem Jahrgang 1996 anhand der Mikrosatellitenlänge drei verschiedene Allelgruppen unterschieden werden. Dabei zeigt auch das Exon 2 jeweils ein charakteristisches Hybridisierungsmuster (Tab. 4-1). Die Gruppe eins umfasst PCR-Produkte mit einer Länge von 460 bp. Davon kann eine zweite Gruppe mit den Allelen der Länge 490 bis 584 bp abgegrenzt werden. Zur Gruppe drei gehören die Allele mit einer Länge über 800 bp. Sequenzanalysen zeigten für jede Gruppe einen bestimmten Mikrosatellitentyp mit einer charakteristischen Basensequenz (Schwaiger et al. 1996). Allerdings waren diese Mikrosatellitengruppen in der Population unterschiedlich stark vertreten. 90 % der Scottish Blackface Schafe aus dem Jahrgang 1993 und 1996 verfügten über Mikrosatellitenallele aus der zweiten Gruppe mit einer Länge von 490 bis 584 bp (Tab. 4-3). Die beim Scottish Blackface Schaf sehr selten vertretenen außergewöhnlich langen Mikrosatellitenallele der Klasse drei sind jedoch nicht rassenspezifisch, da diese auch beim Merinoschaf detektiert wurden (Griesinger et al. 1999).

Beim Scottish Blackface Schaf aus dem Jahrgang 1996 entsprach mit Ausnahme der Mikrosatelliten CSR226 und BM1905 die Anzahl und Länge der Allele am *DRB1*-Locus sowie der Marker DYMS1, OMHC1 und BM1815 im wesentlichen den bereits publizierten Daten (Tab. 4-2). Der Marker BM1905 ist beim Scottish Blackface Schaf, im Gegensatz zum Rind, mit zwei Allelen kaum polymorph und weist einen geringen PIC-Wert auf. Alle anderen Marker waren hoch informativ und sind demnach für Assoziationsanalysen geeignet (Tab. 4-3).

5.2 Assoziationsanalysen zwischen Allelen verschiedener Marker und der Resistenz gegen *O. circumcincta*

Anhand von Assoziationsanalysen wurde geprüft, ob beim Scottish Blackface Schaf bestimmte Allele oder Genotypen des *DRB1*-Locus sowie der Marker DYMS1, OMHC1, CSRD226, BM1815 und BM1905 Unterschiede in der Resistenz gegen eine Infektion mit *O. circumcincta* bedingen.

Bei der Beurteilung der Ergebnisse der Analysen sämtlicher Marker sollte berücksichtigt werden, dass für die Studie Tiere eingesetzt wurden, die monatlich mit Anthelmintika behandelt wurden. Wie Infektionsversuche beim Scottish Blackface Schaf zeigen, werden nach einer Albendazolbehandlung maximal halb so hohe Eizahlen wie nach einer Erstinfektion erreicht. Gleichzeitig steigt die Eizahl nach der Reinfektion langsamer an (Stear et al. 1995a). Folglich weisen resistente und suszeptible Schafe nach mehrmaliger Anthelmintikabehandlung deutlich geringere Unterschiede in der Eizahl auf wie unbehandelte Tiere. Dadurch wird der Nachweis von genetischen Einflüssen auf die Resistenz durch Assoziationsanalysen schwieriger.

Der *DRB1*-Locus wird, aufgrund seiner zentralen Bedeutung bei der Antigen-Präsentation von parasitären exogenen Peptiden und des mit Hilfe von Labormodellen nachgewiesenen Zusammenhangs zwischen der Resistenz gegen gastrointestinale Parasiten und *MHC*-Klasse-II-Genen (Wassom und Kelly 1990, Behnke und Wahid 1991), als ein Hauptkandidateng betrachtet. Aus diesem Grund konzentriert sich diese Arbeit besonders auf die Typisierung und statistische Auswertung des *DRB1*-Locus.

Das Modell 1, das die Regression der Eizahl auf die Anzahl der Allele beschreibt und bei intermediärer Vererbung optimal ist, wurde bereits zur Analyse des *DRB1*-Locus (Schwaiger et al. 1995) und der Marker DYMS1 bzw. OMHC1 (Buitkamp et al. 1996) aus dem Jahrgang 1993 eingesetzt. Deshalb wurden diese Marker aus dem Jahrgang 1996 und 1993 + 1996 ebenfalls mit dem Regressionsmodell ausgewertet. Zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse von Schwaiger et al. (1995) und Buitkamp et al. (1996) wurden die Daten aus dem Jahrgang 1993 nach Modell 1 mit den Analysekriterien des Jahrgangs 1996 reanalysiert.

Den Schwerpunkt dieser Arbeit stellen die Analysen des *DRB1*-Gens (Hauptkandida-

tengen) mit dem Modell 2, das die Genotypen direkt berücksichtigt, dar. Mit diesem Modell kann ermittelt werden, ob am untersuchten Locus Dominanz vorliegt. Dieses Modell ist besonders für die Studie am *DRB1*-Locus geeignet, da bei *MHC*-Genen viele Indizien für das Vorliegen von Überdominanz sprechen (Doherty und Zinkernagel 1975, Hughes und Yeager 1998).

5.2.1 Analyse des Jahrgangs 1993 und 1996 am *DRB1*-Locus mit dem Modell 1 (Regressionsmodell)

Bei der Reanalyse des Jahrgangs 1993 grenzte das nach Schwaiger et al. (1995) hoch signifikant mit der Reduktion der Eizahl assoziierte Allel *G2* an die Signifikanzschwelle (Tab. 4-13). Dagegen zeigte dieses Allel 1996 keinen Effekt (Tab. 4-14).

Im Gegensatz zu Schwaiger et al. (1995) wurden bei der Reanalyse sämtliche Allele, auch solche mit geringer Frequenz berücksichtigt, um Informationsverluste zu vermeiden. Dadurch konnte 1996 und 1993 + 1996 bei der Regressionsanalyse ein signifikanter Effekt des geringfrequenten Allels *T* nachgewiesen werden (Tab. 4-14, Tab. 4-15). Um zu gewährleisten, dass die Voraussetzungen für die im Rahmen der Varianzanalyse durchgeführten Tests erfüllt sind, wurde zur logarithmischen Transformation der Wert δ zu den ursprünglichen Eizahlen addiert, bei dem die beste Annäherung der Residuen an die Normalverteilung erzielt wurde. Deshalb wurde von der Addition des Wertes $\delta = 1$ (Schwaiger et al. 1995) abgesehen und statt dessen der Wert $\delta = 15$ addiert.

Die im Rahmen der Reanalyse ermittelte Signifikanz des Allels *F* beruht auf die gleichzeitige Änderung des berücksichtigten Tiermaterials und des Additionswertes δ zur logarithmischen Transformation der Eizahl (Tab. 4-13). Wurden entweder nur die seltenen Allele ausgeschlossen oder nur der Additionswert δ geändert, blieb das Allel *G2* im Vergleich zu den anderen Allelen am stärksten signifikant (diese Daten sind im Ergebnisteil nicht dargestellt).

5.2.2 Analyse des vereinigten Datensatzes der Jahrgänge 1993 und 1996 am *DRB1*-Locus mit dem Modell 1 (Regressionsmodell)

Wie aus der Auswertung des gemeinsamen Datensatzes der Jahrgänge 1993 und 1996 mit Hilfe des Regressionsmodells hervorgeht, wird die Resistenz gegen *O. circumcincta* durch

mehrere Allele beeinflusst (Tab. 4-15). Im Vergleich zu *I* war das Allel *F* hoch signifikant mit einer Reduktion der Eizahl assoziiert. Gleichzeitig trugen die Allele *G2*, *T* und *D* signifikant zur Reduktion der Eizahl bei.

Auffallend ist jedoch, dass das 1993 und 1996 am häufigsten im Untersuchungspanel vertretene Allel *I* gleichzeitig mit der höchsten Eizahl gekoppelt war (Tab. 4-10, Tab.4-13, Tab. 4-14, Tab. 4-15). Demnach war bis zu einem Drittel der Tiere, für eine Infektion mit *O. circumcincta* verstärkt anfällig. Dieser Befund könnte, bei Berücksichtigung des Kopplungsungleichgewichts vieler Loci im *MHC*-Bereich (Andersson et al. 1988, Grain et al. 1993), als ein Hinweis darauf bewertet werden, dass nicht das *DRB1*-Gen selbst, sondern ein eng benachbarter Locus zur erhöhten Resistenz beiträgt.

Andererseits könnte die hohe Frequenz des Allels *I* auf Pleiotropie am *DRB1*-Locus beruhen, welche die Ausprägung mehrerer Merkmale beeinflusst. Zum Beispiel existiert bei der Maus auf Chromosom 1 ein Resistenzlocus, der gleichzeitig vor Infektionen mit *Mycobacterium bovis*, *Leishmania donovani* und *Salmonella typhimurium* schützt (Vidal et al. 1995). Das Allel *I* könnte Schutz gegen einen anderen Parasiten, der im Vergleich zu *O. circumcincta* der Schafpopulation einen größeren Schaden zufügt, bieten. Zugleich wird eine stärkere Anfälligkeit für *O. circumcincta* in Kauf genommen.

Die erhöhte Nematodenanfälligkeit der Allel *I*-Träger könnte bei natürlicher Selektion auch durch die frequenzabhängige Selektion (Snell 1968, Bodmer 1972) erklärt werden. Dabei werden seltene Allele selektiv bevorzugt. Der Parasit *O. circumcincta* könnte sich aufgrund einer Mutation der Antigenerkennung und -präsentation durch das ursprüngliche Resistenzallel *I* entzogen haben. Dieser wäre dann in der Lage den Wirt weiterhin zu besiedeln. Verfügt nun der Wirt über ein seltenes Allel, wie zum Beispiel das Allel *T*, das durch die Präsentation eines anderen parasitären Peptids Infektionsschutz gewährt, wird dieses selektiv bevorzugt. Dadurch ändert sich langfristig die Allelfrequenz am *DRB1*-Locus des Wirts. Die Frequenz des Allels *T* würde steigen, während die des im Moment noch am häufigsten vertretenen Allels *I* abnimmt. Daraufhin werden in der Parasitenpopulation Individuen mit neuen Epitopen, die vom Immunsystem des Wirts nicht erkannt werden, selektiv bevorzugt. Dies führt dann zu einer veränderten genetischen Zusammensetzung in der Parasitenpopulation. Der durch diesen Selektionsdruck induzierte gegenseitige Anpassungsprozess fördert sowohl im Wirt, als auch im Parasiten die genetische Diversität.

Auch Hill et al. (1991) konnten anhand ihrer Studie zeigen, dass ein immer währender, durch Pathogene induzierter, Selektionsdruck auf die menschliche Population ausgeübt wird. Die Autoren erklären die, im Gegensatz zu anderen ethnischen Gruppen, in der westafrikanischen Bevölkerung hohe Frequenz bestimmter mit der Resistenz gegen Malaria assoziierten *HLA*-Allele durch die Mechanismen der frequenzabhängigen Selektion.

5.2.3 Analyse des vereinigten Datensatzes der Jahrgänge 1993 und 1996 am *DRB1*-Locus mit dem Modell 2, mit direkter Berücksichtigung der Genotypen

Das nicht signifikante Resultat des F-Tests der Varianzanalyse nach Modell 2 ergab keinen sicheren Rückschluss auf unterschiedliche Resistenz der Genotypen gegen eine Infektion mit *O. circumcincta* (Tab. 4-17). Bei der Interpretation dieses Ergebnisses muss jedoch die geringe Mächtigkeit des Globaltests berücksichtigt werden (Kap. 4.2.1.3). Diese resultiert aus der Versuchsanlage mit vielen Stufen (Genotypen), sehr kleinen Blöcken (Mütter) und hoher Unbalanziertheit. Die weiterführenden Analysen waren auf die Genotypen *IC*, *ID*, *IL*, *IF* und *IM* und deren zugehörige Homozygoten beschränkt, da für weitere Heterozygote mit dem Allel *I* keine entsprechenden Homozygoten vorlagen, oder in einem anderen Teildatensatz analysiert wurden.

Sämtliche Analysen weisen auf eine verstärkte Resistenz gegen *O. circumcincta* heterozygoter Individuen mit dem Allel *I* hin. Anhand der Analysen konnte signifikant eine Abweichung von der intermediären Vererbung nachgewiesen werden (Tab. 4-20). Ob diese auf partielle bzw. vollständige Dominanz oder Überdominanz beruht konnte nicht eindeutig geklärt werden. Allerdings waren mit Ausnahme des Genotypen *IM* die geschätzten Eizahlen der Heterozygoten im Vergleich zum entsprechenden besseren Homozygoten mit einer niedrigeren Eizahl assoziiert (Abb. 4-2) und deuten sehr suggestiv auf Überdominanz hin. Zudem spricht auch der untersuchte Genort für eine überdominante Wirkung Heterozygoter mit dem Allel *I*. *MHC*-Gene codieren für Oberflächenmoleküle, die bei der Immunabwehr eine wichtige Funktion einnehmen. Im Vergleich zu Homozygoten verfügen am *DRB1*-Locus heterozygote Individuen über die Fähigkeit ein größeres Repertoire von Peptiden an Oberflächenmoleküle zu binden und den T-Zellen zu präsentieren. Dies erlaubt eine effektivere Immunabwehr von Pathogenen (Lazaro et al. 1999). Der durch Pa-

thogene induzierte Selektionsdruck bevorzugt Heterozygote, so dass diese im Vergleich zu homozygoten Individuen über eine höhere Fitness (Überdominanz der Fitness) verfügen (Doherty und Zinkernagel 1975, Tiercy et al. 1992, Falconer und Mackay 1996). Deshalb ist für eine effektive Immunantwort die Variabilität der im *MHC*-Bereich lokalisierten Gene innerhalb eines Individuums von großer Bedeutung. Dieser Heterozygotenvorteil in Bezug auf *MHC*-Gene konnte bereits bei anderen Infektionskrankheiten wie zum Beispiel HIV-1 (Carrington 1999) und Hepatitis-B (Thursz et al. 1997) nachgewiesen werden.

Gleichzeitig könnte durch die überdominante Wirkung Heterozygoter mit dem Allel *I* die hohe Frequenz des Allels *I* der Jahrgänge 1993 und 1996 wenigstens teilweise erklärt werden.

5.2.4 Eignung der verwendeten Modelle bei verschiedenen Erbgängen (intermediäre Vererbung, Dominanz, Überdominanz)

Das Regressionsmodell ist nur bei der Analyse von Genorten mit nachgewiesenem intermediärem Erbgang optimal. Bei Dominanz oder Überdominanz entsprechen die mit dem Regressionsmodell ermittelten Schätzwerte für die Eizahl nicht dem tatsächlichen Verlauf, da diese Erbgänge von der Linearität abweichen und zudem der Regressionskoeffizient von der Allelfrequenz abhängig ist. Dieser Sachverhalt wird anhand des folgenden Beispiels erklärt.

Im Untersuchungspanel liegen die Allele *A1* und *A2* mit den Genotypen *A1A1*, *A1A2* und *A2A2* im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht vor. Die Frequenz des Allels *A1* beträgt p , die des Allels *A2* ist q . Das Allel *A1* ist bei *A2A2* Homozygoten mit 0, bei *A1A2* Heterozygoten mit 1 und bei *A1A1* Homozygoten mit 2 vertreten. Den Genotypen werden folgende Genotypwerte zugeordnet:

$$\begin{array}{ll} A1A1 & +a \\ A1A2 & d \\ A2A2 & -a \end{array}$$

Das Allel *A1* erhöht den Genotypwert. Diese können auf einer Skala angeordnet werden. Den Nullpunkt in dieser Skala stellt das Mittel zwischen den Werten der beiden homozygoten Genotypen dar. Der Wert d des heterozygoten Genotyps hängt vom Dominanzgrad

ab. Bei völlig intermediärer Vererbung wird d gleich 0. Ist $A1$ dominant über $A2$, so wird d positiv, und im umgekehrten Fall negativ. Bei vollständiger Dominanz wird d gleich $+a$ oder $-a$, und bei Überdominanz wird d größer als $+a$ oder kleiner als $-a$ (Falconer und Mackay 1996).

Folgende Regressionsgleichung gibt den Zusammenhang zwischen der durchschnittlichen Höhe der Eizahl Ey_i und dem Allel x_i einer Population wieder:

$$Ey_i = b_0 + b_1 x_i$$

x_i kann den Wert 0, 1 oder 2 annehmen. b_1 gibt den Regressionskoeffizienten an und wird folgendermaßen definiert:

$$b_1 = \frac{Cov(XY)}{Var(X)}$$

Allgemein kann die Kovarianz zwischen der Anzahl des Allels x_i und dem Merkmalswert y_i durch $nCov(XY) = \sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$ und die Varianz durch $nVar(X) = \sum(x_i - \bar{x})^2$ beschrieben werden. Dabei entspricht das Populationsmittel $\bar{y} = a(p - q) + 2pqd$ dem Durchschnitt aller y -Werte und $\bar{x} = 2p^2 + 2pq = 2p$ dem Durchschnitt der Allelfrequenz.

Für zwei Allele gilt $Cov(XY) = 2pq[a + d(q - p)] = 2pq\alpha$, wobei α den Durchschnittseffekt eines Allels darstellt (Falconer und Mackay 1996), und $Var(X) = 2pq$. Wie aus folgender Gleichung hervorgeht, entspricht der Regressionskoeffizient b_1 dem Durchschnittseffekt α , welcher unter anderem von der Allelfrequenz abhängig ist:

$$b_1 = \frac{Cov(xy)}{Var(x)} = \frac{2pq[a + d(q - p)]}{2pq} = a + d(q - p) = \alpha$$

Durch die bekannte Eigenschaft der Regressionsgeradengleichung $\bar{y} = \hat{b}_0 + \hat{b}_1 \bar{x}$ kann die Regressionsgleichung der Grundgesamtheit geschätzt werden. Daraus ergibt sich \hat{b}_0 :

$$\begin{aligned} \hat{b}_0 &= \bar{y} - \hat{b}_1 \bar{x} \\ E\hat{b}_0 &= E\bar{y} - \hat{b}_1 E\bar{x} = a(p - q) + 2pqd - [a + d(q - p)]2p = -a + 2p^2d \end{aligned}$$

Die Tabelle 5-1 zeigt wie sich bei Dominanz und Überdominanz der Regressionskoeffizient mit der Allelfrequenz ändert. Dagegen bleibt bei intermediärer Vererbung der Regressionskoeffizient trotz sich ändernder Allelfrequenz konstant. Zur Ermittlung der Regressionskoeffizienten wurden für das Allel $A2$ die Frequenzen $q \rightarrow 0$, $q = 0,5$ und $q \rightarrow 1$ eingesetzt.

Tab. 5-1: Abhängigkeit des Regressionskoeffizienten b_1 von der Allelfrequenz bei intermediärer Vererbung, Dominanz und Überdominanz

Erbgang		b_1	b_1			b_1	
		$= \alpha = a + d(q-p)$	$q \rightarrow 0$	$q = 0,5$	$q \rightarrow 1$	Minimum	Maximum
intermediär	$d = 0$	a	a	a	a	a	a
dominant	$d = a$	$a2q$	0	a	$2a$	0	$2a$
	$d = -a$	$a2p$	$2a$	a	0	$2a$	0
überdominant	$a = 0$	$d(2q-1)$	$-d$	0	d	0	d

Die Abhängigkeit des Regressionskoeffizienten von der Allelfrequenz bei intermediärer Vererbung, Dominanz oder Überdominanz kann an einem Zahlenbeispiel verdeutlicht werden (Tab. 5-2). Es sollen die Allele $A1$ und $A2$ mit den Genotypen $A1A1$, $A1A2$ und $A2A2$ im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht vorliegen. Dem jeweiligen Erbgang entsprechend werden für die Höhe der Eizahl Y_{A1A1} , Y_{A1A2} , Y_{A2A2} einfache Werte (2, 1, 0) eingesetzt. Unter Berücksichtigung der Allelfrequenzen $p_{A1} = 0,1$, $p_{A1} = 0,5$ und $p_{A1} = 0,9$ werden für intermediäre Vererbung, Dominanz und Überdominanz die entsprechenden Regressionskoeffizienten b_{A2} ermittelt.

Wie das Zahlenbeispiel aus der Tabelle 5-2 zeigt, bleibt bei intermediärer Vererbung der Regressionskoeffizient konstant, während er sich bei Dominanz und Überdominanz mit der Allelfrequenz ändert. Sind überwiegend die Genotypen $A2A2$ und $A1A2$ oder die Genotypen $A1A1$ und $A1A2$ vertreten, kehrt sich bei Überdominanz das Vorzeichen des Regressionskoeffizienten um.

Tab. 5-2: Darstellung des Regressionskoeffizienten b_{A2} , in Abhängigkeit von der Allelfrequenz bei intermediärer Vererbung, Dominanz und Überdominanz an einem Zahlenbeispiel

Allelfrequenz (p_{AI})	Erbgang mit Höhe der Eizahl Y	intermediär	dominant	überdominant
		$Y_{A1A1}=2, Y_{A1A2I}=1,$ $Y_{A2A2}=0$	$Y_{A1A1}=2, Y_{A1A2I}=1,$ $Y_{A2A2}=1$	$Y_{A1A1}=2, Y_{A1A2I}=1,$ $Y_{A2A2}=2$
0,1		1,00	0,10	-0,80
0,5		1,00	0,50	0,00
0,9		1,00	0,90	0,80

Regressionskoeffizient (b_{A2})

Aufgrund der vorhergehenden Ausführungen könnten die sich in den Jahrgängen 1993, 1996 und 1993+1996 tendenziell mit der Allelfrequenz ändernden Regressionskoeffizienten einen weiteren Hinweis auf eine durch Dominanz oder Überdominanz bedingte Resistenz gegen *O. circumcincta* geben. Beispielsweise wurde im Vergleich zu 1993 und 1996 im Jahrgang 1993 + 1996 bei mittlerer Frequenz des Allels F ein mittelhoher Wert für den Regressionskoeffizienten b_F ermittelt. 1993 war das Allel F am häufigsten vertreten und zeigte dementsprechend den negativsten Regressionskoeffizienten. 1996 war das Gegenteil zutreffend. Diese Tendenz ist auch bei anderen Allelen zu erkennen (Tab. 4-13, Tab. 4-14, Tab. 4-15).

Der Widerspruch, dass das Allel I den höchsten Schätzwert für die Eizahl aufweist und trotzdem am häufigsten im Untersuchungspanel vertreten ist, könnte durch Überdominanz der Heterozygoten mit dem Allel I erklärt werden. Die hohe Frequenz des Allels I könnte auf überdominante Selektion beruhen. Gleichzeitig würde bei Überdominanz die Anwendung des Regressionsmodells zu einem Regressionskoeffizienten für das Allel I führen, der nicht den tatsächlichen Verlauf wiedergibt.

Liegt dagegen ein intermediärer Erbgang (keine Dominanz und Überdominanz) vor, ist die Anwendung des Regressionsmodells vorteilhaft, da dieses im Vergleich zum Modell 2 weniger zu schätzende Parameter umfasst. Bei der Analyse des *DRB1*-Locus müssen maximal 21 Regressionskoeffizienten für sämtliche Allele geschätzt werden, während bei der Anwendung des Modells 2 die Parameter für 66 Genotypen geschätzt werden müssen.

Dadurch wird die Analyse ungenauer. Zudem kann im Vergleich zum Modell 2 bei der Regressionsanalyse die Restvarianz besser geschätzt werden, da mehr Freiheitsgrade zur Schätzung der Restkomponente zur Verfügung stehen.

5.2.5 Analyse von weiteren auf Chromosom 20 lokalisierten Mikrosatelliten mit den Modellen 1 und 2

Ob eine Resistenz gegen Magendarm-Nematoden durch ein Hauptkandidatengen oder durch mehrere Gene beeinflusst wird, ist noch nicht geklärt. Deshalb wurden die Tiere aus dem Jahrgang 1993 und 1996 mit Mikrosatelliten aus dem *MHC*-Klasse-I- (*OMHC1*) und -IIb-Bereich (*DYMS1*), der genetisch vom Klasse-IIa Bereich getrennt und fast am Zentromer lokalisiert ist, untersucht.

Bei der zum *DRB1*-Marker analogen Reanalyse des Markers *DYMS1* aus dem Jahrgang 1993 wurde die von Buitkamp et al. (1996) detektierte signifikante Assoziation mit der Erhöhung der Suszeptibilität des Allels 216 bestätigt (Tab. 4-24). 1996 zeigte dieses Allel keinen Effekt, während das 1993 nicht vertretene Allel 206 signifikant zur erhöhten Anfälligkeit führte (Tab. 4-25). Die Analyse des gemeinsamen Datensatzes 1993 + 1996 wies ähnlich dem *DRB1*-Locus auf die Existenz mehrerer signifikant zur Suszeptibilität beitragender Allele (206 und 216) hin (Tab. 4-26).

Für die bei der Regressionsanalyse ermittelten signifikanten Effekte der Allele sowohl am *DRB1*-Locus als auch des *DYMS1*-Markers können zwei Erklärungsansätze in Betracht gezogen werden. Zum einen könnte ein Resistenzlocus innerhalb der *DRB1*- und *DY*-Region lokalisiert sein und mit diesen im Kopplungsungleichgewicht liegen. Da beim Rind nachgewiesen werden konnte, dass bei bis zu 50 cM oder weiter entfernten Loci ein Kopplungsungleichgewicht vorliegen kann (Farnir et al. 2000), wäre es sinnvoll zu prüfen, ob dies für das *DRB1*-Gen und den Marker *DYMS1* trotz einer Entfernung von 19 cM zutrifft. Allerdings zeigte der genetisch zwischen dem *DRB1*-Locus und dem *DYMS1*-Marker liegende bovine Mikrosatellit BM1815, weder 1993 (Buitkamp, persönliche Mitteilung) noch 1996 (Tab. 4-37) bei der Assoziationsanalyse einen signifikanten Einfluss auf die Eizahl. Zum anderen könnte der *DRB1* - und der *DY*-Locus jeweils unabhängig voneinander die Eizahl beeinflussen.

Ob im *MHC*-Klasse-IIb-Bereich lokalisierte Gene einen Einfluss auf die Eizahl ausüben,

oder ob jeweils benachbarte Genorte dafür verantwortlich sind, kann noch nicht geklärt werden. Gegen eine direkte Beteiligung der DY-Gene an der Antigenpräsentation spricht die Tatsache, dass es bis jetzt weder beim Rind noch beim Schaf gelungen ist, eine Expression von DY-Molekülen auf der Zelloberfläche nachzuweisen (Wright et al. 1994). Da jedoch die Transkription des DY-Gens nachgewiesen werden konnte (Wright et al. 1994), muss von einem funktionellen Gen mit einer unbekanntenen Funktion ausgegangen werden.

Im Gegensatz zu Buitkamp et al. (1996) konnte bei der Reanalyse des im Bereich der *MHC*-Klasse-I liegenden Markers OMHC1 aus dem Jahrgang 1993 kein signifikanter Einfluss bestimmter Allele auf die Eizahl nachgewiesen werden (Tab. 4-30). Auch 1996 ergaben sich keine Hinweise auf Allele, die zur Resistenz beitragen (Tab. 4-31). Erst bei der Regressionsanalyse des vereinigten Datensatzes 1993 + 1996 war das Allel 210 signifikant mit einer Reduktion der Eizahl assoziiert (Tab. 4-32). Vermutlich können erst bei der Analyse eines größeren Datenumfanges genauere Schätzungen durchgeführt werden, so dass signifikante Effekte sichtbar werden.

