

# Immunologische vs. nicht-immunologische Abwehrstrategien: auf der Suche nach genetischen Mechanismen, die die unterschiedliche Empfänglichkeit einer Kuh gegenüber Mastitis verursachen

**Manfred Schwerin, Norbert Reinsch, Hans-Rudolf Fries, Heinrich Meyer, Christa Kühn**

## **Tierzüchterische Bedeutung der Mastitis**

Wichtige Merkmale für eine wirtschaftlich effiziente Milchproduktion, die auch dem Verbraucherinteresse nach gesunden und hochwertigen Nahrungsmitteln Rechnung trägt, sind nicht nur die Milchleistung und der Milchfett- oder -eiweißgehalt einer Kuh. Funktionale Merkmale wie Eutererkrankungen (Mastitis) oder Fruchtbarkeit spielen in der modernen Milchproduktion eine ebenso große Rolle wie reine Leistungsmerkmale. So beziffern sich die Verluste, die allein die deutsche Rinderproduktion durch Mastitis erleidet, auf mindestens 0,5 Mrd. €/Jahr. Neben diesen direkten ökonomischen Verlusten wird das Wohlbefinden der Tiere durch die Erkrankung deutlich beeinträchtigt (Abb. 1), so dass auch Tiergesundheit und Tierschutz wichtige Argumente für das Zurückdrängen der Erkrankung sind. Es ist bekannt, dass die Anfälligkeit einer Kuh an Mastitis zu erkranken auch von ihren Erbanlagen abhängt, so dass auf eine geringere Anfälligkeit gezüchtet werden könnte.

Die üblicherweise bisher eingesetzten konventionellen Zuchtstrategien unter Nutzung ausgearbeiteter Methoden der quantitativen Genetik erwiesen sich in der Vergangenheit als sehr effizient für die Verbesserung der Leistungsmerkmale. Jedoch war der Fortschritt bei den funktionalen Merkmalen relativ bescheiden, da, unter anderem auch durch eine vergleichsweise hohe Umweltbeeinflussung und eine wenig detaillierte Erfassung der Merkmale in den Tierbeständen, ungünstige Voraussetzungen bestanden. Die neuen Technologien der strukturellen und funktionellen Genomanalyse und innovative statistische Modelle eröffnen nun die Möglichkeit, molekulare Informationen über die Merkmalsvariabilität mit konventionellen Zuchtmethoden im Rahmen einer Marker-assistierten-Selektion (MAS) zu verbinden. Dieser Ansatz schafft damit die Perspektive, auch konventionell nur schwer zu verbessernde Merkmale wie Abwehrvermögen gegenüber Eutererkrankungen durch gezielte Auswahl von Tieren zu verbessern. Voraussetzung dafür sind jedoch umfassende Kenntnisse

über den genetischen Hintergrund der Unterschiedlichkeit der Tiere in Bezug auf ihr Abwehrvermögen gegenüber Mastitis.

In Vorläuferprojekten wie den BMBF-geförderten Netzwerken „Genomanalyse-Rind I und II“ waren bereits Bereiche (QTL, quantitative trait loci) im Genom des Rindes identifiziert worden, die einen erheblichen genetischen Effekt auf das Abwehrvermögen gegenüber Mastitis ausüben. Auf dem Rinderchromosom 18 (BTA18) zeigte sich ein solcher QTL in der Deutschen Holstein Rasse, der wichtigsten Milchrindrasse in Deutschland. Allerdings war die Angabe der Position des QTL noch zu ungenau, um daraus bereits auf die Gene schließen zu können, die zu den Unterschieden in dem Abwehrvermögen gegenüber Mastitis führen. In der betreffenden Genomregion liegen hunderte Gene, die nicht alle einzeln auf ihre Bedeutung hin untersucht werden können. Die Auslese, welche Gene spezifisch zu betrachten sind, soll stattdessen über einen kombinierten Ansatz erfolgen. Darin sollen Ergebnisse aus

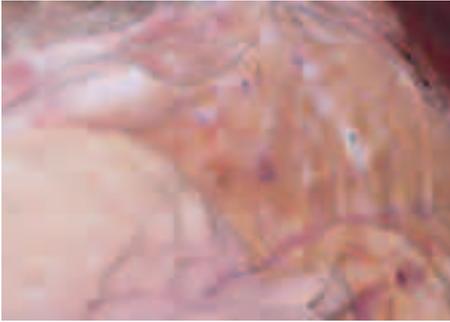


Abb. 1: Dramatische Veränderungen in der Milchdrüse ausgelöst durch Mastitis: links: gesundes Euterviertel, rechts: erkranktes Euterviertel.

einer verbesserten Kartierung des QTL, aus der funktionellen Analyse von Tieren mit unterschiedlicher Prädisposition für Mastitis und aus bioinformatischen Ansätzen zusammengeführt werden. Bei diesem Untersuchungsansatz wird intensiv das Wissen aus den bereits sehr präzise beschriebenen Genomen von Mensch und Maus genutzt, um möglicherweise merkmalsbeeinflussende Gene, so genannte Kandidatene, zu identifizieren.

