

Analyse von Mikrosatelliten-Polymorphismen in Berner Sennenhunden und Neufundländern

Autor(en): **Werner, P. / Arnold, S. / Schelling, C.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **138 (1996)**

Heft 3

PDF erstellt am: **10.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-590533>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Analyse von Mikrosatelliten-Polymorphismen in Berner Sennenhunden und Neufundländern

P. Werner¹, S. Arnold², C. Schelling³, U. Hübscher¹

Zusammenfassung

Molekulargenetische Methoden bieten heute die Möglichkeit, durch Kopplungsanalysen die verantwortlichen Gene zu finden, die den zunehmenden Erbkrankheiten bei Hunden zugrunde liegen. Dabei stellten sich Mikrosatelliten als ideale Marker für die Herstellung der dafür benötigten genetischen Karte heraus. 25 Mikrosatelliten, die sich als hoch polymorph in Mischlingshunden erwiesen, wurden in Gruppen von Berner Sennenhunden (BSH) und zum Teil in Neufundländern (NF) getestet. Diese Marker zeigten einen deutlich geringeren Polymorphismus in diesen beiden reingezüchteten Hunderassen. Daher lassen sich nur etwa 40% der getesteten Mikrosatelliten zur Kopplungsanalyse beim BSH verwenden. Ebenso zeigten sich Unterschiede in der Allelverteilung und -häufigkeit zwischen NF und BSH, zwei weitläufig verwandten Rassen. Diese Daten lassen vermuten, dass eine spezifische Selektion von polymorphen Markern einer erfolgreichen Kopplungsanalyse in reinerbigen Hunderassen vorangehen muss.

Schlüsselwörter: PCR – Mikrosatelliten – Kopplungsanalyse – genetische Karte – Polymorphismus – Berner Sennenhunde

Analysis of microsatellite polymorphisms in Bernese Mountain dogs and Newfoundlands

As the number of detected inherited diseases in dogs is increasing, linkage mapping offers an opportunity for the localisation of the responsible genes. In humans microsatellites are ideal markers for constructing high-resolution genetic maps. Twenty-five dog specific microsatellites which are highly polymorphic in mixed dog breeds, were tested by PCR in a group of unrelated Newfoundlands and Bernese Mountain dogs. The polymorphisms found in this two breeds were clearly lower than in the mixed breeds suggesting that only 40% of the markers tested would be useful for linkage analysis. In addition the allele frequencies and distributions differed among this two purebred but related breeds. Our data suggest that a selection for useful markers for each specific breed has to be performed prior to linkage analysis.

Key words: PCR – linkage mapping – microsatellites – genetic map – polymorphism – Bernese Mountain dog

Einleitung

Die Anzahl der Erbkrankheiten bei Hunden hat in den letzten Jahren stark zugenommen (Patterson, 1993). Durch den Einsatz molekulargenetischer Methoden bietet sich die Möglichkeit zur genetischen Charakterisierung vieler dieser Erkrankungen (Holmes, 1994). Das verantwortliche defekte Gen lässt sich durch Kopplungsanalyse mittels polymorpher genetischer Marker identifizieren und die zugrundeliegenden Veränderungen analysieren. Darauf basierend können diagnostische Tests entwickelt werden, die frühzeitig die Erkennung von Trägern eines oder zweier defekter Gene ermöglichen. Die Herstellung einer genetischen Karte, die eine gleichmässige Verteilung einer hohen Anzahl hoch polymor-

pher Marker über das gesamte Genom darstellt, ist neben der Zusammenstellung von Familienstammbäumen der Krankheitsträger, eine der Voraussetzungen zur erfolgreichen Analyse von Erbkrankheiten. Mikrosatelliten zeichneten sich dafür als ideale genetischen Marker aus (Hearne et al., 1992; Weissenbach, 1993). Sie bestehen aus einfachen repetitiven Sequenzen, die durch zwei, drei oder vier Nukleotide gebildet werden (Litt und Luty, 1989; Tautz, 1989; Weber und May, 1989; Edwards, 1991). Beim Menschen zeigen sie eine gleichmässige Verteilung über das gesamte Genom und eine sehr hohe Variabilität (Hamada et al., 1982; Tautz und Renz, 1984; Weber und May, 1989). Die einzelnen Allele unterscheiden sich in ihrer Länge durch die verschiedene Anzahl der Wiederholungen der repetitiven Sequenzen. Mikrosatelliten