Bei der Analyse mit dem Modell 2 erbrachten mit Ausnahme des Mikrosatelliten BM1905 weder der Marker CSRD226 noch der Marker BM1815 aus dem Jahrgang 1996 einen signifikanten Hinweis auf das Vorliegen von Genotypen, die sich in ihrem Einfluss auf die Höhe der Eizahl unterscheiden (Tab. 4-37).

Der gegen das Telomer des Chromosom 20 liegende Marker BM1905 zeigte einen an der Signifikanzschwelle liegenden Einfluss der Genotypen auf die Eizahl (Tab. 4-37). Da bei diesem Marker nur drei Genotypen existent waren, konnten sehr genaue Vergleiche zwischen den Effekten der Genotypen vorgenommen werden. Somit werden im Vergleich zum *DRB1*-Locus oder zum DYMS1-Marker viel genauere Schätzwerte ermittelt. Allerdings war der Marker BM1905 mit nur zwei Allelen kaum polymorph und war dementsprechend kaum informativ. Für weitere Aussagen darüber, ob sich im Bereich des Markers BM1905 Gene befinden, welche die Resistenz gegen *O. circumcincta* beeinflussen, wäre es sinnvoll weitere Marker in dieser Region zu etablieren und zu analysieren.

5.2.6 Schlussfolgerungen zur Assoziationsanalyse am *DRB1*-Locus

Die Ergebnisse sämtlicher Analysen des *DRB1*-Locus sprechen für eine erhöhte Resistenz gegen *O. circumcincta*, die auf Überdominanz beruht:

- Die Abweichung von der intermediären Vererbung durch Dominanz oder Überdominanz konnte signifikant nachgewiesen werden. Die heterozygoten Genotypen *IC*, *ID*, *IF* und *IL* führten im Vergleich zum entsprechenden besseren Homozygoten zu einer erhöhten Resistenz gegen eine Infektion mit *O. circumcincta*.
- Das Allel *I* war am häufigsten im Untersuchungspanel vertreten. Dennoch war es bei der Regressionsanalyse im Vergleich zu den anderen Allelen mit der höchsten Eizahl assoziiert. Liegt Überdominanz vor, entspricht der durch die Regressionsanalyse ermittelte Schätzwert der Eizahl für das Allel *I* nicht dem tatsächlichen Verlauf, da dieser Erbgang von der Linearität abweicht und der Regressionskoeffizient von der Allelfrequenz mit abhängig ist. Gleichzeitig kann die hohe Frequenz des Allels *I* durch eine überdominante Wirkung der Genotypen mit dem Allel *I* erklärt werden, da diese selektiv bevorzugt werden.
- Bei Vorliegen von Dominanz und besonders von Überdominanz ändert sich der Regressionskoeffizient mit der Allelfrequenz. Somit könnte der sich pro Jahrgang mit der Allelfrequenz ändernde Regressionskoeffizient der Allele, wie zum Beispiel des Allels *F*, als ein Hinweis auf Dominanz oder Überdominanz bewertet werden.
- Die Eigenschaften und Funktion der MHC-Moleküle bei der Bindung von Antigenen implizieren das Vorliegen von Überdominanz. Heterozygote Individuen sind durch einen erhöhten Schutz vor Infektionskrankheiten wie zum Beispiel HIV-I und Hepatitis-B ausgezeichnet.

Schwaiger et al. (1995) erwarten beim Ersatz des Allels *I* durch das Allel *G2* hoch resistente Tiere. Allerdings ist, aufgrund der hohen Frequenz des Allels *I* und der gleichzeitig im Vergleich zu sämtlichen anderen Genotypen erhöhten Nematodenanfälligkeit der homozygoten Allel *I*-Träger, das Vorliegen von pleiotropen Effekten nicht auszuschließen. Die Reduktion des Allels *I* könnte dann zur erhöhten Anfälligkeit für andere Krankheiten führen. Außerdem könnte bei Epistasie der Austausch des Allels *I* durch ein anderes die Wechselwirkung zwischen verschiedenen Genen beeinflussen. Die Folgen daraus sind kaum abzuschätzen.

Bei Überdominanz der Genotypen mit dem Allel *I* stellt sich eine Gleichgewichtsfrequenz zwischen den verschiedenen Genotypen ein. Das Ersetzen des Allels *I* bedingt dann eine Abweichung von dieser Gleichgewichtsfrequenz. Dadurch kann die Fitness der Gesamtpopulation negativ beeinflusst werden. Somit wäre bei abnehmender Frequenz des Allels *I* ein Sinken der Fitness in der Population und gleichzeitig eine Steigerung der Anfälligkeit für *O. circumcincta* zu erwarten.

Die Resultate der Studie am *DRB1*-Locus weisen auf eine Abweichung von der intermediären Vererbung hin, die wahrscheinlich auf Überdominanz beruht. Diese Überdominanz konnte allerdings nicht signifikant nachgewiesen werden. Jedoch sprechen die Ergebnisse dieser Arbeit dafür, dass es bei anderen Studien mit ähnlichem Forschungsbereich und Tiermaterial auf jeden Fall sinnvoll ist, das Datenmaterial auf Überdominanz zu prüfen.

5.3 Sequenzierung und Typisierung des zweiten Exons oviner *DQB*-Allele mittels der RSCA

Aufgrund ihrer Funktion bei der Präsentation eines umfangreichen Repertoires von parasitären Antigenen spielen DQ- wie auch DR-Moleküle eine essentielle Rolle bei der Immunabwehr (Baas et al. 1999). Zahlreiche Studien bestätigen den Einfluss von HLA-DQ-Molekülen auf die Resistenz oder Anfälligkeit für verschiedene Autoimmun- und andere Krankheiten. Eiermann et al. (1998) konnten bei einer Studie zur Echinokokkose zeigen, dass bei Patienten mit progressivem Krankheitsverlauf die Frequenz eines bestimmten *DQB*-Allels im Vergleich zu den Kontrollpersonen deutlich erhöht war. Auch bei der Onchozerkose beim Menschen scheint ein Zusammenhang von *DQ*-Allelen und der Immunität zu bestehen (Meyer et al. 1994).

5.3.1 Sequenzierung des zweiten Exons oviner *DQB*-Allele

Da vom Scottish Blackface Schaf zum Zeitpunkt der Arbeit keine Sequenzinformationen zur Verfügung standen, wurde das zweite Exon einiger *DQB*-Allele sequenziert. Mit den Primersystemen JM05/JM06 und JM05/JM07 können mindestens zwei verschiedene *DQB*-Gene erfasst werden, da mit beiden Primersystemen bis zu vier Allele pro Tier amplifiziert wurden (Tab. 4-38). Da auch Tiere gefunden wurden, die nur mit einem der beiden Primer-

paare ein Allel aufwiesen, existieren in der *DQB*-Region vermutlich verschiedene Haplotypen, die sich aus einer unterschiedlichen Anzahl verschiedener *DQB*-Gene zusammensetzen.

Aufgrund signifikanter Unterschiede im Exon 2, einschließlich einer Basendeletion und einem unterschiedlichen 3'-Ende, kann das *OLA-DQB*1*- und *DQB*2*-Allel verschiedenen *DQB*-Genen zugeordnet werden. Entsprechend wurde vom Allel *DQB*1* das Primerpaar JM05/JM06 und vom Allel *DQB*2* das Primerpaar JM05/JM07 abgeleitet. Allerdings liefern diese kein genspezifisches PCR-Produkt (van Oorschot et al. 1994). Im Gegensatz zu van Oorschot et al. (1994) war beim Scottish Blackface Schaf keine Gruppierung der *DQB*-Sequenzen entsprechend ihrer für die Amplifikation eingesetzten Primer mit dem Allel *DQB*1* und *DQB*2* erkennen (Abb. 4-4).

Van Oorschot et al. (1994) konnten das mit dem Primerpaar JM05/JM07 amplifizierte Allel *OLA-DQB*12* weder mit *DQB*1* noch mit *DQB*2* gruppieren. Bei einem Vergleich der Nukleotid- und der Aminosäuresequenz des zweiten Exons humaner, boviner und oviner *DQB*-Allele, erwies sich das ovine Allel *DQB*12* mit einer Übereinstimmung der Nukleotidsequenz von 95 % und der Aminosäuresequenz von 93 % dem bovinen Allel *DQB3*1* (EMBL Accession No. U77799) am ähnlichsten. Dieses wird aufgrund der divergenten Sequenz vermutlich von einem dritten *DQB*-Gen codiert (Sigurdardottir et al. 1992). Für die Allele *OLA-DQB*12* und *BoLA-DQB3*1* sind mehrere Sequenzmotive, die sie eindeutig von anderen *DQB*-Sequenzen der Wiederkäuer unterscheiden, charakteristisch. Kennzeichnend sind eine Basendeletion an der Position 57 und einzigartige Aminosäuren an den Positionen 5, 20, 22, 29, 43 und 56 (van Oorschot et al. 1994). Das in dieser Arbeit sequenzierte Allel *OLA-DQB*25* zeigte an der gleichen Position eine Basendeletion und war durch dieselben charakteristischen Aminosäuren ausgezeichnet (Abb. 4-5). Diese Indizien sprechen dafür, dass die ovinen Allele *DQB*12* und *DQB*25* wie das bovine Allel *DQB3*1* (EMBL Accession No. U77799) von einem dritten Gen codiert werden.

5.3.2 Eignung der RSCA zur Typisierung des zweiten Exons oviner *DQB*-Allele

Im Gegensatz zum Menschen und zur Maus ist beim Schaf wenig über die Sequenzvariation innerhalb der *DQB*-Gene bekannt. Da konventionelle Typisierungsmethoden wie

zum Beispiel RFLP, SSO und SSCP die Kenntnis der Nukleotidsequenz voraussetzen, ist derzeit keine zuverlässige Identifikation von ovinen *DQB*-Allelen möglich (Grain et al. 1993, van Oorschot et al. 1994, Scott et al. 1991b, Escayg et al. 1996). Zudem ist bei *MHC*-Allelen, die sich nur in der Anordnung verschiedener Sequenzmotive unterscheiden, weder mit Methoden wie zum Beispiel der RFLP und SSO, noch mit Hilfe der Direktsequenzierung eine eindeutige Allelzuordnung möglich (Ramon et al. 1998). In diesen Fällen kann eine eindeutige Typisierung nur über die Trennung der beiden Allele erfolgen. Gleichzeitig können sich *MHC*-Allele nur an einer Position der Nukleinsäuresequenz unterscheiden. Auch für die Detektion dieser Allelunterschiede weisen die bis jetzt üblichen Typisierungsmethoden nicht das nötige Auflösungsvermögen auf. Da die RSCA all diesen Anforderungen genügt, sollte diese zur Typisierung oviner *DQB*-Allele etabliert werden.

Die Ergebnisse der *DQB*-Familientypisierung belegen die Zuverlässigkeit und das hohe Auflösungsvermögen der nach Argüello et al. (1998) modifizierten RSCA. Bei sämtlichen Familien war es möglich, anhand der Mobilitätswerte die Vererbung der *DQB*-Allele von den Eltern an ihre Nachkommen nachzuweisen (Tab. 4-43, Tab. 4-44). Anhand der *DRB1-DQB*-Haplotypenbildung konnte die Zuverlässigkeit der mit Hilfe der RSCA erstellten Typisierungsergebnisse ebenfalls bestätigt werden, da ein eindeutiges Vererbungsmuster von *DRB1*- und *DQB*-Allelen zu erkennen war (Abb. 4-8). Allerdings erlaubt erst die Untersuchung einer größeren Tierzahl eine gesicherte Aussage darüber, welche Haplotypen beim Scottish Blackface Schaf existieren.

Wie im Rahmen der Familientypisierung gezeigt wurde, erlaubt die RSCA zuverlässig eine gleichzeitige Typisierung bekannter und noch unbekannter *DQB*-Allele. Zum Beispiel konnte ein noch nicht sequenziertes, bisher unbekanntes Allel eindeutig bei zwei unverwandten Vätern und deren Nachkommen typisiert werden (Tab. 4-44). Aufgrund der identischen Mobilitätswerte unter Verwendung der beiden entsprechenden Referenzallele ist bei diesen Vätern von einem *DQB*-Allel mit gleicher Sequenzabfolge auszugehen. Deshalb ist die Sequenzierung des neuen *DQB*-Allels von einem Vater ausreichend.

Die Anwendung von zwei Referenzallelen mit unterschiedlichem Auflösungsvermögen gewährleistet eine lückenlose und fehlerfreie Typisierung auch von bisher noch nicht bekannten Allelen. Kann mit einem bestimmten Referenzallel ein noch unbekanntes Allel

nicht aufgetrennt werden, wird es mit großer Wahrscheinlichkeit durch das Zweite erfasst (Abb. 4-7, Tab. 4-41, Tab. 4-42). Dies konnte auch am Beispiel des neu detektierten Allels *DQB*neu* bestätigt werden (Tab. 4-42).

Aufgrund der geringen Sequenzinformationen oviner *DQB*-Allele, ist bei der Typisierung mit Hilfe der RSCA mit vielen bisher noch nicht bekannten Allelen zu rechnen. Diese unbekannt Allele könnten bei der Auftrennung mit Hilfe eines bereits etablierten Referenzallels Mobilitätswerte aufweisen, die den bereits bekannten Allelen sehr ähnlich sind. Deshalb könnte es zur Sicherstellung einer fehlerfreien Typisierung nötig werden, ein neues Referenzallel zu etablieren.

5.3.3 Vergleich der ABI PRISM[®] 377 Sequencer unterstützten RSCA zu anderen Typisierungsmethoden

Die RSCA ist vor allem durch den Einsatz des ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencers anderen Methoden wie zum Beispiel der SSCP, SSO und RFLP überlegen.

Vorteil der RSCA ist die aktive Beeinflussung der Allelauftrennung durch die Heteroduplexbildung. Im Gegensatz zur SSCP, bei der Einzelstränge aufgetrennt werden, kann durch die gezielte Wahl des Referenzallels eine gerichtete Konformationsänderung der Heteroduplexe vorgenommen werden. Dadurch wird deren Laufgeschwindigkeit im Polyacrylamidgel und damit die Allelauftrennung beeinflusst.

Die RSCA ist aufgrund der Alleltrennung besonders zur Typisierung von Allelen die von *MHC*-Genen codiert werden geeignet, da sich viele dieser Allele nur in der Zusammensetzung verschiedener Sequenzmotive unterscheiden. Dagegen ist die Typisierung dieser Allele mit Hilfe der SSO nur möglich, wenn die entsprechenden Allele in einem zusätzlichen Arbeitsschritt aufgetrennt werden. Beispielsweise ist die Auftrennung oviner *DRB1*-Allele durch die gleichzeitige Amplifikation des zweiten Exons mit einem im angrenzenden Intron lokalisierten Mikrosatelliten möglich. Voraussetzung ist die Korrelation der Polymorphismen im Exon 2 mit der Variabilität des Mikrosatelliten. Allerdings findet dieser Ansatz, aufgrund der Voraussetzungen nur beschränkt Anwendung. Zum Beispiel ist mit dieser Methode eine Typisierung der Polymorphismen im zweiten Exon von *DQB*-Allelen nicht möglich.

Mit Hilfe der RSCA gelingt es aber auch Einzelbasenaustausche in bis zu 1 kb großen

DNA-Fragmenten nachzuweisen (Argüello et al. 1998). Im Gegensatz dazu ist bei der SSCP mit einem erheblich höheren Arbeits- und Materialaufwand zu rechnen, da höchstens 300 bp lange Fragmente analysiert werden können. Auch die Methoden wie zum Beispiel SSO und RFLP sind zur Detektion unbekannter Basenaustausche nicht geeignet, da aufgrund der Hybridisierung mit sequenzspezifischen Oligonukleotiden nicht die gesamte Sequenzabfolge abgedeckt wird. Es können nur bestimmte Positionen mit bekannter Basenabfolge typisiert werden.

Durch die Laserdetektion kann im Gegensatz zur SSO auf den Einsatz von Radioaktivität verzichtet werden. Zugleich können durch die Markierung der Referenzallele mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen während eines Gellaufs mindestens drei verschiedene Proben in einer Spur typisiert werden. Dagegen müssen zur Typisierung eines *DRB1*-Allels mit Hilfe der sequenzspezifischen Oligohybridisierung 8 hypervariable Regionen mit mindestens 13 Oligonukleotiden nacheinander hybridisiert werden (Tab. 4-1). Dies erfordert sowohl bei der Etablierung als auch bei der Typisierung eine Vielzahl von Arbeitsschritten.

Gleichzeitig ermöglicht die Laserdetektion das Arbeiten mit geringen DNA-Konzentrationen. Neben dem geringeren Materialaufwand führt dies gleichzeitig zur Reduktion eines eventuell störenden Hintergrundes.

Vorteil des ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencers ist die Detektion der fluoreszenzmarkierten DNA-Fragmente an einem fixierten Punkt, da alle Fragmente die gleiche Distanz durchlaufen. Erfolgt dagegen der Gellauf über einen definierten Zeitraum, durchlaufen Moleküle mit geringerer Mobilität im Vergleich zu Fragmenten mit höherer Mobilität eine geringere Distanz. Daraus resultiert ein reduziertes Auflösungsvermögen.

Durch den Einsatz des ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencers wird ein sehr hoher Standardisierungsgrad erreicht. So werden durch die Verwendung einer Wärmeplatte kontrollierte und konstante Elektrophoresebedingungen geschaffen. Der Einsatz eines Längensstandards und die Computeranalyse reduzieren eine Fehltypisierung aufgrund subjektiver Datenauswertung und Inter- bzw. Intragelvariabilitäten. Trotz Variationen der Signalintensität der Duplexe ermöglicht die Computeranalyse eine Alleldetektion und eine zuverlässige Typisierung.

Die ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencer unterstützen RSCA Typisierungsergebnisse

sind in der Zuverlässigkeit durchaus mit den Ergebnissen der auf dem ABI erstellten Mikrosatellitentypisierungen vergleichbar. Wie die geringen Standardabweichungen der aus mehreren Allelen von verschiedenen Gelläufen gemittelten Mobilitätswerte zeigen, sind diese im höchsten Maß reproduzierbar (Tab. 4-41, Tab. 4-42).

Im Vergleich zum Menschen ist beim Nutztier wie zum Beispiel Rind, Schwein und Schaf die genetische Organisation des *MHC*-Komplexes nur lückenhaft geklärt. Zugleich liegen nur mangelhafte Sequenzinformationen über Allele die von Klasse-I- und Klasse-II-Genen codiert werden vor. Gerade diese ist eine wichtige Voraussetzung für die Typisierung von *MHC*-Allelen mittels konventionellen Methoden, wie zum Beispiel RFLP und SSO. In diesem Fall stellt die Typisierung mit Hilfe der ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencer unterstützten RSCA eine optimale Alternative dar. Zugleich ermöglicht der hohe Standardisierungsgrad einen zuverlässigen Vergleich von Typisierungsergebnissen aus verschiedenen Laboren. Da es sich bei der ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencer unterstützten RSCA gleichzeitig um eine kostengünstige, leicht durchzuführende Methode handelt, wäre eine generelle Anwendung dieser Methode zur *MHC*-Typisierung (Klasse-I und -II) beim Nutztier denkbar.

6 Zusammenfassung

Infektionen mit Magendarm-Nematoden wie *O. circumcincta* führen in der Schafhaltung zu erheblichen Produktionsverlusten. Die sinkende Effizienz bei der Anwendung von Anthelmintika und die damit verbundene Rückstandsproblematik zwingt die Züchter zur Entwicklung alternativer Kontrollstrategien wie zum Beispiel die selektive Zucht auf Resistenz.

Die Anfälligkeit oder Widerstandsfähigkeit gegen Nematoden haben eine genetische Grundlage. Als Maß für die Resistenz dient die Eizahl im Kot. Da *MHC*-Gene bei der Immunabwehr gegen Parasiteninfektionen eine wichtige Rolle spielen, wurden beim Scottish Blackface Schaf Assoziationsanalysen zwischen der Eizahl von *O. circumcincta* und Markern durchgeführt, die sowohl innerhalb als auch außerhalb des *MHC* lokalisiert sind. Es wurden Lämmer von Voll- und Halbgeschwisterfamilien aus den Jahrgängen 1993 und 1996 untersucht.

Das Exon 2 des *DRB1*-Gens (Hauptkandidatengen) wurde mittels sequenzspezifischer Oligohybridisierung (SSO) typisiert. Zusätzlich wurde ein im angrenzenden Intron lokalisierter Mikrosatellit typisiert. Für den *MHC*-Klasse-II-Marker DYMS1 und die *MHC*-Klasse-I-Marker OMHC1 und CSRD226 wurden Mikrosatellitentypisierungen durchgeführt. Desweiteren wurden die außerhalb des *MHC* liegenden Mikrosatelliten BM1815 und BM1905 typisiert.

Als Grundlage für eine Assoziationsanalyse zwischen *DQB*-Allelen und der Anfälligkeit für *O. circumcincta* wurde mit der ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencer unterstützten „Reference strand mediated conformation analysis“ (RSCA) erstmals ein System zur hochauflösenden Typisierung des zweiten Exons oviner *DQB*-Allele etabliert. Dieses System basiert auf einer Heteroduplexanalyse. Die zur Etablierung verwendeten *DQB*-Allele wurden amplifiziert, kloniert und sequenziert.

Zur Assoziationsanalyse wurden zwei lineare Modelle verwendet. Das Regressionsmodell ist bei intermediärer Vererbung optimal. Dieses wurde von Schwaiger et al. (1995) und Buitkamp et al. (1996) zur Auswertung des *DRB1*-Locus sowie der *MHC*-Marker DYMS1 und OMHC1 aus dem Jahrgang 1993 angewandt. Aus diesem Grund wurde die Reanalyse des Jahrgangs 1993 am *DRB1*-Locus und der Marker DYMS1 und OMHC1 ebenfalls mit dem Regressionsmodell durchgeführt. Zur Verifizierung der Ergebnisse des Jahrgangs 1993 wurde auch der Jahrgang 1996 und der aus beiden Jahrgängen vereinigte Datensatz 1993 + 1996 mit diesem Modell analysiert. Zum Test auf die Abweichung von der intermediären Vererbung, Auftreten von partieller oder vollständiger Dominanz sowie Überdominanz, wurden beim zweiten Modell die Genotypen direkt berücksichtigt.

Die Normalverteilung der Residuen ist eine wichtige Voraussetzung für die im Rahmen der Varianzanalyse durchgeführten Tests. Deshalb wurden die Eizahlen logarithmisch transformiert, wobei ein Wert δ zu den Originaldaten addiert wurde. Für die Analyse der verschiedenen Marker wurde jeweils derjenige Additionswert gewählt, bei dem die Häufigkeitsverteilung der Residuen die beste Annäherung an die Normalverteilung erreicht. Im Gegensatz dazu addierten Schwaiger et al. (1995) und Buitkamp et al. (1996) bei der Auswertung eines jeden Markers den Wert $\delta = 1$. Um Informationsverluste zu vermeiden, wurden sämtliche Allele, auch solche mit geringer Frequenz berücksichtigt. Ausgenommen davon waren diejenigen Allele, die bei der Regressionsanalyse nicht schätzbar

waren. Dagegen schlossen Schwaiger et al. (1995) und Buitkamp et al. (1996) geringfrequente Allele von ihrer Analyse aus.

Bei der Reanalyse des *DRB1*-Locus grenzte das bei Schwaiger et al. (1995) hoch signifikant mit der Reduktion der Eizahl assoziierte Allel *G2* an die Signifikanzschwelle. Gleichzeitig war das hochfrequente Allel *F* signifikant mit der Reduktion der Eizahl assoziiert. Im Jahrgang 1996 konnte dieser Effekt für das selten vertretene Allel *F* nicht nachgewiesen werden. Im vereinigten Datensatz der Jahrgänge 1993 + 1996 zeigte sowohl das Allel *G2* als auch das Allel *F* einen signifikanten Einfluss auf die Eizahl. Ähnlich zu Schwaiger et al. (1995) war das in jedem Jahrgang hochfrequente Allel *I* bei sämtlichen Analysen mit der höchsten Eizahl assoziiert.

Anhand der Analysen des vereinigten Datensatzes 1993 + 1996 mit dem zweiten Modell wurde gezeigt, dass die heterozygoten Genotypen *IC*, *ID*, *IF* und *IL* im Vergleich zu den entsprechenden Homozygoten mit einer geringeren Eizahl assoziiert sind. Der Test auf die durchschnittliche Abweichung dieser Genotypen von der intermediären Vererbung war signifikant. Dieses Resultat scheint auf die dominante oder überdominante Wirkung der Heterozygoten am *DRB1*-Locus zurückzuführen zu sein. Dafür sprechen folgende Tatsachen:

- Das Allel *I* war am häufigsten im Untersuchungspanel vertreten. Dennoch war es bei der Regressionsanalyse im Vergleich zu den anderen Allelen mit der höchsten Eizahl assoziiert. Liegt Überdominanz vor, entspricht der durch die Regressionsanalyse ermittelte Schätzwert der Eizahl für das Allel *I* nicht dem tatsächlichen Verlauf, da dieser Erbgang von der Linearität abweicht und der Regressionskoeffizient von der Allelfrequenz mit abhängig ist. Gleichzeitig kann die hohe Frequenz des Allels *I* durch eine überdominante Wirkung der Genotypen mit dem Allel *I* erklärt werden, da diese selektiv bevorzugt werden.
- Bei Vorliegen von Dominanz und besonders bei Überdominanz ändert sich der Regressionskoeffizient mit der Allelfrequenz. Somit könnte der sich pro Jahrgang mit der Allelfrequenz ändernde Regressionskoeffizient der Allele, wie zum Beispiel des Allels *F*, als ein Hinweis auf Dominanz oder Überdominanz bewertet werden.
- Die Eigenschaften und Funktion der MHC-Moleküle bei der Bindung von Anti-

genen implizieren das Vorliegen von Überdominanz. Heterozygote Individuen sind durch einen erhöhten Schutz vor Infektionskrankheiten wie zum Beispiel HIV-I und Hepatitis-B ausgezeichnet.

Für das Allel 216 des Markers DYMS1 konnte bei der Regressionsanalyse in jedem Jahrgang ein signifikanter Einfluss auf die Eizahl nachgewiesen werden. Dies entspricht dem Befund von Buitkamp et al. (1996). Dagegen konnte der im Jahrgang 1993 nach Buitkamp et al. (1996) signifikante Effekt des Markers OMHC1 nicht bestätigt werden. Die Marker BM1815 und BM1905 waren nicht mit der Eizahl assoziiert. Bei der Analyse mit dem zweiten Modell ergab sich bei keinem Marker ein Hinweis auf Genotypen, die sich in ihrem Einfluss auf die Eizahl unterscheiden.

Anhand der Familientypisierungen oviner *DQB*-Allele und der *DRB1-DQB*-Haplotypenbildung konnte bestätigt werden, dass mit Hilfe der RSCA eine zuverlässige Typisierung komplex polymorpher Loci mit einer großen Anzahl bekannter und unbekannter Allele möglich ist. Aufgrund der Alleltrennung ist auch eine eindeutige Typisierung von Allelen die sich nur in der Anordnung bestimmter Sequenzmotive unterscheiden (z. B. *MHC*-Allele) gewährleistet. Die Anwendung von zwei Referenzallelen mit unterschiedlichem Migrationsvermögen ermöglicht die Auflösung nahezu aller Allele. Durch den Einsatz des ABI PRISM[®] 377 DNA Sequencers wird ein sehr hoher Standardisierungsgrad und damit eine hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erreicht. Dies ist eine wichtige Voraussetzung für einen zuverlässigen Vergleich von Typisierungsergebnisse aus verschiedenen Laboren und ermöglicht damit den Einbezug von *DQB*-Allelen in Assoziationsstudien.