### Immunologische vs. nicht-immunologische Mechanismen der Erregerabwehr

Die Arbeiten, die im Rahmen des FUGATO-Projektes „M.A.S.-Net“ durchgeführt werden, beschränken sich nicht allein auf die Untersuchung von möglichen genetisch bedingten Unterschieden zwischen Tieren bezüglich ihrer immunologischen Fähigkeiten zur Abwehr von

Mastitiserregern. Aus den Vorläuferprojekten ist bekannt, dass auf Rinderchromosom 18 in der gleichen Region wie der QTL für Mastitis-Abwehrvermögen auch bislang noch nicht näher beschriebene Genorte mit Effekten auf Milchfluss und Temperament liegen. Ist dies Zufall oder liegt hier ein Schlüssel für die Mechanismen, mit denen sich eine Kuh gegen das Eindringen von Keimen in die Milchdrüse wehren kann? Dies wird im Projekt ergebnisoffen geprüft. Kernstück dafür sind Rinder, die sich in ihrer Veranlagung, an Mastitis zu erkranken, deutlich unterscheiden sollten, obwohl sie eng verwandt sind. Für die Auswahl solcher Tiere bereits vor der ersten Abkalbung wurden die zu Projektbeginn verfügbaren Informationen über genetische Marker innerhalb von Familien ausgenutzt, um Halbschwestern zu selektieren, die entweder das vorteilhafte (Q) oder das unvorteilhafte (q) Allel am Mastitis-QTL erhalten hatten (Abb. 2). Die so ausgewählten, gesunden Tiere wurden unter gleichen Bedingungen gehalten, um der Frage nachzugehen: was machen gesunde, für Mastitis besonders unanfällige Tiere (die Gruppe mit Q) anders als solche Tiere, die zwar noch gesund sind, aber ein erhöhtes Risiko tragen, an Mastitis zu erkranken (die Gruppe mit q)?

Zur Beantwortung der Frage werden die Tiere sowohl für eine Vielzahl an Parametern untersucht, die direkt am Tier zu bestimmen sind (wie z.B. Milchfluss oder Zitzenform) oder aus Gewebeproben bestimmt werden (z.B. Transkriptomprofile von Eutergewebe und

Milchdrüsenepithelzellen). Dass die Auswahl der Tiere hinsichtlich vermutlichen Abwehrvermögens gegenüber Mastitis auf der Basis von genetischen Markerinformationen erfolgreich war, belegt die Beobachtung, dass sich die Tiere der Q- und der q-Gruppe sehr deutlich in Hinsicht auf den Gehalt an somatischen Zellen in der Milch unterschieden (Abb. 3). Es ist bekannt, dass eine enge genetische Beziehung zwischen einem erhöhten Zellgehalt in der Milch und Anfälligkeit gegenüber Mastitis besteht. In der Tat zeichnete sich die Q-Gruppe, die eine genetisch bedingt höhere Abwehrfähigkeit gegenüber Mastitis aufweisen sollte, durch eine gegenüber der q-Gruppe deutlich niedrigere Zellzahl in der Milch aus.

Ein besonderes Problem bei der Zucht auf eine hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber Mastitis liegt darin, dass dieses Merkmal negativ mit der Milchleistung korreliert ist. Das heißt: mittels konventioneller Zuchtmethoden kann nur schwer gleichzeitig auf die Verbesserung in beiden Merkmalen selektiert werden. Bemerkenswerterweise besteht die negative Korrelation jedoch für den QTL für Abwehrvermögen gegenüber Mastitis auf dem Rinderchromosom 18 nicht: es wurde keine Beeinflussung des Leistungsvermögens der Rinder in dieser Genomregion beschrieben. Das belegte auch die Beobachtung, dass sich die anhand von genetischen Markerinformationen ausgewählten Gruppen Q und q nur unwesentlich in der Milchleistung unterschieden.

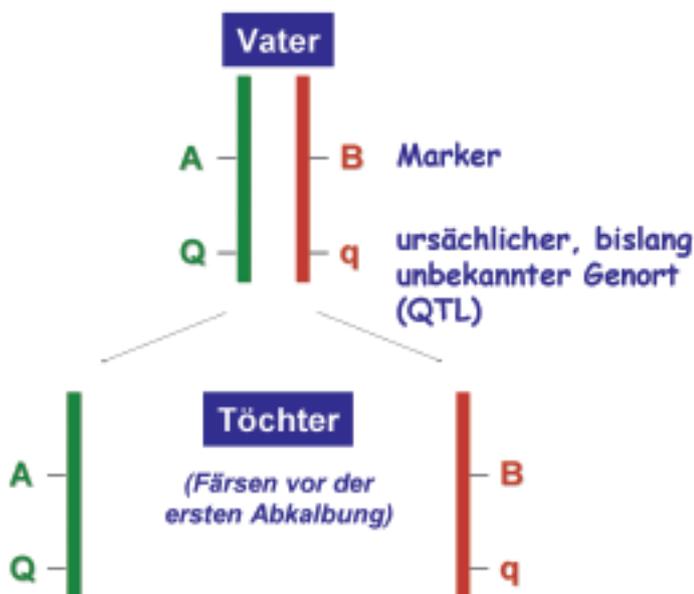


Abb. 2: Auswahl von vermutlich gegenüber Mastitis wenig (Q) bzw. hochempfänglichen (q) Halbschwestern anhand von Markerinformationen.

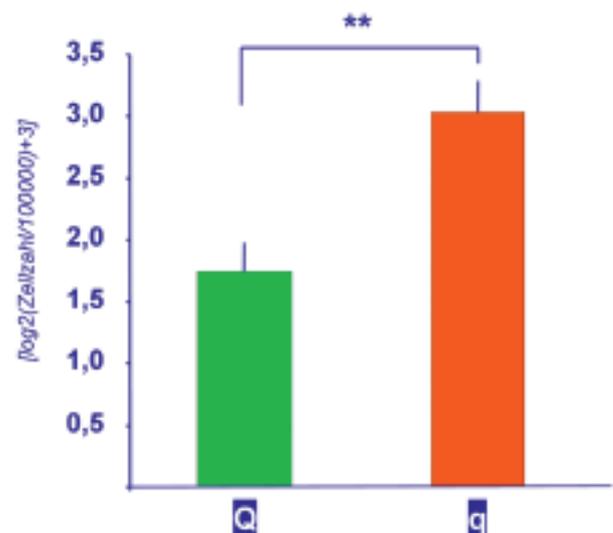


Abb. 3: Durchschnittliche Zellzahl in der Milch in den anhand von Markerinformationen ausgewählten Färsengruppen, die wenig (Q) bzw. sehr (q) empfänglich für Mastitis sind.

### **Nutzen spezifischer, unterschiedlich empfänglicher Tiergruppen**

Mit den gegenüber Mastitis offensichtlich besonders unanfälligen bzw. besonders anfälligen, aber noch klinisch gesunden Tieren der Gruppen Q und q steht für die weiteren Untersuchungen ein spezifisches hochinformatives Tiermaterial zur Verfügung, um die Zielstellungen des Projektes zu verfolgen. Während in anderen Untersuchungen zu den Grundlagen der Mastitis häufig der Vergleich „Gesund“ – „Erkrankt“ den Versuchsansatz darstellt, ist es in diesem Projekt erstmals möglich, noch gesunde, sogar eng verwandte Tiere vor der Erkrankung zu vergleichen, die sich nur in ihrem Abwehrvermögen gegenüber Mastitis unterscheiden. Damit ist eine Voraussetzung zum Verständnis der physiologischen Mechanismen geschaffen, die der phänotypischen Variation der Mastitisabwehr

beim Rind zu Grunde liegen (immunologische vs. nicht-immunologische Mechanismen). Dazu dienen Transkriptom-Analysen mittels Micro-Array-Experimenten sowohl von verschiedenen Geweben (z. B. Milchdrüse, Zitzenkanal) als auch von Milchdrüsenepithelzellen ohne und mit Erregerkontakt. Die so erzielten Ergebnisse fließen ein in die Identifizierung positioneller und funktionaler Kandidatengene basierend auf komparativer funktionaler Genomik und bioinformatischen Ansätzen. Als zusätzlicher Filter für möglichst erfolgversprechende Kandidatengene erfolgt eine genauere Beschreibung der Lage des QTL durch Kopplungs- und Kopplungsungleichgewicht-(Linkage Disequilibrium, LD) Kartierung in Verwandten der Tiere aus den Q- und q-Gruppen. Damit ist die Basis für eine zielführende Suche nach und funktionelle Charakterisierung von Genvarianten geschaffen, die die QTL-Effekte auf dem Rinderchromosom 18 bezüglich

Abwehrfähigkeit gegenüber Mastitis verursachen. Vor dem breiten Einsatz in der Rinderzucht müssen diese Genvarianten dann noch den Test in mehreren unabhängigen Rinderpopulationen bestehen, um sicher zu stellen, dass sie wirklich eine Beziehung zur genetisch bedingt unterschiedlichen Abwehrfähigkeit gegenüber Mastitis besitzen.

Merkmalsassoziierte, möglicherweise kausale Genvarianten für den QTL auf Rinderchromosom 18 eröffnen dann die Möglichkeit, parallel sowohl Leistungsmerkmale als auch Tiergesundheit effizient durch Zucht zu verbessern.

### **Kontakt**

PD Dr. Christa Kühn

*Forschungsinstitut für die Biologie*

*landwirtschaftlicher Nutztiere*

*Forschungsbereich Molekularbiologie*

E-mail: kuehn@fhn-dummerstorf.de