wurden bisher bei Maus (Love et al., 1990), Schwein (Wintero et al., 1992), Rind (Fries et al., 1990; Steffen et al., 1993), Pferd (Ellegren et al., 1992) und Hund (Ostrander et al., 1992, 1993; Holmes et al., 1993) charakterisiert. Die am häufigsten verwendete Mikrosatellitenform besteht aus repetitiven Sequenzen der zwei Nukleotide C und A, bezeichnet als $(CA)_n$ (Miesfeld et al., 1981; Hamada et al., 1982). Diese Sequenzen sind beim Menschen durchschnittlich alle 30'000 Basenpaare zu finden (Stallings et al., 1991). Dies ermöglicht die notwendige, enge Abdeckung des gesamten Genoms mit polymorphen

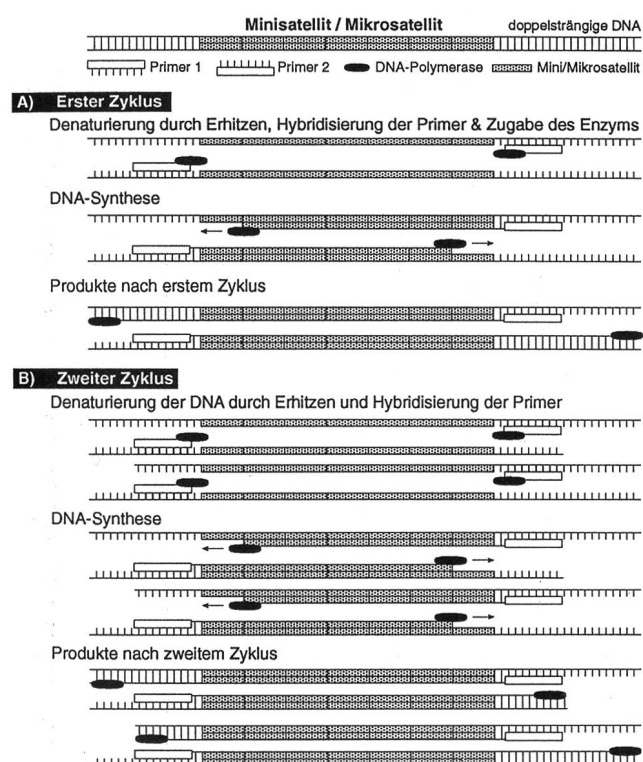


Abbildung 1: Vervielfältigung eines Mikrosatelliten mittels PCR.

Zur genauen Begrenzung des zu vervielfältigenden DNS-Fragments werden zwei Oligonukleotide (Primer) benötigt. Das sind Nukleinsäuresequenzen bestehend aus 20–30 Basen. Sie sind komplementär zu den DNS-Sequenzen, die die zu amplifizierende Region, zum Beispiel einen Minisatelliten, umgeben. Sie stellen am Schluss die Enden der amplifizierten DNS dar. Im ersten Schritt wird durch Hitze die DNS denaturiert. Im zweiten hybridisieren die Oligonukleotide an die flankierenden Sequenzen, und zwar je an einen der DNS-Stränge. Die Primer bilden den Verankerungspunkt für die DNS-Polymerase, die drittens aus der einzelsträngigen DNS-Matrize eine doppelsträngige DNS herstellt. Die nun verdoppelten DNS-Stränge werden erneut denaturiert, neue Primer binden an die komplementären Sequenzen, und die DNS wird wiederum synthetisiert. Die exponentielle Zunahme der Zielsequenz wird als Amplifikation bezeichnet. Sie erfolgt ab dem dritten Zyklus, wo erstmals eine korrekte Länge des Produktes auftritt.

Markern. Trotz der hohen Variabilität sind sie genügend stabil, damit die Vererbung der einzelnen Allele durch mehrere Generationen verfolgt werden kann. Durch den Einsatz der Polymerasen-Ketten-Reaktion (PCR) (Saiki et al., 1988; Hübscher, 1991) lassen sich diese Allele einfach darstellen und analysieren. Dabei werden sequenzspezifische Oligonukleotide, die die Mikrosatellitenallele flankieren, als Primer eingesetzt (Abb. 1). Die dadurch amplifizierten DNS-Fragmente lassen sich anschliessend auf einem Sequenziergel darstellen.