Literatur

- [1] ABI User's Manual, PRISM™-Tips 5. Informationen zur automatischen DNA-Sequenzierung und Fragmentanalyse mit den ABI PRISM™-Systemen 310, 373 und 377. PE Biosystems. April 1999
- [2] Albers G. A., Gray G. D., Piper L. R., Barker J. S., Le Jambre L. F. and Barger I. A. (1987) The genetics of resistance and resilience to *Haemonchus contortus* infection in young merino sheep. *Int J Parasitol* 17, 1355-63.
- [3] Ammer H., Schwaiger F. W., Kammerbauer C., Gomolka M., Arriens A., Lazary S. and Epplen J. T. (1992) Exonic polymorphism vs intronic simple repeat hypervariability in MHC- DRB genes [see comments]. *Immunogenetics* 35, 332-40.
- [4] Anderson R. M. and May R. M. (1982) Coevolution of hosts and parasites. *Parasitology* 85, 411-26.
- [5] Anderson R. M. and May R. M. (1985) Helminth infections of humans: mathematical models, population dynamics, and control. *Adv Parasitol* 24, 1-101.
- [6] Andersson L., Lunden A., Sigurdardottir S., Davies C. J. and Rask L. (1988) Linkage relationships in the bovine MHC region. High recombination frequency between class II subregions. *Immunogenetics* 27, 273-80.
- [7] Andersson L., Gustafsson K., Jonsson A. K. and Rask L. (1991) Concerted evolution in a segment of the first domain exon of polymorphic MHC class II beta loci. *Immunogenetics* 33, 235-42.
- [8] Anon (1994) Nemesis breeders worm control network—recommendations for breeding sheep for worm resistance. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO), Armidale. 12pp.
- [9] Argüello J. R., Little A. M., Pay A. L., Gallardo D., Rojas I., Marsh S. G., Goldman J. M. and Madrigal J. A. (1998) Mutation detection and typing of polymorphic loci through double-strand conformation analysis. *Nat Genet* 18, 192-4.
- [10] Armour J. (1970) Bovine ostertagiasis: a review. *Vet Rec* 86, 184-90.
- [11] Baas A., Gao X. and Chelvanayagam G. (1999) Peptide binding motifs and specificities for HLA-DQ molecules. *Immunogenetics* 50, 8-15.
- [12] Bailey D. W. and Kohn H. I. (1965) Inherited histocompatibility changes in progeny of irradiated and unirradiated inbred mice. *Genet Res* 6, 330-40.
- [13] Baker R. L. (1999) Genetics of resistance to endoparasites and ectoparasites. *Int J Parasitol* 29, 73-75.
- [14] Bakker T. C. and Zbinden M. (2001) Counting on immunity. *Nature* 414, 262-3.

- [15] Ballingall K. T., Wright H., Redmond J., Dutia B. M., Hopkins J., Lang J., Deverson E. V., Howard J. C., Puri N. and Haig D. (1992) Expression and characterization of ovine major histocompatibility complex class II (OLA-DR) genes. *Anim Genet* 23, 347-59.
- [16] Ballingall K. T., Dutia B. M., Hopkins J. and Wright H. (1995) Analysis of the fine specificities of sheep major histocompatibility complex class II-specific monoclonal antibodies using mouse L-cell transfectants. *Anim Genet* 26, 79-84.
- [17] Barendse W. und Fries R. (1999) Genetic linkage mapping, the gene maps of cattle and the lists of loci. In: Fries R. and Ruvinsky A. (Eds.). *The Genetics of Cattle*. pp. 329 - 364. C.A.B. International, Wellingford, UK.
- [18] Barger I. A. (1993) Influence of sex and reproductive status on susceptibility of ruminants to nematode parasitism. *Int J Parasitol* 23, 463-9.
- [19] Barros F., Munoz-Barus I., Lareu M. V., Rodriguez-Calvo M. S. and Carracedo A. (1994) Double- and single-strand conformation polymorphism analysis of point mutations and short tandem repeats. *Electrophoresis* 15, 566-71.
- [20] Behnke J. M. and Wahid F. N. (1991) Immunological relationships during primary infection with *Heligmosomoides polygyrus* (*Nematospiroides dubius*): H-2 linked genes determine worm survival. *Parasitology* 103 Pt 1, 157-64.
- [21] Bergstrom T. F., Josefsson A., Erlich H. A. and Gyllensten U. (1998) Recent origin of HLA-DRB1 alleles and implications for human evolution [see comments]. *Nat Genet* 18, 237-42.
- [22] Bishop M. D., Kappes S. M., Keele J. W., Stone R. T., Sunden S. L., Hawkins G. A., Toldo S. S., Fries R., Grosz M. D., Yoo J. and et al. (1994) A genetic linkage map for cattle. *Genetics* 136, 619-39.
- [23] Bishop S. C., Bairden K., McKellar Q. A., Park M., Stear J. M. (1996) Genetic parameters for faecal egg count following mixed, natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection and relationships with live weight in young lambs. *Animal-Science* 63 Part 3, 423-428.
- [24] Bjorkman P. J., Saper M. A., Samraoui B., Bennett W. S., Strominger J. L. and Wiley D.C. (1987) Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* 329, 506-12.
- [25] Black F.L. and Salzano F.M. (1981) Evidence for heterosis in the HLA system. *Am J Hum Genet* 33, 894-9.
- [26] Blattman A. N., Hulme D. J., Kinghorn B. P., Woolaston R. R., Gray G. D. and Beh K. J. (1993) A search for associations between major histocompatibility complex restriction fragment length polymorphism bands and resistance to *Haemonchus contortus* infection in sheep. *Anim Genet* 24, 277-82.

- [27] Bodmer W. F. (1972) Evolutionary significance of the HL-A system. *Nature* 237, 139-45 *passim*.
- [28] Bodmer J. G., Marsh S. G., Albert E. D., Bodmer W. F., Dupont B., Erlich H. A., Mach B., Mayr W. R., Parham P., Sasazuki T. and et al. (1993) Nomenclature for factors of the HLA system, 1991. *Immunobiology* 187, 51-69.
- [29] Botstein D., White R. L., Skolnick M. and Davis R. W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 32, 314-31.
- [30] Braciale T. J. (1992) Antigen processing for presentation by MHC class I molecules. *Curr Opin Immunol* 4, 59-62.
- [31] Briles W. E., Stone H. A. and Cole R. K. (1977) Marek's disease: effects of B histocompatibility alloalleles in resistant and susceptible chicken lines. *Science* 195, 193-5.
- [32] Brown J. H., Jardetzky T. S., Gorga J. C., Stern L. J., Urban R. G., Strominger J. L. and Wiley D. C. (1993) Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1 [see comments]. *Nature* 364, 33-9.
- [33] Buitkamp J., Filmether P., Stear M. J. and Eppelen J. T. (1996) Class I and class II major histocompatibility complex alleles are associated with faecal egg counts following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. *Parasitol Res* 82, 693-6.
- [34] Carrington M., Nelson G. W., Martin M. P., Kissner T., Vlahov D., Goedert J. J., Kaslow R., Buchbinder S., Hoots K. and O'Brien S. J. (1999) HLA and HIV-1: heterozygote advantage and B*35-Cw*04 disadvantage [see comments]. *Science* 283, 1748-52.
- [35] Chakravarti A. (1999) Population genetics—making sense out of sequence. *Nat Genet* 21, 56-60.
- [36] Chardon P., Kirszenbaum M., Cullen P. R., Geffrotin C., Auffray C., Strominger J. L., Cohen D. and Vaiman M. (1985) Analysis of the sheep MHC using HLA class I, II, and C4 cDNA probes. *Immunogenetics* 22, 349-58.
- [37] Chelvanayagam G. and Eastaugh S. (1997) Peptides: two-faced, cheating go-betweens? Limits in the cellular immune system. *Immunogenetics* 46, 516-9.
- [38] Church G. M. and Gilbert W. (1984) Genomic sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81, 1991-5.
- [39] Connan R. M. (1969) Studies on the inhibition of development of *Ostertagia* spp. in lambs. *J Helminthol* 43, 287-92.
- [40] Coop R. L., Jackson F., Graham R. B. and Angus K. W. (1988) Influence of two levels of concurrent infection with *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus vitrinus* on the growth performance of lambs. *Res Vet Sci* 45, 275-80.

- [41] Coop R. L., Mellor D. J., Jackson E., Jackson F., Flint D. J. and Vernon R. G. (1990) *Teladorsagia circumcincta* egg output at the onset of natural and induced lactation in ewes. *Vet Parasitol* 35, 295-305.
- [42] Cooper D. W., van Oorschot R. A., Piper L. R. and Le Jambre L. F. (1989) No association between the ovine leucocyte antigen (OLA) system in the Australian merino and susceptibility to *Haemonchus contortus* infection. *Int J Parasitol* 19, 695-7.
- [43] Crawford A. M., Dodds K. G., Ede A. J., Pierson C. A., Montgomery G. W., Garmonsway H. G., Beattie A. E., Davies K., Maddox J. F., Kappes S. W. and et al. (1995) An autosomal genetic linkage map of the sheep genome. *Genetics* 140, 703-24.
- [44] Crawford A. M., McEwan J. C., Dodds K. G., Wright C. S., Bisset S. A., Macdonald P. A., Knowler K. J., Greer G. J., Green R. S., Shaw R. J., Paterson K. A., Cuthbertson R. P., Vlassoff A., Squire D. R., West C. J. and Phua S. H. (1997) Resistance to nematode parasites in sheep: how important are the MHC genes? *Proceedings of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics* 11, 58-62.
- [45] Davies K. P., Maddox J. F., Harrison B. and Drinkwater R. (1995) Ovine dinucleotide repeat polymorphism at the CSR226 and CSR232 loci. *Anim Genet* 26, 372.
- [46] de Gortari M. J., Freking B. A., Cuthbertson R. P., Kappes S. M., Keele J. W., Stone R. T., Leymaster K. A., Dodds K. G., Crawford A. M. and Beattie C. W. (1998) A second-generation linkage map of the sheep genome. *Mamm Genome* 9, 204-9.
- [47] Deverson E. V., Wright H., Watson S., Ballingall K., Huskisson N., Diamond A. G. and Howard J. C. (1991) Class II major histocompatibility complex genes of the sheep. *Anim Genet* 22, 211-25.
- [48] Doherty P. C. and Zinkernagel R. M. (1975) Enhanced immunological surveillance in mice heterozygous at the H-2 gene complex. *Nature* 256, 50-2.
- [49] Donald A. D. (1968) Population studies on the infective stage of some nematode parasites of sheep. III. The distribution of strongyloid egg output on flocks of sheep. *Parasitology* 58, 951-60.
- [50] Douch P. G. and Outteridge P. M. (1989) The relationship between ovine lymphocyte antigens and parasitological and production parameters in Romney sheep. *Int J Parasitol* 19, 35-41.
- [51] Dunsmore J. D. (1960) Retarded development of *Ostertagia* species in sheep. *Nature* 186, 986-987.

- [52] Dutia B. M., McConnell I., Ballingall K. T., Keating P. and Hopkins J. (1994) Evidence for the expression of two distinct MHC class II DR beta like molecules in the sheep. *Anim Genet* 25, 235-41.
- [53] Eiermann T. H., Bettens F., Tiberghien P., Schmitz K., Beurton I., Bresson-Hadni S., Ammann R. W., Goldmann S. F., Vuitton D. A., Gottstein B. and Kern P. (1998) HLA and alveolar echinococcosis. *Tissue Antigens* 52, 124-9.
- [54] Else K. and Wakelin D. (1988) The effects of H-2 and non-H-2 genes on the expulsion of the nematode *Trichuris muris* from inbred and congenic mice. *Parasitology* 96, 543-50.
- [55] Else K. J., Finkelman F. D., Maliszewski C. R. and Grencis R. K. (1994) Cytokine-mediated regulation of chronic intestinal helminth infection. *J Exp Med* 179, 347-51.
- [56] Else K. J. and Finkelman F. D. (1998) Intestinal nematode parasites, cytokines and effector mechanisms. *Int J Parasitol* 28, 1145-58.
- [57] EMBL (URL-e). NCBI-Blast2, <http://www2.ebi.ac.uk/blastall/>
- [58] Entrocasso C., McKellar Q., Parkins J. J., Bairden K., Armour J. and Kloosterman A. (1986) The sequential development of type I and type II ostertagiasis in young cattle with special reference to biochemical and serological changes. *Vet Parasitol* 21, 173-88.
- [59] Epplen C., Santos E. J., Guerreiro J. F., van Helden P. and Epplen J. T. (1997) Coding versus intron variability: extremely polymorphic HLA-DRB1 exons are flanked by specific composite microsatellites, even in distant populations. *Hum Genet* 99, 399-406.
- [60] Escayg A. P., Hickford J. G., Montgomery G. W., Dodds K. G. and Bullock D. W. (1996) Polymorphism at the ovine major histocompatibility complex class II loci. *Anim Genet* 27, 305-12.
- [61] Falconer D. S. and Mackay T. F. C. (1996) *Introduction to quantitative genetics*. Fourth Edition. Longman, London.
- [62] Farnir F., Coppeters W., Arranz J. J., Berzi P., Cambisano N., Grisart B., Karim L., Marcq F., Moreau L., Mni M., Nezer C., Simon P., Vanmanshoven P., Wagenaar D. and Georges M. (2000) Extensive genome-wide linkage disequilibrium in cattle. *Genome Res* 10, 220-7.
- [63] Fox M. T. (1993) Pathophysiology of infection with *Ostertagia ostertagi* in cattle. *Vet Parasitol* 46, 143-58.
- [64] Fox M. T. (1997) Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. *Vet Parasitol* 72, 285-97; discussion 297-308.

- [65] Friedl R., Masabanda J., Ewald D., Buitkamp J. and Fries R. (1996) Chromosomal assignment of the bovine *DYA/B* indicates a large physical distance between major histocompatibility complex (MHC) class II subregions. In: XXVth International Conference on Animal Genetics. pp. 94.
- [66] Gordon H. McL. and Whitlock H. V. (1939) A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research, Australia* 12, 50.
- [67] Grain F., Nain M. C., Labonne M. P., Lantier F., Lechopier P., Gebuhrer L., Asso J., Maddox J. and Betuel H. (1993) Restriction fragment length polymorphism of *DQB* and *DRB* class II genes of the ovine major histocompatibility complex [published erratum appears in *Anim Genet* 1994 Jun;25(3):following 207]. *Anim Genet* 24, 377-84.
- [68] Grecis R. K. (1993) Cytokine-mediated regulation of intestinal helminth infections: the *Trichuris muris* model. *Ann Trop Med Parasitol* 87, 643-7.
- [69] Griesinger I., Pruser F., Siemienski K. and Geldermann H. (1999) Extreme fragment lengths differences of the microsatellite in the expressed *MHC-DRB* gene of Merinoland sheep. *Anim Genet* 30, 77-8.
- [70] Groth D. M. and Wetherall J. D. (1994) Dinucleotide repeat polymorphism within the ovine major histocompatibility complex class I region. *Anim Genet* 25, 61.
- [71] Gruner L. (1991) Breeding for Helminth Resistance in Sheep and Goats. In: Owen J. B. and Axford R. F. E. (Eds.). *Breeding for Disease Resistance in Farm Animals*. 2nd Edition. pp. 192. C.A.B. International, Wallingford, UK.
- [72] Guillemot F. C., Auffray C., Orr H. T. Strominger J. L. (1988) *MHC* antigen genes. In: Hames B. D., Glover D. M. (Eds). *Molecular Immunology*. pp. 88-143. IRL Press, Oxford.
- [73] Hediger R., Ansari H. A. and Stranzinger G. F. (1991) Chromosome banding and gene localizations support extensive conservation of chromosome structure between cattle and sheep. *Cytogenet Cell Genet* 57, 127-34.
- [74] Hedrick P. W. and Thomson G. (1983) Evidence for balancing selection at *HLA*. *Genetics* 104, 449-56.
- [75] Hill A. V., Allsopp C. E., Kwiatkowski D., Anstey N. M., Twumasi P., Rowe P. A., Bennett S., Brewster D., McMichael A. J. and Greenwood B. M. (1991) Common west African *HLA* antigens are associated with protection from severe malaria [see comments]. *Nature* 352, 595-600.
- [76] Hohenhaus M. A. and Outteridge P. M. (1995) The immunogenetics of resistance to *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus* parasites in sheep [see comments]. *Br Vet J* 151, 119-40.

- [77] Hood L., Kronenberg M. and Hunkapiller T. (1985) T cell antigen receptors and the immunoglobulin supergene family. *Cell* 40, 225-9.
- [78] Hughes A. L. and Nei M. (1988) Pattern of nucleotide substitution at major histocompatibility complex class I loci reveals overdominant selection. *Nature* 335, 167-70.
- [79] Hughes A. L. and Nei M. (1989) Nucleotide substitution at major histocompatibility complex class II loci: evidence for overdominant selection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86, 958-62.
- [80] Hughes A. L. and Yeager M. (1998) Natural selection at major histocompatibility complex loci of vertebrates. *Annu Rev Genet* 32, 415-35.
- [81] Hulme D. J., Windon R. G., Nicholas F. W. and Beh K. J. (1991) Association between MHC Class II RFLP and *Trichostrongylus* resistance. In: Gray G. D. and Woolaston R. R. (Eds). *Breeding for Disease Resistance in Sheep*. pp. 115-120. Australian Wool Corporation, Melbourne.
- [82] Invitrogen (1997) Zero BackgroundTM/Kan Cloning Kit, Zero BackgroundTM/Kan PLUS Cloning Kit. Version C, 170203; 25-0154.
- [83] Jackson F. (1993) Anthelmintic resistance - the state of play. *British Veterinary Journal* 149, 123-138.
- [84] Jennings F. W., Armour J., Lawson D. D. and Roberts R. (1966) Experimental *Ostertagia ostertagi* infections in calves: studies with abomasal cannulas. *Am J Vet Res* 27, 1249-57.
- [85] Johnstone C. and Murray M. (1996) (URL-c). *Parasitology* 4001, Pathophysiology. <http://cal.vet.upenn.edu/parasit/pathophys/indexpath.html>
- [86] Jorgensen L. T., Leathwick D. M., Charleston W. A., Godfrey P. L., Vlassoff A. and Sutherland I. A. (1998) Variation between hosts in the developmental success of the free-living stages of trichostrongyle infections of sheep. *Int J Parasitol* 28, 1347-52.
- [87] Kirkpatrick B. W., Byla B. M. and Gregory K. E. (2000) Mapping quantitative trait loci for bovine ovulation rate. *Mamm Genome* 11, 136-9.
- [88] Klein J. and Figueroa F. (1986) Evolution of the major histocompatibility complex. *Crit Rev Immunol* 6, 295-386.
- [89] Klein J. (1987) Origin of major histocompatibility complex polymorphism: the trans-species hypothesis. *Hum Immunol* 19, 155-62.
- [90] Lazaro A. M., Moraes M. E., Marcos C. Y., Moraes J. R., Fernandez-Vina M. A. and Stastny P. (1999) Evolution of HLA-class I compared to HLA-class II polymorphism in Terena, a South-American Indian tribe. *Hum Immunol* 60, 1138-49.

- [91] Le Jambre L. F., Ractliffe L. H., Uhazy L. S. and Whitlock J. H. (1971) Fecal egg output of lambs in relationship to *Haemonchus contortus* burden. *Int J Parasitol* 1, 157-60.
- [92] Lundberg A. S. and McDevitt H. O. (1992) Evolution of major histocompatibility complex class II allelic diversity: direct descent in mice and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 6545-9.
- [93] Maddox J. F., Davies K. P., Crawford A. M., Hulme D. J., Vaiman D., Crihiu E. P., Freking B. A., Beh K. J., Cockett N. E., Kang N., Riffkin C. D., Drinkwater R., Moore S. S., Dodds K. G., Lumsden J. M., van Stijn T. C., Phua S. H., Adelson D. L., Burkin H. R., Broom J. E., Buitkamp J., Cambridge L., Cushwa W. T., Gerard E., Galloway S. M., Harrison B., Hawken R. J., Hiendleder S., Henry H. M., Medrano J. F., Paterson K. A., Schibler L., Stone R. T. and van Hest B. (2001) An enhanced linkage map of the sheep genome comprising more than 1000 loci. *Genome Res* 11, 1275-89.
- [94] Mallet S. and Lesage M. C. (1987) Relationship between exsheathment and enzyme activity (alkaline phosphatase and leucine amino peptidase) during ageing of *Trichostrongylus colubriformis* infective larvae. *Ann Rech Vet* 18, 275-8.
- [95] Marsh S. G. and Bodmer J. G. (1993) HLA class II nucleotide sequences, 1992. *Immunogenetics* 37, 79-94.
- [96] Maruyama T. and Nei. M. (1981) Genetic variability maintained by mutation and overdominant selection in finite populations. *Genetics* 98, 441-59.
- [97] McEwan J. C., Dodds K. G., Watson T. G., Geer G. K., Hosking B. C. and Douch P. G. C. (1995) Selection for resistance to roundworms by the New Zealand sheep breeding industry; the WormFEC service. *Proceedings of the Australian Association of Animal Breeding and Genetics* 11, 70-73.
- [98] McKellar Q. A. (1993) Interactions of *Ostertagia* species with their bovine and ovine hosts. *Int J Parasitol* 23, 451-62.
- [99] Mellor A. L., Weiss E. H., Ramachandran K. and Flavell R. A. (1983) A potential donor gene for the bm1 gene conversion event in the C57BL mouse. *Nature* 306, 792-5.
- [100] Meszaros S. A., Hanshall J. M., Burgess S. K., Gray G. D. and Tier B. (1999) Detection of a quantitative trait locus associated with a reduction of fecal egg count in Merino sheep. *Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet.* 13, 211-214.
- [101] Meyer C. G., Gallin M., Erttmann K. D., Brattig N., Schnittger L., Gelhaus A., Tannich E., Begovich A. B., Erlich H. A. and Horstmann R. D. (1994) HLA-D alleles associated with generalized disease, localized disease, and putative immunity in *Onchocerca volvulus* infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91, 7515-9.

- [102] Montgomery G. W., Lord E. A., Penty J. M., Dodds K. G., Broad T. E., Cambridge L., Sunden S. L., Stone R. T. and Crawford A. M. (1994) The Booroola fecundity (FecB) gene maps to sheep chromosome 6. *Genomics* 22, 148-53.
- [103] Morkos N. B. B., Grosz M. D. and Stone R. T. (1994) Placement of BOLA-DIB into a microsatellite-based linkage group. *Animal Genetics*, 55.
- [104] Mosmann T. R. and Sad S. (1996) The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more [see comments]. *Immunol Today* 17, 138-46.
- [105] Murray M., Jennings F. W. and Armour J. (1970) Bovine ostertagiasis: structure, function and mode of differentiation of the bovine gastric mucosa and kinetics of the worm loss. *Res Vet Sci* 11, 417-27.
- [106] Ohba Y., Kitagawa H., Kitoh K., Asahina S., Nishimori K., Yoneda K., Kunieda T. and Sasaki Y. (2000) Homozygosity mapping of the locus responsible for renal tubular dysplasia of cattle on bovine chromosome 1 [In Process Citation]. *Mamm Genome* 11, 316-9.
- [107] Ohta T. (1982) Allelic and nonallelic homology of a supergene family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79, 3251-4.
- [108] Outteridge P. M., Windon R. G. and Dineen J. K. (1985) An association between a lymphocyte antigen in sheep and the response to vaccination against the parasite *Trichostrongylus colubriformis*. *Int J Parasitol* 15, 121-7.
- [109] Outteridge P. M., Windon R. G., Dineen J. K. and Smith E. F. (1986) The relationship between ovine lymphocyte antigens and faecal egg count of sheep selected for responsiveness to vaccination against *Trichostrongylus colubriformis*. *Int J Parasitol* 16, 369-74.
- [110] Outteridge P. M., Windon R. G. and Dineen J. K. (1988) An ovine lymphocyte antigen marker for acquired resistance to *Trichostrongylus colubriformis*. *Int J Parasitol* 18, 853-8.
- [111] Outteridge P. M. (1991) Ovine lymphocyte antigens and resistance to parasites. In: Gray G. D. and Woolaston R. R. (Eds.). *Breeding for Disease Resistance in Sheep*. pp. 30-38. Wool Research and Development Corporation. Parkville, Victoria, Australia, Melbourne.
- [112] Parasites and Parasitological Resources (URL-a) Parasites. Images of Parasites. (2000). <http://www.biosci.ohio-state.edu/parasite/nematodirus.html>.
- [113] Parasitology 4001, The Trichostrongyloidea (URL-b) (1996). <http://cal.vet.upenn.edu/parasit/tricho/indextricho.html>
- [114] Paterson S., Wilson K. and Pemberton J. M. (1998) Major histocompatibility complex variation associated with juvenile survival and parasite resistance in a large unmanaged ungulate population. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 3714-9.

- [115] Precht M. (1987) Bio-Statistik. 4. Auflage. Oldenbourg Verlag München Wien.
- [116] Qiagen (1997) QIAquik Spin Handbook.
- [117] Qiagen (1997a) QIAGEN Plasmid Mini Handbook.
- [118] Raadsma H. W., Gray G. D., Woolaston R. R. (1997) Genetics of Disease and Vaccine Response. In: Piper L. and Ruvinsky A. (Eds.). The Genetics of Sheep. pp. 199-217. C.A.B. International, Wellingford, UK.
- [119] Raadsma H. W., Gray G. D. and Woolaston R. R. (1998) Breeding for disease resistance in Merino sheep in Australia. *Rev Sci Tech* 17, 315-28.
- [120] Rammensee H. G., Friede T. and Stevanović S. (1995) MHC ligands and peptide motifs: first listing. *Immunogenetics* 41, 178-228.
- [121] Ramon D. S., Argüello J. R., Cox S. T., McWhinnie A., Little A. M., Marsh S. G. and Madrigal J. A. (1998) Application of RSCA for the typing of HLA-DPB1. *Hum Immunol* 59, 734-47.
- [122] Reid J. F. S. and Armour J. (1975) Seasonal variations in the gastro-intestinal nematode populations of Scottish hill sheep. *Res Vet Sci* 18, 307-13.
- [123] Reiner S. L. and Locksley R. M. (1995) The regulation of immunity to *Leishmania major*. *Annu Rev Immunol* 13, 151-77.
- [124] Reusch T. B., Haberli M. A., Aeschlimann P. B. and Milinski M. (2001) Female sticklebacks count alleles in a strategy of sexual selection explaining MHC polymorphism. *Nature* 414, 300-2.
- [125] Rieß O., Kammerbauer C., Roewer L., Steimle V., Andreas A., Albert E., Nagai T. and Epplen J. T. (1990) Hypervariability of intronic simple (gt)n(ga)m repeats in HLA-DRB genes. *Immunogenetics* 32, 110-6.
- [126] Roberts J. L., Swan R. A. (1981) Quantitative studies of ovine haemonchosis I. Relationship between faecal counts and total worm counts. *Vet Parasitol* 8, 165-171.
- [127] Roitt I. M., Brostoff J., Male D. K. (1995) *Kurzes Lehrbuch der Immunologie*. 3. neubearbeitete Auflage. pp.59. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York.
- [128] Rossanigo C. E. and Gruner L. (1995) Moisture and temperature requirements in faeces for the development of free-living stages of gastrointestinal nematodes of sheep, cattle and deer. *J Helminthol* 69, 357-62.
- [129] Saad F. A., Mostacciolo M. L., Trevisan C. P., Tomelleri G., Angelini C., Abdel Salam E. and Danieli G. A. (1997) Novel mutations and polymorphisms in the human dystrophin gene detected by double-strand conformation analysis. *Hum Mutat* 9, 188-90.