Diese Mikrosatelliten werden auch zur Herstellung einer genetischen Karte beim Hund eingesetzt (Ostrander et al., 1993). Durch die üblichen engen Zuchtmethoden bei Rassehunden sinkt jedoch die genetische Variabilität, was die Frage aufbringt, ob die Vielfalt noch ausreicht, um eine Anwendung dieser genetischen Marker zu ermöglichen.

Diese Methode sollte beim Berner Sennenhund eingesetzt werden, da in dieser Rasse in den letzten Jahren gehäuft Erbkrankheiten, wie z.B. Glomerulonephritis (Preiss, 1991; Reusch et al., 1991; Preiss und Arnold, 1993) oder maligne Histiocytose (Moore und Rosin, 1986) auftraten. Für die molekulargenetische Kopplungsanalyse zur Charakterisierung dieser Erkrankungen werden unter anderem zahlreiche hoch polymorphe, genetische Marker benötigt. Mikrosatelliten, die sich in Mischlingshunden und zum Teil in Beagles als hoch polymorph gezeigt hatten, wurden daher im Rahmen einer Dissertation in BSH und zum Teil in NF, eine dem BSH weitläufig verwandte Hunderasse, getestet (Werner, 1994), und die erhaltenen Daten werden hier in Kurzform dargestellt. In sehr kurzer Zeit können somit Mikrosatelliten von Hunderassen mittels PCR analysiert werden.

Tiere, Material und Methoden

Die DNS der BSH wurde aus Blutproben von 200 Hunden isoliert. Die DNS der NF, wie auch die Mikrosatellitenprimer wurden uns von Dr. E. Ostrander zur Verfügung gestellt. Zur Darstellung der Mikrosatellitenallele wurden die entsprechenden DNS-Abschnitte mittels PCR (Saiki et al., 1988; Hübscher, 1991) amplifiziert und auf einem Polyakrylamidgel der Länge nach aufgetrennt. Die Werte zur Angabe des Polymorphismus, PIC (Polymorphism Information Content), konnten durch die Anwendung eines Computerprogramms (D.Mc. Clure; Portland, Oregon; persönliche Mitteilung) errechnet werden.

PCR

Da für die PCR nur kleine Mengen DNS eingesetzt werden, wurde als eine Verdünnung (50 ng/ml) der hochmolekularen BSH-DNS in 1x TE-Puffer pH 8,0 hergestellt. Zur gleichmässigen Lösung der DNS wurden die Verdünnungen mit Hilfe eines Vortex gut gemischt.

a) Radioaktive Markierung der Mikrosatellitenprimer: Es wurde jeweils ein Primer eines Mikrosatelliten vor der PCR radioaktiv markiert. Es wurde ein Ansatz für 60 PCR-Reaktionen hergestellt. 120 pmol des Primers wurde in einem Ansatz von 20 µl mit 10 U T4-Polynukleotidkinase, 2 µl [γ - P^{32}] dATP für 30 Min bei 37 °C inkubiert und anschliessend für 10 Min bei 75 °C die Reaktion abgestoppt. Danach wurde die Probe auf Eis gestellt und kurz vor Gebrauch dem Mastermix zugefügt.