- [130] Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- [131] Sanger F., Nicklen S. and Coulson A. R. (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 74, 5463-7.
- [132] Savage D. A., Tang J. P., Wood N. A., Evans J., Bidwell J. L., Wee J. L., Oei A. A. and Hui K. M. (1996) A rapid HLA-DRB1*04 subtyping method using PCR and DNA heteroduplex generators. *Tissue Antigens* 47, 284-92.
- [133] Schad G. A. and Anderson R. M. (1985) Predisposition to hookworm infection in humans. *Science* 228, 1537-40.
- [134] Schwaiger F. W., Buitkamp J., Weyers E. and Epplen J. T. (1993) Typing of artiodactyl MHC-DRB genes with the help of intronic simple repeated DNA sequences. *Mol Ecol* 2, 55-9.
- [135] Schwaiger F. W., Gostomski D., Stear M. J., Duncan J. L., McKellar Q. A., Epplen J. T. and Buitkamp J. (1995) An ovine major histocompatibility complex DRB1 allele is associated with low faecal egg counts following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. *Int J Parasitol* 25, 815-22.
- [136] Schwaiger F. W., Maddox J., Ballingall K., Buitkamp J., Crawford A. M., Dutia B. M., Epplen J. T., Ferguson E. D., Groth D., Hopkins J., Rhind S. M., Sargan D., Wetherall J., Wright H. (1996) The Ovine Major Histocompatibility Complex. In: Schook L. B., Lamont S. J. (Eds.). *The Major Histocompatibility Complex Region of Domestic Animal Species*. pp. 122 - 169. CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo.
- [137] Scott P. C., Choi C. L. and Brandon M. R. (1987) Genetic organization of the ovine MHC class II region. *Immunogenetics* 25, 116-22.
- [138] Scott P. C., Gogolin-Ewens K. J., Adams T. E. and Brandon M. R. (1991a) Nucleotide sequence, polymorphism, and evolution of ovine MHC class II DQA genes. *Immunogenetics* 34, 69-79.
- [139] Scott P. C., Maddox J. F., Gogolin-Ewens K. J. and Brandon M. R. (1991b) The nucleotide sequence and evolution of ovine MHC class II B genes: DQB and DRB [published erratum appears in *Immunogenetics* 1992;35(3):217]. *Immunogenetics* 34, 80-7.
- [140] Searle S. R. (1971) *Linear Models*. pp. 318-324. John Wiley & Sons, Inc. New York, London, Sydney.
- [141] Sigurdardottir S., Borsch C., Gustafsson K. and Andersson L. (1992) Gene duplications and sequence polymorphism of bovine class II DQB genes [published erratum appears in *Immunogenetics* 1992;36(3):202]. *Immunogenetics* 35, 205-13.
- [142] Skow L. C., Snaples S. N., Davis S. K., Taylor J. F., Huang B. and Gallagher D. H. (1996) Localization of bovine lymphocyte antigen (BoLA) DYA and class I loci to different regions of chromosome 23. *Mamm Genome* 7, 388-9.

- [143] Snell G. D. (1968) The H-2 locus of the mouse: observations and speculations concerning its comparative genetics and its polymorphism. *Folia Biol* 14, 335-58.
- [144] Snibson K. J., Maddox J. F., Fabb S. A. and Brandon M. R. (1998) Allelic variation of ovine MHC class II DQA1 and DQA2 genes [In Process Citation]. *Anim Genet* 29, 356-62.
- [145] Stear M. J., Bishop S. C., Duncan J. L., McKellar Q. A. and Murray M. (1995a) The repeatability of faecal egg counts, peripheral eosinophil counts, and plasma pepsinogen concentrations during deliberate infections with *Ostertagia circumcincta*. *Int J Parasitol* 25, 375-80.
- [146] Stear M. J., Bairden K., Duncan J. L., Gettinby G., McKellar Q. A., Murray M. and Wallace D. S. (1995b) The distribution of faecal nematode egg counts in Scottish Blackface lambs following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. *Parasitology* 110, 573-81.
- [147] Stear M. J., Bairden K., Bishop S. C., Buitkamp J., Eppelen J. T., Gostomski D., McKellar Q. A., Schwaiger F. W. and Wallace D. S. (1996) An ovine lymphocyte antigen is associated with reduced faecal egg counts in four-month-old lambs following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. *Int J Parasitol* 26, 423-8.
- [148] Stear M. J., Bairden K., Bishop S. C., Buitkamp J., Duncan J. L., Gettinby G., McKellar Q. A., Park M., Parkins J. J., Reid S. W., Strain S. and Murray M. (1997) The genetic basis of resistance to *Ostertagia circumcincta* in lambs. *Vet J* 154, 111-9.
- [149] Stern L. J., Brown J. H., Jardetzky T. S., Gorga J. C., Urban R. G., Strominger J. L. and Wiley D. C. (1994) Crystal structure of the human class II MHC protein HLA-DR1 complexed with an influenza virus peptide. *Nature* 368, 215-21.
- [150] Stone R. T. and Muggli-Cockett N. E. (1993) BoLA-DIB: species distribution, linkage with DOB, and northern analysis. *Anim Genet* 24, 41-5.
- [151] Takahata N. and Nei M. (1990) Allelic genealogy under overdominant and frequency-dependent selection and polymorphism of major histocompatibility complex loci. *Genetics* 124, 967-78.
- [152] Tautz D. (1989) Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res* 17, 6463-71.
- [153] The *MHC* sequencing consortium (1999) Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. The MHC sequencing consortium [see comments]. *Nature* 401, 921-3.
- [154] Thein S. L. and Wallace R. B. (1986) The use of synthetic oligonucleotides as specific hybridization probes in the diagnosis of genetic disorders. In: Davies K. E. (Eds.). *Human genetic diseases, a practical approach*. pp. 33-50. IRL Press, Oxford.

- [155] Thursz M. R., Thomas H. C., Greenwood B. M. and Hill A. V. (1997) Heterozygote advantage for HLA class-II type in hepatitis B virus infection [letter] [published erratum appears in Nat Genet 1998 Jan;18(1):88]. *Nat Genet* 17, 11-2.
- [156] Tiercy J. M., Sanchez-Mazas A., Excoffier L., Shi-Isaac X., Jeannet M., Mach B. and Langaney A. (1992) HLA-DR polymorphism in a Senegalese Mandenka population: DNA oligotyping and population genetics of DRB1 specificities. *Am J Hum Genet* 51, 592-608.
- [157] University of Glasgow (URL-d) Faculty of Veterinary Medicine. Research. Parasitology. Genetic Resistance Group (2000). <http://www.gla.ac.uk/faculties/vet/index.htm>.
- [158] Urban J. F., Jr., Fayer R., Sullivan C., Goldhill J., Shea-Donohue T., Madden K., Morris S. C., Katona I., Gause W., Ruff M., Mansfield L. S. and Finkelman F. D. (1996) Local TH1 and TH2 responses to parasitic infection in the intestine: regulation by IFN-gamma and IL-4. *Vet Immunol Immunopathol* 54, 337-44.
- [159] Urquhart G. M., Armour J., Duncan J. L., Dunn A. M. and Jennings F. W. (1987). *Veterinary Parasitology*. Avon: Longman Scientific and Technical.
- [160] van Eijk M.J., Beever J.E., Da Y., Stewart J.A., Nicholaides G.E., Green C.A. and Lewin H.A. (1995) Genetic mapping of BoLA-A, CYP21, DRB3, DYA, and PRL on BTA23. *Mamm Genome* 6, 151-2.
- [161] van Oorschot R. A., Maddox J. F., Adams L. J. and Fabb S. A. (1994) Characterization and evolution of ovine MHC class II DQB sequence polymorphism. *Anim Genet* 25, 417-24.
- [162] Vercruysse J. and Hilderson H. (1993) [The serological diagnosis of gastrointestinal nematode infections in cattle]. *Verh K Acad Geneesk Belg* 55, 173-96.
- [163] Vidal S., Tremblay M. L., Govoni G., Gauthier S., Sebastiani G., Malo D., Skamene E., Olivier M., Jothy S. and Gros P. (1995) The Ity/Lsh/Bcg locus: natural resistance to infection with intracellular parasites is abrogated by disruption of the Nramp1 gene. *J Exp Med* 182, 655-66.
- [164] Wakelin D. and Blackwell J.M. (Editors) (1988) *Genetics of Resistance to Bacterial and Parasitic Infection*. pp. 287. Taylor and Francis, London.
- [165] Wassom D. L., Wakelin D., Brooks B. O., Krco C. J. and David C. S. (1984) Genetic control of immunity to *Trichinella spiralis* infections of mice. Hypothesis to explain the role of H-2 genes in primary and challenge infections. *Immunology* 51, 625-31.
- [166] Wassom D. L. and Kelly E. A. (1990) The role of the major histocompatibility complex in resistance to parasite infections. *Crit Rev Immunol* 10, 31-52.

- [167] Weber J. L. and May P. E. (1989) Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet* 44, 388-96.
- [168] White M. B., Carvalho M., Derse D., O'Brien S. J. and Dean M. (1992) Detecting single base substitutions as heteroduplex polymorphisms. *Genomics* 12, 301-6.
- [169] Williams A. F. and Barclay A. N. (1988) The immunoglobulin superfamily-domains for cell surface recognition. *Annu Rev Immunol* 6, 381-405.
- [170] Wright H., Ballingall K. T. and Redmond J. (1994) The DY sub-region of the sheep MHC contains an A/B gene pair. *Immunogenetics* 40, 230-4.
- [171] Wright H. and Ballingall K. T. (1994) Mapping and characterization of the DQ subregion of the ovine MHC. *Anim Genet* 25, 243-9.
- [172] Wright H., Redmond J., Wright F. and Ballingall K. T. (1995) The nucleotide sequence of the sheep MHC class II DNA gene. *Immunogenetics* 41, 131-3.
- [173] Wright H., Redmond J. and Ballingall K. T. (1996) The sheep orthologue of the HLA-DOB gene. *Immunogenetics* 43, 76-9.
- [174] Zharkikh A. A., Rzhetsky A., Morosov P. S., Sitnikova T. L. and Krushkal J. S. (1991) VOSTORG: a package of microcomputer programs for sequence analysis and construction of phylogenetic trees. *Gene* 101, 251-4.
- [175] Zinkernagel R. M. and Doherty P. C. (1974) Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature* 248, 701-2.

A Anhang

Übersicht A 1: Abstammungsdaten, Geschlecht, Geburtsdatum und monatliche Eizahlen (*O. circumcincta*) der Scottish Blackface Schafe aus dem Jahrgang 1993. Geschlecht: 1 = männlich, 2 = weiblich. Im August, September und Oktober ist jeweils der Durchschnittswert aus zwei Zählungen pro Kotprobe angegeben. Die Daten wurden von Prof. Dr. M. Stear (Faculty of Veterinary Medicine, University of Glasgow, URL-d) zur Verfügung gestellt.

Lamm	Mutter	Vater	Geschlecht	Geburtsdatum	Eizahl pro Gramm Kot (EPG / FEC)					
					Mai	Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.
o001	P80	83	1	25. 04.	-	-	900	50	25	125
o002	P80	83	1	25. 04.	-	0	1300	925	475	125
o003	B74	92	1	25. 04.	0	300	650	200	300	150
o004	B74	92	1	25. 04.	-	150	1150	0	300	25
o005	Y82	83	1	19. 04.	0	200	100	0	400	-
o006	Y82	83	2	19. 04.	0	50	250	0	0	0
o007	G43	83	1	22. 04.	-	100	1850	100	100	175
o008	G43	83	2	22. 04.	0	0	250	675	-	125
o009	G84	77	1	25. 04.	0	0	500	325	100	225
o010	G84	77	2	25. 04.	-	100	300	125	325	300
o011	Y80	96	2	23. 04.	0	100	50	25	25	25
o012	Y80	96	2	23. 04.	0	300	50	50	25	0
o013	O63	78	1	25. 04.	0	100	-	200	0	75
o014	O63	78	2	25. 04.	-	150	700	0	150	325
o015	Y98	96	1	27. 04.	0	100	550	-	125	500
o016	Y98	96	1	27. 04.	0	100	250	50	75	225
o017	W5	83	1	27. 04.	0	100	600	150	125	575
o018	W5	83	2	27. 04.	-	200	200	175	0	25
o019	G7	83	1	26. 04.	-	150	1050	250	275	175
o020	G7	83	2	26. 04.	0	300	250	175	25	0
o021	B29	83	1	23. 04.	-	100	350	450	275	175
o022	B29	83	1	23. 04.	0	300	750	250	300	375
o023	B23	92	2	25. 04.	0	100	450	400	450	200
o024	B23	92	-	25. 04.	-	0	900	125	75	200
o025	Y42	96	1	23. 04.	0	100	100	125	225	175
o026	Y42	96	1	23. 04.	0	200	1200	75	50	100
o027	B49	83	1	26. 04.	0	50	450	125	25	25
o028	B49	83	2	26. 04.	-	50	100	525	-	150
o029	Y67	83	2	22. 04.	0	300	1200	75	0	0
o030	Y67	83	2	22. 04.	0	400	100	0	0	0
o031	Y198	92	1	27. 04.	-	150	500	1150	75	125
o032	Y198	92	1	27. 04.	0	0	200	75	50	150
o033	G56	95	2	28. 04.	0	100	400	350	450	150
o034	G56	95	1	28. 04.	-	700	700	150	0	200
o035	TY151	99	1	27. 04.	0	200	300	50	0	0
o036	TY151	99	1	27. 04.	0	400	-	50	0	-

Lamm	Mutter	Vater	Geschlecht	Geburtsdatum	Eizahl pro Gramm Kot (EPG / FEC)					
					Mai	Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.
o037	PUR63	95	2	24. 04.	0	100	600	600	75	250
o038	PUR63	95	2	24. 04.	0	-	850	275	275	225
o039	G110	92	2	01. 05.	0	100	1400	125	100	100
o041	B31	78	1	25. 04.	-	100	0	25	25	200
o042	B31	78	2	25. 04.	0	250	0	50	50	0
o043	Y172	99	1	27. 04.	0	300	350	550	50	275
o044	Y172	99	1	27. 04.	0	0	400	0	250	225
o045	TR60	74	2	20. 04.	-	0	250	125	500	175
o046	TR60	74	1	20. 04.	0	100	200	75	150	225
o047	TR49	74	1	20. 04.	0	-	250	-	25	0
o048	TR49	74	1	20. 04.	0	-	300	375	550	150
o050	W59	77	1	21. 04.	0	-	400	75	0	75
o051	Y55	96	2	20. 04.	0	50	700	200	700	275
o052	Y55	96	1	20. 04.	0	-	300	225	600	250
o053	PUR55	78	2	20. 04.	0	100	200	150	100	25
o054	PUR55	78	2	20. 04.	0	100	1100	150	200	75
o055	W85	95	2	18. 04.	0	250	400	25	175	150
o056	W85	95	2	18. 04.	50	300	700	475	183	125
o057	Y32	96	2	19. 04.	-	100	1300	-	600	100
o058	Y32	96	1	19. 04.	-	50	400	600	350	350
o059	B65	78	2	19. 04.	0	100	200	25	0	-
o060	B65	78	1	19. 04.	0	250	100	0	25	25
o061	O62	77	2	19. 04.	300	100	-	0	0	100
o062	O62	77	1	19. 04.	300	300	250	25	25	125
o063	G65	95	2	20. 04.	-	0	750	-	50	475
o064	G65	95	1	20. 04.	0	-	-	250	75	150
o065	TG14	74	2	17. 04.	0	0	450	75	0	25
o066	TG14	74	2	17. 04.	0	300	0	-	25	100
o067	TG93	74	2	19. 04.	-	0	500	-	25	100
o068	TG93	74	1	19. 04.	0	0	0	850	150	100
o069	TR50	74	2	22. 04.	0	100	50	50	0	100
o070	TR50	74	1	22. 04.	0	350	0	225	0	25
o072	Y157	99	1	30. 04.	-	50	0	100	100	25
o073	TG111	74	2	28. 04.	0	0	500	50	75	225
o074	TG111	74	2	28. 04.	0	0	750	175	50	125
o075	TG91	74	2	23. 04.	0	0	100	300	50	0
o076	TG91	74	2	23. 04.	0	0	350	300	250	450
o077	TG112	74	1	22. 04.	0	200	50	125	0	0
o078	TG112	74	1	22. 04.	100	0	750	175	125	175
o079	G61	78	2	27. 04.	0	50	550	-	75	300
o080	G61	78	1	27. 04.	0	100	550	200	50	25

Lamm	Mutter	Vater	Geschlecht	Geburtsdatum	Eizahl pro Gramm Kot (EPG / FEC)					
					Mai	Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.
o081	W100	77	-	30. 04.	0	100	200	-	-	-
o082	W100	77	1	30. 04.	0	300	500	-	25	0
o083	B71	77	1	29. 04.	0	50	550	-	100	75
o084	B71	77	2	29. 04.	-	0	600	175	800	525
o085	Y155	99	2	30. 04.	0	300	650	100	175	125
o086	Y155	99	2	30. 04.	0	300	100	450	225	325
o087	Y127	99	-	30. 04.	0	50	700	50	50	0
o088	Y127	99	2	30.04.	0	0	150	50	125	50
o089	TR51	74	-	28. 04.	-	-	-	-	-	-
o090	TR51	74	2	28. 04.	0	100	850	450	825	275
o092	Y178	92	1	01. 05.	0	500	900	50	650	600
o093	B9	78	1	01. 05.	-	-	350	775	550	75
o094	B9	78	1	01. 05.	0	0	1400	700	125	25
o095	G41	77	2	28. 04.	-	0	700	50	75	0
o096	G41	77	2	28. 04.	300	0	700	325	125	-
o097	W50	83	2	01. 05.	-	100	950	125	50	25
o098	W50	83	1	01. 05.	-	0	1750	600	450	475
o099	W16	92	2	28. 04.	0	0	400	100	75	150
o100	W16	92	2	28. 04.	0	250	1150	225	25	100
y001	Y103	94	2	30. 04.	0	0	1200	175	150	125
y002	Y103	94	1	30. 04.	0	350	1050	150	125	250
y003	Y9	96	1	29. 04.	-	150	1900	-	600	100
y004	Y9	96	2	29. 04.	0	100	950	-	100	350
y005	O37	83	2	29. 04.	-	400	400	100	100	75
y006	O37	83	1	29. 04.	0	500	300	0	0	50
y007	G32	78	1	29. 04.	-	-	250	25	100	-
y008	G32	78	1	29. 04.	-	-	1000	-	50	75
y009	P61	96	1	24. 04.	-	100	1500	50	100	-
y010	P61	96	1	24. 04.	-	100	850	225	-	75
y012	TG113	93	2	25. 04.	-	250	600	-	50	-
y013	B90	99	2	18. 04.	0	300	750	100	50	350
y014	B90	99	-	18. 04.	0	0	1550	750	500	300
y015	B86	94	2	23. 04.	0	100	150	0	0	50
y016	B86	94	2	23. 04.	1000	300	100	150	-	-
y017	W62	78	2	26. 04.	0	0	200	0	50	200
y018	W62	78	2	26. 04.	0	0	400	225	200	225
y019	R33	88	1	-	-	50	300	250	600	350
y020	R33	88	2	-	0	100	250	50	75	25
y021	G114	92	1	27. 04.	-	-	100	750	475	300
y022	TG115	74	2	22. 04.	-	50	-	0	0	175
y023	W26	96	1	26. 04.	-	50	700	850	50	150

Lamm	Mutter	Vater	Geschlecht	Geburtsdatum	Eizahl pro Gramm Kot (EPG / FEC)					
					Mai	Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.
y024	G29	78	1	30. 04.	-	100	1150	50	100	-
y026	B60	92	1	29. 04.	0	-	0	75	225	275
y027	B38	83	1	19. 04.	-	50	800	600	550	275
y028	W37	96	1	26. 04.	0	500	750	100	1050	350
y029	B32	83	-	19. 04.	0	-	-	-	-	-
y030	NB81	96	1	30. 04.	-	0	450	0	1875	375
y031	Y147	99	1	18. 04.	0	300	650	450	375	400
y032	W23	83	1	29. 04.	0	0	-	600	75	275
y033	W78	96	1	26. 04.	0	0	250	425	625	725
y035	B17	96	1	30. 04.	0	0	550	250	0	25
y036	G49	83	1	19. 04.	0	200	500	650	0	25
y037	O92	96	1	30. 04.	0	100	1300	200	200	50
y038	W28	96	2	26. 04.	0	50	700	1000	0	50
y039	P68	83	1	29. 04.	0	50	400	100	50	75
y040	B39	92	1	29. 04.	0	200	350	75	175	100
y041	W91	96	2	26. 04.	-	-	350	-	375	700
y042	R31	77	2	30. 04.	0	-	950	2275	975	750
y043	Y195	92	1	27. 04.	0	100	700	1025	575	225
y044	Y112	94	1	30. 04.	0	-	100	400	325	250
y045	P81	83	1	29. 04.	0	50	1500	200	100	100
y046	W8	77	1	30. 04.	0	0	150	175	400	175
y047	TY2	93	1	-	-	0	200	-	425	100
y048	TG116	93	1	-	-	0	900	75	25	25
y050	B50	99	1	29. 04.	100	0	850	400	250	0
y051	Y66	96	1	26. 04.	-	200	1850	1725	525	675
y052	Y101	94	2	23. 04.	-	0	550	125	75	125
y053	Y178	92	2	01. 05.	0	0	1200	300	225	200
y054	P100	77	2	19. 04.	0	200	450	25	175	0
y055	-	-	2	-	-	300	150	50	125	0
y056	G110	92	1	01. 05.	0	0	1000	250	100	250
y057	-	-	1	-	-	200	-	-	525	525
y059	TG113	93	1	25. 04.	0	0	150	50	25	125
y060	Y157	99	1	30. 04.	200	300	600	200	350	75
b047	B41	99	1	16. 04.	0	0	600	525	75	600
b048	B41	99	1	16. 04.	100	-	250	550	425	475
b049	O21	77	2	16. 04.	100	400	400	-	0	400
b050	O21	77	1	16. 04.	700	50	450	0	150	75
b051	W19	77	1	16. 04.	0	50	300	100	50	100
b052	W19	77	2	16. 04.	0	200	400	25	0	25
b053	NB66	96	1	16. 04.	0	0	1650	500	-	1000
b054	NB66	96	2	16. 04.	100	0	1450	325	0	225

Lamm	Mutter	Vater	Geschlecht	Geburtsdatum	Eizahl pro Gramm Kot (EPG / FEC)					
					Mai	Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.
b055	O61	83	1	16. 04.	100	0	400	75	125	0
b056	O61	83	2	16. 04.	150	100	450	425	200	150
b057	B66	92	2	17. 04.	-	0	1350	200	375	325
b058	B66	92	2	17. 04.	0	0	100	550	325	200
b059	Y97	96	1	17. 04.	0	0	800	-	-	225
b060	Y97	96	1	17. 04.	-	-	150	975	475	475
b063	R15	94	2	17. 04.	0	0	150	500	100	-
b064	R15	94	1	17. 04.	0	0	250	75	75	175
b065	B20	78	1	18. 04.	50	300	1350	500	325	900
b066	B20	78	2	18. 04.	-	100	100	50	25	325
b067	Y110	94	2	18. 04.	0	50	300	0	25	125
b068	Y110	94	1	18. 04.	0	50	800	525	-	425
b069	W58	95	1	18. 04.	-	0	250	25	25	100
b070	W58	95	1	18. 04.	50	1750	1350	350	325	175
b071	O4	83	2	19. 04.	150	400	0	0	0	0
b072	O4	83	1	19. 04.	1150	600	400	50	150	25
b073	O34	77	2	16. 04.	0	150	350	-	50	75
b074	O34	77	2	16. 04.	300	200	900	1100	300	225
b075	B75	78	2	18. 04.	0	150	250	375	50	75
b076	B75	78	2	18. 04.	-	-	0	0	0	0
b077	B6	78	1	18. 04.	300	50	1100	725	0	175
b078	B6	78	1	18. 04.	100	-	200	275	25	175
b079	W66	78	2	17. 04.	300	100	800	525	175	400
b080	W66	78	1	17. 04.	100	400	100	525	75	275
b081	B82	96	1	19. 04.	0	50	500	575	325	325
b082	B82	96	2	19. 04.	0	50	400	550	100	475
b083	O77	83	1	21. 04.	0	100	-	25	75	0
b084	O77	83	1	21. 04.	0	150	750	300	200	125
b085	P100	77	2	19. 04.	0	100	200	-	175	0
b087	B27	83	1	21. 04.	0	400	350	625	25	0
b088	B27	83	1	21. 04.	50	-	950	525	150	150
b089	B47	92	1	20. 04.	50	250	1600	250	125	175
b090	B47	92	1	20. 04.	150	50	550	50	200	300
b091	G5	95	1	21. 04.	-	100	100	350	175	175
b092	G5	95	1	21. 04.	0	50	650	625	100	175
b093	B2	78	1	18. 04.	700	0	700	-	125	250
b094	B2	78	2	18. 04.	50	400	1100	250	25	0
b095	G72	83	2	18. 04.	150	100	450	-	25	375
b096	G72	83	1	18. 04.	0	50	350	275	75	375
b097	Y69	96	2	22. 04.	0	100	800	1250	600	175
b098	Y69	96	2	22. 04.	0	0	600	50	75	175

Übersicht A 2: Abstammungsdaten, Geschlecht, Geburtsdatum und monatliche Eizahlen (*O. circumcincta*) der Scottish Blackface Schafe aus dem Jahrgang 1996. Geschlecht: 1 = männlich, 2 = weiblich. Von Juni bis Oktober ist jeweils der Durchschnittswert aus vier Zählungen pro Kotprobe angegeben. Sämtliche Daten wurden von Prof. Dr. M. Stear (Faculty of Veterinary Medicine, University of Glasgow, URL-d) zur Verfügung gestellt.

Lamm	Mutter	Vater	Geschlecht	Geburtsdatum	Eizahl pro Gramm Kot (EPG / FEC)				
					Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.
y001	O261	G199	1	23. 04.	1013	788	-	413	513
y002	O261	G199	1	23. 04.	563	663	88	1636	138
y003	PUR88	G180	1	26. 04.	888	750	213	0	113
y004	PUR88	G180	1	26. 04.	1650	938	0	100	313
y005	W191	G173	1	23. 04.	625	950	275	450	600
y006	W191	G173	2	23. 04.	425	-	125	250	125
y007	Y125	G200	1	29. 04.	-	825	150	388	163
y008	Y125	G200	2	29. 04.	713	200	-	38	75
y009	NY286	G181	2	17. 04.	438	663	275	563	1138
y010	NY286	G181	1	17. 04.	-	525	475	150	375
y011	W17	G182	1	17. 04.	775	550	0	50	250
y012	W17	G182	1	17. 04.	125	488	188	325	150
y013	O266	G199	2	23. 04.	-	288	13	388	263
y014	O266	G199	1	23. 04.	350	513	338	375	750
y015	G045	G198	2	01. 05.	175	425	150	113	775
y016	G045	G198	2	01. 05.	250	1088	50	88	188
y017	NY264	G172	2	26. 04.	275	725	513	1075	625
y018	NY264	G172	2	26. 04.	650	1438	288	-	200
y019	W173	G173	2	03. 05.	600	575	75	650	313
y020	W173	G173	1	03. 05.	488	650	175	363	150
y021	O203	R94	1	06. 05.	525	-	38	825	475
y022	O203	R94	2	06. 05.	575	350	175	300	275
y023	W182	G173	2	02. 05.	-	775	50	738	325
y024	W182	G173	1	02. 05.	475	-	0	-	238
y025	Y164	G200	2	28. 04.	-	0	25	13	0
y026	Y164	G200	1	28. 04.	525	263	63	325	88
y027	NY240	G180	1	22. 04.	275	538	140	1025	475
y028	NY240	G180	2	22. 04.	675	50	13	25	38
y029	W153	G173	2	20. 04.	275	225	0	550	725
y030	W153	G173	1	20. 04.	1188	38	0	550	200
y031	NB81	G182	2	19. 04.	-	613	263	-	488
y032	NB81	G182	2	19. 04.	725	138	313	88	488
y033	R199	G175	3	16. 04.	513	375	125	225	600
y034	R199	G175	2	16. 04.	650	550	138	138	600
y035	R145	G182	1	25. 04.	1750	575	138	1663	712
y036	R145	G182	1	25. 04.	513	200	163	475	150
y037	G117	G175	2	15. 04.	300	438	0	150	200
y038	G117	G175	1	15. 04.	150	300	13	638	338

Lamm	Mutter	Vater	Geschlecht	Geburtsdatum	Eizahl pro Gramm Kot (EPG / FEC)				
					Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.
y039	G054	G182	1	30. 04.	575	138	100	25	50
y040	G054	G182	2	30. 04.	525	500	663	288	313
y041	W97	G200	2	03. 05.	563	375	0	113	100
y042	W97	G200	1	03. 05.	575	225	113	175	63
y043	R58	G175	2	28. 04.	-	25	0	313	50
y044	R58	G175	1	28. 04.	1763	300	88	450	413
y045	R150	G179	9	27. 04.	-	-	-	-	-
y046	R150	G179	1	27. 04.	-	463	38	500	638
y047	W168	G173	2	20. 04.	-	588	300	650	200
y048	W168	G173	2	20. 04.	338	-	150	463	588
y049	O263	G172	9	27. 04.	-	-	-	-	-
y050	O263	G172	1	27. 04.	913	1613	338	2300	1338
y051	O276	G175	2	15. 04.	-	225	25	813	1800
y052	O276	G175	9	15. 04.	-	-	-	-	-
y053	O277	G175	1	15. 04.	513	63	13	413	425
y054	O277	G175	2	15. 04.	1150	1325	88	475	75
y055	O278	G175	1	19. 04.	625	75	188	2200	525
y056	O278	G175	2	19. 04.	288	25	63	188	250
y057	O279	G175	2	16. 04.	-	488	-	925	725
y058	O279	G175	1	16. 04.	1025	950	275	1088	600
y059	O280	G175	1	25. 04.	250	1900	175	1175	750
y060	O280	G175	1	25. 04.	450	1038	263	313	225
y061	O281	G175	2	03. 05.	75	500	300	263	675
y062	O281	G175	1	03. 05.	0	100	-	338	113
y063	O282	G175	9	20. 04.	-	-	-	-	-
y064	O282	G175	1	20. 04.	163	163	75	875	775
y065	O283	G175	2	26. 04.	138	375	88	313	113
y066	O283	G175	1	26. 04.	325	638	125	975	838
y067	O284	G175	1	01. 05.	25	1425	100	350	250
y068	O284	G175	1	01. 05.	113	625	288	288	325
y069	G184	G181	1	01. 05.	312	2775	363	1300	875
y070	G184	G181	1	01. 05.	263	1038	-	2150	-
y071	Y160	G200	2	30. 04.	1000	1113	125	650	238
y072	Y160	G200	2	30. 04.	288	750	0	0	150
y073	O249	P55	1	24. 04.	463	1113	363	925	788
y074	O249	P55	1	24. 04.	275	-	200	125	188
y075	R37	G199	2	27. 04.	450	913	63	1625	1000
y076	R37	G199	1	27. 04.	113	1188	113	150	450
y077	W21	G182	2	23. 04.	238	975	113	-	-
y078	W21	G182	1	23. 04.	425	725	50	150	225

Lamm	Mutter	Vater	Geschlecht	Geburtsdatum	Eizahl pro Gramm Kot (EPG / FEC)				
					Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.
y079	NP91	G200	1	26. 04.	175	275	150	188	300
y080	NP91	G200	2	26. 04.	-	700	0	200	125
y081	W75	G200	1	19. 04.	50	250	488	25	50
y082	W75	G200	2	19. 04.	63	288	1125	413	288
y083	R38	G199	2	27. 04.	350	663	550	613	325
y084	R38	G199	2	27. 04.	225	275	300	238	145
y085	O256	G199	2	29. 04.	1012	763	25	1013	-
y086	O256	G199	2	29. 04.	563	325	-	450	338
y087	R102	G182	2	17. 04.	488	300	0	188	163
y088	R102	G182	2	17. 04.	450	250	150	50	213
y089	W70	G182	1	18. 04.	750	625	213	213	575
y090	W70	G182	1	18. 04.	575	538	38	813	538
y091	Y154	G200	2	28. 04.	875	425	125	113	163
y092	Y154	G200	2	28. 04.	1050	1113	25	275	375
y093	W115	G183	1	17. 04.	913	175	213	550	313
y094	W115	G183	1	17. 04.	-	613	75	1200	913
y095	W57	G200	2	18. 04.	975	325	150	388	263
y096	W57	G200	2	18. 04.	-	1738	650	688	163
y097	W7	G179	2	04. 05.	2113	1238	363	1088	488
y098	W7	G179	1	04. 05.	750	-	25	450	1350
y099	O258	G199	1	30. 04.	1500	588	300	75	150
y100	O258	G199	2	30. 04.	613	413	313	300	113
y101	Y159	G173	1	18. 04.	525	875	63	650	575
y102	W59	G182	3	21. 04.	1125	650	225	525	650
y103	G042	G198	1	19. 04.	588	1038	100	400	300
y104	O255	G199	1	16. 04.	938	550	0	150	288
y105	W42	G179	1	17. 04.	275	175	38	438	413
y106	O230	G199	1	17. 04.	1313	3175	50	1450	438
y107	W88	G183	1	18. 04.	-	-	538	-	75
y108	G057	G183	1	22. 04.	288	1175	0	175	213
y109	R123	G179	1	21. 04.	488	338	250	563	13
y110	W110	G198	1	22. 04.	125	1150	25	975	263
y111	W18	G198	1	20. 04.	113	7877	263	1225	563
y112	G062	G200	1	19. 04.	250	88	50	-	113
y113	W22	G179	2	23. 04.	575	525	100	200	252
y114	G035	G183	1	22. 04.	-	1100	-	-	200
y115	W113	G183	9	24. 04.	-	-	-	-	-
y116	G116	G175	2	20. 04.	238	613	75	650	688
y117	O275	G199	2	24. 04.	13	225	150	275	188
y118	W91	R96	1	07. 04.	25	150	150	150	513
y119	W163	G198	3	27. 04.	275	588	163	375	275

Lamm	Mutter	Vater	Geschlecht	Geburtsdatum	Eizahl pro Gramm Kot (EPG / FEC)				
					Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.
y120	Y148	G200	1	28. 04.	663	450	100	63	50
y121	G112	G175	1	26. 04.	275	300	0	88	150
y122	W10	G179	1	10. 05.	988	1000	-	825	463
y123	W15	G198	1	26. 04.	375	663	250	25	238
y124	O81	R94	2	09. 05.	-	488	238	475	188
y125	O220	R94	1	12. 05.	113	513	213	250	675
y126	W51	G180	1	21. 04.	200	250	150	38	125
y127	G131	R96	1	11. 05.	100	863	100	488	850
y128	G131	G180	1	24. 04.	575	288	-	-	138
y129	NY235	R96	1	07. 05.	300	600	275	-	925
y130	G078	R93	1	10. 05.	63	700	263	300	438
y131	W6	G198	1	30. 04.	175	138	88	513	100
y132	Y142	G179	1	28. 04.	350	1013	200	250	363
y133	NY241	G172	1	07. 05.	75	1075	175	-	163
y134	NY236	R96	1	12. 05.	63	-	13	388	525
y135	NP1	G182	1	01. 05.	-	1625	388	250	1400
y136	W63	R93	1	15. 05.	75	250	75	688	288
y137	NY233	G180	1	14. 05.	13	1963	888	1300	2350
y138	W106	R94	1	13. 05.	200	88	125	500	563
y139	NB75	G177	1	08. 05.	-	138	50	563	625
y140	G025	G179	1	27. 04.	338	313	63	238	163
y141	G161	G172	1	23. 04.	350	600	63	775	376
y142	R26	P55	2	08. 05.	75	475	350	525	613
y143	Y168	R93	1	12. 05.	-	213	0	175	275
y144	W200	G177	1	15. 05.	0	575	75	1200	650
y145	R107	G177	1	16. 05.	25	388	388	925	763
y146	W143	R94	1	19. 05.	-	538	2502	425	1850
y147	G155	R94	1	-	113	388	663	88	288
y148	W92	R94	1	-	13	313	313	438	863
y149	W43	R93	1	-	75	-	-	-	-
y150	O233	P55	1	-	0	463	338	438	100
y151	O286	G180	2	19. 04.	725	325	-	163	575
y152	O286	G180	1	19. 04.	-	-	-	300	750
y153	NY289	G181	1	04. 05.	175	238	238	663	663
y154	NY289	G181	1	04. 05.	-	-	-	-	-
y155	W140	G172	2	21. 04.	938	513	425	1338	163
y156	W140	G172	2	21. 04.	700	325	13	25	725
y157	NY208	R96	1	06. 05.	338	275	75	425	588
y158	NY208	R96	1	06. 05.	100	675	0	550	1138
y159	NY256	G174	1	26. 05.	13	188	175	613	775
y160	NY256	G174	2	26. 05.	88	550	-	638	638

Lamm	Mutter	Vater	Geschlecht	Geburtsdatum	Eizahl pro Gramm Kot (EPG / FEC)				
					Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.
y161	Y105	G179	2	23. 04.	100	1400	88	1050	288
y162	Y105	G179	2	23. 04.	275	838	113	538	313
y163	NY224	G180	1	28. 04.	375	1325	100	613	2438
y164	NY224	G180	2	28. 04.	225	50	-	13	475
y165	W138	G183	2	04. 05.	613	663	125	500	425
y166	W138	G183	2	04. 05.	188	25	63	213	200
y167	NY272	G181	2	21. 04.	0	1825	1250	-	575
y168	NY272	G181	2	21. 04.	100	413	0	225	263
y169	R112	G200	1	02. 05.	488	488	388	1538	238
y170	R112	G200	1	02. 05.	638	838	225	313	413
y171	R152	G200	1	19. 04.	1050	1075	675	900	650
y172	R152	G200	1	19. 04.	1050	663	675	150	488
y173	Y151	G183	2	21. 04.	-	1175	0	250	325
y174	Y151	G183	1	21. 04.	838	838	213	163	50
y175	R142	G182	2	21. 04.	-	475	800	525	938
y176	R142	G182	9	21. 04.	-	-	-	-	-
y177	R128	G179	1	02. 05.	3050	350	13	150	213
y178	R128	G179	1	02. 05.	-	538	50	563	250
y179	Y112	G182	2	24. 04.	1113	800	275	613	525
y180	Y112	G182	2	24. 04.	1013	-	488	63	263
y181	W47	G182	2	01. 05.	75	925	575	0	138
y182	W47	G182	2	01. 05.	713	588	188	113	-
y183	O246	G199	1	18. 04.	850	625	138	713	775
y184	O246	G199	2	18. 04.	325	488	450	675	300
y185	O285	G175	1	03. 05.	775	475	113	338	250
y186	O285	G175	2	03. 05.	138	63	300	88	75
y187	W69	G182	1	17. 04.	-	-	550	775	363
y188	W69	G182	2	17. 04.	-	-	-	-	-
y189	R151	G198	2	23. 04.	1188	563	-	363	625
y190	R151	G198	2	23. 04.	-	200	88	175	113
y191	R101	G182	2	25. 04.	838	625	175	138	150
y192	R101	G182	1	25. 04.	1175	900	63	900	913
y193	W49	G200	1	20. 04.	1375	338	13	313	475
y194	W49	G200	2	20. 04.	875	213	13	25	88
y195	PUR6	G199	2	04. 05.	225	513	425	-	925
y196	PUR6	G199	2	04. 05.	988	413	925	1613	838
y197	PUR12	G199	2	27. 04.	775	950	100	475	313
y198	PUR12	G199	2	27. 04.	475	325	588	463	263
y199	W114	G200	2	16. 04.	713	463	75	375	250
y200	W114	G200	1	16. 04.	800	578	313	63	100

Übersicht A 3: Typisierungsdaten am *DRB1*-Locus, sowie der Marker OMHC1 und DYMS1 der Scottish Blackface Schafe aus dem Jahrgang 1993. Die Typisierungsdaten des *DRB1*-Locus wurden von Schwaiger et al. (1995) zur Verfügung gestellt. Die Typisierung der Mikrosatelliten OMHC1 und DYMS1 wurde von Buitkamp et al. (1996) durchgeführt.

Lamm	<i>DRB1</i>		OMHC1		DYMS1	
o001	524 (<i>G1</i>)	512 (<i>F</i>)	-	-	220	212
o002	524 (<i>G1</i>)	512 (<i>F</i>)	192	198	220	212
o003	524 (<i>G2</i>)	512 (<i>F</i>)	192	190	196	196
o004	524 (<i>G2</i>)	540 (<i>I</i>)	182	190	196	220
o005	500 (<i>D</i>)	512 (<i>F</i>)	192	210	220	218
o006	500 (<i>D</i>)	512 (<i>F</i>)	192	210	196	180
o007	534 (<i>H2</i>)	540 (<i>I</i>)	192	188	196	204
o008	534 (<i>H2</i>)	540 (<i>I</i>)	-	-	196	220
o009	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	198	F	220	220
o010	462 (<i>A</i>)	540 (<i>I</i>)	198	182	218	218
o011	496 (<i>C</i>)	462 (<i>A</i>)	188	196	218	222
o012	524 (<i>G1</i>)	462 (<i>A</i>)	188	204	218	218
o013	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	190	190	218	220
o014	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	182	190	204	220
o015	540 (<i>I</i>)	462 (<i>A</i>)	198	190	218	220
o016	540 (<i>I</i>)	462 (<i>A</i>)	198	190	218	220
o017	540 (<i>I</i>)	512 (<i>F</i>)	210	196	196	220
o018	540 (<i>I</i>)	512 (<i>F</i>)	-	-	196	220
o019	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	192	200	196	216
o020	540 (<i>I</i>)	512 (<i>F</i>)	-	-	196	216
o021	512 (<i>F</i>)	540 (<i>I</i>)	192	192	196	220
o022	512 (<i>F</i>)	512 (<i>F</i>)	-	-	220	220
o023	562 (<i>M</i>)	540 (<i>I</i>)	182	204	220	200
o025	500 (<i>D</i>)	462 (<i>A</i>)	188	190	218	220
o026	554 (<i>L</i>)	462 (<i>A</i>)	188	204	218	220
o027	554 (<i>L</i>)	512 (<i>F</i>)	210	198	220	204
o028	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	192	194	196	204
o031	540 (<i>I</i>)	512 (<i>F</i>)	192	190	196	218
o032	540 (<i>I</i>)	512 (<i>F</i>)	192	190	220	220
o033	554 (<i>L</i>)	500 (<i>D</i>)	-	-	-	-
o034	554 (<i>L</i>)	500 (<i>D</i>)	-	-	-	-
o035	524 (<i>G1</i>)	554 (<i>L</i>)	198	204	196	200
o036	540 (<i>I</i>)	554 (<i>L</i>)	-	-	-	-
o037	540 (<i>I</i>)	500 (<i>D</i>)	190	204	218	220
o038	500 (<i>D</i>)	500 (<i>D</i>)	190	190	218	220

Lamm	<i>DRBI</i>		OMHC1		DYMS1	
o039	540 (<i>I</i>)	512 (<i>F</i>)	-	-	-	-
o041	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	-	-	-	-
o042	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	-	-	204	220
o043	562 (<i>M</i>)	500 (<i>D</i>)	190	204	-	-
o044	562 (<i>M</i>)	554 (<i>L</i>)	-	-	-	-
o045	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	194	190	210	218
o046	580 (<i>N</i>)	524 (<i>G2</i>)	200	196	210	220
o047	540 (<i>I</i>)	524 (<i>G2</i>)	-	-	210	216
o048	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	194	194	210	216
o050	500 (<i>D</i>)	500 (<i>D</i>)	194	198	220	222
o051	490 (<i>B</i>)	462 (<i>A</i>)	188	194	218	220
o052	554 (<i>L</i>)	462 (<i>A</i>)	188	194	218	204
o053	524 (<i>G2</i>)	540 (<i>I</i>)	182	196	204	220
o054	524 (<i>G2</i>)	540 (<i>I</i>)	182	196	218	220
o055	496 (<i>C</i>)	500 (<i>D</i>)	190	196	218	200
o056	496 (<i>C</i>)	500 (<i>D</i>)	190	196	218	200
o057	500 (<i>D</i>)	462 (<i>A</i>)	198	190	218	218
o058	500 (<i>D</i>)	462 (<i>A</i>)	198	190	218	218
o059	524 (<i>G2</i>)	540 (<i>I</i>)	182	192	218	198
o060	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	190	190	218	220
o061	584 (<i>O</i>)	500 (<i>D</i>)	190	198	220	214
o062	584 (<i>O</i>)	540 (<i>I</i>)	-	-	-	-
o063	540 (<i>I</i>)	554 (<i>L</i>)	-	-	218	200
o064	540 (<i>I</i>)	500 (<i>D</i>)	190	194	180	200
o065	562 (<i>M</i>)	524 (<i>G2</i>)	200	204	210	218
o066	562 (<i>M</i>)	524 (<i>G2</i>)	200	204	210	218
o067	512 (<i>F</i>)	524 (<i>G2</i>)	194	192	210	216
o068	490 (<i>B</i>)	540 (<i>I</i>)	194	190	210	216
o069	580 (<i>N</i>)	540 (<i>I</i>)	194	196	210	220
o070	580 (<i>N</i>)	524 (<i>G2</i>)	200	196	210	220
o072	540 (<i>I</i>)	554 (<i>L</i>)	198	194	196	220
o073	462 (<i>A</i>)	524 (<i>G2</i>)	-	-	-	-
o074	584 (<i>O</i>)	524 (<i>G2</i>)	200	198	210	196
o075	512 (<i>F</i>)	524 (<i>G2</i>)	-	-	-	-
o076	540 (<i>I</i>)	524 (<i>G2</i>)	200	194	210	220
o077	584 (<i>O</i>)	524 (<i>G2</i>)	200	202	210	180
o078	554 (<i>L</i>)	540 (<i>I</i>)	194	198	210	200
o079	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	190	194	204	220
o080	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	182	190	218	218
o082	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	190	194	220	204
o083	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	190	182	218	204
o084	512 (<i>F</i>)	540 (<i>I</i>)	190	182	218	222

Lamm	<i>DRBI</i>		<i>OMHC1</i>		<i>DYMS1</i>	
o085	584 (<i>O</i>)	500 (<i>D</i>)	190	198	196	220
o086	584 (<i>O</i>)	500 (<i>D</i>)	190	198	220	220
o087	500 (<i>D</i>)	500 (<i>D</i>)	190	190	196	196
o088	500 (<i>D</i>)	554 (<i>L</i>)	190	198	196	196
o089	540 (<i>I</i>)	524 (<i>G2</i>)	194	192	210	220
o090	540 (<i>I</i>)	524 (<i>G2</i>)	194	200	210	220
o092	524 (<i>G1</i>)	540 (<i>I</i>)	182	204	196	218
o093	490 (<i>B</i>)	540 (<i>I</i>)	182	204	218	218
o094	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	182	182	218	222
o095	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	198	192	196	196
o096	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	-	-	220	196
o097	462 (<i>A</i>)	512 (<i>F</i>)	210	198	220	220
o098	462 (<i>A</i>)	540 (<i>I</i>)	192	198	220	220
o099	512 (<i>F</i>)	512 (<i>F</i>)	192	204	196	196
o100	944 (<i>R</i>)	512 (<i>F</i>)	192	204	220	218
y002	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	190	194	220	212
y003	540 (<i>I</i>)	462 (<i>A</i>)	198	200	218	180
y004	540 (<i>I</i>)	462 (<i>A</i>)	198	200	218	180
y005	462 (<i>A</i>)	540 (<i>I</i>)	192	198	220	220
y006	462 (<i>A</i>)	512 (<i>F</i>)	210	198	220	218
y007	554 (<i>L</i>)	540 (<i>I</i>)	190	202	204	204
y008	534 (<i>H1</i>)	540 (<i>I</i>)	190	192	204	218
y009	500 (<i>D</i>)	462 (<i>A</i>)	198	196	218	220
y010	540 (<i>I</i>)	462 (<i>A</i>)	198	204	218	180
y012	546 (<i>K</i>)	540 (<i>I</i>)	-	-	-	-
y013	554 (<i>L</i>)	500 (<i>D</i>)	190	196	196	200
y014	554 (<i>L</i>)	500 (<i>D</i>)	190	198	220	216
y016	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	190	196	220	182
y017	462 (<i>A</i>)	540 (<i>I</i>)	190	198	204	220
y021	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	182	194	220	204
y022	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	194	190	210	220
y023	500 (<i>D</i>)	462 (<i>A</i>)	198	190	218	220
y024	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	182	198	204	218
y026	462 (<i>A</i>)	512 (<i>F</i>)	192	202	196	218
y027	540 (<i>I</i>)	512 (<i>F</i>)	210	196	220	224
y028	540 (<i>I</i>)	462 (<i>A</i>)	198	194	218	180
y029	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	192	194	220	218
y030	944 (<i>R</i>)	462 (<i>A</i>)	198	204	218	220
y031	540 (<i>I</i>)	554 (<i>L</i>)	198	200	220	218
y032	534 (<i>H2</i>)	512 (<i>F</i>)	210	182	220	218
y033	546 (<i>K</i>)	462 (<i>A</i>)	188	202	218	220

Lamm	<i>DRBI</i>		<i>OMHC1</i>		<i>DYMS1</i>	
y035	580 (<i>N</i>)	462 (<i>A</i>)	184	200	218	220
y036	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	192	194	196	196
y037	540 (<i>I</i>)	462 (<i>A</i>)	188	198	218	220
y038	546 (<i>K</i>)	462 (<i>A</i>)	198	192	218	212
y039	512 (<i>F</i>)	540 (<i>I</i>)	192	190	196	220
y040	462 (<i>A</i>)	540 (<i>I</i>)	182	198	220	180
y041	540 (<i>I</i>)	462 (<i>A</i>)	188	200	218	212
y042	462 (<i>A</i>)	500 (<i>D</i>)	190	198	218	220
y043	580 (<i>N</i>)	540 (<i>I</i>)	182	196	220	220
y044	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	190	192	220	182
y045	490 (<i>B</i>)	512 (<i>F</i>)	210	192	196	208
y046	584 (<i>O</i>)	500 (<i>D</i>)	190	198	220	196
y050	524 (<i>G1</i>)	554 (<i>L</i>)	198	196	196	200
y052	524 (<i>G2</i>)	540 (<i>I</i>)	190	192	220	204
b047	524 (<i>G2</i>)	554 (<i>L</i>)	198	200	220	204
b048	524 (<i>G2</i>)	554 (<i>L</i>)	198	200	196	204
b049	534 (<i>H2</i>)	500 (<i>D</i>)	190	182	218	220
b050	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	198	182	218	220
b051	580 (<i>N</i>)	500 (<i>D</i>)	190	196	220	220
b052	580 (<i>N</i>)	500 (<i>D</i>)	190	196	220	196
b053	554 (<i>L</i>)	462 (<i>A</i>)	188	198	218	200
b054	554 (<i>L</i>)	462 (<i>A</i>)	188	188	218	200
b055	498 (<i>E</i>)	512 (<i>F</i>)	210	190	220	220
b056	498 (<i>E</i>)	540 (<i>I</i>)	192	190	196	18
b057	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	182	194	196	204
b058	562 (<i>M</i>)	540 (<i>I</i>)	182	204	196	204
b059	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	188	198	218	220
b060	500 (<i>D</i>)	462 (<i>A</i>)	188	198	218	220
b063	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	190	198	216	218
b064	872 (<i>T</i>)	562 (<i>M</i>)	194	192	216	182
b067	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	-	-	216	220
b068	524 (<i>G1</i>)	540 (<i>I</i>)	190	204	216	220
b069	512 (<i>F</i>)	554 (<i>L</i>)	190	200	-	-
b070	462 (<i>A</i>)	500 (<i>D</i>)	190	198	180	204
b071	500 (<i>D</i>)	512 (<i>F</i>)	190	190	196	220
b072	500 (<i>D</i>)	512 (<i>F</i>)	210	190	220	218
b073	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	-	-	-	-
b074	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	-	-	-	-
b075	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	182	190	204	222
b076	512 (<i>F</i>)	540 (<i>I</i>)	190	192	218	222
b077	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	182	202	218	212

Lamm	<i>DRBI</i>		OMHC1		DYMS1	
b078	584 (<i>O</i>)	540 (<i>I</i>)	182	196	218	220
b079	496 (<i>C</i>)	540 (<i>I</i>)	182	198	218	218
b080	496 (<i>C</i>)	540 (<i>I</i>)	190	196	218	220
b081	944 (<i>R</i>)	462 (<i>A</i>)	198	204	218	196
b082	540 (<i>I</i>)	462 (<i>A</i>)	194	198	218	218
b083	534 (<i>H1</i>)	540 (<i>I</i>)	192	190	196	220
b084	534 (<i>H1</i>)	512 (<i>F</i>)	192	190	196	220
b085	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	182	192	218	220
b087	498 (<i>E</i>)	540 (<i>I</i>)	192	190	196	220
b088	580 (<i>N</i>)	540 (<i>I</i>)	192	196	220	216
b089	580 (<i>N</i>)	540 (<i>I</i>)	182	196	196	220
b090	580 (<i>N</i>)	540 (<i>I</i>)	182	196	196	196
b091	524 (<i>G1</i>)	500 (<i>D</i>)	-	-	-	-
b092	524 (<i>G1</i>)	554 (<i>L</i>)	190	200	180	204
b093	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	182	192	218	220
b094	496 (<i>C</i>)	540 (<i>I</i>)	190	196	220	204
b095	554 (<i>L</i>)	512 (<i>F</i>)	-	-	-	-
b096	554 (<i>L</i>)	540 (<i>I</i>)	192	6	196	220
b097	534 (<i>H2</i>)	462 (<i>A</i>)	188	184	-	-
b098	534 (<i>H2</i>)	462 (<i>A</i>)	188	198	218	220

Übersicht A 4: Typisierungsdaten am *DRB1*-Locus, sowie der Mikrosatelliten DYMS1, OMHC1, CSR226, BM1905 und BM1815 der Scottish Blackface Schafe aus dem Jahrgang 1996.