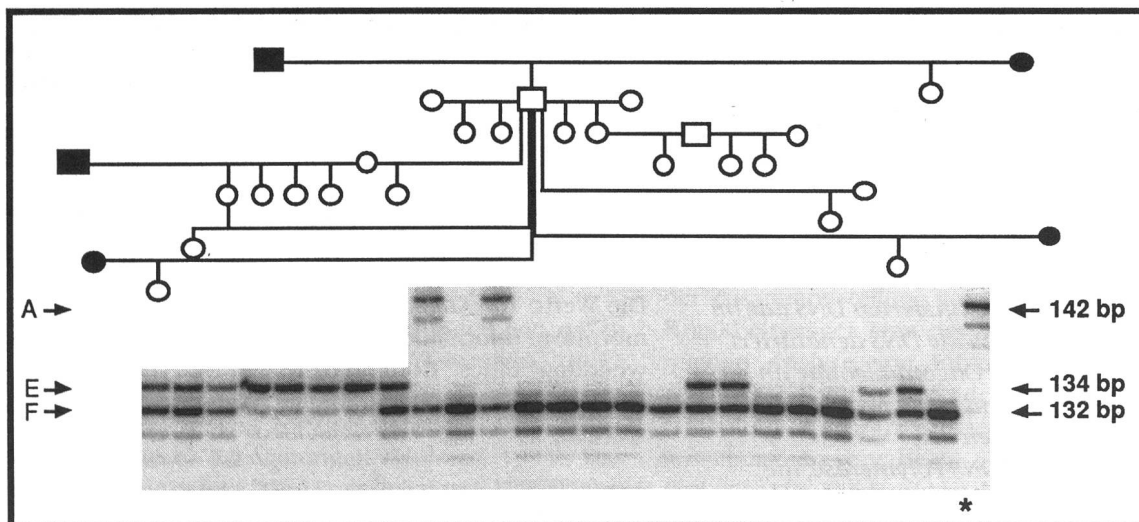
b) PCR-Reaktion: Die PCR wurde in einem Endvolumen von 10 µl ausgeführt, das folgende Komponenten enthielt: 50 ng genomische DNS, 2-4 pmol des radioaktiv markierten Primers, 2-4 pmol des korrespondierenden, nicht markierten Primers, je 0,2 mM von dATP, dTTP, dCTP und dGTP, 1,5 mM MgCl₂ und 0,15 U der Taq-Polymerase. Das Zusammenpipettieren geschah auf Eis. Danach wurde die Flüssigkeit mit 50 µl Mineralöl überlagert. Der erste Denaturierungsschritt wurde für 5 Min bei 94 °C durchgeführt, danach folgten 28 Zyklen mit 1 Min bei 95 °C, 45 Sek bei 59 °C und 1 Min bei 74 °C. Der letzte DNS-Synthese-Schritt bei 74 °C wurde auf 7 Min ausgedehnt.

c) Analyse der PCR-Produkte: Von jeder Redaktion wurde 3 µl mit 3 µl eines Formamid-Farb-Mix (95% [v/v] Formamid; 20 mM EDTA; 0,05% [w/v] Bromphenolblau; 0,05% [w/v] Xylenzyanol) gemischt und auf ein 6% Polyakrylamid/7 M Harnstoff-Gel aufgetragen. Die Elektrophorese wurde bei 55 °C für 10 Min mit 2500 Volt durchgeführt. Anschliessend wurde das Gel in 10% (v/v) Eisessig für 10 Min fixiert und nach dem anschliessenden Wässern und Trocknen für 12 h exponiert. Nach der Entwicklung des Films wurde das Gel je nach Stärke der Signale für eine längere oder kürzere Zeit erneut exponiert.

Resultate

In einer ersten Untersuchung wurden in einer Familie von 24 BSH zehn Mikrosatelliten mit Hilfe der PCR-Technik getestet, die in einer Gruppe von Mischlingshunden den höchsten Polymorphismus aufwiesen (Ostrander et al., 1993). Zwei der zehn Marker (CXX30, CXX279) zeigten keinerlei Polymorphismus, während drei weitere Marker (CXX130, CXX213, CXX110) in dieser BSH-Familie schwer zu analysieren waren. Dabei erschwerten sogenannte «Stotterbanden» das Ansprechen der richtigen Allelbanden. Diese können durch das «Verrutschen» der DNS-Polymerase an den repetitiven Sequenzen entstehen. Die restlichen fünf Marker zeigten die erwartete mendelsche Vererbung der Mikrosatellitenallele, die am Beispiel des Markers (CXX250) in Abbildung 2 dargestellt ist.