Tiere		<i>DRB1</i>		DYMS1		OMHC1		CSR226		BM1905		BM1815	
G199	VATER	500 (D)	500 (D)	204	218	190	190	222	222	194	194	139	157
O261	MUTTER	500 (D)	524 (G2)	210	220	190	200	222	222	194	194	139	157
y001	Lamm	500 (D)	500 (D)	218	220	190	190	222	222	194	194	139	157
y002	Lamm	500 (D)	524 (G2)	218	220	190	200	222	222	194	194	157	157
O266	MUTTER	500 (D)	524 (G2)	218	222	190	206	214	242	194	194	157	159
y013	Lamm	512 (F)	562 (M)	218	222	190	204	222	242	192	194	139	159
y014	Lamm	500 (D)	500 (D)	218	222	190	190	222	214	194	194	157	159
R37	MUTTER	546 (K)	580 (N)	220	224	196	204	214	222	194	194	151	159
y075	Lamm	500 (D)	546 (K)	218	224	190	204	222	214	194	194	157	151
y076	Lamm	500 (D)	580 (N)	204	220	190	196	222	222	194	194	139	159
R38	MUTTER	500 (D)	500 (D)	218	220	198	200	206	222	194	194	159	159
y083	Lamm	500 (D)	500 (D)	218	218	190	198	222	206	194	194	157	159
y084	Lamm	500 (D)	500 (D)	204	218	190	200	222	222	194	194	157	159
O256	MUTTER	524 (G2)	540 (I)	182	220	192	204	210	218	194	194	163	163
y085	Lamm	500 (D)	540 (I)	204	220	190	204	222	218	194	194	139	163
y086	Lamm	500 (D)	524 (G2)	218	182	190	192	222	218	194	194	157	163
O258	MUTTER	524 (G1)	580 (N)	200	204	196	198	210	220	192	194	139	151
y099	Lamm	500 (D)	524 (G1)	218	204	190	198	222	220	194	192	139	151
y100	Lamm	500 (D)	524 (G1)	204	204	190	198	222	220	194	194	157	151
O255	MUTTER	462 (A)	500 (D)	218	220	198	198	206	210	194	194	139	141
y104	Lamm	500 (D)	462 (A)	218	218	190	198	222	210	194	194	157	139
O230	MUTTER	540 (I)	546 (K)	220	220	182	192	210	212	194	194	151	159
y106	Lamm	500 (D)	546 (K)	218	220	190	192	222	212	194	194	157	159
O275	MUTTER	500 (D)	554 (L)	220	220	190	190	220	222	194	194	159	161
y117	Lamm	500 (D)	500 (D)	204	220	190	190	222	222	194	194	139	159
O246	MUTTER	580 (N)	914 (U)	196	220	192	196	206	210	192	194	159	159
y183	Lamm	500 (D)	580 (N)	204	220	190	196	222	210	194	192	139	159
y184	Lamm	500 (D)	914 (U)	218	220	190	192	222	206	194	192	157	159
PUR6	MUTTER	496 (C)	500 (D)	220	220	190	190	212	222	194	194	137	163
y195	Lamm	500 (D)	500 (D)	218	220	190	190	222	222	194	194	157	163
y196	Lamm	500 (D)	496 (C)	204	220	190	190	222	212	194	194	139	137
PUR12	MUTTER	512 (F)	914 (U)	196	220	192	192	206	206	192	194	155	159
y197	Lamm	500 (D)	512 (F)	204	220	190	192	222	206	194	194	139	155
y198	Lamm	500 (D)	914 (U)	218	196	190	192	222	206	194	192	157	159
G172	VATER	512 (F)	524 (G2)	220	222	190	200	214	222	194	194	139	155
NY264	MUTTER	524 (G1)	540 (I)	206	206	190	196	204	212	192	194	157	163
y017	Lamm	524 (G2)	540 (I)	222	206	200	190	222	212	194	194	155	157
y018	Lamm	512 (F)	524 (G1)	222	206	190	196	214	204	194	192	139	157

Tiere		<i>DRBI</i>		DYMS1		OMHC1		CSR226		BM1905		BM1815	
O263	MUTTER	500 (<i>D</i>)	546 (<i>K</i>)	182	200	190	204	210	222	194	194	149	149
y049	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
y050	Lamm	524 (<i>G2</i>)	500 (<i>D</i>)	222	218	190	204	222	242	194	194	161	163
NY241	MUTTER	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	220	220	182	190	212	222	194	194	151	159
y133	Lamm	524 (<i>G2</i>)	500 (<i>D</i>)	222	220	200	190	222	222	194	194	-	-
G161	MUTTER	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	182	218	190	198	210	222	194	194	151	163
y141	Lamm	512 (<i>F</i>)	540 (<i>I</i>)	222	182	190	198	214	210	194	194	139	151
G173	VATER	524 (<i>G2</i>)	524 (<i>G2</i>)	204	220	192	200	210	222	192	194	149	151
W191	MUTTER	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	196	202	190	198	206	212	194	194	159	163
y005	Lamm	524 (<i>G2</i>)	500 (<i>D</i>)	204	204	200	198	222	206	192	194	149	159
y006	Lamm	524 (<i>G2</i>)	500 (<i>D</i>)	220	196	192	198	210	206	194	194	151	159
W173	MUTTER	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	204	220	190	192	212	212	192	194	139	155
y019	Lamm	524 (<i>G2</i>)	540 (<i>I</i>)	204	204	192	192	210	212	192	194	149	155
y020	Lamm	524 (<i>G2</i>)	540 (<i>I</i>)	220	204	200	190	222	212	192	194	149	139
W182	MUTTER	524 (<i>G1</i>)	540 (<i>I</i>)	196	204	192	196	204	210	194	194	139	141
y023	Lamm	524 (<i>G2</i>)	524 (<i>G1</i>)	204	204	192	192	210	210	194	194	151	141
y024	Lamm	524 (<i>G2</i>)	524 (<i>G1</i>)	220	196	192	196	210	204	192	194	151	139
W153	MUTTER	500 (<i>D</i>)	580 (<i>N</i>)	220	220	190	190	220	222	192	194	151	151
y029	Lamm	524 (<i>G2</i>)	500 (<i>D</i>)	220	220	200	190	222	222	192	192	149	151
y030	Lamm	524 (<i>G2</i>)	500 (<i>D</i>)	204	220	200	190	222	222	192	192	149	151
W168	MUTTER	524 (<i>G2</i>)	562 (<i>M</i>)	204	220	200	204	222	240	192	194	149	163
y047	Lamm	524 (<i>G2</i>)	524 (<i>G2</i>)	204	220	192	200	210	222	192	194	151	149
y048	Lamm	524 (<i>G2</i>)	524 (<i>G2</i>)	204	220	192	200	210	222	192	194	151	149
Y159	MUTTER	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	218	218	200	204	218	218	194	194	151	163
y101	Lamm	524 (<i>G2</i>)	540 (<i>I</i>)	204	218	200	204	222	218	194	194	149	151
G062	MUTTER	500 (<i>D</i>)	500 (<i>D</i>)	196	220	190	190	222	224	192	194	157	163
y112	Lamm	524 (<i>G2</i>)	500 (<i>D</i>)	220	196	200	190	222	222	194	194	155	163
Y148	MUTTER	500 (<i>D</i>)	540 (<i>I</i>)	196	220	190	194	210	222	194	194	163	163
y120	Lamm	524 (<i>G2</i>)	500 (<i>D</i>)	220	220	200	190	222	222	194	194	155	163
G174	VATER	524 (<i>G2</i>)	540 (<i>I</i>)	196	220	192	196	210	220	194	194	139	159
NY256	MUTTER	540 (<i>I</i>)	562 (<i>M</i>)	202	218	182	204	212	242	194	194	159	163
y159	Lamm	540 (<i>I</i>)	554 (<i>L</i>)	220	218	182	202	206	212	194	194	155	159
y160	Lamm	540 (<i>I</i>)	540 (<i>I</i>)	196	202	196	182	220	212	194	194	139	163
G175	VATER	524 (<i>G2</i>)	524 (<i>G2</i>)	220	220	192	192	210	210	194	194	151	155
R199	MUTTER	500 (<i>D</i>)	524 (<i>G2</i>)	210	218	198	200	210	222	194	194	147	157
y033	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
y034	Lamm	524 (<i>G2</i>)	500 (<i>D</i>)	220	210	192	198	210	210	194	194	151	157
G117	MUTTER	500 (<i>D</i>)	584 (<i>O</i>)	196	202	196	198	220	222	192	194	139	151
y037	Lamm	524 (<i>G2</i>)	584 (<i>O</i>)	220	196	192	198	210	222	194	194	151	139
y038	Lamm	524 (<i>G2</i>)	500 (<i>D</i>)	220	196	192	196	210	220	194	194	155	139

Tiere		<i>DRBI</i>		DYMS1		OMHC1		CSR226		BM1905		BM1815	
R58	MUTTER	540 (I)	546 (K)	220	220	194	194	206	210	194	194	139	141
y043	Lamm	524 (G2)	546 (K)	220	220	192	194	210	206	194	194	151	139
y044	Lamm	-	-	-	-	192	194	-	-	194	194	151	139
O276	MUTTER	540 (I)	584 (O)	220	222	190	198	212	222	192	194	151	163
y051	Lamm	524 (G2)	540 (I)	220	220	192	190	210	212	194	192	155	163
y052	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O277	MUTTER	500 (D)	540 (I)	206	220	190	198	206	222	194	194	147	159
y053	Lamm	524 (G2)	540 (I)	220	206	192	198	210	206	194	194	155	147
y054	Lamm	524 (G2)	500 (D)	220	220	192	190	210	222	194	194	155	159
O278	MUTTER	524 (G1)	580 (N)	196	216	196	198	210	210	194	194	139	159
y055	Lamm	524 (G2)	524 (G1)	220	196	192	198	210	210	194	194	155	139
y056	Lamm	524 (G2)	524 (G1)	220	216	192	198	210	210	194	194	155	159
O279	MUTTER	540 (I)	546 (K)	220	220	192	194	206	206	194	194	139	139
y057	Lamm	524 (G2)	546 (K)	220	220	192	194	210	206	194	194	155	139
y058	Lamm	524 (G2)	540 (I)	220	220	192	192	210	206	194	194	151	139
O280	MUTTER	500 (D)	500 (D)	182	220	190	192	210	222	194	194	159	159
y059	Lamm	524 (G2)	500 (D)	220	220	192	190	210	222	194	194	155	159
y060	Lamm	524 (G2)	500 (D)	220	182	192	190	210	222	194	194	151	159
O281	MUTTER	524 (G2)	872 (T)	202	210	200	204	218	222	192	194	157	163
y061	Lamm	524 (G2)	524 (G2)	220	210	192	200	210	222	194	194	155	157
y062	Lamm	524 (G2)	872 (T)	220	202	192	204	210	218	194	192	151	163
O282	MUTTER	500 (D)	540 (I)	196	206	190	196	210	222	194	194	159	159
y063	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
y064	Lamm	524 (G2)	540 (I)	220	196	192	196	210	210	194	194	151	159
O283	MUTTER	524 (G2)	540 (I)	196	204	194	200	210	222	192	194	147	149
y065	Lamm	524 (G2)	524 (G2)	220	204	192	200	210	222	194	192	151	149
y066	Lamm	524 (G2)	524 (G2)	220	204	192	200	210	222	194	192	151	149
O284	MUTTER	584 (O)	944 (V)	200	216	190	198	210	222	194	194	151	155
y067	Lamm	524 (G2)	584 (O)	220	200	192	198	210	222	194	194	151	155
y068	Lamm	524 (G2)	944 (V)	220	216	192	190	210	210	194	194	151	155
G116	MUTTER	490 (B)	554 (L)	182	220	192	202	206	220	192	194	-	-
y116	Lamm	524 (G2)	554 (L)	220	182	192	202	210	206	194	194	151	155
G112	MUTTER	554 (L)	584 (O)	182	200	198	202	206	222	194	194	151	155
y121	Lamm	524 (G2)	584 (O)	220	182	192	198	210	222	194	194	151	155
O285	MUTTER	540 (I)	580 (N)	210	216	194	196	210	210	194	194	159	159
y185	Lamm	524 (G2)	580 (N)	220	216	192	196	210	210	194	194	151	159
y186	Lamm	524 (G2)	540 (I)	220	210	192	194	210	210	194	194	155	159
G177	VATER	462 (A)	540 (I)	182	222	190	198	210	210	194	194	139	151
O249	MUTTER	500 (D)	540 (I)	220	220	182	190	212	222	192	194	151	163
y073	Lamm	500 (D)	500 (D)	200	220	190	190	222	222	194	194	163	163
y074	Lamm	500 (D)	540 (I)	200	220	190	182	222	212	194	194	151	163

Tiere		<i>DRBI</i>		DYMS1		OMHC1		CSR226		BM1905		BM1815	
NB75	MUTTER	500 (D)	540 (I)	204	220	182	190	212	222	194	194	139	157
y139	Lamm	540 (I)	500 (D)	222	220	190	190	210	222	194	194	151	139
W200	MUTTER	536 (H3)	554 (L)	196	196	192	204	212	218	192	192	155	163
y144	Lamm	540 (I)	536 (H3)	222	196	190	192	210	212	194	192	151	155
R107	MUTTER	500 (D)	540 (I)	196	218	190	198	206	210	194	194	155	159
y145	Lamm	462 (A)	500 (D)	182	196	198	198	210	206	194	194	139	159
G179	VATER	500 (D)	500 (D)	218	218	190	190	222	222	194	194	151	163
R150	MUTTER	512 (F)	554 (L)	196	222	194	204	210	218	194	194	151	163
y045	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
y046	Lamm	500 (D)	554 (L)	218	222	190	204	222	218	194	194	151	163
W7	MUTTER	462 (A)	554 (L)	182	222	198	202	206	210	194	194	155	159
y097	Lamm	500 (D)	462 (A)	218	222	190	198	222	210	194	194	163	159
y098	Lamm	500 (D)	500 (D)	218	182	190	202	222	210	194	194	-	-
W42	MUTTER	500 (D)	540 (I)	220	220	182	190	218	222	194	194	151	163
y105	Lamm	500 (D)	540 (I)	218	220	190	182	222	222	194	194	151	163
R123	MUTTER	540 (I)	562 (M)	220	220	190	194	210	212	194	194	139	163
y109	Lamm	500 (D)	562 (M)	218	220	190	194	222	210	194	194	151	163
W22	MUTTER	462 (A)	500 (D)	218	220	198	198	206	210	194	194	139	153
y113	Lamm	500 (D)	500 (D)	218	218	190	198	222	206	194	194	151	139
Y142	MUTTER	540 (I)	554 (L)	212	216	182	196	206	210	194	194	149	157
y132	Lamm	500 (D)	554 (L)	218	216	190	196	222	210	194	194	151	157
G025	MUTTER	500 (D)	524 (G2)	204	220	192	198	210	210	192	194	155	159
y140	Lamm	500 (D)	500 (D)	218	204	190	198	222	210	194	192	151	159
Y105	MUTTER	546 (K)	562 (M)	202	222	190	204	214	220	194	194	151	163
y161	Lamm	500 (D)	546 (K)	218	222	190	204	222	214	194	194	151	163
y162	Lamm	500 (D)	546 (K)	218	222	190	204	222	214	194	194	151	151
R128	MUTTER	496 (C)	500 (D)	220	220	190	196	206	222	194	194	153	159
y177	Lamm	500 (D)	500 (D)	218	220	190	190	222	222	194	194	151	153
y178	Lamm	500 (D)	496 (C)	218	220	190	196	222	206	194	194	151	153
G180	VATER	496 (C)	540 (I)	196	222	190	204	214	218	194	194	151	159
PUR88	MUTTER	500 (D)	540 (I)	220	220	190	190	212	222	194	194	139	163
y003	Lamm	540 (I)	500 (D)	222	220	190	190	214	222	194	194	151	163
y004	Lamm	540 (I)	540 (I)	196	220	190	190	214	212	194	194	151	139
NY240	MUTTER	536 (H3)	540 (I)	196	218	182	182	210	212	194	194	139	159
y027	Lamm	540 (I)	536 (H3)	196	196	190	182	214	210	194	194	151	139
y028	Lamm	496 (C)	536 (H3)	222	218	204	182	218	210	194	194	159	159
W51	MUTTER	462 (A)	540 (I)	182	220	194	198	210	222	194	194	141	157
y126	Lamm	496 (C)	462 (A)	222	182	204	198	218	222	194	194	159	141
G131	MUTTER	496 (C)	500 (D)	196	218	190	198	206	212	194	194	137	159
y128	Lamm	540 (I)	500 (D)	196	220	190	190	214	222	194	194	151	163
O286	MUTTER	496 (C)	500 (D)	222	222	196	198	206	206	194	194	151	153
y151	Lamm	540 (I)	500 (D)	222	222	190	198	214	206	194	194	151	153
y152	Lamm	496 (C)	496 (C)	196	222	204	196	218	206	194	194	159	151

Tiere		<i>DRBI</i>		DYMS1		OMHC1		CSR226		BM1905		BM1815	
NY224	MUTTER	554 (L)	554 (L)	182	220	190	190	220	220	194	194	163	163
y163	Lamm	540 (I)	554 (L)	196	182	190	190	214	220	194	194	159	163
y164	Lamm	496 (C)	554 (L)	222	182	204	190	218	220	194	194	159	163
G181	VATER	540 (I)	554 (L)	216	220	198	204	212	218	194	194	141	159
NY286	MUTTER	554 (L)	554 (L)	196	202	188	204	218	218	194	194	155	163
y009	Lamm	554 (L)	554 (L)	216	196	198	204	212	218	194	194	159	163
y010	Lamm	554 (L)	554 (L)	220	196	198	204	212	218	194	194	159	163
G184	MUTTER	496 (C)	562 (M)	202	216	194	204	210	218	192	194	163	163
y069	Lamm	496 (C)	562 (M)	216	216	204	194	218	210	194	194	155	163
y070	Lamm	500 (D)	562 (M)	216	216	198	194	206	210	194	192	155	163
NY289	MUTTER	496 (C)	524 (G1)	220	222	190	198	210	212	194	194	139	151
y153	Lamm	540 (I)	496 (C)	216	220	204	190	218	212	194	194	141	151
y154	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
W140	MUTTER	500 (D)	500 (D)	206	216	190	202	206	222	194	194	139	151
y155	Lamm	524 (G2)	500 (D)	222	216	200	190	222	222	194	194	155	139
y156	Lamm	524 (G2)	500 (D)	222	206	200	202	222	206	194	194	139	151
NY272	MUTTER	500 (D)	580 (N)	200	200	188	198	222	222	194	194	-	-
y167	Lamm	540 (I)	496 (C)	218	220	190	190	212	214	194	194	-	-
y168	Lamm	554 (L)	500 (D)	216	200	198	188	212	222	194	194	159	163
G182	VATER	554 (L)	562 (M)	216	218	198	204	210	242	194	194	159	163
W17	MUTTER	512 (F)	540 (I)	220	222	190	192	210	222	192	194	139	147
y011	Lamm	562 (M)	512 (F)	216	222	204	190	242	222	194	192	163	147
y012	Lamm	500 (D)	500 (D)	204	218	190	190	214	222	194	194	139	157
NB81	MUTTER	554 (L)	554 (L)	196	220	204	204	218	218	194	194	151	163
y031	Lamm	562 (M)	562 (M)	216	220	204	204	242	218	194	194	163	151
y032	Lamm	554 (L)	554 (L)	218	196	198	204	210	218	194	194	159	163
R145	MUTTER	500 (D)	554 (L)	216	220	190	204	218	222	194	194	159	161
y035	Lamm	554 (L)	554 (L)	216	216	198	204	210	218	194	194	163	161
y036	Lamm	554 (L)	554 (L)	216	220	198	204	210	218	194	194	163	159
G054	MUTTER	462 (A)	540 (I)	218	218	190	198	210	212	194	194	157	159
y039	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
y040	Lamm	562 (M)	540 (I)	218	218	204	190	242	212	194	194	159	157
W21	MUTTER	462 (A)	540 (I)	196	218	188	194	210	216	194	194	141	149
y077	Lamm	562 (M)	540 (I)	216	218	204	194	242	210	194	194	163	141
y078	Lamm	554 (L)	540 (I)	216	196	204	194	242	210	194	194	163	149
R102	MUTTER	500 (D)	540 (I)	220	224	190	194	210	216	194	194	139	151
y087	Lamm	554 (L)	500 (D)	216	224	198	194	210	210	194	194	163	151
y088	Lamm	562 (M)	540 (I)	218	224	204	190	242	216	194	194	159	151
W70	MUTTER	512 (F)	554 (L)	196	196	192	204	206	218	192	194	157	163
y089	Lamm	554 (L)	554 (L)	216	196	198	204	210	218	194	194	163	163
y090	Lamm	562 (M)	554 (L)	218	196	204	204	242	218	194	194	159	163
W59	MUTTER	524 (G1)	562 (M)	216	220	194	198	210	210	194	194	139	163
y102	Lamm	562 (M)	562 (M)	216	220	204	198	242	210	194	194	159	163

Tiere		<i>DRBI</i>		DYMS1		OMHC1		CSR226		BM1905		BM1815	
R142	MUTTER	496 (C)	546 (K)	182	206	196	204	206	210	194	194	139	163
y175	Lamm	562 (M)	546 (K)	216	206	204	204	242	210	194	194	163	163
y176	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Y112	MUTTER	500 (D)	540 (I)	196	220	190	192	210	222	194	194	139	163
y179	Lamm	562 (M)	500 (D)	218	220	204	190	242	222	194	194	159	163
y180	Lamm	554 (L)	540 (I)	216	220	198	192	210	210	194	194	163	163
W47	MUTTER	554 (L)	562 (M)	196	218	196	198	210	220	194	194	149	159
y181	Lamm	562 (M)	562 (M)	216	196	204	196	242	220	194	194	159	159
y182	Lamm	554 (L)	562 (M)	218	196	204	198	242	210	194	194	159	159
W69	MUTTER	462 (A)	540 (I)	218	222	192	198	210	210	194	194	139	139
y187	Lamm	562 (M)	540 (I)	218	218	204	192	242	210	194	194	159	139
y188	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R101	MUTTER	540 (I)	580 (N)	182	218	190	196	212	212	194	194	159	163
y191	Lamm	562 (M)	580 (N)	218	182	204	196	242	242	194	194	163	163
y192	Lamm	562 (M)	540 (I)	218	218	204	190	242	212	194	194	159	159
G183	VATER	540 (I)	540 (I)	208	218	192	204	206	222	192	194	139	139
W115	MUTTER	512 (F)	540 (I)	196	204	190	200	212	214	194	194	139	147
y093	Lamm	540 (I)	512 (F)	208	196	192	190	206	214	192	194	139	139
y094	Lamm	540 (I)	540 (I)	208	204	204	200	222	212	192	194	139	147
G042	MUTTER	524 (G2)	540 (I)	196	220	192	192	210	210	194	194	151	159
y103	Lamm	540 (I)	540 (I)	196	220	192	192	212	210	192	194	155	151
W88	MUTTER	462 (A)	540 (I)	218	222	182	198	210	212	194	194	139	157
y107	Lamm	540 (I)	540 (I)	218	222	204	182	222	212	194	194	139	157
G057	MUTTER	496 (C)	524 (G2)	218	220	190	192	210	212	192	194	137	155
y108	Lamm	496 (C)	524 (G2)	218	220	192	190	222	210	194	194	151	163
W110	MUTTER	462 (A)	554 (L)	220	220	190	198	210	220	194	194	141	163
y110	Lamm	540 (I)	462 (A)	204	220	196	198	212	210	194	194	155	141
W18	MUTTER	500 (D)	580 (N)	216	220	190	196	210	222	192	194	159	159
y111	Lamm	540 (I)	500 (D)	196	216	192	190	212	222	192	194	155	159
G035	MUTTER	540 (I)	540 (I)	218	218	182	204	212	218	194	194	151	159
y114	Lamm	540 (I)	540 (I)	218	218	204	182	222	212	194	194	139	159
W113	MUTTER	500 (D)	534 (H0)	196	218	188	190	218	222	192	194	159	159
y115	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
W163	MUTTER	540 (I)	496 (C)	218	218	182	190	212	212	194	194	137	159
y119	Lamm	540 (I)	540 (I)	204	218	196	182	212	212	192	194	155	159
W138	MUTTER	512 (F)	524 (G2)	210	220	198	200	210	222	194	194	149	159
y165	Lamm	540 (I)	512 (F)	218	220	204	198	222	210	194	194	139	149
y166	Lamm	540 (I)	524 (G2)	208	210	192	200	222	206	192	194	139	159
Y151	MUTTER	524 (G1)	540 (I)	220	222	196	204	204	210	194	194	157	163
y173	Lamm	540 (I)	524 (G1)	218	222	204	204	222	210	194	194	139	157
y174	Lamm	540 (I)	524 (G1)	208	222	192	204	206	210	192	194	139	157

Tiere		<i>DRBI</i>		DYMS1		OMHC1		CSR226		BM1905		BM1815	
R151	MUTTER	540 (I)	540 (I)	196	218	182	182	212	212	194	194	149	159
y189	Lamm	540 (I)	540 (I)	204	218	192	182	212	212	192	194	155	159
y190	Lamm	-	-	220	220	182	200	222	212	194	194	149	159
G184	VATER	500 (D)	580 (N)	220	222	190	196	210	222	194	194	155	159
W10	MUTTER	554 (L)	554 (L)	202	218	188	202	206	218	194	194	155	159
y122	Lamm	500 (D)	554 (L)	218	218	190	202	222	206	194	194	163	159
G198	VATER	536 (H3)	540 (I)	196	204	192	196	212	212	192	194	155	155
G045	MUTTER	540 (I)	584 (O)	204	210	194	196	210	210	192	194	157	159
y015	Lamm	540 (I)	540 (I)	204	210	196	194	212	210	192	194	155	157
y016	Lamm	536 (H3)	584 (O)	204	210	196	196	212	210	192	194	155	157
W15	MUTTER	512 (F)	554 (L)	196	218	192	202	206	206	194	194	155	157
y123	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
W6	MUTTER	500 (D)	512 (F)	196	212	190	192	210	222	194	194	157	159
y131	Lamm	540 (I)	512 (F)	196	196	196	192	212	210	194	194	155	159
G200	VATER	524 (G2)	562 (M)	204	220	192	200	210	222	194	194	149	155
Y125	MUTTER	540 (I)	540 (I)	212	222	192	194	210	210	194	194	163	163
y007	Lamm	524 (G2)	540 (I)	204	222	200	192	222	210	194	194	149	149
y008	Lamm	524 (G2)	540 (I)	220	222	192	192	210	210	194	194	155	155
Y164	MUTTER	546 (K)	546 (K)	220	222	204	204	210	214	194	194	151	159
y025	Lamm	524 (G2)	546 (K)	204	220	200	204	222	210	194	194	149	159
y026	Lamm	524 (G2)	546 (K)	204	222	200	204	-	-	194	194	149	151
W97	MUTTER	554 (L)	872 (T)	180	196	190	204	220	222	194	194	163	163
y041	Lamm	524 (G2)	554 (L)	220	180	192	190	210	220	194	194	155	163
y042	Lamm	524 (G2)	872 (T)	204	196	192	204	210	222	194	194	155	163
Y160	MUTTER	496 (C)	584 (O)	200	218	196	198	222	242	192	194	149	151
y071	Lamm	524 (G2)	584 (O)	220	200	192	198	210	222	194	194	155	151
y072	Lamm	524 (G2)	584 (O)	204	200	192	198	210	222	194	194	155	151
NP91	MUTTER	540 (I)	540 (I)	202	222	192	194	210	210	192	194	139	159
y079	Lamm	524 (G2)	540 (I)	220	222	192	192	210	210	194	192	155	139
y080	Lamm	524 (G2)	540 (I)	220	222	192	192	210	210	194	194	155	139
W75	MUTTER	540 (I)	944 (V)	196	216	190	192	210	210	194	194	139	155
y081	Lamm	524 (G2)	944 (V)	204	196	200	190	222	210	194	194	149	155
y082	Lamm	524 (G2)	944 (V)	220	216	200	190	222	210	194	194	155	155
Y154	MUTTER	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
y091	Lamm	-	-	220	220	192	194	210	210	194	194	139	155
y092	Lamm	-	-	204	220	194	200	222	206	194	194	139	149
W57	MUTTER	580 (N)	580 (N)	218	220	190	196	220	222	192	194	159	159
y095	Lamm	524 (G2)	580 (N)	220	218	200	190	222	220	194	194	149	159
y096	Lamm	524 (G2)	580 (N)	220	220	192	196	222	210	194	194	149	159
NP1	MUTTER	500 (D)	500 (D)	216	226	198	198	206	220	192	194	151	153
y135	Lamm	562 (M)	500 (D)	218	216	204	198	242	220	194	194	159	153

Tiere		<i>DRBI</i>		DYMS1		OMHC1		CSR226		BM1905		BM1815	
R112	MUTTER	540 (I)	540 (I)	202	220	182	182	212	212	194	194	159	163
y169	Lamm	524 (G2)	540 (I)	220	220	192	182	210	212	194	194	155	159
y170	Lamm	546 (K)	546 (K)	196	196	192	182	212	212	192	194	149	155
R152	MUTTER	496 (C)	500 (D)	204	218	190	196	206	222	194	194	151	159
y171	Lamm	524 (G2)	496 (C)	220	218	192	196	210	206	194	194	155	151
y172	Lamm	524 (G2)	500 (D)	204	204	200	190	222	222	194	194	149	159
W49	MUTTER	540 (I)	540 (I)	196	204	182	190	212	212	194	194	157	159
y193	Lamm	524 (G2)	540 (I)	204	196	200	182	222	212	194	194	149	159
y194	Lamm	524 (G2)	540 (I)	220	196	200	182	222	212	194	194	155	159
W114	MUTTER	500 (D)	534 (H0)	218	222	192	198	206	206	194	194	149	159
y199	Lamm	524 (G2)	500 (D)	204	218	192	198	210	206	194	194	155	159
y200	Lamm	524 (G2)	534 (H0)	204	222	192	192	210	206	194	194	155	149
P55	VATER	500 (D)	524 (G2)	200	216	190	200	222	222	194	194	159	163
R26	MUTTER	496 (C)	554 (L)	218	222	190	196	210	212	194	194	137	151
y142	Lamm	524 (G2)	496 (C)	216	218	200	190	222	212	194	194	159	137
O233	MUTTER	540 (I)	944 (V)	216	218	182	190	210	212	194	194	155	159
y150	Lamm	500 (D)	540 (I)	200	218	190	182	222	212	194	194	163	159
R93	VATER	540 (I)	562 (M)	216	220	190	194	210	212	192	194	163	163
G078	MUTTER	540 (I)	562 (M)	-	-	194	198	206	210	194	194	151	163
y130	Lamm	562 (M)	500 (D)	220	220	190	194	210	214	194	194	163	151
W63	MUTTER	462 (A)	500 (D)	196	218	198	198	210	210	194	194	139	159
y136	Lamm	540 (I)	462 (A)	220	196	190	198	212	210	192	194	163	159
Y168	MUTTER	524 (G2)	554 (L)	204	222	196	200	210	222	194	194	151	163
y143	Lamm	540 (I)	554 (L)	220	222	190	196	212	210	192	194	163	151
W43	MUTTER	524 (G2)	540 (I)	206	220	182	192	210	222	194	194	151	139
y149	Lamm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R94	VATER	540 (I)	562 (M)	216	220	190	194	210	212	192	194	163	163
O203	MUTTER	534 (H0)	540 (I)	220	222	190	192	206	210	194	194	139	163
y021	Lamm	562 (M)	540 (I)	216	222	194	192	210	210	192	194	163	139
y022	Lamm	540 (I)	540 (I)	220	222	190	192	212	210	192	194	163	139
O81	MUTTER	540 (I)	914 (U)	196	218	192	204	206	222	192	194	159	159
y124	Lamm	540 (I)	512 (F)	216	218	190	192	212	206	192	192	163	159
O220	MUTTER	500 (D)	500 (D)	216	218	190	198	206	222	194	194	159	159
y125	Lamm	562 (M)	500 (D)	216	216	194	190	210	222	194	194	163	159
W106	MUTTER	500 (D)	524 (G2)	196	204	190	200	222	222	192	192	-	-
y137	Lamm	562 (M)	524 (G2)	216	196	194	200	210	222	192	192	163	163
W143	MUTTER	512 (F)	524 (G2)	182	216	192	192	206	210	194	194	155	159
y146	Lamm	540 (I)	512 (F)	216	182	190	192	212	206	194	194	163	155
G155	MUTTER	540 (I)	546 (K)	204	212	190	204	210	212	194	194	157	159
y147	Lamm	562 (M)	546 (K)	216	204	194	204	210	210	194	194	163	157
W92	MUTTER	500 (D)	540 (I)	218	220	182	198	206	222	194	194	151	151
y148	Lamm	540 (I)	540 (I)	220	218	190	182	212	222	192	194	163	151

Tiere		<i>DRBI</i>		DYMS1		OMHC1		CSR226		BM1905		BM1815	
R96	VATER	462 (A)	462 (A)	218	218	188	198	210	216	194	194	139	141
W91	MUTTER	500 (D)	546 (K)	222	226	198	204	206	214	194	194	151	151
y118	Lamm	462 (A)	546 (K)	218	222	198	204	210	214	194	194	141	151
G131	MUTTER	496 (C)	500 (D)	196	218	190	198	206	212	194	194	137	159
y127	Lamm	462 (A)	496 (C)	218	218	198	190	210	212	194	194	141	137
NY235	MUTTER	540 (I)	540 (I)	220	220	190	194	212	242	194	194	139	163
y129	Lamm	462 (A)	540 (I)	218	220	198	190	210	212	194	194	139	139
NY236	MUTTER	500 (D)	914 (U)	182	196	192	192	206	210	192	194	159	163
y134	Lamm	462 (A)	914 (U)	218	196	188	192	216	206	194	192	139	159
NY233	MUTTER	524 (GI)	562 (M)	182	216	194	198	210	210	192	194	163	163
y138	Lamm	524 (GI)	540 (I)	196	182	190	198	214	210	194	194	151	163
NY208	MUTTER	500 (D)	540 (I)	216	218	182	190	210	222	194	194	137	157
y157	Lamm	462 (A)	540 (I)	218	216	188	182	216	222	194	194	141	157
y158	Lamm	462 (A)	500 (D)	218	218	188	190	216	222	194	194	141	137

Übersicht A 5: SAS-Programm zur Auswertung des *DRB1*-Locus mit dem Modell 1
(Regressionsmodell) für den vereinigten Datensatz aus den Jahrgängen
1993 + 1996 (Tab. 4-15)

```

options ls =72;

Data one;
  infile 'c:\ErgebnisseDRB\sas1996\PedEpgTyp96\osnat96neu.ped';
  input lamb $ sire $ dam $ type $ field age sex;
run;

proc sort;
  by lamb;
run;

data two;
  infile 'c:\ErgebnisseDRB\sas1996\PedEpgTyp96\os96epg.dat';
  input lamb $ epg2a epg2b epg2c epg2d epg3a epg3b epg3c epg3d
        epg4a epg4b epg4c epg4d epg5a epg5b epg5c epg5d;
run;

proc sort data=two;
  by lamb;
run;

data three;
  infile 'c:\ErgebnisseDRB\sas1996\PedEpgTyp96\os96epg6.dat';
  input lamb $ epg6a epg6b epg6c epg6d;
run;

proc sort data=three;
  by lamb;
run;

data four;
  merge one two three;
  by lamb;
  epg2 = (sum (epg2a, epg2b, epg2c, epg2d)/4);
  logepg2 = log10(epg2+1);
  epg3 = (sum (epg3a, epg3b, epg3c, epg3d)/4);
  logepg3 = log10(epg3+1);
  epg4 = (sum (epg4a, epg4b, epg4c, epg4d)/4);
  logepg4 = log10(epg4+1);
  epg5 = (sum (epg5a, epg5b, epg5c, epg5d)/4);
  logepg5 = log10(epg5+1);
  epg6 = (sum (epg6a, epg6b, epg6c, epg6d)/4);
  logepg6 = log10(epg6+15);
  keep lamb sex field dam sire logepg6 epg6;
run;

data five;
  infile 'c:\ErgebnisseDRB\sas1996\PedEpgTyp96\Typ1-2.dat';
  input lamb $ code $ bm19051 bm19052 bm21131 bm21132 csrd2261 csrd2262
        drb1 drb2 p191 p192  bm12251 bm12252 bm18151 bm18152
        eth2251 eth2252 huj6251 huj6252 ils0051 ils0052 ils0111 ils0112
        rm0061 rm0062 smhcc1 smhcc2;
  keep lamb mhcc1 mhcc2 XA XB XC XD XF XG1 XG2 XH0 XH3 XI XK XL XM XN XO
        XT XU XV;

```

```

if drb1 > drb2 then do;
    xx = drb1;
    drb1 = drb2;
    drb2 = xx;
end;

if drb1 = . then delete;
if drb2 = . then delete;

if code ^= 'L' then delete;

if drb1 = 462 then mhc1 = 'A';
if drb2 = 462 then mhc2 = 'A';

if drb1 = 490 then mhc1 = 'B';
if drb2 = 490 then mhc2 = 'B';

if drb1 = 496 then mhc1 = 'C';
if drb2 = 496 then mhc2 = 'C';

if drb1 = 500 then mhc1 = 'D';
if drb2 = 500 then mhc2 = 'D';

if drb1 = 512 then mhc1 = 'F';
if drb2 = 512 then mhc2 = 'F';

if drb1 = 1 then mhc1 = 'G1';
if drb2 = 1 then mhc2 = 'G1';

if drb1 = 2 then mhc1 = 'G2';
if drb2 = 2 then mhc2 = 'G2';

if drb1 = 534 then mhc1 = 'H0';
if drb2 = 534 then mhc2 = 'H0';

if drb1 = 536 then mhc1 = 'H3';
if drb2 = 536 then mhc2 = 'H3';

if drb1 = 540 then mhc1 = 'I';
if drb2 = 540 then mhc2 = 'I';

if drb1 = 546 then mhc1 = 'K';
if drb2 = 546 then mhc2 = 'K';

if drb1 = 554 then mhc1 = 'L';
if drb2 = 554 then mhc2 = 'L';

if drb1 = 562 then mhc1 = 'M';
if drb2 = 562 then mhc2 = 'M';

if drb1 = 580 then mhc1 = 'N';
if drb2 = 580 then mhc2 = 'N';

if drb1 = 584 then mhc1 = 'O';
if drb2 = 584 then mhc2 = 'O';

```



```

if drb1 = 872 then mhc1 = 'T';
if drb2 = 872 then mhc2 = 'T';

if drb1 = 914 then mhc1 = 'U';
if drb2 = 914 then mhc2 = 'U';
if drb1 = 944 then mhc1 = 'V';
if drb2 = 944 then mhc2 = 'V';

if lamb = 'y012' then delete;
if lamb = 'y013' then delete;
if lamb = 'y050' then delete;
if lamb = 'y069' then delete;
if lamb = 'y070' then delete;
if lamb = 'y108' then delete;
if lamb = 'y128' then delete;
if lamb = 'y130' then delete;
if lamb = 'y159' then delete;
if lamb = 'y167' then delete;
if lamb = 'y170' then delete;
if lamb = 'y190' then delete;

XA=0;
if mhc1='A' and mhc2^='A' or mhc1^='A' and mhc2='A' then XA=1;
if mhc1='A' and mhc2 ='A' then XA=2;
XB=0;
if mhc1='B' and mhc2^='B' or mhc1^='B' and mhc2='B' then XB=1;
if mhc1='B' and mhc2 ='B' then XB=2;
XC=0;
if mhc1='C' and mhc2^='C' or mhc1^='C' and mhc2='C' then XC=1;
if mhc1='C' and mhc2 ='C' then XC=2;
XD=0;
if mhc1='D' and mhc2^='D' or mhc1^='D' and mhc2='D' then XD=1;
if mhc1='D' and mhc2 ='D' then XD=2;
XF=0;
if mhc1='F' and mhc2^='F' or mhc1^='F' and mhc2='F' then XF=1;
if mhc1='F' and mhc2 ='F' then XF=2;
XG1=0;
if mhc1='G1' and mhc2^='G1' or mhc1^='G1' and mhc2='G1' then XG1=1;
if mhc1='G1' and mhc2 ='G1' then XG1=2;
XG2=0;
if mhc1='G2' and mhc2^='G2' or mhc1^='G2' and mhc2='G2' then XG2=1;
if mhc1='G2' and mhc2 ='G2' then XG2=2;
XH0=0;
if mhc1='H0' and mhc2^='H0' or mhc1^='H0' and mhc2='H0' then XH0=1;
if mhc1='H0' and mhc2 ='H0' then XH0=2;
XH3=0;
if mhc1='H3' and mhc2^='H3' or mhc1^='H3' and mhc2='H3' then XH3=1;
if mhc1='H3' and mhc2 ='H3' then XH3=2;
XI=0;
if mhc1='I' and mhc2^='I' or mhc1^='I' and mhc2='I' then XI=1;
if mhc1='I' and mhc2 ='I' then XI=2;
XK=0;
if mhc1='K' and mhc2^='K' or mhc1^='K' and mhc2='K' then XK=1;
if mhc1='K' and mhc2 ='K' then XK=2;
XL=0;
if mhc1='L' and mhc2^='L' or mhc1^='L' and mhc2='L' then XL=1;
if mhc1='L' and mhc2 ='L' then XL=2;

```

```

XM=0;
if mhc1='M' and mhc2^='M' or mhc1^='M' and mhc2='M' then XM=1;
if mhc1='M' and mhc2 ='M' then XM=2;
XN=0;
if mhc1='N' and mhc2^='N' or mhc1^='N' and mhc2='N' then XN=1;
if mhc1='N' and mhc2 ='N' then XN=2;
XO=0;
if mhc1='O' and mhc2^='O' or mhc1^='O' and mhc2='O' then XO=1;
if mhc1='O' and mhc2 ='O' then XO=2;
XT=0;
if mhc1='T' and mhc2^='T' or mhc1^='T' and mhc2='T' then XT=1;
if mhc1='T' and mhc2 ='T' then XT=2;

XU=0;
if mhc1='U' and mhc2^='U' or mhc1^='U' and mhc2='U' then XU=1;
if mhc1='U' and mhc2 ='U' then XU=2;
XV=0;
if mhc1='V' and mhc2^='V' or mhc1^='V' and mhc2='V' then XV=1;
if mhc1='V' and mhc2 ='V' then XV=2;
run;

proc sort data=five;
  by lamb;
run;

data six;
  merge four five;
  by lamb;
  if logepg6 = . then delete;
  if sex = . then delete;
  if XG2 ge 0;
run;

proc sort data=six;
  by dam;
run;

data seven;
  set six;
  by dam;
  if first.dam eq last.dam then delete;
run;

data y1996;
  set seven;
  tier = 9600+sex;
run;

data eight;
  infile 'c:\ErgebnisseDRB\sas1993\tand93.dat';
  input lamb $ wt1 wt2 wt3 wt4 wt5 eos1a eos1b eos2a eos2b eos3a eos3b
        eos4a eos4b eos5a eos5b sex field epg1 epg2 epg3 epg4a epg4b
        epg5a epg5b dam $ sire $ age $ epg6a epg6b;
  epg6=sum(epg6a+epg6b)/2;
  logepg6=log10(epg6+15);
  keep lamb sex field dam sire logepg6 epg6;
run;

proc sort data=eight;
  by lamb;
run;

```

```

data nine;
  infile 'c:\ErgebnisseDRB\sas1993\mhctcr.dat';
  input lamb $ mhc1 $ mhc2 $ tcr1 $ tcr2 $;
  keep lamb mhc1 mhc2 XA XB XC XD XE XF XG1 XG2 XH1 XH2 XI XK XL XM XN XO XR;
  if mhc1 > mhc2 then do;
    xx = mhc1;
    mhc1 = mhc2;
    mhc2 = xx;
  end;

  XA=0;
  if mhc1='A' and mhc2^='A' or mhc1^='A' and mhc2='A' then XA=1;
  if mhc1='A' and mhc2 ='A' then XA=2;
  XB=0;
  if mhc1='B' and mhc2^='B' or mhc1^='B' and mhc2='B' then XB=1;
  if mhc1='B' and mhc2 ='B' then XB=2;
  XC=0;
  if mhc1='C' and mhc2^='C' or mhc1^='C' and mhc2='C' then XC=1;
  if mhc1='C' and mhc2 ='C' then XC=2;
  XD=0;
  if mhc1='D' and mhc2^='D' or mhc1^='D' and mhc2='D' then XD=1;
  if mhc1='D' and mhc2 ='D' then XD=2;
  XE=0;
  if mhc1='E' and mhc2^='E' or mhc1^='E' and mhc2='E' then XE=1;
  if mhc1='E' and mhc2 ='E' then XE=2;
  XF=0;
  if mhc1='F' and mhc2^='F' or mhc1^='F' and mhc2='F' then XF=1;
  if mhc1='F' and mhc2 ='F' then XF=2;
  XG1=0;
  if mhc1='G1' and mhc2^='G1' or mhc1^='G1' and mhc2='G1' then XG1=1;
  if mhc1='G1' and mhc2 ='G1' then XG1=2;
  XG2=0;
  if mhc1='G2' and mhc2^='G2' or mhc1^='G2' and mhc2='G2' then XG2=1;
  if mhc1='G2' and mhc2 ='G2' then XG2=2;
  XH1=0;
  if mhc1='H1' and mhc2^='H1' or mhc1^='H1' and mhc2='H1' then XH1=1;
  if mhc1='H1' and mhc2 ='H1' then XH1=2;
  XH2=0;
  if mhc1='H2' and mhc2^='H2' or mhc1^='H2' and mhc2='H2' then XH2=1;
  if mhc1='H2' and mhc2 ='H2' then XH2=2;
  XI=0;
  if mhc1='I' and mhc2^='I' or mhc1^='I' and mhc2='I' then XI=1;
  if mhc1='I' and mhc2 ='I' then XI=2;
  XK=0;
  if mhc1='K' and mhc2^='K' or mhc1^='K' and mhc2='K' then XK=1;
  if mhc1='K' and mhc2 ='K' then XK=2;
  XL=0;
  if mhc1='L' and mhc2^='L' or mhc1^='L' and mhc2='L' then XL=1;
  if mhc1='L' and mhc2 ='L' then XL=2;
  XM=0;
  if mhc1='M' and mhc2^='M' or mhc1^='M' and mhc2='M' then XM=1;
  if mhc1='M' and mhc2 ='M' then XM=2;
  XN=0;
  if mhc1='N' and mhc2^='N' or mhc1^='N' and mhc2='N' then XN=1;
  if mhc1='N' and mhc2 ='N' then XN=2;
  XO=0;
  if mhc1='O' and mhc2^='O' or mhc1^='O' and mhc2='O' then XO=1;
  if mhc1='O' and mhc2 ='O' then XO=2;
  XR=0;
  if mhc1='R' and mhc2^='R' or mhc1^='R' and mhc2='R' then XR=1;
  if mhc1='R' and mhc2 ='R' then XR=2;

```

```

    if XH1=1 then delete;
    if lamb='b59' then delete;
    if lamb='b60' then delete;
run;

proc sort data = nine;
  by lamb;
run;

data ten;
  merge eight nine;
  by lamb;
  if logepg6 = . then delete;
  if sex = . then delete;
  if XG2 ge 0;
run;

proc sort data=ten;
  by dam;
run;

data eleven;
  set ten;
  by dam;
  if first.dam eq last.dam then delete;
run;

data y1993;
  set eleven;
  tier=9300+sex;
run;

data bothyear;
  set y1996 y1993;

  if tier gt 9400 then year = 96;
  if tier lt 9400 then year = 93;

  if year = 93 then XH0=0;
  if year = 93 then XH3=0;
  if year = 93 then XT =0;
  if year = 93 then XU =0;
  if year = 93 then XV =0;
  if year = 96 then XE =0;
  if year = 96 then XH2=0;
  if year = 96 then XP =0;
  if year = 96 then XR =0;
run;

proc sort data = bothyear;
  by year;
run;

proc glm data=bothyear;
  class year sire dam sex;
  model logepg6 = year sire(year) dam(year sire) sex XA XB XC XD XE XF
    XG1 XG2 XH0 XH2 XH3 XK XL XM XN XO XR XT XU XV/ ss3 solution;
run;

quit;

```

Übersicht A 6: SAS-Programm zur Assoziationsanalyse des *DRB1*-Locus mit dem Modell 2 für den vereinigten Datensatz aus den Jahrgängen 1993 + 1996 (Tab. 4-17)

```

options ls =72;

libname schaf 'c:\ErgebnisseDRB';

Data data1;
    * work.bothyear enthält die Daten (Eizahlen, Typisierung) von 1993 und
    1996 entsprechend der Regressionsanalyse (Übersicht A5)
    set work.bothyear;
run;

if mhcl2 IN ('A*B''A*F''A*G2''A*L''A*R''B*I''C*C''C*D''C*I''F*I') then set='01';
if mhcl2 IN ('C*L''D*H2''D*L''D*M''D*O''E*F''E*I''F*F''F*G2') then set='01';
if mhcl2 IN ('F*L''F*R''G1*F''G1*I''G2*C''G2*D''G2*H3''G2*I') then set='01';
if mhcl2 IN ('G2*N''G2*O''G2*V''I*L''I*N''I*O''L*M''M*M''M*N') then set='01';
if mhcl2 IN ('I*I''D*I''D*D''L*L''A*I''A*D''I*M''H0*O''G2*K') then set='01';
if mhcl2 IN ('D*F' 'D*K' 'D*N' 'D*U') then set='02';
if mhcl2 IN ('G2*G2' 'G2*L' 'G2*T') then set='03';
if mhcl2 IN ('A*C' 'A*G1') then set='04';
if mhcl2 IN ('D*G1' 'G1*L') then set='05';
if mhcl2 IN ('F*H1' 'H1*I') then set='06';
if mhcl2 IN ('C*H0' 'H0*I') then set='07';
if mhcl2 IN ('G1*G2') then set='08';
if mhcl2 IN ('G1*D') then set='09';
if mhcl2 IN ('H2*I') then set='10';
if mhcl2 IN ('A*H2') then set='11';
if mhcl2 IN ('F*G1') then set='12';
if mhcl2 IN ('G2*M') then set='13';

    set_sire=trim(set||trim(left(sire)));
    set_dam=trim(set||trim(left(dam)));
    set_mhc=trim(set||trim(left(mhcl2)));
run;
proc sort data=data1;
    by set;
run;

proc glm data=data1;
    class set sex year sire dam mhcl2;
    model logepg6=set sex year sire(year) dam(set year sire) mhcl2(set)/ss3;
run;

quit;

```


Übersicht A 12: L-Vektoren für die Erstellung der SAS-Programme zur Bildung der Kontraste am *DRB1*-Locus für die Jahrgänge 1993 + 1996 (Tab. 4-18 bis 4-22)

Set	Genotyp	L-Vektor
1	<i>AB</i>	L156
	<i>AD</i>	L157
	<i>AF</i>	L158
	<i>AG2</i>	L159
	<i>AI</i>	L160
	<i>AL</i>	L161
	<i>AR</i>	L162
	<i>BI</i>	L163
	<i>CC</i>	L164
	<i>CD</i>	L165
	<i>CI</i>	L166
	<i>CL</i>	L167
	<i>DD</i>	L168
	<i>DH2</i>	L169
	<i>DI</i>	L170
	<i>DL</i>	L171
	<i>DM</i>	L172
	<i>DO</i>	L173
	<i>EF</i>	L174
	<i>EI</i>	L175
	<i>FF</i>	L176
	<i>FG2</i>	L177
	<i>FI</i>	L178
	<i>FL</i>	L179
	<i>FR</i>	L180
	<i>G1F</i>	L181
	<i>G1I</i>	L182
	<i>G2C</i>	L183
	<i>G2D</i>	L184
	<i>G2H3</i>	L185
	<i>G2I</i>	L186
	<i>G2K</i>	L187
	<i>G2N</i>	L188
	<i>G2O</i>	L189
	<i>G2V</i>	L190
	<i>H0O</i>	L191
	<i>I</i>	L192
	<i>IL</i>	L193
	<i>IM</i>	L194
	<i>IN</i>	L195
<i>IO</i>	L196	
<i>LL</i>	L197	
<i>LM</i>	L198	
<i>MM</i>	L199	
<i>MN</i>	-L156-L157-L158-L159-L160-L161-L162-L163-L164 -L165-L166-L167-L168-L169-L170-L171-L172-L173 -L174-L175-L176-L177-L178-L179-L180-L181-L182 -L183-L184-L185-L186-L187-L188-L189-L190-L191 -L192-L193-L194-L195-L196-L197-L198-L199	

Set	Genotyp	L-Vektor
2	<i>DF</i>	L201
	<i>DK</i>	L202
	<i>DN</i>	L203
	<i>DU</i>	-L201-L202-L203
3	<i>G2G2</i>	L205
	<i>G2L</i>	L206
	<i>G2T</i>	-L205-L206
4	<i>AC</i>	L208
	<i>AG1</i>	-L208
5	<i>DG1</i>	L210
	<i>G1L</i>	-L210
6	<i>FH1</i>	L212
	<i>H1I</i>	-L212
7	<i>CH0</i>	L214
	<i>H0I</i>	-L214

Übersicht A 13: Varianzanalyse des *DRB1*-Locus mit Modell 1 für den Jahrgang 1993
(Tab. 4-13)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	73	15.016	0.206	1.29	0.180
Rest	44	6.996	0.159		
Gesamt	117	22.012			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQR}	\bar{y}
0.682	18.657	0.399	2.137

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Geschlecht	1	0.044	0.044	0.28	0.601
Vater	8	1.906	0.238	1.50	0.186
Mutter(Vater)	50	8.554	0.171	1.08	0.404
<i>A</i>	1	0.026	0.026	0.17	0.686
<i>B</i>	1	0.220	0.220	1.38	0.246
<i>C</i>	1	0.298	0.298	1.87	0.178
<i>D</i>	1	0.574	0.574	3.61	0.064
<i>E</i>	1	0.116	0.116	0.73	0.397
<i>F</i>	1	0.867	0.867	5.45	0.024
<i>G1</i>	1	0.181	0.181	1.14	0.291
<i>G2</i>	1	0.641	0.641	4.03	0.051
<i>H2</i>	1	0.500	0.500	3.15	0.083
<i>I</i>					
<i>L</i>	1	0.203	0.203	1.28	0.265
<i>M</i>	1	0.020	0.020	0.12	0.726
<i>N</i>	1	0.028	0.028	0.18	0.674
<i>O</i>	1	0.162	0.162	1.02	0.318
<i>R</i>	1	0.137	0.137	0.86	0.358