Diese fünf Marker wurden daher in 37-48 nicht verwandten BSH getestet, wobei drei dieser Marker (CXX123, CXX250, CXX140) zusätzlich in einer Gruppe (143-147 Hunde) teilweise verwandter Hunde eingesetzt wurden. Alle Experimente wurden wie in Abbildung 2 dargestellt durchgeführt. Anschliessend erfolgte die Auswertung des Polymorphismus. Die PIC-Werte der Marker wurden in den einzelnen Gruppen ausgerechnet, um unter anderem den Einfluss der Verwandtschaft auf den Polymorphismus zu prüfen. Diese Werte sind in der Abbildung 3a zusammengefasst. Generell zeigte sich bei den BSH im Vergleich zu den Mischlingshunden ein niedrigerer Polymorphismus. Ebenso konnte kein Unterschied in den PIC-Werten der zwei getesteten BSH-Populationen festgestellt werden. Dies lässt sich mit grosser Wahrscheinlichkeit auf die hohe Inzuchtrate der BSH zurückführen.



Werner et al, 1995

Abbildung 2: Mikrosatellitenanalyse in einer BSH-Familie sowie einem *Entlebucher Sennenhund. Als Mikrosatellit wurde CXX 250 verwendet. Quadrate: Rüden, Kreise: Hündinnen. Ausgefüllte Quadrate und Kreise: Tiere, die nicht getestet werden konnten. Es treten drei verschiedene Allele auf, Allel A (142bp), Allel E (134bp) und Allel F (132bp).

Tabelle 1: Allel-Verteilung von 15 Mikrosatelliten in Mischlingen, NF und BSH

Marker	Anzahl der Allele				PIC*
	Mischl. 8-12 Hde	NF 7-12 Hde	BSH 10Hde	BSH 40-43Hde	
CXX453	8	4	4	5	0.723
CXX424	7	5	3	n.g.	**
CXX366	5	2	1	2	(0.106)***
CXX629	7	2	4	4	0.637
CXX391	6	2	2	2	0.375
CXX410	6	4	4	4	0.669
CXX620	6	4	2	2	0.372
CXX618	6	4	5	6	0.657
CXX459	6	3	4	4	0.566
CXX191	5	2	2	3	0.429
CXX445	5	4	3	4	0.441
CXX314	2	1	2	2	0.024
CXX402	5	5	4	5	0.589
CXX435	4	4	2	2	0.090
CXX225	2	2	3	3	0.361

* PIC-Werte wurden nur für die BSH berechnet

** nicht berechnet, da nur 11 Tiere getestet

*** in 31 BSH getestet

n.g. nicht getestet

Im weiteren wurden 15 Mikrosatelliten, die einen hohen PIC-Wert bei den Mischlingshunden aufwiesen, in der Gruppe der nicht verwandten BSH und zusätzlich bei 12 nicht verwandten NF getestet. Die ersten Vergleiche wurden bei je 10 zufällig gewählten Tieren aus einer Mischlingspopulation, den BSH und den NF durchgeführt. Dabei fiel auf, dass die Anzahl der Allele bei den reinrassigen Hunden pro Mikrosatellit geringer ausfiel als bei den Mischlingshunden (Tab. 1). Dies änderte sich auch nicht, als eine grössere Anzahl BSH zum Vergleich herangezogen wurde. Die PIC-Werte dieser Marker für die BSH wurden in 36-40 nicht verwandten Hunden ermittelt. Neben den generell tiefen PIC-Werten, zeigte sich, dass lediglich ein Marker einen Wert über 0,7 und acht einen Wert grösser als 0,5 zeigten. Da zur Kopplungsanalyse hoch polymorphe Marker benötigt werden, die einen PIC-Wert von mindestens 0,5, jedoch idealerweise über 0,7 aufweisen sollten, können nur etwa 40% der hier getesteten Marker beim BSH praktisch eingesetzt werden.

Die Allelverteilung wie auch deren Häufigkeit variierten in den zwei getesteten reinrassigen Hundepopulationen erheblich, was in Abbildung 3b anhand des Mikrosatelliten CXX618 graphisch dargestellt ist.

Diskussion

Die grosse Vielfalt in der Morphologie der einzelnen Hunderassen zeigt sich auch genetisch in den Unterschieden der Allelverteilung und -häufigkeit der einzelnen Mikrosatelliten. Zieht man die wahrscheinliche Verwandtschaft zwischen BSH und NF und das unterschiedliche Verhalten der Mikrosatelliten in Betracht, kann davon ausgegangen werden, dass auch in anderen reinerbig

gezüchten Hunderassen ein völlig unterschiedliches Verhalten der Mikrosatelliten zu erwarten ist. Dies erschwert die Aussicht, eine generelle genetische Karte für alle Hunderassen herzustellen. Der niedrige Polymorphismus der getesteten Mikrosatelliten lässt erahnen, dass genetische Marker, die für Kopplungsanalysen in einer bestimmten Rasse herangezogen werden sollen, jeweils vorgängig für jede Rasse selektioniert werden müssen. Dies kann dank der effizienten PCR-Methode sowie der leicht erhältlichen Primer rasch durchgeführt werden.