Allel	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
<i>A</i>	-0.154	-0.41	0.686	0.380
<i>B</i>	-0.458	-1.18	0.246	0.389
<i>C</i>	-0.639	-1.37	0.178	0.467
<i>D</i>	-0.406	-1.90	0.061	0.214
<i>E</i>	-0.754	-0.86	0.397	0.881
<i>F</i>	-0.386	-2.34	0.024	0.165
<i>G1</i>	-0.517	-1.07	0.292	0.485
<i>G2</i>	-0.652	-2.01	0.051	0.325
<i>H2</i>	1.069	1.77	0.083	0.603
<i>I</i>	0.000			
<i>L</i>	-0.321	-1.13	0.265	0.284
<i>M</i>	-0.199	-0.35	0.726	0.564
<i>N</i>	0.287	0.42	0.674	0.678
<i>O</i>	-0.386	-1.01	0.318	0.382
<i>R</i>	-0.381	-0.93	0.358	0.410

Übersicht A 14: Varianzanalyse des *DRB1*-Locus mit Modell 1 für den Jahrgang 1996
(Tab. 4-14)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	70	9.309	0.133	1.25	0.234
Rest	37	3.947	0.107		
Gesamt	107	13.256			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQR}	\bar{y}
0.702	13.081	0.326	2.497

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Geschlecht	1	0.651	0.651	6.10	0.018
Vater	13	1.327	0.102	0.96	0.509
Mutter(Vater)	40	4.724	0.118	1.11	0.379
A	1	0.024	0.024	0.22	0.641
C	1	0.085	0.085	0.80	0.377
D	1	0.013	0.013	0.12	0.731
F	1	0.079	0.079	0.74	0.394
G1	1	0.126	0.126	1.18	0.284
G2	1	0.179	0.179	1.68	0.203
H0	1	0.197	0.197	1.84	0.183
H3	1	0.074	0.074	0.69	0.410
I					
K	1	0.113	0.113	1.06	0.310
L	1	0.106	0.106	1.00	0.325
M	1	0.068	0.068	0.64	0.428
N	1	0.042	0.042	0.40	0.532
O	1	0.0001	0.0001	0.00	0.970
T	1	0.634	0.634	5.94	0.020
U	1	0.074	0.074	0.69	0.411
V	1	0.002	0.002	0.02	0.898

Allel	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
A	-0.238	-0.47	0.641	0.508
C	-0.161	-0.90	0.377	0.180
D	-0.058	-0.35	0.731	0.168
F	-0.285	-0.86	0.394	0.330
G1	-0.637	-1.09	0.284	0.586
G2	-0.448	-1.30	0.203	0.346
H0	-0.675	-1.36	0.183	0.497
H3	-0.572	-0.83	0.410	0.686
I	0.000			
K	0.378	1.03	0.310	0.367
L	-0.418	-1.00	0.325	0.418
M	-0.323	-0.80	0.428	0.403
N	-0.172	-0.63	0.532	0.273
O	-0.019	-0.04	0.970	0.508
T	-1.139	-2.44	0.020	0.467
U	-0.337	-0.83	0.411	0.406
V	0.089	0.13	0.898	0.686

Übersicht A 15: Varianzanalyse des *DRB1*-Locus mit Modell 1 für die Jahrgänge 1993 + 1996 (Tab. 4-15)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	133	30.942	0.233	1.84	0.001
Rest	92	11.612	0.126		
Gesamt	225	42.555			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQR}	\bar{y}
0.727	15.386	0.355	2.309

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Geschlecht	1	0.497	0.497	3.94	0.050
Jahr	1	3.172	3.172	25.13	0.0001
Vater(Jahr)	21	3.870	0.183	1.46	0.112
Mutter(Jahr*Vater)	90	13.383	0.149	1.18	0.218
A	1	0.077	0.077	0.61	0.438
B	1	0.137	0.137	1.09	0.300
C	1	0.495	0.495	3.92	0.051
D	1	0.619	0.619	4.90	0.029
E	1	0.496	0.496	3.93	0.051
F	1	1.021	1.021	8.09	0.005
G1	1	0.235	0.235	1.86	0.176
G2	1	0.822	0.822	6.51	0.012
H0	1	0.012	0.012	0.10	0.753
H2	1	0.412	0.412	3.27	0.074
H3	1	0.281	0.281	2.23	0.139
I					
K	1	0.086	0.086	0.69	0.410
L	1	0.219	0.219	1.73	0.191
M	1	0.071	0.071	0.56	0.455
N	1	0.012	0.012	0.09	0.763
O	1	0.279	0.279	2.21	0.140
R	1	0.165	0.165	1.31	0.256
T	1	0.764	0.764	6.06	0.016
U	1	0.126	0.126	1.00	0.321
V	1	0.035	0.035	0.28	0.600

Allel	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
A	-0.218	-0.78	0.438	0.280
B	-0.335	-1.04	0.300	0.322
C	-0.329	-1.98	0.051	0.166
D	-0.271	-2.21	0.029	0.122
E	-1.119	-1.98	0.051	0.565
F	-0.367	-2.84	0.005	0.129
G1	-0.430	-1.36	0.176	0.315
G2	-0.507	-2.55	0.012	0.199
H0	-0.181	-0.32	0.753	0.573
H2	0.935	1.81	0.074	0.517
H3	-0.780	-1.49	0.139	0.522
I	0.000			
K	0.317	0.83	0.410	0.383
L	-0.253	-1.32	0.191	0.192
M	-0.169	-0.75	0.455	0.225
N	-0.078	-0.30	0.763	0.258
O	-0.410	-1.49	0.140	0.276
R	-0.414	-1.14	0.256	0.362
T	-0.978	-2.46	0.016	0.398
U	-0.385	-1.00	0.321	0.386
V	-0.302	-0.53	0.600	0.573

Übersicht A 16: Varianzanalyse des *DRB1*-Locus mit Modell 2 für die Jahrgänge 1993 + 1996 (Tab. 4-17)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	167	35.603	0.213	1.55	0.026
Rest	60	8.254	0.138		
Gesamt	227	43.858			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQ}	\bar{y}
0,812	16.102	0.371	2.303

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Set	12	2.356	0.196	1.43	0.179
Geschlecht	1	0.139	0.139	1.01	0.319
Jahr	1	1.326	1.326	9.64	0.003
Vater(Jahr)	21	1.200	0.095	0.69	0.824
Mutter(Set*Jahr*Vater)	79	10.872	0.138	1.00	0.504
MHC1*MHC2(Set)	53	7.837	0.148	1.07	0.392

Übersicht A 17: Schätzwerte für die Eizahl (E_y) der *DRB1*-Genotypen im Vergleich zum häufigsten Genotypen des jeweiligen Sets der Jahrgänge 1993 + 1996 (Tab. 4-18)

Set	Genotypen	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
Set 1	<i>MN-II</i>	-0.643	-2.71	0.009	0.238
	<i>DI-II</i>	-0.702	-2.68	0.010	0.262
	<i>FI-II</i>	-0.650	-2.35	0.022	0.277
	<i>G2I-II</i>	-0.787	-2.42	0.019	0.325
	<i>IM-II</i>	-0.032	-0.09	0.932	0.374
	<i>DD-II</i>	-0.412	-1.09	0.279	0.377
	<i>FL-II</i>	-0.557	-1.45	0.153	0.385
	<i>IL-II</i>	-0.359	-0.85	0.399	0.422
	<i>G2D-II</i>	-1.202	-2.78	0.007	0.432
	<i>AD-II</i>	-0.479	-1.09	0.279	0.438
	<i>FG2-II</i>	-1.031	-2.35	0.022	0.438
	<i>G2N-II</i>	-0.552	-1.20	0.235	0.461
	<i>BI-II</i>	-0.737	-1.54	0.128	0.477
	<i>AI-II</i>	-0.626	-1.30	0.197	0.480
	<i>G2O-II</i>	-1.393	-2.68	0.009	0.519
	<i>DH2-II</i>	0.664	1.27	0.211	0.525
	<i>H0O-II</i>	-0.591	-1.13	0.264	0.525
	<i>IO-II</i>	0.000	0.00	1.00	0.525
	<i>CD-II</i>	-0.331	-0.63	0.534	0.529
	<i>CI-II</i>	-1.154	-2.17	0.034	0.533
	<i>FF-II</i>	-0.337	-0.57	0.571	0.593
	<i>CC-II</i>	-0.682	-1.14	0.259	0.598
	<i>G1I-II</i>	-0.297	-0.50	0.621	0.598
	<i>AF-II</i>	-1.240	-2.04	0.045	0.607
	<i>G1F-II</i>	-1.261	-2.04	0.045	0.617
	<i>G2K-II</i>	-0.614	-0.99	0.328	0.622
	<i>DL-II</i>	-0.140	0.22	0.829	0.644
	<i>DM-II</i>	-0.070	-0.10	0.918	0.673
	<i>G2C-II</i>	-1.080	-1.59	0.117	0.680
	<i>CL-II</i>	-0.965	-1.42	0.162	0.682
	<i>AL-II</i>	-0.697	-1.02	0.312	0.684
	<i>G2H3-II</i>	-1.657	-2.42	0.019	0.685
	<i>IN-II</i>	-0.001	0.00	0.999	0.689
	<i>AR-II</i>	-0.877	-1.24	0.221	0.710
	<i>AG2-II</i>	-1.158	-1.57	0.122	0.738
	<i>G2V-II</i>	-1.284	-1.74	0.087	0.738
	<i>DO-II</i>	0.007	0.01	0.992	0.748
	<i>FR-II</i>	-0.494	-0.62	0.535	0.792
	<i>LM-II</i>	-0.152	-0.18	0.860	0.853
	<i>EI-II</i>	-1.042	-1.20	0.234	0.866
<i>AB-II</i>	-0.565	-0.65	0.520	0.872	
<i>LL-II</i>	-0.123	-0.12	0.903	1.002	
<i>EF-II</i>	-2.176	-2.14	0.037	1.019	
<i>MM-II</i>	-0.123	-0.11	0.914	1.131	

Set	Genotypen	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
Set 2	<i>DU-DN</i>	0.099	0.21	0.832	0.464
	<i>DK-DN</i>	0.432	0.81	0.421	0.533
	<i>DF-DN</i>	-0.235	-0.31	0.755	0.748
Set 3	<i>G2T-G2G2</i>	-0.826	-1.55	0.126	0.533
	<i>G2L-G2G2</i>	-0.562	-0.76	0.452	0.742
Set 4	<i>AC-AGI</i>	0.426	0.81	0.420	0.525
Set 5	<i>DG1-G1L</i>	0.000	0.00	1.000	0.525
Set 6	<i>FH1-H1I</i>	0.970	1.85	0.069	0.525
Set 7	<i>CH0-H0I</i>	-0.877	-1.65	0.105	0.533

Übersicht A 18: Schätzwerte für die Eizahl (Ey) der Heterozygoten im Vergleich zum Durchschnitt der beiden entsprechenden Homozygoten am *DRB1*-Locus für die Jahrgänge 1993 + 1996 (Tab. 4-19)

Genotypen	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
<i>IC-((CC+II)/2)</i>	-0.813	1.31	0.194	0.620
<i>ID-((DD+II)/2)</i>	-0.496	2.34	0.023	0.212
<i>IF-((FF+II)/2)</i>	-0.481	1.62	0.110	0.297
<i>IL-((LL+II)/2)</i>	-0.297	0.59	0.555	0.501
<i>IM-((MM+II)/2)</i>	0.030	-0.04	0.965	0.678

Übersicht A 19: Test der Nullhypothese, dass die durchschnittliche gewichtete Abweichung der Heterozygoten vom Durchschnitt der entsprechenden Homozygoten am *DRB1*-Locus der Jahrgänge 1993 + 1996 Null ist (Tab. 4-20)

Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
-0.466	-2.66	0.006	0.163

Übersicht A 20: Schätzwerte für die Eizahl (Ey) der Heterozygoten im Vergleich zum entsprechenden besseren Homozygoten am $DRB1$ -Locus für die Jahrgänge 1993 + 1996 (Tab. 4-21)

Genotypen	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
<i>IC-CC</i>	-0.473	-0.58	0.564	0.815
<i>ID-DD</i>	-0.290	-0.95	0.345	0.304
<i>IF-FF</i>	-0.312	-0.60	0.554	0.525
<i>IL-LL</i>	-0.235	-0.26	0.796	0.909
<i>IM-MM</i>	0.091	0.08	0.939	1.192

Übersicht A 21: Test der Nullhypothese, dass die durchschnittliche Überdominanz am $DRB1$ -Locus der Jahrgänge 1993 + 1996 Null ist (Tab. 4-22)

Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
-0.244	-0.54	0.590	0.447

Übersicht A 22: Varianzanalyse des Markers DYMS1 mit Modell 1 für den Jahrgang 1993
(Tab. 4-24)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	59	15.215	0.258	1.21	0.182
Rest	40	7.853	0.196		
Gesamt	99	23.068			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQR}	\bar{y}
0.659	21.405	0.443	2.070

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Geschlecht	1	0.148	0.148	0.76	0.390
Vater	7	3.153	0.450	2.29	0.046
Mutter(Vater)	41	10.048	0.245	1.25	0.242
180 (B) [°]	1	0.168	0.168	0.86	0.360
196 (H)	1	0.0002	0.0002	0.00	0.975
200 (K1)	1	0.100	0.100	0.51	0.480
204 (L)	1	0.002	0.002	0.01	0.913
212 (O)	1	0.000	0.000	0.00	1.000
214 (P)	1	0.075	0.075	0.38	0.539
216 (Q1)	1	1.560	1.560	7.95	0.007
218 (R)	1	0.001	0.001	0.01	0.937
220 (S)					
222 (Z)	1	0.149	0.149	0.76	0.388

Allel	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
180 (B) [°]	-0.616	-0.93	0.360	0.665
196 (H)	0.005	0.03	0.975	0.165
200 (K1)	0.651	0.71	0.480	0.914
204 (L)	0.030	0.11	0.913	0.276
212 (O)	0.000	0.00	1.000	0.627
214 (P)	0.682	0.62	0.539	1.100
216 (Q1)	1.264	2.82	0.007	0.448
218 (R)	-0.014	-0.08	0.937	0.182
220 (S)	0.000			
222 (Z)	0.360	0.87	0.388	0.412

[°] () Nomenklatur nach Buitkamp et al. (1996)

Übersicht A 23: Varianzanalyse des Markers DYMS1 mit Modell 1 für den Jahrgang 1996
(Tab. 4-25)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	68	10.729	0.158	1.82	0.021
Rest	41	3.560	0.087		
Gesamt	109	14.287			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQR}	\bar{y}
0.751	11.858	0.295	2.485

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Geschlecht	1	0.457	0.457	5.27	0.027
Vater	13	2.118	0.163	1.88	0.063
Mutter(Vater)	41	6.842	0.167	1.92	0.020
180	1	0.133	0.133	1.54	0.222
182	1	0.104	0.104	1.20	0.280
196	1	0.007	0.007	0.08	0.779
200	1	0.015	0.015	0.17	0.682
202	1	0.155	0.155	1.78	0.189
204	1	0.154	0.154	1.77	0.190
206	1	0.455	0.455	5.24	0.027
208	1	0.170	0.170	1.97	0.168
210	1	0.034	0.034	0.40	0.531
216	1	0.298	0.298	3.43	0.071
218	1	0.232	0.232	2.68	0.109
220					
222	1	0.125	0.125	1.44	0.237
224	1	0.098	0.098	1.13	0.293

Allel	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
180	0.586	1.24	0.222	0.472
182	-0.282	-1.10	0.280	0.257
196	0.046	0.28	0.779	0.164
200	0.184	0.41	0.682	0.446
202	-0.732	-1.33	0.189	0.548
204	0.142	1.33	0.190	0.107
206	0.708	2.29	0.027	0.309
208	-0.526	-1.40	0.168	0.374
210	0.231	0.63	0.531	0.367
216	0.294	1.85	0.071	0.159
218	0.230	1.64	0.109	0.140
220	0.000			
222	-0.241	-1.20	0.237	0.201
224	0.470	1.06	0.293	0.442

Übersicht A 24: Varianzanalyse des Markers DYMS1 mit Modell 1 für die Jahrgänge 1993 + 1996 (Tab. 4-26)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	120	32.813	0.273	1.80	0.002
Rest	89	13.550	0.152		
Gesamt	209	46.364			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQR}	\bar{y}
0.708	17.059	0.390	2.287

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Geschlecht	1	0.401	0.401	2.64	0.108
Jahr	1	3.046	3.046	20.01	0.0001
Vater(Jahr)	21	5.454	0.260	1.71	0.044
Mutter(Jahr*Vater)	82	15.017	0.183	1.20	0.197
180	1	0.047	0.047	0.31	0.579
182	1	0.091	0.091	0.60	0.442
196	1	0.063	0.063	0.42	0.520
200	1	0.358	0.358	2.35	0.129
202	1	0.123	0.123	0.81	0.370
204	1	0.103	0.103	0.68	0.413
206	1	0.626	0.626	4.11	0.046
208	1	0.258	0.258	1.70	0.196
210	1	0.036	0.036	0.24	0.626
212	1	0.000	0.000	0.00	1.000
214	1	0.158	0.158	1.04	0.311
216	1	0.966	0.966	6.35	0.013
218	1	0.119	0.119	0.78	0.378
220					
222	1	0.004	0.004	0.02	0.877
224	1	0.102	0.102	0.67	0.415

Allel	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
180	-0.206	-0.56	0.579	0.369
182	-0.254	-0.77	0.442	0.329
196	0.074	0.65	0.520	0.114
200	0.685	1.53	0.129	0.446
202	-0.649	-0.90	0.370	0.721
204	0.092	0.82	0.413	0.111
206	0.812	2.03	0.046	0.400
208	-0.612	-1.30	0.196	0.471
210	0.231	0.49	0.626	0.473
212	0.000	0.00	1.000	0.552
214	0.728	1.02	0.311	0.715
216	0.418	2.52	0.013	0.166
218	0.101	0.89	0.378	0.114
220	0.000			
222	-0.030	-0.16	0.877	0.195
224	0.465	0.82	0.415	0.568

Übersicht A 25: Varianzanalyse des Marker DYMS1 mit Modell 2 für die Jahrgänge 1993 + 1996 (Tab. 4-28)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	144	35.604	0.247	1.47	0.040
Rest	65	10.912	0.168		
Gesamt	209	46.516			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQ}	\bar{y}
0.765	17.906	0.410	2.288

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Set	10	1.141	0.114	0.68	0.739
Geschlecht	1	0.232	0.232	1.38	0.244
Jahr	1	1.106	1.106	6.59	0.013
Vater(Jahr)	20	4.849	0.242	1.44	0.135
Mutter(Set*Jahr*Vater)	73	13.169	0.180	1.07	0.385
DYMS11*DYMS12(Set)	39	5.536	0.142	0.85	0.710

Übersicht A 26: Varianzanalyse des Markers OMHC1 mit Modell 1 für den Jahrgang 1993
(Tab. 4-30)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	56	3.600	0.064	1.86	0.029
Rest	33	1.141	0.034		
Gesamt	89	4.741			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQR}	\bar{y}
0.759	7.811	0.186	2.280

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Geschlecht	1	0.002	0.002	0.06	0.805
Vater	7	0.420	0.060	1.74	0.134
Mutter(Vater)	37	1.581	0.043	1.24	0.270
182 (G) ^o	1	0.012	0.012	0.35	0.558
184 (D)	1	0.0001	0.0001	0.00	0.954
188 (H)	1	0.096	0.096	2.78	0.105
190 (I)					
192 (K)	1	0.063	0.063	1.82	0.186
194 (L)	1	0.058	0.058	1.69	0.203
196 (M)	1	0.0007	0.0007	0.02	0.884
198 (N)	1	0.0004	0.0004	0.01	0.911
200 (O)	1	0.000003	0.000003	0.00	0.992
202 (P)	1	0.012	0.012	0.36	0.553
204 (Q)	1	0.005	0.005	0.14	0.712
210 (R)	1	0.013	0.013	0.37	0.546

Allel	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
182 (G) ^o	0.093	0.59	0.558	0.157
184 (D)	0.018	0.06	0.954	0.307
188 (H)	-0.512	-0.167	0.105	0.307
190 (I)	0.000			
192 (K)	0.201	1.35	0.186	0.149
194 (L)	0.189	1.30	0.203	0.145
196 (M)	0.020	0.15	0.884	0.137
198 (N)	0.018	0.11	0.911	0.158
200 (O)	0.002	0.01	0.992	0.212
202 (P)	-0.111	-0.60	0.553	0.185
204 (Q)	0.054	0.37	0.712	0.146
210 (R)	-0.122	-0.61	0.546	0.200

^o () Nomenklatur nach Buitkamp et al. (1996)

Übersicht A 27: Varianzanalyse des Markers OMHC1 mit Modell 1 für den Jahrgang 1996
(Tab. 4-31)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	63	4.547	0.072	1.27	0.197
Rest	46	2.609	0.057		
Gesamt	109	7.156			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQ}	\bar{y}
0.635	9.109	0.238	2.614

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Geschlecht	1	0.187	0.187	3.29	0.072
Vater	12	0.415	0.035	0.61	0.822
Mutter(Vater)	42	2.754	0.065	1.16	0.315
182	1	0.120	0.120	2.11	0.153
190					
192	1	0.083	0.083	1.46	0.233
194	1	0.0001	0.0001	0.00	0.964
196	1	0.063	0.063	1.11	0.298
198	1	0.002	0.002	0.03	0.852
200	1	0.002	0.002	0.04	0.837
202	1	0.146	0.146	2.57	0.116
204	1	0.006	0.006	0.11	0.742

Allel	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
182	-0.490	-1.45	0.153	0.337
190	0.000			
192	-0.139	-1.21	0.233	0.115
194	0.007	0.05	0.964	0.163
196	-0.122	-1.05	0.298	0.116
198	0.023	0.19	0.852	0.122
200	-0.028	-0.21	0.837	0.138
202	0.396	1.60	0.116	0.247
204	-0.039	-0.33	0.742	0.119

Übersicht A 28: Varianzanalyse des Markers OMHC1 mit Modell 1 für die Jahrgänge 1993 + 1996 (Tab. 4-32)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	112	10.660	0.095	1.93	0.0007
Rest	89	4.398	0.049		
Gesamt	201	15.058			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQR}	\bar{y}
0.708	8.844	0.222	2.513

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Geschlecht	1	0.147	0.147	2.99	0.085
Jahr	1	1.445	1.445	29.24	0.0001
Vater(Jahr)	20	1.161	0.058	1.17	0.295
Mutter(Jahr*Vater)	79	4664	0.059	1.19	0.207
182	1	0.006	0.006	0.12	0.732
184	1	0.0008	0.0008	0.02	0.897
188	1	0.109	0.109	2.21	0.141
190					
192	1	0.012	0.012	0.25	0.615
194	1	0.131	0.131	2.66	0.107
196	1	0.006	0.006	0.12	0.735
198	1	0.010	0.010	0.21	0.651
200	1	0.004	0.004	0.07	0.787
202	1	0.013	0.013	0.27	0.604
204	1	0.0003	0.0003	0.01	0.933
210	1	0.251	0.251	5.07	0.027

Allel	Schätzwert	t-Wert	p-Wert	Schätzfehler
182	-0.035	-0.34	0.732	0.103
184	0.042	0.13	0.90	0.328
188	-0.487	-1.49	0.141	0.328
190	0.000			
192	-0.043	-0.50	0.615	0.086
194	0.173	1.63	0.107	0.106
196	-0.029	-0.34	0.735	0.086
198	0.042	0.45	0.651	0.093
200	0.028	0.27	0.787	0.102
202	0.080	0.52	0.604	0.153
204	0.007	0.08	0.933	0.089
210	-0.410	-2.25	0.027	0.182

Übersicht A 29: Varianzanalyse des Markers OMHC1 mit Modell 2 für die Jahrgänge 1993 + 1996 (Tab. 4-34)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	141	11.985	0.085	1.66	0.014
Rest	60	3.073	0.051		
Gesamt	201	15.058			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQ}	\bar{y}
0.796	9.004	0.226	2.513

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Set	5	0.317	0.063	1.24	0.303
Geschlecht	1	0.039	0.039	0.76	0.388
Jahr	1	0.448	0.448	8.76	0.004
Vater(Jahr)	20	1.163	0.058	1.14	0.341
Mutter(Set*Jahr*Vater)	74	4.046	0.055	1.07	0.399
OMHC11*OMHC12(Set)	40	2.021	0.050	0.99	0.511

Übersicht A 30: Varianzanalyse des Markers BM1815 mit Modell 2 für den Jahrgang 1996 (Tab. 4-37)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	80	5.069	0.063	0.91	0.632
Rest	25	1.735	0.069		
Gesamt	105	6.804			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQ}	\bar{y}
0.745	10.105	0.263	2.607

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Set	3	0.061	0.020	0.29	0.830
Geschlecht	1	0.111	0.111	1.60	0.217
Vater	11	0.460	0.042	0.60	0.808
Mutter(Set*Vater)	38	2369	0.062	0.90	0.625
BM18151*BM18152(Set)	27	1.331	0.049	0.71	0.807

Übersicht A 31: Varianzanalyse des Markers CSRD226 mit Modell 2 für den Jahrgang 1996 (Tab. 4-37)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	73	4.656	0.064	1.22	0.275
Rest	30	1.567	0.052		
Gesamt	103	6.222			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQ}	\bar{y}
0.748	8.716	0.228	2.622

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Set	2	0.147	0.073	1.40	0.261
Geschlecht	1	0.162	0.162	3.11	0.088
Vater	11	0.870	0.079	1.52	0.178
Mutter(Set*Vater)	38	2.412	0.063	1.22	0.293
CSRD2261*CSRD2262(Set)	21	1.298	0.062	1.18	0.330

Übersicht A 32: Varianzanalyse des Markers BM1905 mit Modell 2 für den Jahrgang 1996 (Tab. 4-37)

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Modell	57	8.532	0.150	1.53	0.058
Rest	54	5.275	0.098		
Gesamt	111	13.807			

R^2	Variationskoeffizient	\sqrt{MQ}	\bar{y}
0.618	12.550	0.313	2.490

Varianzursache	FG	SQ	MQ	F-Wert	p-Wert
Set	1	0.001	0.001	0.01	0.906
Geschlecht	1	0.743	0.743	7.60	0.008
Vater	13	2.756	0.212	2.17	0.024
Mutter(Set*Vater)	41	5.566	0.136	1.39	0.128
BM19051*BM19052(Set)	1	0.368	0.368	3.77	0.057

Lebenslauf

1. Angaben zur Person:

Name: Petra Feichtlbauer-Huber
Geburtstag und -ort: 22.08.1968 in München
Staatsangehörigkeit: deutsch

2. Ausbildungsdaten:

Schule:	1975–1979	Grundschule Forellenschule München
	1979–1988	Edith-Stein-Gymnasium
		Abschluss: Abitur
Studium:	1988–1989	Ein Semester Lebensmitteltechnologie an der FH München-Weihenstephan
	1989–1995	Gartenbauwissenschaften an der TU München-Weihenstephan
		Abschluss: Dipl.-Ing.agr. Univ.
	1996–2002	Promotion am Lehrstuhl für Tierzucht der TU München-Weihenstephan

3. Praktikum:

15.03.1989–31.10.1989 Praktikum in einem Zierpflanzenbetrieb

4. Berufstätigkeit:

01.10.1995–30.09.1996 Wissenschaftliche Angestellte im Labor
für Immungenetik der Kinderpolyklinik
an der LMU München