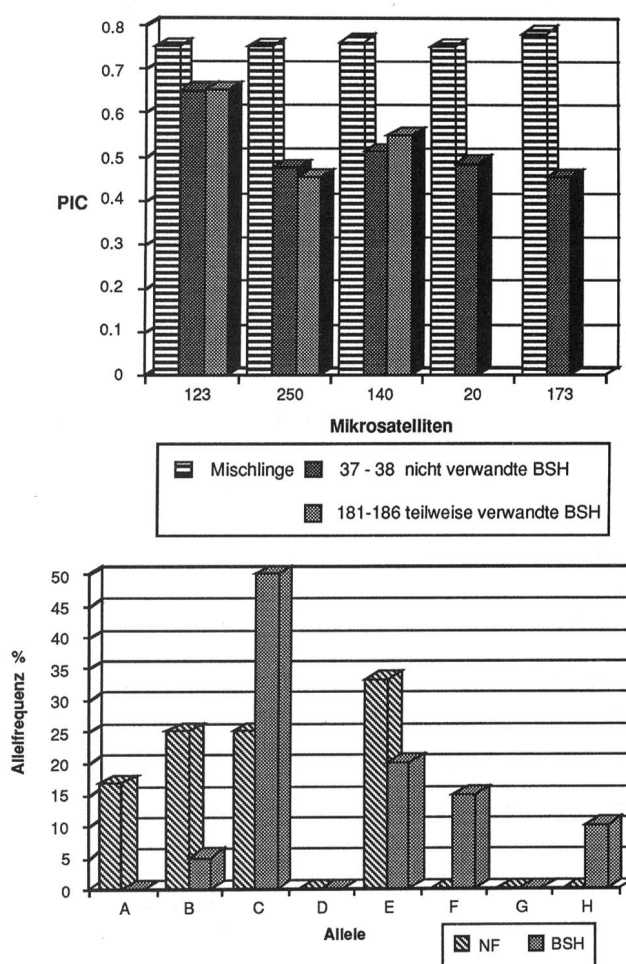


Abbildung 3: a. PIC-Werte der Mikrosatelliten in Mischlingen und BSH.

Dargestellt sind die PIC-Werte der fünf Mikrosatelliten (CXX 123, CXX 250, CXX 140, CXX 20 und CXX 173), die für 50 nicht verwandte Mischlinge und in einer Gruppe von 38 nicht verwandten BSH berechnet wurden. Zusätzlich wurden die drei Mikrosatelliten, CXX 123, CXX 250 und CXX 140, bei 144-148 teilweise verwandten BSH getestet und die PIC-Werte mit den Resultaten beider Gruppen, 181-186 Tiere, berechnet. Es fällt auf, dass die Mischlinge im Vergleich zum BSH einen höheren Polymorphismus aufweisen.

b. Allelfrequenz und -verteilung des Mikrosatelliten CXX 618 bei 10 nicht verwandten BSH sowie bei 12 nicht verwandten NF. Man beachte, dass die Allelverteilung beim BSH und NF unterschiedlich ist.

Literatur

- Edwards A. (1991): DNA typing with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am. J. Hum. Genet.* 49, 746-756.
- Ellegren H., Jobansson M., Sandberg K., Anderson L. (1992): Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse. *Anim. Genet.* 23, 133-142.
- Fries R., Eggen A., Stranzinger G. (1990): The bovine genome contains polymorphic microsatellites. *Genomics* 8, 403-406.
- Hamada H., Petrino M. G., Kakunaga T. (1982): A novel repeated element with Z-DNA forming sequences are highly dispersed in the human genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79, 6465-6469.
- Hearne C. M., Gbosh S., Todd J. A. (1992): Microsatellites for linkage analysis of genetic traits. *Trends Genet.* 8, 288-294.
- Holmes N. G. (1994): Microsatellite markers and the analysis of genetic disease. *Brit. Vet. J.* 150, 411-421.
- Holmes N. G., Mellers C. S., Humphreys S. J., Binns M. M., Holliman A., Curtis R., Sampson J. (1993): Isolation and characterization of microsatellites from the canine genome. *Anim. Genet.* 24, 289-292.
- Hübscher U. (1991): DNA-Diagnostik in der Tiermedizin: II Polymerase Kettenreaktion (PCR). *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 133, 27-31.
- Litt M., Luty J. A. (1989): A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.* 44, 397-401.
- Love J. M., Knight A. M., McAleer M. A., Todd J. A. (1990): Towards construction of a high resolution map of the mouse genome using PCR-analysed microsatellites. *Nucl. Acids Res.* 18, 4123-4130.
- Miesfeld R., Krystal M., Arnheim N. (1981): A member of a new repeated sequence family which is conserved throughout eukaryotic evolution is found between the human δ and β globin genes. *Nucl. Acids Res.* 9, 5931-5947.
- Moore P. E., Rosin A. (1986): Malignant histiocytosis of Bernese Mountain dogs. *Vet. Pathol.* 23, 1-10.
- Ostrander E. A., Jong P. M., Rine J., Duyk G. (1992): Construction of small-insert genomic DNA libraries highly enriched for microsatellite repeat sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 3419-3423.
- Ostrander E. A., Sprague G. E., Rine J. (1993): Identification and characterization of dinucleotide repeat (CA)_n markers for genetic mapping in dog. *Genomics* 16, 207-213.
- Patterson D. F. (1993): Understanding and controlling inherited diseases in dogs and cats. *Tijdschr. Diergeneesk.* 118, 23-27.
- Preiss H. (1991): Zur Glomerulonephritis beim Berner Sennenhund. Inaugural-Dissertation der Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Zürich.
- Preiss H., Arnold P. (1993): Glomerulonephritis beim Berner Sennenhund. *Hunde* 7, 479-480.
- Reusch C., Liebs M., Hörauf A., Lechner J., Minkus G., Brem G., Leutere G., Herrmann W., Kraft W. (1991): Erste Mitteilung über ein gehäuftes Auftreten von Glomerulonephritis bei jungen Berner Sennenhunden. *Tierärztl. Praxis* 19, 181-182.
- Saiki R. K., Gelfand D. H., Stoffel S., Scharf S. J., Higuchi R., Horn G. T., Ebrlich H. A. (1988): Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239, 487-491.
- Stallings R. L., Ford A. F., Nelson D., Tomey D. C., Hildebrand C. E., Moyzis R. K. (1991): Evolution and distribution of (GT)_n repetitive sequences in mammalian genomes. *Genomics* 10, 807-815.
- Steffen P., Eggen A., Dietz A. B., Womack J. E., Stranzinger G., Fries R. (1993): Isolation and mapping of polymorphic microsatellites in cattle. *Anim. Genet.* 24, 121-124.
- Tautz D. (1989): Hypervariability of simple sequences as a general source of polymorphic DNA markers. *Nucl. Acids Res.* 17, 6463-6471.
- Tautz D., Renz M. (1984): Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucl. Acids Res.* 12, 4127-4138.
- Weber J. L., May P. E. (1989): Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.* 44, 388-396.
- Weissenbach J. (1993): Microsatellite polymorphisms and the genetic linkage map of the human genome. *Curr. Op. Genet. Develop.* 3, 414-417.
- Werner P. (1994): Anwendung molekulargenetischer Analysemethoden beim Berner Sennenhund und beim Neufundländer. Inaugural-Dissertation der Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Zürich.
- Wintero A. K., Fredholm M., Thomsen P. D. (1992): Variable (dG-dT)_n / (dC-dA)_n sequences in the porcine genomes. *Genomics* 12, 281-288.

Dank

Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds, der Albert-Heim-Stiftung und dem Kanton Zürich unterstützt. Ein weiterer Dank geht an Frau Dr. E. Ostrander für die Überlassung der Mikrosatellitenprimer, P. Mapa für die Mithilfe und M. Langlois und J. Ryley für die NF-DNS.

Korrespondenzadresse: Prof. U. Hübscher, Institut für Veterinärbiochemie, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich