

Aus dem veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Martin Förster

**Genomweite eQTL-Kartierung ausgewählter
Expressionsprofile für das Merkmal Placentaretention
in Holstein-Kühen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Ruth Zeller-Adam
aus Kempten (Allgäu)

München 2013

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Martin Förster

Korreferenten: PD Dr. Nadja Herbach
Prof. Dr. Rolf Mansfeld
Prof. Dr. Bernd Kaspers
PD Dr. Stefan Bauersachs

Tag der Promotion: 09. 02. 2013

Für meine Familie

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	V
TABELLENVERZEICHNIS	VI
ANHANGSÜBERSICHT	VI
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT.....	3
2.1 Von der DNA zum Protein	3
2.1.1 Fluss der genetischen Information	3
2.1.2 Regulation der Genexpression	6
2.2 Molekulare Marker	8
2.2.1 Mikrosatelliten	8
2.2.2 <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>	9
2.3 Genomkartierung quantitativer Merkmale	10
2.3.1 Genetische und physikalische Genomkarten	10
2.3.2 Quantitative Merkmale und <i>Quantitative Trait Loci</i>	10
2.3.3 Strategien der QTL-Kartierung	11
2.3.3.1 <i>Linkage</i> -Kartierung	12
2.3.3.2 <i>Linkage disequilibrium</i> -Kartierung	14
2.3.3.3 Kombinierte <i>linkage/linkage disequilibrium</i> -Kartierung	18
2.4 eQTL-Kartierung	20
2.4.1 <i>Expression Quantitative Trait Locus</i>	20
2.4.2 Expressionsprofile als quantitative Merkmale.....	21
2.4.3 Prinzip und Strategien der eQTL-Kartierung	21
2.4.3.1 Durchführung einer eQTL-Kartierung	21
2.4.3.2 Kartierung von <i>cis</i> - und <i>trans</i> -Effekten.....	23
2.4.3.3 eQTL-Hotspots	25
2.4.4 Potentieller Nutzen aus eQTL-Studien	26
2.4.5 Limitierung von eQTL-Studien.....	27

2.5	<i>Retentio secundarium</i> des Rindes	28
2.5.1	Aufbau der bovinen Placenta	28
2.5.2	Definition	30
2.5.3	Risikofaktoren und mögliche Ursachen	30
2.5.4	Inzidenz und wirtschaftliche Bedeutung	36
2.5.5	Heritabilität und genetische Korrelation	38
2.5.6	Kartierungsstudien	39
3	MATERIAL UND METHODE	40
3.1	Material	40
3.1.1	Probenmaterial	40
3.1.1.1	Beprobte Tiere	40
3.1.1.2	Haarwurzelproben	42
3.1.1.3	Plazentomproben	42
3.1.2	Verwendete Software und Datenbanken	43
3.1.3	Geräte	43
3.1.4	Chemikalien und Reagenzien	44
3.1.5	Puffer	45
3.1.5.1	Extraktionspuffer	45
3.1.5.2	Lysispuffer K	45
3.1.5.3	PBS-Puffer	45
3.1.5.4	TE-Puffer	46
3.1.6	Verbrauchsmaterial	46
3.2	Methoden	47
3.2.1	Molekularbiologische Methoden	47
3.2.1.1	DNA-Isolierung	47
3.2.1.1.1	DNA aus Haarwurzeln	47
3.2.1.1.2	DNA aus Sperma	48
3.2.1.2	Photometrische Messungen	49
3.2.1.2.1	Photometrische Konzentrationsbestimmung der DNA	49
3.2.1.2.2	Photometrische Qualitätskontrolle der DNA	49
3.2.1.3	Genotypisierung	50

3.2.1.4	Auswahl informativer Marker	51
3.2.1.5	Erstellung von mRNA-Expressionsprofilen	52
3.2.2	Bioinformatische und statistische Methoden	54
3.2.2.1	Prozessierung und Normalisierung der Expressionsdaten	54
3.2.2.2	Haplotypisierung	54
3.2.2.3	Genomweite IBD-Wahrscheinlichkeiten und Hauptkomponentenanalyse	55
3.2.2.4	Locus IBD-Wahrscheinlichkeiten und <i>Diplotype Relationship Matrix</i>	56
3.2.2.5	Varianzkomponentenanalyse zur kombinierten <i>linkage/linkage disequilibrium</i> eQTL-Kartierung	59
3.2.2.6	<i>Likelihood Ratio</i> Teststatistik	60
3.2.2.7	Signifikanzniveaus	61
3.2.2.8	Auswahl von Expressionsprofilen für die eQTL-Kartierung	62
4	ERGEBNISSE	65
4.1	eQTL-Kartierung in MODEL1	66
4.1.1	Signifikante eQTLs	66
4.1.2	Kartierende Expressionsprofile	67
4.1.3	<i>cis-</i> und <i>trans</i> -eQTLs	68
4.2	eQTL-Kartierung in MODEL2	69
4.2.1	CXCL3	71
4.2.2	MMP25	73
4.2.3	MIR379	75
4.2.4	BNIP3	77
4.2.5	MAN1C1	78
4.2.6	SLC10A1	80
4.2.7	FADD	81
4.2.8	TIMP1	81
4.3	Diplotypeeffekte und Haplotypen in signifikanten Haplotypfenstern....	83

5	DISKUSSION.....	88
5.1	Aussagekraft der vorgelegten eQTL-Studie	88
5.2	Relevanz der in MODEL2 signifikanten eQTLs.....	91
5.2.1	Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von <i>CXCL3</i> durch zwei eQTL-Regionen	92
5.2.2	Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von <i>MMP25</i> und <i>MAN1C1</i>	95
5.2.3	Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von <i>BNIP3</i>	98
5.2.4	Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von <i>SLC10A1</i>	100
5.2.5	Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von <i>TIMP1</i>	103
5.2.6	Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von <i>FADD</i> und <i>MIR379</i>	105
5.2.7	Resümee	108
5.3	Komplexität der Erkrankung Placentaretention	109
5.4	Möglichkeiten zur Nutzung der erzielten Ergebnisse	110
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	112
7	SUMMARY	115
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	117
9	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	132
10	ANHANG	138

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: Von der DNA zum Protein	5
Abb. 2: Schematische Darstellung der Entstehung des <i>linkage disequilibrium</i> ausgehend von einer einzelnen Mutation in einem gemeinsamen ancestralen Chromosom.....	16
Abb. 3: Pipeline einer Expression QTL Analyse.....	23
Abb. 4: Schematische Darstellung der Kartierung in <i>cis</i> und <i>trans</i>	24
Abb. 5: Knopfförmiges Plazentom des Rindes.....	29
Abb. 6: Schematische Darstellung zum Ablauf einer Genotypisierung mittels Bead Chip.....	51
Abb. 7: Schematische Darstellung der Funktionsweise des GeneChip® Bovine Gene 1.0 ST Array (Affymetrix©)	53
Abb. 8: Berechnung der <i>Loc/BD</i> nach MEUWISSWEN und GODDARD (2001) ...	57
Abb. 9: Verteilung der 40280 40 SNP-Fenster über das Rindergenom.....	58
Abb. 10: Schematische Darstellung des Zustandekommens eines signifikanten eQTL in MODEL1, der sich in MODEL2 nicht als signifikant mit Placentaretention in Zusammenhang stehend erweist	63
Abb. 11: Schematische Darstellung des Zustandekommens eines signifikanten eQTL in MODEL1, der sich in MODEL2 als signifikant mit Placentaretention in Zusammenhang stehend erweist	64
Abb. 12: Absolute und relative Häufigkeiten der 913 signifikanten eQTLs in MODEL1 verteilt auf die 29 Autosome des Rindes.....	67
Abb. 13: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil CXCL3 entlang BTA13.....	71
Abb. 14: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil CXCL3 entlang BTA18.....	72
Abb. 15: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil MMP25 entlang BTA14.....	73
Abb. 16: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil MMP25 entlang BTA20.....	74
Abb. 17: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil MIR379 entlang BTA24.....	75

Abb. 18:	Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil MIR379 entlang BTA28	77
Abb. 19:	Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil BNIP3 entlang BTA04.....	78
Abb. 20:	Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil MAN1C1 entlang BTA14	79
Abb. 21:	Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil SLC10A1 entlang BTA21.....	80
Abb. 22:	Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil FADD entlang BTA24	82
Abb. 23:	Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil TIMP1 entlang BTA26	83

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	Studientiere sortiert nach Fall- und Kontrolltierstatus mit genotypisierten Elterntieren	41
Tabelle 2:	Signifikante <i>cis</i> -eQTLs in MODEL1	69
Tabelle 3:	Signifikante eQTLs nach Analyse in MODEL1 und MODEL2.....	70
Tabelle 4:	Diplotypeneffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von MMP25 auf BTA20	86
Tabelle 5:	Diplotypeneffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von SLC10A1 auf BTA21	87

ANHANGSÜBERSICHT

Anhang 1:	299 ausgewählte Expressionsprofile	138
Anhang 2:	Signifikante eQTLs in MODEL1	150
Anhang 3:	Kontingenztafel der absoluten Häufigkeiten der detektierten eQTLs je Expressionsprofil (Profil) und Chromosom (BTA.....	168
Anhang 4:	Diplotypeneffekte und Haplotypen in signifikanten 40 SNP-Fenstern.....	176
Anhang 4.1:	Diplotypeneffekte und Haplotypen im signifikanten	

	40 SNP-Fenster von BNIP3 auf BTA04.....	176
Anhang 4.2:	Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von CXCL3 auf BTA13	176
Anhang 4.3:	Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von MMP25 auf BTA14.....	177
Anhang 4.4:	Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von MAN1C1 auf BTA14	177
Anhang 4.5:	Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 0 SNP-Fenster von CXCL3 auf BTA18	178
Anhang 4.6:	Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von TIMP1 auf BTA26	178
Anhang 4.7:	Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von FADD auf BTA24	179
Anhang 4.8:	Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von MIR379 auf BTA24	179
Anhang 4.9:	Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von MIR379 auf BTA28	180

1 EINLEITUNG

Die Placentaretention, definiert als verzögerte Ablösung der Nachgeburt nach Ausstoßung der Frucht, zählt zu den häufigsten Störungen des Puerperiums bei Milchkühen. Bei 4 - 18 % aller Abkalbungen ist eine nachfolgende Placentaretention zu beobachten (HAN & KIM, 2005). Diese bedingt durch direkte negative Folgen am Geburtsapparat der Kuh sowie durch ein erhöhtes Risiko für das Entstehen von Endometritis, Metritis, Ketose und Mastitis (BEAGLEY et al., 2010) erhebliche wirtschaftliche Einbußen für den Landwirt. Trotz intensiver Forschung auf diesem Gebiet sind die ursächlichen Prozesse der Placentaretention auf molekularer Ebene noch nicht vollständig geklärt. Neben Tiergesundheit und ökonomischen Gesichtspunkten gewinnt der Aspekt der Lebensmittelsicherheit im Umgang mit landwirtschaftlichen Nutztieren zunehmend an Bedeutung. So könnten durch Klärung der Pathogenese der Placentaretention neue prophylaktische oder therapeutische Ansätze entwickelt werden, die eine Verringerung des Antibiotika-Einsatzes erlauben.

Die Genomkartierung quantitativer Merkmale (QTL-Kartierung) wird bei landwirtschaftlichen Nutztieren seit mehreren Jahrzehnten erfolgreich eingesetzt, um Kandidatengenregionen (QTLs) zu identifizieren, die die Ausprägung eines interessierenden Merkmals beeinflussen. Eine Kombination aus Transkriptom- und Genotypdaten ermöglicht im Rahmen der sogenannten *expression QTL* (eQTL)-Kartierung einen zusätzlichen Informationsgewinn über beteiligte Gene, ihre Wirkmechanismen und über genetische Netzwerke, die diesen Merkmalen zugrunde liegen (DAI et al., 2009).

Ziel dieser Arbeit ist es, mittels genomweiter eQTL-Kartierung Genomregionen zu entdecken, die an der Regulation einer veränderten Transkription zwischen Kühen mit physiologischem Geburtsverlauf und Kühen, die *post partum* eine Placentaretention entwickelten, beteiligt sind. Dabei soll die Kartierung der mRNA-Expressionsprofile, gewonnen aus Plazentomproben, mittels einer kombinierten Kopplungs- und Kopplungsungleichgewichtskartierung erfolgen (MEUWISSEN et al., 2002). Durch die Anwendung eines zweistufigen Modells zur Varianzkomponen-

tenanalyse soll eine Aussage über den Einfluss des Merkmals Placentaretention auf das Expressionsniveau untersuchter Gene getroffen werden. Die auf diese Weise detektierten eQTLs sollen einen Beitrag zum verbesserten Verständnis der Pathogenese der Placentaretention leisten und eine Basis für weitere Untersuchungen dieser Erkrankung bieten.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Von der DNA zum Protein

2.1.1 Fluss der genetischen Information

Im Jahr 1953 wurde die Struktur der Desoxyribonukleinsäure (DNA) von WATSON und CRICK (1953) entschlüsselt. Die DNA liegt im Zellkern als Doppelhelix vor, deren zwei Polynukleotidstränge sich um eine gemeinsame Achse winden, jedoch antiparallel ausgerichtet sind.

Jedes Nukleotid besteht aus einer stickstoffhaltigen Base, einem Zuckermolekül (Desoxyribose) und einer Phosphatgruppe. Verwendung finden neben den Purinbasen Adenin (A) und Guanin (G) die Pyrimidinbasen Cytosin (C) und Thymin (T). Jede Desoxyribose trägt an Position 5 einen Phosphatrest, während die Verknüpfung mit einer der genannten Basen über eine N-glycosidische Bindung an Position 1 erfolgt. Zur Kette verbunden werden die Nukleotide über eine Phosphodiesterbindung zwischen der 5'-Hydroxylgruppe einer Desoxyribose mit der 3'-Hydroxylgruppe der nächsten Desoxyribose. Die allgemein anerkannte und verwendete Schreibweise für Nukleotidsequenzen läuft in 5' → 3'-Richtung. Innerhalb der Doppelhelix stehen sich stets A und T beziehungsweise G und C komplementär gegenüber (STORCH et al., 2007). „Die Basen der DNA tragen die genetische Information, während die Zucker- und Phosphatgruppen eine strukturelle Aufgabe erfüllen“ (STRYER, 1995).

„Die Informationsübertragung in der Zelle erfolgt mittels Ribonukleinsäuren (RNA, ribonucleic acid)“ (JANNING & KNUST, 2008). Hauptunterscheidungsmerkmale der RNA im Vergleich zur DNA sind die Verwendung der Pyrimidinbase Uracil (U) und Ribose anstelle von T und Desoxyribose sowie das Vorliegen als Einzelstrang (STORCH et al., 2007; JANNING & KNUST, 2008). Nach Funktion oder Lokalisation werden verschiedene Klassen von RNA unterschieden (GRIFFITHS et al., 2008; JANNING & KNUST, 2008):

- *messenger RNA* (mRNA): Sie enthält die in der DNA kodierte Information für die Bildung von Polypeptiden (Proteinen) und wird mittels *Processing* (siehe folgender Absatz) aus Primärtranskripten (heterogene nukleäre RNA (hnRNA)) gebildet. Ihr Anteil an der Gesamt-RNA beläuft sich auf 1 - 5 %.
- *Ribosomale RNA* (rRNA): Sie stellt die Hauptkomponente der Ribosomen dar. Mit einem Anteil von circa 90 % aller RNAs ist sie die am häufigsten vorkommende Klasse zellulärer Ribonukleinsäuren.
- *Transfer RNA* (tRNA): tRNA dient als Transporteur der Aminosäuren bei der Translation.
- *Small nuclear RNA* (snRNA): Sie ist Teil des Spleißosoms und daher am *Processing* der mRNA beteiligt.
- Daneben gibt es noch viele weitere kleine RNAs wie *microRNA* (miRNA), *small interfering RNA* (siRNA) oder *small nucleolar RNA* (snoRNA).

Für die Synthese der RNA, Transkription genannt, wird die DNA als Matrize verwendet. Dieser Vorgang wird von DNA-abhängigen RNA-Polymerasen katalysiert, wobei für die Transkription eukaryotischer Gene die Polymerase II verantwortlich ist. Den Startpunkt stellt hier der sogenannte Promotor aus 20 - 200 Basenpaaren (bp) in Nachbarschaft zum zu transkribierenden Bereich dar. Nach lokal begrenzter Entwindung der DNA-Doppelhelix bilden mehrere Transkriptionsfaktoren zusammen mit dem Promotor den basalen Initiationskomplex, sodass die RNA-Polymerase II ihre Arbeit aufnehmen kann. Während der Verlängerung des Ribonukleotidstranges (Elongation) erfolgt die Ablesung des Matrizenstranges in 5' → 3'-Richtung. Eine Termination der Transkription erfolgt durch Spaltung des Primärtranskripts. Durch mehrere nun folgende Schritte (*Processing*) reift die hnRNA im Zellkern zur fertigen, translatierbaren mRNA heran. Am 5'-Ende wird ein modifiziertes Guanosin, das 7-Methylguanosen, angefügt; dieser Vorgang nennt sich „*capping*“. Das 3'-Ende wird ebenfalls modifiziert, indem ein Poly-A-Schwanz, der nicht in der DNA kodiert ist, nach Beendigung der Transkription angehängt wird. Dieser Poly-A-Schwanz nimmt Einfluss auf die Stabilität der mRNA und Regulation der Translation. Beim Spleißvorgang in den Spleißosomen, bestehend aus Proteinen und snRNAs, werden schließlich Intronbereiche (nicht-

proteinkodierende Bereiche) aus dem Primärtranskript entfernt und die Exons (proteinkodierende Bereiche) verknüpft (NEWMAN, 1998; JOHNSON & VILARDELL, 2012).

Die reife mRNA wird daraufhin zu den Ribosomen transportiert. Dort wird die genetische Information in Proteine übersetzt (Translation). Je ein Basentriplett, auch Codon genannt, kodiert für eine spezifische Aminosäure; dabei gibt es für die meisten Aminosäuren mehrere Codons. Drei der 64 möglichen Codons, nämlich UAA, UAG und UGA, kodieren nicht für eine Aminosäure, sondern dienen als Terminationssignale (STRYER, 1995).

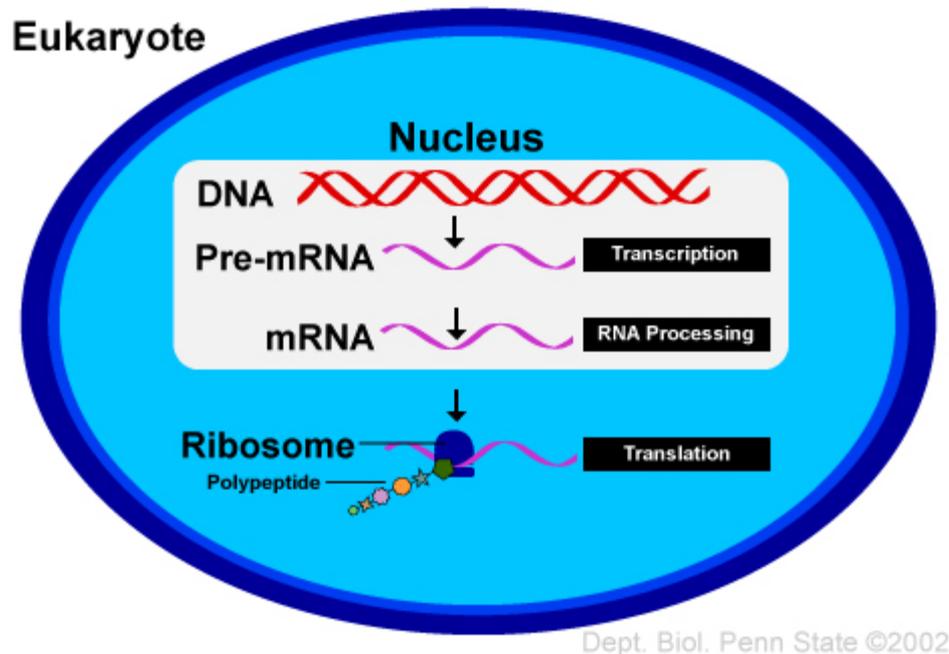


Abb. 1: Von der DNA zum Protein

In eukaryotischen Zellen erfolgen RNA- und Proteinbiosynthese räumlich und zeitlich getrennt. Nach Transkription und Prozessierung der RNA im Zellkern wird die fertige mRNA zu den Ribosomen, die im Cytoplasma lokalisiert sind, transportiert und dort translatiert.

(https://wikispaces.psu.edu/download/attachments/54886630/transcription_translation.jpg)

2.1.2 Regulation der Genexpression

Die Steuerung der Differenzierung von Stammzellen in verschiedene Zelltypen während der Entwicklung einerseits sowie die Adaptation einer Zelle an sich verändernde Anforderungen und Umwelteinflüsse während ihrer Lebenszeit andererseits bedürfen einer Kontrolle der Genexpression (NESTLER & HYMAN, 2002). Hierfür kann entweder eine Limitierung der mRNA-Menge, die von einem bestimmten Gen produziert wird, erfolgen, oder - auf post-transkriptionaler Ebene - die Translation der mRNA reguliert werden (PHILLIPS, 2008).

Im inaktiven Zustand liegt die DNA stark kondensiert vor und muss entwunden werden, um Genaktivität zu ermöglichen. Die erste Ebene der Verpackung der DNA stellen die Nukleosomen, bestehend aus circa 200 DNA-Basenpaaren und einem Histonoktamer, dar (STRYER, 1995). Die Gesamtheit der Nukleosomen wird Chromatin genannt (KORNBERG & LORCH, 1992). Durch die Struktur des Chromatins kann der Zugang von Transkriptionsfaktoren zur DNA verhindert und somit die Genexpression unterdrückt werden. Dies trägt in bedeutendem Maße zum restriktiven Grundzustand der Transkriptionsmaschinerie in eukaryotischen Organismen bei (STRUHL, 1999). Erst nach strukturellen Änderungen im Chromatin durch Interaktionen desselbigen mit Aktivatorproteinen werden Promotorregionen (bei Eukaryoten enthalten diese sehr häufig eine sogenannte TATA-Box-Sequenz) für Transkriptionsfaktoren zugänglich und die Konstruktion eines komplexen Proteingebildes, das zur Positionierung der erforderlichen RNA-Polymerase nötig ist, wird ermöglicht (NESTLER & HYMAN, 2002). Transkriptionsfaktoren als regulatorische Proteine dienen der Aktivierung oder seltener der Inhibierung der Transkription. Mit Hilfe ihrer DNA-bindenden Domänen, die hohe Affinität zu ihren Zielsequenzen aufweisen, binden sie spezifisch an die DNA. Für die Regulation der Genexpression ist ein koordiniertes Zusammenwirken multipler Proteine von Nöten (PHILLIPS, 2008).

Ein weiterer weit verbreiteter Signalmechanismus, der Gene in inaktivem Zustand hält, ist die DNA-Methylierung. Dabei wird ausschließlich die Base Cytosin zu 5-Methylcytosin mit Hilfe des Enzyms DNA-Methyltransferase methyliert. Meist stellt die Methylierung eine stabile Langzeitveränderung dar. Auch wenn der exakte

Wirkmechanismus noch nicht geklärt werden konnte, wurde bereits eine signifikant unterschiedlich starke Methylierung in Promotorregionen zwischen verschiedenen Zelltypen gezeigt und auf eine kausale Beteiligung an der Modulierung der Genexpression hingewiesen (SUZUKI & BIRD, 2008).

Auch Steroidhormone (Östradiol, Progesteron, Cortisol u. a.) sind in der Lage, das Muster der Genexpression zu verändern. Ihre lipophilen Eigenschaften ermöglichen ihnen das Eindringen in eine Zelle und nachfolgend die Bindung an spezifische Rezeptoren im Cytoplasma. Diese Hormon-Rezeptorkomplexe gelangen anschließend in den Zellkern und binden dort wiederum an spezifische DNA-Stellen. Dies führt zu Induktion oder Repression der Transkription eines eigenen Satzes von bis zu 100 Genen (STRYER, 1995).

Seit wenigen Jahren wird der Fokus molekularbiologischer Studien stark auf die Erforschung von microRNAs (miRNAs) gerichtet. Diese ungefähr 21 Nukleotide langen, nichtkodierenden RNAs gelten als außerordentlich wichtige Regulatoren der Genexpression auf posttranskriptionaler Ebene (FABIAN et al., 2010). Einer Schätzung von FRIEDMAN et al. (2009) zufolge sind über 60 % aller humanen proteinkodierenden Gene Zielobjekte für miRNAs. Zudem sind sie an beinahe allen bis heute untersuchten zellulären Prozessen, beispielsweise Proliferation, Differenzierung, Apoptose, Entzündungsreaktionen u. a., beteiligt (FILIPOWICZ et al., 2008). MicroRNAs sind in der Lage, die Proteinsynthese zu unterbinden, indem sie entweder die Translation einer Target-mRNA verhindern oder deren Deadenylierung ermöglichen, welche eine Degradation der mRNA zur Folge hat. Eine einzelne miRNA ist im Stande, die Expression mehrerer Gene zu regulieren. Dabei kann ein Target-Gen auch von mehreren miRNAs beeinflusst werden (BARTEL, 2004; SELBACH et al., 2008). Bisherige Erkenntnisse zu den Wirkmechanismen und Funktionen der miRNAs werden von FILIPOWICZ et al. (2008) und von FABIAN et al. (2010) zusammenfassend dargestellt.

2.2 Molekulare Marker

Um eine individuelle Unterscheidbarkeit von Genomabschnitten zu erreichen, werden für genetische Untersuchungen natürlich vorkommende Polymorphismen – sogenannte Marker – eingesetzt (CICHON, 2002). Als DNA-Polymorphismen werden Sequenzvariationen bezeichnet, die innerhalb einer Population mit einer Frequenz größer einem Prozent auftreten (KNIGHT, 2005). Genetische Marker sollten mehrere Eigenschaften erfüllen: Ihre Positionen im Genom sollten bekannt und eine gleichmäßige Verteilung gegeben sein, um alle chromosomalen Bereiche abzudecken. Zur Gewährleistung der Informativität eines Markers ist zudem eine möglichst hohe Heterozygotierate von Vorteil (CICHON, 2002; GELDERMANN, 2005).

In den 1970er beziehungsweise 1980er Jahren wurde mit Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLPs) und Minisatelliten (auch *variable number of tandem repeats*, VNTRs, genannt) gearbeitet. Heute werden Mikrosatelliten und vor allem *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) eingesetzt (CICHON, 2002). Aufgrund der größeren Bedeutsamkeit der beiden letztgenannten in heutiger Zeit, werden im Folgenden nur diese genauer betrachtet.

2.2.1 Mikrosatelliten

Aufgrund ihrer Struktur, die durch die Aneinanderreihung repetitiver Sequenzen gekennzeichnet ist, werden Mikrosatelliten auch „*simple sequence repeats*“ (SSR; LI et al., 2002) oder „*short tandem repeats*“ (STR; STORCH et al., 2007) genannt. Es existiert eine große Anzahl von Mikrosatelliten; sie machen etwa 2 % des Genoms aus (STORCH et al., 2007). Ihre Grundeinheit besteht aus 1 – 11 Nukleotiden, die bis zu 100mal wiederholt wird, wobei Dinukleotidsequenzwiederholungen, und innerhalb dieser Gruppe CA-Repeats, am häufigsten vorkommen (BUSELMAIER & TARIVERDIAN, 2007; GRIFFITHS et al., 2008). STR sind größtenteils in nichtkodierenden DNA-Abschnitten lokalisiert (LI et al., 2002; BUSELMAIER & TARIVERDIAN, 2007). Eine deutliche Instabilität aufgrund häufi-

ger Mutationen ist wegen der Tandemanordnung innerhalb der Mikrosatelliten-DNA zu beobachten (BUDDECKE, 2002). Mikrosatelliten werden vor allem zur Identifizierung von Individuen, für Vaterschaftstests und Populationsuntersuchungen sowie für Genomkartierungen eingesetzt (STORCH et al., 2007). Vorteilhaft für Kopplungsanalysen (siehe Kap. 3.3) sind ihre gleichmäßige Verteilung im Genom, ihre relativ leichte Nachweisbarkeit und ihre interindividuelle Variabilität (BUDDECKE, 2002; CICHON, 2002).

2.2.2 *Single Nucleotide Polymorphisms*

SNPs (sprich „snips“) entstehen durch Mutation eines einzelnen Basenpaares, d. h. durch Austausch einzelner Nukleotidbausteine, und stellen den meist verbreiteten Typ der Sequenzvariation im Genom dar (BUDDECKE, 2002; CICHON, 2002). Genomweit tritt durchschnittlich alle 800 bp ein SNP auf (KNIGHT, 2005). So können etwa 90 % der genetischen Diversität im menschlichen Genom durch SNPs erklärt werden (BUDDECKE, 2002). Die Lage der SNPs ist variabel; sie können in kodierenden Bereichen liegen und dort teilweise die Genfunktion verändern oder in nicht-kodierenden DNA-Abschnitten lokalisiert sein. Auch wenn letztere keinen direkt messbaren Einfluss auf die phänotypische Ausprägung nehmen, sind sie von großem Nutzen für Genomkartierungen. Durch ihre niedrigere Mutationsrate im Vergleich zu Mikrosatelliten (LANDEGREN et al., 1998) und ihrem häufigeren Auftreten ist es möglich, dass sich ein oder mehrere SNPs im Kopplungsungleichgewicht (siehe Kap. 3.3.) mit einem Genombereich, der den Phänotyp eines bestimmten Merkmals beeinflusst, befinden. Auf diese Weise wird die Kartierung eines solchen Genombereichs ermöglicht (GRIFFITHS et al., 2008).

Innerhalb des circa drei Milliarden bp umfassenden Rindergenoms finden sich etwa 2,5 Millionen polymorpher Stellen (BRADE, 2010). Technologische Fortschritte machen eine effiziente Genotypisierung anhand einer großen Anzahl von SNPs auch bei Nutztieren möglich (ARIAS et al., 2009).

2.3 Genomkartierung quantitativer Merkmale

2.3.1 Genetische und physikalische Genomkarten

Das Ziel einer Genomkartierung ist es, Aussagen über die Anordnung von Erbanlagen auf den Chromosomen zu treffen (GELDERMANN, 2005).

Die Ergebnisse der Genomkartierungsstudien werden in Genomkarten festgehalten. Diese geben die lineare Anordnung der Gene auf den Chromosomen wieder. Es sind zwei Arten von Genomkarten zu unterscheiden. Bei der genetischen Kartierung, auch Kopplungskartierung, Kopplungsanalyse oder *linkage mapping* genannt, erfolgt eine Schätzung der relativen Markerabstände, indem die prozentuale Häufigkeit der *Crossing over*-Ereignisse pro Meiose zwischen zwei Markern, d. h. die Rekombinationsrate, bestimmt wird. Die Rekombinationsrate wird in der Einheit Centimorgan (cM, siehe auch Kap. 2.3.3.1) angegeben. Die physikalische Kartierung gibt die Positionen von Genloci in absoluten Werten, gemessen in bp an. Es existiert keine allgemeingültige Umrechnungsformel von cM in bp. Allerdings wurden einige Markerloci in beiden Karten kartiert, wobei sich gezeigt hat, dass 1 cM etwa 1 Megabase (Mb) entspricht. Diese Aussage muss jedoch mit Vorsicht verwendet werden, denn die Rekombinationsraten variieren zwischen Chromosomenregionen (GELDERMANN, 2005; QANBARI et al., 2010). Einige Studien aus dem Humanbereich (z. B. JEFFREYS et al. (2001)) geben Hinweise darauf, dass die meisten *Crossing over* an sogenannten „Hotspots“ stattfinden (ABECASIS et al., 2005; JEFFREYS & NEUMANN, 2009).

2.3.2 Quantitative Merkmale und *Quantitative Trait Loci*

Viele interessante und wichtige Gesundheits- und Leistungsmerkmale bei Nutztieren wie zum Beispiel Fruchtbarkeit oder Milchleistung sind sogenannte quantitative Merkmale (*Quantitative Traits*; ANDERSSON & GEORGES, 2004; OLSEN et al., 2004). Im Gegensatz zu qualitativen Merkmalen wie Geschlecht oder einige Fellfarben zeigen quantitative Merkmale eine kontinuierliche Verteilung ihrer phä-

notypischen Messwerte (ANDERSSON, 2001; GODDARD & HAYES, 2009). Ihre Ausprägung wird gewöhnlich von einer unbekanntem Anzahl von Genen, sowie von Umweltfaktoren beeinflusst, weshalb die Vererbung quantitativer Merkmale als komplex anzusehen ist (ANDERSSON, 2001; ANDERSSON & GEORGES, 2004; OLSEN et al., 2004; GODDARD & HAYES, 2009).

Als *Quantitative Trait Loci* (QTLs) werden Abschnitte der DNA definiert, die ein oder mehrere Gene beinhalten, deren Varianten (QTL-Allele) auf die Ausprägung eines quantitativen Merkmals messbaren Einfluss nehmen (GELDERMANN, 1975; ANDERSSON, 2001; WOLF, 2005). Mit Hilfe einer QTL-Kartierung können also Beziehungen zwischen Genomregionen und der Ausprägung quantitativer Merkmale bestätigt werden (GELDERMANN, 2005), indem der Nachweis erbracht wird, dass „signifikante Unterschiede in der Merkmalsausprägung zwischen Individuen partiell auf unterschiedliche QTL-Allele zurückzuführen sind“ (WOLF, 2005). QTLs für ein Merkmal liegen in vielen Fällen auf verschiedenen Chromosomen, sind also über das Genom verteilt (GRIFFITHS et al., 2008).

Der Genomanalyse quantitativer, multifaktoriell beeinflusster Merkmale kommt bei landwirtschaftlichen Nutztieren eine besondere Bedeutung zu, da monogen bedingte Erbkrankheiten zumeist durch Zuchtausschluss der Elterntiere und der betroffenen Tiere eliminiert werden können (ANDERSSON, 2001). Außerdem ergeben sich durch die Identifikation von kausalen Genen für komplexe Merkmale nicht nur neue Erkenntnisse für das Verstehen der Phänotypätiologie (WANG et al., 2005), sondern auch praktische Verbesserungen in Zuchtprogrammen (GODDARD & HAYES, 2009).

2.3.3 Strategien der QTL-Kartierung

Studien zur Kartierung von genetischen Varianten, die die Prädisposition für das Auftreten eines polygen bedingten Merkmals erhöhen, basieren auf zwei wichtigen Ansätzen: Die Kopplungsanalyse und die Assoziationsanalyse mit Markern, die sich im Kopplungsungleichgewicht befinden (HAINES & PERICAK-VANCE, 2005; HIRSCHHORN, 2005).

Im Folgenden werden Kopplungs-, Kopplungsungleichgewichts- sowie die kombinierte Kopplungs-/Kopplungsungleichgewichtskartierung von Genen als Strategien der QTL-Kartierung besprochen.

2.3.3.1 **Linkage-Kartierung**

Linkage (Kopplung) weist auf die Tendenz zweier oder mehrerer genetischer Loci hin während der Meiose, aufgrund der geringen Distanz zwischen ihren Positionen im Genom, gemeinsam an den Nachkommen vererbt zu werden (BAILEY-WILSON & WILSON, 2011). Ein Phänotyp und ein genetischer Marker, die überdurchschnittlich häufig in Familien co-segregieren, werden als gekoppelt bezeichnet (ZIEGLER, 2002). Das Phänomen der Kopplung stellt somit eine Verletzung des Mendel'schen Gesetzes der unabhängigen Vererbung dar (BAILEY-WILSON & WILSON, 2011).

BAILEY-WILSON und WILSON (2011) geben eine Zusammenfassung über den Ablauf einer Rekombination. Das Auftreten von Rekombinationen zwischen syntänischen Loci (genetische Loci, die sich auf demselben Chromosom befinden) wurde von BATESON und PUNNETT (1906) beobachtet. Während der ersten meiotischen Prophase kommt es zur Paarung von replizierten homologen Chromosomen (Synapsis) und in deren Folge zu einem Austausch von chromosomalem Material zwischen den homologen Chromosomen. Dieser Vorgang wird als „*Crossing Over*“ bezeichnet (MULLER, 1916). Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von *Crossing Over*-Ereignissen ist stark von der Distanz zwischen den betrachteten Loci abhängig (MORGAN, 1911; STURTEVANT, 1913). „Die Rekombinationsrate misst den Anteil der Rekombinationen, die zwischen zwei Loci in einer Gruppe von Nachkommen beobachtet wurden“ (BAILEY-WILSON & WILSON, 2011). Während die Wahrscheinlichkeit für ein *Crossing Over*-Ereignis (und damit die Rekombinationsfrequenz) für sehr eng benachbart liegende Loci nahezu Null ist, wird für weit entfernt liegende Genloci oder Genloci auf verschiedenen Chromosomen die Rekombinationsrate 0.5 betragen (BAILEY-WILSON & WILSON, 2011). Letzteres impliziert eine unabhängige Vererbung. Werte zwischen den bei-

den Extremfällen „vollständig gekoppelt“ und „unabhängig vererbt“ geben den Grad der vorhandenen Kopplung an.

Die relativen Abstände zwischen betrachteten Loci werden in Kopplungskarten zu Ehren von Thomas Hunt Morgan meist in Centimorgan (cM) angegeben. Dabei entspricht ein cM einer Rekombinationsrate von einem Prozent (GRIFFITHS et al., 2008). Mit Hilfe von Kartierungsfunktionen, bekannte Vertreter sind die Schätzformel nach KOSAMBI (1944) und die Funktion nach HALDANE (1919), wird aus der Rekombinationsrate der Abstand in cM berechnet.

„Die Kopplungsanalyse wurde entwickelt, um überdurchschnittliche Co-Segregation von vermeintlichen Allelen, die einem Phänotyp unterliegen, mit Markerallelen in Familiendaten zu detektieren“ (BAILEY-WILSON & WILSON, 2011), indem Informationen aus Rekombinationsereignissen, die zwischen zwei Markern auftraten und an den Nachkommen weitergegeben wurden, genutzt werden (LUND et al., 2003).

Hierfür werden unterschiedliche Familiendesigns verwendet. Die gebräuchlichsten Designs zur Kartierung von QTLs in Rinderpopulationen sind das *Daughter Design* und das *Granddaughter Design* (GDD, AWAD et al., 2010). Große paternale Halbgeschwister-Familien werden routinemäßig durch künstliche Besamung erzeugt, weshalb die Möglichkeit besteht, bereits registrierte Phänotypwerte für die Kartierung zu nutzen (DE KONING et al., 2003; AWAD et al., 2010). Im *Daughter Design* werden Markergenotypen und Phänotypen von Töchtern eines heterozygoten Bullen betrachtet, im GDD werden die Söhne eines heterozygoten Bullen genotypisiert und die Phänotypwerte an Töchtern der genotypisierten Söhne (also an „granddaughters“) erhoben (WELLER et al., 1990). Durch den Einsatz der künstlichen Besamung ist es möglich, Hunderte von Nachkommen pro Bulle zu generieren. Dies macht den Einsatz der genannten Designs zu einer kraftvollen Methode der Analyse bei landwirtschaftlichen Nutztieren – im Gegensatz zu Untersuchungen innerhalb humaner Familien (GODDARD & HAYES, 2009). Auch komplexe Pedigrees können erfolgreich zur Kartierung quantitativer Merkmale eingesetzt werden. Im Vergleich zu unabhängigen Kern-

familien enthalten sie mehr Kopplungsinformation und ermöglichen eher die Identifikation von Genotypisierungsfehlern (GARNER et al., 2001).

Eine Limitierung bei der QTL-Kartierung mittels Kopplungsanalyse tritt unter anderem durch die fehlende Genauigkeit der Positionsangabe eines vermeintlichen QTL auf. Aufgrund der geringen Anzahl von Rekombinationsereignissen zwischen eng gekoppelten Markern (LUND et al., 2003) lassen sich nur Kandidatengenregionen identifizieren (BAILEY-WILSON & WILSON, 2011). DARVASI et al. (1993) zeigten in Simulationsstudien, dass durch Erhöhung der Markerdichte das Konfidenzintervall nur bis zu einem bestimmten Grenzwert gesenkt werden kann. Diese Grenze wiederum wird durch die Größe des Experiments und den Effekt des QTL auf das Merkmal festgesetzt. LUND et al. (2003) geben die chromosomale Region, innerhalb derer ein QTL in genomweiter Analyse bei Nutztierpopulationen kartiert werden kann, mit 10-30 cM an. Einige weitere Autoren machen ähnliche Angaben für das Konfidenzintervall eines detektierten QTL (DARVASI et al., 1993; GEORGES et al., 1995; OLSEN et al., 2004; BAILEY-WILSON & WILSON, 2011). Dieses große Konfidenzintervall erschwert die Identifizierung einer Mutation, die dem QTL zugrunde liegt (LEE & VAN DER WERF, 2004) sowie den Einsatz von Markerinformation in Zuchtprogrammen (GEORGES et al., 1995). Zudem wird die Kopplungsanalyse durch die Tatsache eingeschränkt, dass der Phänotyp von verschiedenen Genen sowie Umweltfaktoren beeinflusst wird und dadurch nicht mit Bestimmtheit vom Phänotyp auf den Genotyp geschlossen werden kann (MEUWISSEN et al., 2002).

2.3.3.2 *Linkage disequilibrium*-Kartierung

Ein Kopplungsungleichgewicht (*linkage disequilibrium*, LD) liegt vor, wenn zwei oder mehr Genloci mit bestimmten Sequenzvarianten in Individuen einer Population häufiger gemeinsam auftreten als dies durch Zufall zu erwarten wäre (FREUDENBERG et al., 2002; LAFRAMBOISE, 2009).

Ein Genombereich, der sich im Kopplungsungleichgewicht mit einem genetischen Marker befindet, kann mittels Kartierungsstudien detektiert werden, da aus dem

Wissen über das Vorliegen der ersten Variante (Marker) mit einer erheblichen Wahrscheinlichkeit auf das Vorliegen der zweiten Variante (Genombereich im LD) geschlossen werden kann (FREUDENBERG et al., 2002). Die Kopplungsungleichgewichtskartierung, auch „Populations-basierte Assoziationsanalyse“ (HE et al., 2010) genannt, stellt so ein nützliches und oftmals notwendiges Werkzeug zur Identifikation eines Krankheitsgenortes, besonders bei genetisch komplexen Erkrankungen (HAINES & PERICAK-VANCE, 2005), dar.

Im Vergleich zur *linkage*-Kartierung, die auf Rekombinationen innerhalb der genotypisierten Generationen basiert, bezieht die *linkage disequilibrium*-Kartierung alle Rekombinationen ein, die vor den genotypisierten Generationen des erfassten Pedigrees auftraten (MEUWISSEN & GODDARD, 2000; OLSEN et al., 2004; GODDARD & HAYES, 2009).

Der Ursprung des Kopplungsungleichgewichts liegt meist in einer Mutation in ferner Vergangenheit (ABECASIS et al., 2005). Abbildung 2 stellt die Entstehung des *linkage disequilibrium* schematisch dar. Da Mutationen im Regelfall einmalige Ereignisse sind, wird das neue Allel in einen spezifischen Haplotyp eingebettet, dessen Länge sich in den nachfolgenden Generationen durch historische Rekombinationen und umliegende Mutationen deutlich verkürzt. Bei heutigen Trägern des mutierten Allels sind nur noch kleine Teile (d. h. wenige Marker) des originalen Haplotyps beidseits der einstmaligen Mutation erhalten. Diese flankierenden Markerallele sind in den meisten heutigen Trägern genauso angeordnet wie auf dem Ur-Chromosom; sie befinden sich daher im Kopplungsungleichgewicht (MEUWISSEN & GODDARD, 2000; OLSEN et al., 2004; ABECASIS et al., 2005). Somit sollten Haplotypen mit identischen Markerallelen mit höherer Wahrscheinlichkeit von einem gemeinsamen Ahnen abstammen. Solche herkunftsgleichen („*identical by descent*“, IBD) Markerallele bzw. Haplotypblöcke tragen mit höherer Wahrscheinlichkeit auch dieselben QTL-Allele (MEUWISSEN & GODDARD, 2000; OLSEN et al., 2004). Die bedingte IBD-Wahrscheinlichkeit einer vermeintlichen QTL-Allele basiert auf dem Kopplungsungleichgewicht der Marker und ermöglicht eine präzise Kartierung von QTLs (MEUWISSEN & GODDARD, 2000; OLSEN et al., 2004).

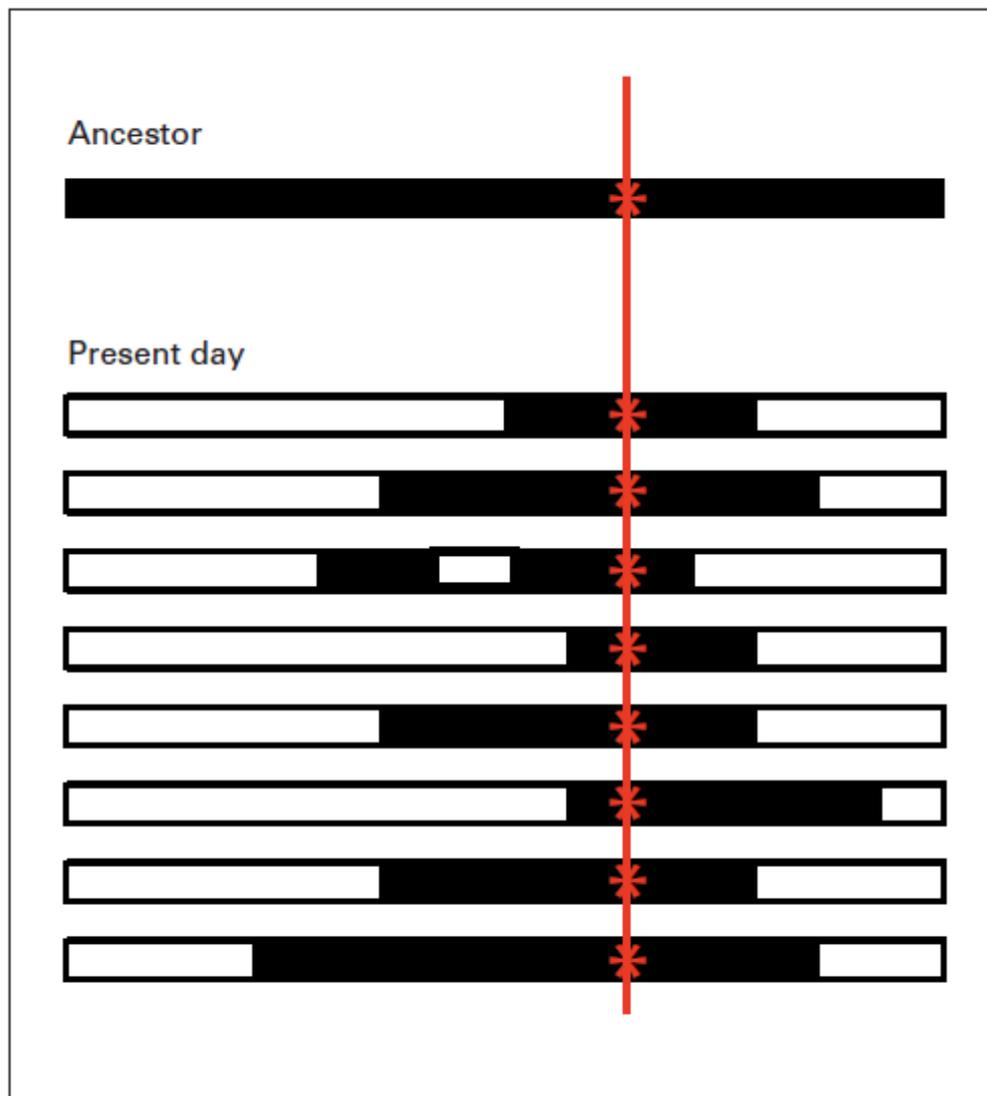


Abb. 2: Schematische Darstellung der Entstehung des *linkage disequilibrium* ausgehend von einer einzelnen Mutation in einem gemeinsamen ancestralen Chromosom (ABECASIS et al., 2005)

Das hypothetische Urchromosom ist in schwarz dargestellt und das mutierte Allel mit einem roten Stern markiert. Die acht heutigen Träger des mutierten Allels tragen neben dieser einen unterschiedlich großen, die Mutation umgebenden Bereich, der mit dem ancestralen Chromosom identisch ist (schwarze Abschnitte). Die Allele innerhalb dieser schwarzen Bereiche sind nicht zufällig assoziiert, sie befinden sich im *linkage disequilibrium*.

Die Länge von Haplotyp- bzw. LD-Blöcken hängt vor allem von der Entwicklung der effektiven Populationsgröße (N_e) in der betrachteten Population ab (HAYES et al., 2003; TENESA et al., 2007; GODDARD & HAYES, 2009; SVED, 2009). Eine kleine N_e weist auf einen gemeinsamen Vorfahren vor wenigen Generationen hin, weshalb auch nur wenige Rekombinationsereignisse seitdem stattgefunden ha-

ben können. Die Chromosomensegmente, die IBD sind, sind daher noch relativ groß. Somit erstreckt sich das LD über weite Distanzen (GODDARD & HAYES, 2009).

Die effektive Populationsgröße in *Bos taurus* lag vor der Domestikation bei über 50 000, war also sehr groß. Durch Domestikation und Bildung einzelner Rassen wurde sie auf etwa 100 innerhalb einer Rasse reduziert (HAYES et al., 2003; DE ROOS et al., 2008; GIBBS et al., 2009; GODDARD & HAYES, 2009; MACEACHERN et al., 2009). Im Vergleich hierzu expandierte die humane N_e im selben Zeitraum. Folglich ist die Ausdehnung des LD in *Bos taurus* größer als in der humanen Population (GIBBS et al., 2009). Da die Anzahl der Marker, die für eine erfolgreiche genomweite Assoziationsanalyse benötigt werden, von der Struktur und der Ausdehnung des LD abhängt (FARNIR et al., 2000; KHATKAR et al., 2008; QANBARI et al., 2010), kann eine Kopplungsungleichgewichtskartierung in domestizierten Tierpopulationen mit einer deutlich geringeren Markerdichte durchgeführt werden als dies für eine Analyse innerhalb der humanen Population nötig wäre (GODDARD & HAYES, 2009).

Die Stärke des LD fällt sehr schnell ab, sobald der Abstand zwischen Marker und QTL wächst (XIONG & JIN, 2000). Der rapide Abfall des LD ermöglicht eine präzisere Kartierung als eine *linkage*-Kartierung, bedingt im Vergleich mit dieser aber auch die Notwendigkeit eines dichteren Marker-Sets. QANBARI et al. (2010) schlagen aufgrund ihrer erzielten Ergebnisse für zukünftige genomweite Assoziationsstudien mittels LD in Holstein-Rindern einen physikalischen Markerabstand von etwa 35 kb vor, was bei einer *Minor Allele Frequency* von größer gleich fünf Prozent 75 000 informative SNPs pro Individuum bedeuten würde. KHATKAR et al. (2007) beziffern den benötigten mittleren Markerabstand für genomweite Assoziationsstudien und Feinkartierungen auf 30 bis 50 kb. Der Illumina BovineSNP50 BeadChip (ILLUMINA, 2011), der auch in dieser Studie verwendet wird, umfasst 54 609 SNPs, was eine mittlere Distanz zwischen benachbarten Markern von 49,4 kb ergibt (QANBARI et al., 2010).

LD-Studien können stark durch „*Population Admixture*“ beeinflusst werden (OLSEN et al., 2004). Darunter fallen vor allem die Mischung von Rassen inner-

halb der Studienpopulation und die Bildung von Sub-Gruppen durch verborgene Verwandtschaft zwischen Tieren (Populationsstratifikation; GODDARD & HAYES, 2009) oder Fehler bei der Rekonstruktion der Haplotypen. Die hieraus resultierenden langen, aber falschen LD-Blöcke erhöhen, besonders in Kandidatengenstudien (ANDERSSON, 2001), bei einer reinen LD-Analyse das Risiko für falsch-positive Assoziationen (PEREZ-ENCISO, 2003). GODDARD und HAYES (2009) halten daher eine Studienpopulation bestehend aus unverwandten Individuen für ideal.

2.3.3.3 Kombinierte *linkage/linkage disequilibrium*-Kartierung

Die Kopplungsanalyse wurde ursprünglich entwickelt, um einzelne merkmalsbeeinflussende Genloci mit großem Effekt zu kartieren und kann nur begrenzt eingesetzt werden, um Gene mit mäßigem Effekt aufzufinden. Im Gegensatz hierzu haben die detektierten QTL in einer LD-Kartierung meist nur kleine Effekte auf die Ausprägung des interessierenden Merkmals (RISCH & MERIKANGAS, 1996; XIONG & JIN, 2000; BAILEY-WILSON & BAILEY, 2011).

Um die Vorteile beider Ansätze zu nutzen, schlugen verschiedene Autoren (z. B. ZHAO et al. (1999), XIONG & JIN (2000)) die Kombination von *linkage* und *linkage disequilibrium* vor. Bei einer kombinierten LD und *linkage* Kartierung (LDL) werden sowohl historische Rekombinationen (d. h. die LD-Information) als auch Rekombinationen, die innerhalb des betrachteten Pedigrees auftraten, berücksichtigt (LUND et al., 2003; OLSEN et al., 2004).

Die ersten praktischen Umsetzungen der LDL bei Rindern fanden durch FARNIR et al. (2002) und durch MEUWISSEN et al. (2002) statt. FARNIR et al. (2002) entwickelten eine Maximum-Likelihood (ML) Methode, welche gleichzeitig Kopplungs- und LD-Informationen nutzt. Dieser ML-LDL Ansatz wurde zur Kartierung eines QTL für Milchproduktion auf Rinderchromosom 14 angewendet. Gleichzeitig und unabhängig hiervon weiteten MEUWISSEN et al. (2002) erstmals bei Rindern die IBD-Methode (MEUWISSEN & GODDARD, 2000), die ein auf Haplotypen basierendes gemischtes lineares Modell zur Kartierung von QTL an-

wendet, aus und integrierten Kopplungsinformationen. Auch ihr Ziel war die Feinkartierung eines QTL mittels LDL bei gleichzeitiger Berücksichtigung von Hintergrundgenen und den Familiendaten der Rinder. Eine Schlüsselaufgabe innerhalb dieser Methode ist die Schätzung der IBD-Wahrscheinlichkeiten (PEREZ-ENCISO, 2003; LEE & VAN DER WERF, 2005). Die hierfür benötigten Haplotypen werden beim Genotypisieren nicht direkt generiert (DRUET & GEORGES, 2010), sondern auf Basis von Informationen aus der Population (entspricht LD) und verfügbaren Pedigreedaten (entspricht Kopplung) rekonstruiert (LEE & VAN DER WERF, 2005; DRUET & GEORGES, 2010). Die Berechnung dieser IBD-Wahrscheinlichkeiten, die LD und *linkage* kombinieren, wird in MEUWISSEN und GODDARD (2001) erläutert.

Eine Varianzkomponentenanalyse, die QTL-Effekte als zufällige Effekte betrachtet, kann komplexe Verwandtschaftsbeziehungen zwischen Individuen berücksichtigen (GEORGE et al., 2000), das Konfidenzintervall deutlich verkleinern bis auf wenige cM (MEUWISSEN et al., 2002; LEE & VAN DER WERF, 2004) und falsch positiven Assoziationen entgegen wirken (OLSEN et al., 2004). Besonders eine Varianzkomponentenanalyse die Kopplungsungleichgewicht und Kopplung kombiniert wird als eine vielversprechende Methode für die Feinkartierung erachtet (LEE & VAN DER WERF, 2004).

Die Effizienz dieser Strategie zur Kartierung von QTLs wurde anhand mehrerer Simulationsstudien überprüft: LEE und VAN DER WERF (2004) stellen dar, dass viele kleine Familien informativer sind als wenige große Familien. In LEE und VAN DER WERF (2005) wird die Wichtigkeit von Pedigreeinformationen besonders bei geringerer Markerdichte gezeigt. Eine erhöhte Kartierungsgenauigkeit kann durch Beachtung von Dominanzeffekten (allelische Interaktionen innerhalb eines Genlocus) erreicht werden (LEE & VAN DER WERF, 2006a) und eine Schätzung der QTL-Position durch das „*restricted maximum likelihood*“ (REML) ist möglich (LEE & VAN DER WERF, 2006). LEE und VAN DER WERF (2008) betrachten den Einfluss komplexer epistatischer Interaktionen auf die Kartierung von QTL mittels LDL.

Die praktische Anwendung der LDL zur Feinkartierung wurde bei Milchrindern bereits von mehreren Autoren vorgenommen (z. B. FARNIR et al. (2002), BLOTT et al. (2003), OLSEN et al. (2004), SCHNABEL et al. (2005), BRAND et al. (2009), KIM et al. (2009), AWAD et al. (2010)).

2.4 eQTL-Kartierung

2.4.1 *Expression Quantitative Trait Locus*

Wie bereits dargestellt, hat sich gezeigt, dass es sehr schwierig ist, bei einer QTL-Kartierung – bedingt durch relativ große Konfidenzintervalle – das den QTL verursachende Gen aufzufinden. Einen vielversprechenden Ansatz in Richtung genetischer Aufklärung komplexer Merkmale stellt die kombinierte Analyse von Marker-Genotypen und Genexpression dar. Dieser wurde erstmals von JANSEN und NAP (2001) unter der Bezeichnung „*Genetical Genomics*“ vorgestellt. Ziel ist es hier, Genloci zu detektieren, die Variationen in der Expression von Genen bedingen, sogenannte *expression quantitative trait loci* (eQTLs).

Ein detektierter eQTL enthält potenziell einen spezifischen Regulator, der die Expression des untersuchten Genes beeinflusst (JANSEN & NAP, 2001; ROCKMAN & KRUGLYAK, 2006; MICHAELSON et al., 2009). Diese polymorphen Regulatoren können proteinkodierende Regionen, microRNAs, *cis*-regulierende DNA-Motive oder andere funktionale Nukleotidsequenzen sein (MICHAELSON et al., 2009).

2.4.2 Expressionsprofile als quantitative Merkmale

Expressionsprofile, d. h. die Menge an mRNA für ein transkribiertes Gen, die sich pro Individuum in der untersuchten Probe befindet, stellen einen intermediären Phänotypen dar, lokalisiert zwischen genomischer DNA und komplexeren Phänotypen auf zellulärer, Organ- oder Organismusebene (PETRETTO et al., 2006).

Neue Microarray-Technologien erlauben es, Tausende von Expressionsprofilen pro Individuum zu erfassen. Wie viele komplexe Merkmale (siehe Kap. 2.3.2) zeigt auch die Variation der Genexpression eine kontinuierliche Verteilung, so dass das Expressionsprofil jedes Gens als quantitatives Merkmal behandelt werden kann (KADARMIDEEN et al., 2006; COOKSEN et al., 2009; JOOSEN et al., 2009; WANG et al., 2010).

In mehreren Studien (BREM et al., 2002; SCHADT et al., 2003; YVERT et al., 2003; MORLEY et al., 2004; CHEUNG et al., 2005; PETRETTO et al., 2006) wurde eine erbliche Komponente für individuelle Variation der Genexpression nachgewiesen.

2.4.3 Prinzip und Strategien der eQTL-Kartierung

2.4.3.1 Durchführung einer eQTL-Kartierung

Das Prinzip von eQTL-Kartierungsmethoden ist es, zu überprüfen, ob eine Korrelation zwischen Markergenotypen und Transkriptmengen eines zu untersuchenden Gens vorliegt. Es wird geprüft, ob bei mehreren Tieren in der untersuchten Population, die ähnliche Expressionswerte für das fragliche Gen aufweisen, Regionen mit ähnlichen Markerhaplotypen gefunden werden und so die Population deutlich gruppiert werden kann (BREM et al., 2002; GHAZALPOUR et al., 2008; KANG et al., 2008; MICHAELSON et al., 2009). Ein eQTL beinhaltet also einen Haplotyp, der mit hohen Expressionswerten assoziiert ist, und einen anderen Haplotyp, der mit geringer Expression assoziiert ist (LIU, 2011). Die Genotypisierung sowie das Erheben der Expressionsdaten mittels Microarrays oder „*deep*

sequencing“-Technologien (MICHAELSON et al., 2009) erfolgt deshalb an den gleichen Individuen der zu untersuchenden Population. Abbildung 3 gibt einen Überblick über den Ablauf einer eQTL-Studie.

Da Expressionsprofile als quantitative Merkmale behandelt werden, unterscheidet sich eine eQTL-Kartierungsstudie von einer traditionellen QTL-Kartierung vor allem in der Anzahl der Phänotypen. Kartierungsstrategien, Studiendesign und statistische Methoden können daher erfolgreich auf die eQTL-Kartierung übertragen werden (KENDZIORSKI & WANG, 2006; GILAD et al., 2008; SCHLIEKELMANN, 2008). Die angewendeten Methoden lassen sich im Prinzip in zwei Kategorien einteilen: Die univariaten Methoden und die multivariaten Methoden. MICHAELSON et al. (2009) stellen die beiden Genannten zusammenfassend dar. Bei der univariaten Methode wird auf Korrelation zwischen jeweils einem Genlocus, d. h. einem Marker oder einem Markerhaplotypen, und der Expression des zu untersuchenden Gens untersucht. Dabei wird meist ein lineares Modell zur Varianzkomponentenanalyse angewendet, in welchem der Effekt eines vermeintlichen eQTL an einer bestimmten Position auf die Variation der Genexpression geschätzt wird. Die multivariate Methode versucht kombinatorische Effekte von Markersets, also Markern an verschiedenen Loci, abzuleiten, die gemeinsam eine Variation der Genexpression innerhalb der betrachteten Population erklären. Im Idealfall muss hier jede mögliche Markerkombination (Paare, Triple und höher) getestet werden.

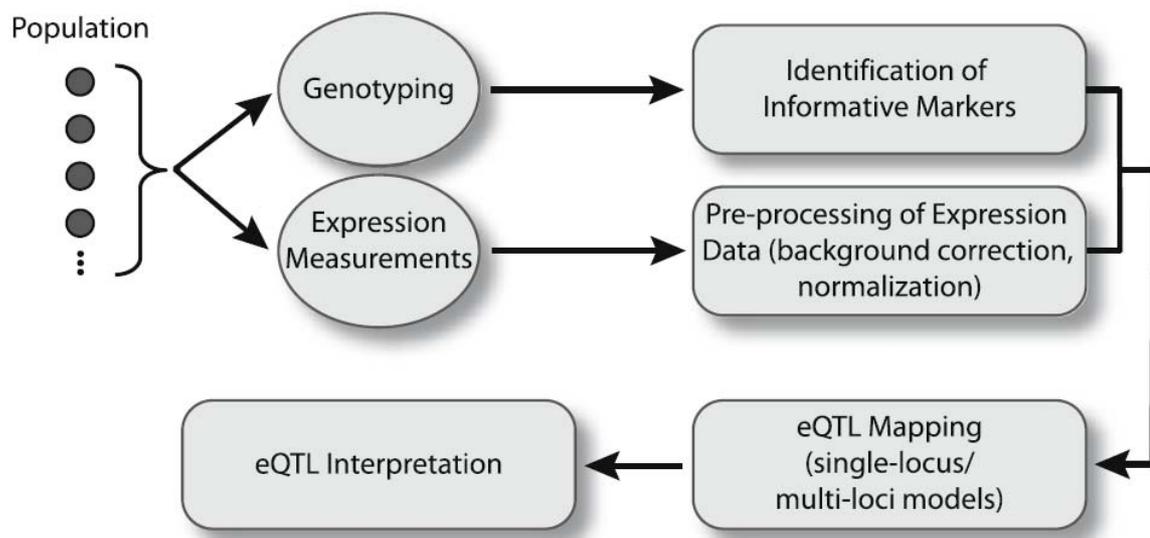


Abb. 3: Pipeline einer Expression QTL Analyse (MICHAELSON et al., 2009)

Ein Set von Individuen wird genotypisiert (beispielsweise mittels SNP-Arrays). Die Genexpression wird in denselben Individuen bestimmt. Marker, die in der Studienpopulation polymorph sind, werden für die eQTL-Analyse verwendet. Die Expressionsdaten müssen mittels Standardprozeduren bearbeitet werden. Erst dann kann die eQTL-Kartierung erfolgen und die erzielten Ergebnisse letztlich interpretiert werden.

2.4.3.2 Kartierung von *cis*- und *trans*-Effekten

Eines der wertvollsten Charakteristika einer eQTL-Kartierung ist die Möglichkeit, zwischen *cis*- und *trans*-agierenden Einflüssen auf ein Expressionsprofil bzw. quantitatives Merkmal zu unterscheiden (LI et al., 2005; LI et al., 2006). Jedes Transkript besitzt ein korrespondierendes kodierendes Gen mit bekannter Position im Genom (ROCKMAN & KRUGLYAK, 2006). Expression QTLs, die nahe, beziehungsweise an der Position ihres korrespondierenden Gens kartieren, werden *cis*-regulatorische Eigenschaften zugesprochen, wogegen eQTLs, deren Lage nicht mit der Position ihres korrespondierenden Gens übereinstimmt, als *trans*-eQTLs bezeichnet werden (WITTKOPP, 2005; PETRETTO et al., 2006; GILAD et al., 2008). Bis zu welchem Abstand zwischen eQTL und Position des Gens im Genom von einem *cis*-eQTL gesprochen werden darf, ist nicht einheitlich definiert. LIU (2011) gibt an, dass die Spanne von 500 kb bis zu 1-2 Mb reichen kann. COOKSEN et al. (2009) nennen jeweils 100 kb strangauf- sowie strangabwärts

als typische Grenzen, weisen jedoch gleichzeitig darauf hin, dass diese Definition bei weit reichendem LD problematisch ist.

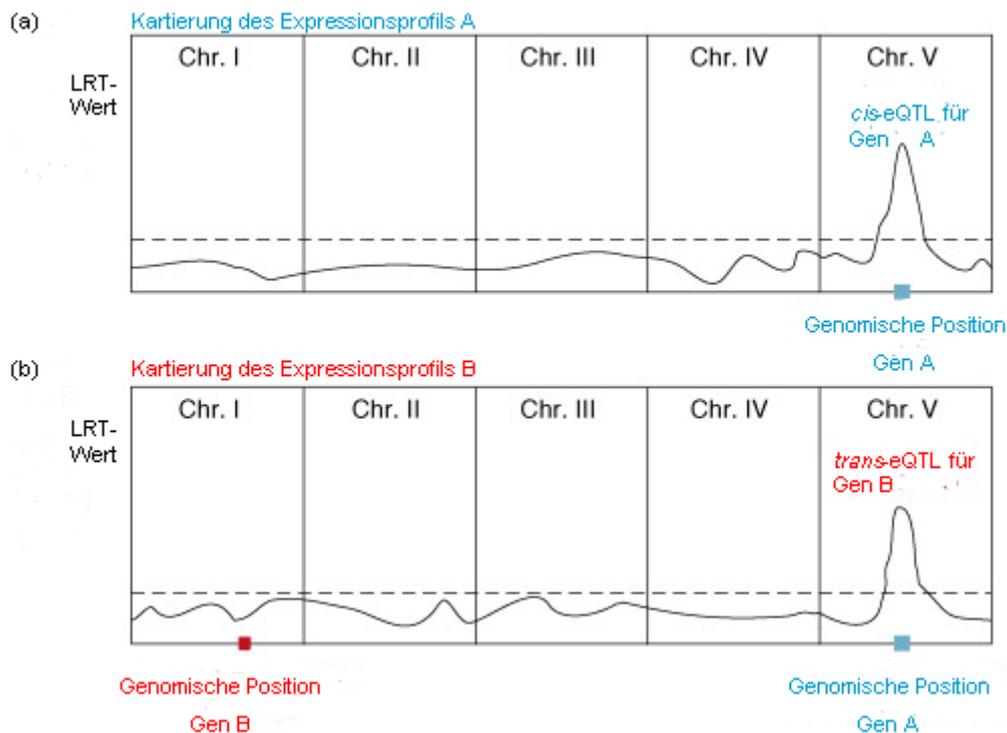


Abb. 4: Schematische Darstellung der Kartierung in *cis* und *trans*

(a) Das Expressionsprofil des Gens A zeigt ein signifikantes Signal an der genomischen Position, an welcher es selbst kodiert ist (*cis*-eQTL). (b) Das Expressionsprofil des Gens B zeigt ein signifikantes Signal an einer anderen Position als seiner eigenen genomischen Position (*trans*-eQTL).

HUBNER et al. (2005) führten eine eQTL-Studie an zwei Gewebearten von Ratten durch und konnten zeigen, dass *cis*-eQTLs stärkere Effekte auf die Genexpression ausüben als *trans*-eQTLs und daher leichter detektiert werden können. Dadurch werden *cis*-Effekte zumeist mit höherer statistischer Signifikanz kartiert als die moderat signifikanten *trans*-eQTLs (SCHADT et al., 2003; HUBNER et al., 2005). PETRETTO et al. (2006) erreichten Werte für die Heritabilität der *cis*-eQTLs von 31 % - 51 %. Aufgrund der genannten Eigenschaften fällt den *cis*-eQTLs eine besondere Bedeutung als mögliche interessante positionelle Kandidatengene in normal kartierten QTLs zu (DOSS et al., 2005; HUBNER et al., 2005). *Trans*-Effekte hingegen, die mit geringerer statistischer Signifikanz kartiert werden und gewöhnlich weniger als 20 % der phänotypischen Varianz erklären

(PETRETTO et al., 2006), stellen sich komplexer dar und spiegeln die kumulative Wirkung von genetischer, epigenetischer und umweltbedingter Regulation wider (LI & BURMEISTER, 2005).

Zusammenfassend lässt sich die Sensitivität der Detektion von *cis*- und *trans*-eQTLs als eine Funktion, abhängig von der Heritabilität der Genexpression, dem genetischen Effekt des eQTL, dem angewendeten Signifikanzniveau, dem Ausmaß der polygenen Regulation der Genexpression und der Wirkung dieser Faktoren in einem spezifischen Gewebe, ausdrücken (STAMATOYANNOPOULOS, 2004; PETRETTO et al., 2006).

2.4.3.3 eQTL-Hotspots

BREM et al. (2002) konnten zeigen, dass es Bereiche im Genom gibt, die die Genexpression vieler Gene modulieren. Auch MORLEY et al. (2004) fanden aggregierende *trans*-eQTLs. Wenn viele *trans*-eQTLs in derselben chromosomalen Region kartiert werden können, spricht man von einem „eQTL-Hotspot“ (KADARMIDEEN et al., 2006; KENDZIORSKI & WANG, 2006). Die Existenz solcher Hotspots, denen mit einiger Wahrscheinlichkeit ein sogenannter „Master Regulator“ (LI & BURMEISTER, 2005; GILAD et al., 2008) zugrunde liegt, eröffnet neue Möglichkeiten für die Rekonstruktion von Netzwerken zur Aufklärung biologischer Prozesse (siehe Kap. 2.4.4, BREITLING et al., 2008). WU et al. (2008) konnten in ihrer Studie eine große Anzahl an Hotspots auffinden. In 25 % der Fälle ist eine deutliche Anreicherung von kartierenden Expressionsprofilen, die einer gemeinsamen biologischen Funktion zugeordnet werden können, zu erkennen. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass genetische Polymorphismen zu starken und dauerhaften biologischen Effekten führen können, was sich als eQTL-Hotspot darstellen lässt (BREITLING et al., 2008).

Es muss allerdings beachtet werden, dass es durch korrelierte Expressionswerte zwischen mehreren Transkripten leicht zum Auftreten falsch positiver Hotspots kommen kann. Wenn einer dieser transkribierten Gene einen falsch-positiven eQTL zeigt, zeigen die vielen korrelierten Gene denselben falschen eQTL

(HALEY & DE KONING, 2006). Das mögliche Ausmaß dieser falsch-positiven Detektion von Hotspots wird in PEREZ-ENCISO (2004) deutlich. Diese Simulationsstudie demonstriert, dass es möglich ist, ausschließlich falsch-positive Ergebnisse zu erhalten. Die möglichen Ursachen für falsche Hotspots sind vielfältig und beinhalten beispielsweise Artefakte bei der Normalisierung der Microarray-Daten (GILAD et al., 2008) oder unkontrollierte Umweltfaktoren. Auch Gewebeproben, die unterschiedliche Anteile an Zelltypen enthalten, führen zu einer zelltypspezifischen Anreicherung von Gengruppen und tragen so zu verfälschten Ergebnissen bei (BREITLING et al., 2008).

Überraschenderweise wurden noch nicht viele verifizierte Hotspots aus eQTL-Studien publiziert. BREITLING et al. (2008) vermuten, dass ein Grund hierfür die Robustheit biologischer Systeme gegenüber genetischen Störungen ist, die ein Abpuffern eines Großteils der erblichen Variation der Genexpression ermöglicht, wodurch Effekte auf andere Gene vermieden werden. Die Autoren beziehen sich dabei unter anderem auf LE ROUZIC und CARLBORG (2008) sowie GIBSON und DWORKIN (2004).

2.4.4 Potentieller Nutzen aus eQTL-Studien

Fortschritte in der Analyse der genetischen Genomik gelten als vielversprechend für das Auffinden von Genen, die komplexe Merkmale beeinflussen, und somit letztendlich auch für die Identifikation von Wirkmechanismen und genetischen Netzwerken, die diesen Merkmalen zugrunde liegen (DAI et al., 2009). Auch zur Analyse von Wirkungswegen, die zur Anfälligkeit für bestimmte Krankheiten führen, stellt die eQTL-Kartierung einen sehr kraftvollen Ansatz dar (MICHAELSON et al., 2009). Besonders für *trans*-Effekte ist es jedoch gewöhnlich nicht möglich, die kausale Sequenz im eQTL ohne zusätzliche Informationen festzustellen. Eine mögliche Lösung ist die Integration der eQTL-Ergebnisse in Methoden der Systemgenetik. Die Systemgenetik fokussiert sich auf Netzwerke aus Interaktionen zwischen Genen und Merkmalen auf allen Ebenen, also mRNA-Expression, Proteininteraktion *et cetera* (NADEAU & DUDLEY, 2011). Zudem können aus Ergebnissen von eQTL-Kartierungsstudien Erkenntnisse über Genotyp-Umwelt-

Interaktionen sowie über epistatische Interaktionen gewonnen werden (KADARMIDEEN et al., 2006).

Außerdem gab es Vorschläge, die Expressionsprofile für eine "Expressions-assistierte Selektion" (EAS; KADARMIDEEN et al., 2006) zu verwenden, in welcher auf vorteilhafte Genexpressionsprofile selektiert wird. eQTLs, die in Zuchtprogramme, die denen der „Marker-assistierten Selektion“ (MAS; DEKKERS & HOSPITAL, 2002) ähnlich ist, integriert werden („Expression-Assisted Evaluation“, EAE), sollen ebenfalls zum Zuchtfortschritt beitragen. Jedoch stellt die Integration der Expressiondaten in die Routine-Datenerhebung und Zuchtwertschätzung eine ernsthafte Herausforderung für die Züchter dar (KADARMIDEEN et al., 2006).

2.4.5 Limitierung von eQTL-Studien

Die Aussagekraft von eQTL-Kartierungen kann durch verschiedene Aspekte negativ beeinflusst werden. Neben Limitierungen, die aus der Wahl der angewendeten statistischen Strategie (siehe Kap. 2.3.3) hervorgehen spielt besonders nicht-biologische experimentelle Variation (sogenannte „Batch-Effekte“) eine wichtige Rolle. Vor allem die aufwendige Expressionsprofilierung birgt die Gefahr für „Batch-Effekte“ und daraus folgende irrtümliche Assoziationen. Beeinflussende Faktoren können Unterschiede in der Microarray-Herstellung, Probennahme, Probenaufbereitung, Expressionsmessung und Normalisierung der Daten sein (HALEY & DE KONING, 2006; MICHAELSON et al., 2009).

Die hohen Kosten der Expressionsanalyse und die eingeschränkte Verfügbarkeit von benötigtem Gewebe führen in der Regel zu relativ kleinen Tierzahlen, die in eine eQTL-Studie einfließen (HALEY & DE KONING, 2006; COOKSEN et al., 2009). Deshalb können vor allem Loci mit schwachen Effekten schwer detektiert werden und ein großer Anteil der Heritabilität bleibt unerklärt (PETRETTO et al., 2006). Bis die Bedenken über statistische Power und Robustheit von eQTL-Kartierungsstudien durch größere Experimente gelöst werden können, muss versucht werden, durch durchdachtes Studiendesign und Analyse anderer Studien,

den bestmöglichen Nutzen aus den vorhandenen Daten zu ziehen (HALEY & DE KONING, 2006).

2.5. Retentio secundinarium des Rindes

Die Retention der fetalen Placenta zählt zu den wichtigsten postpartalen Störungen der Kuh.

2.5.1 Aufbau der bovinen Placenta

Das Rind bildet eine *Placenta multiplex seu cotyledonaria* aus. Die Funktionseinheit der bovinen Placenta zum hämotrophen Stoffaustausch stellen die Plazentome dar. Diese bestehen aus Kotyledonen, welche dem fetalen Anteil (*Placenta fetalis*) entsprechen, und aus Karunkeln als maternalem Anteil (*Placenta maternalis*). Die Entwicklung der Plazentome, die bis zum 4. Trächtigkeitsmonat andauert, beginnt zunächst im Bereich des Embryos, weshalb die größten (bis zu Faustgröße) und reifsten in diesem Bereich zu finden sind (RÜSSE & SINOWATZ, 2008). Durchschnittlich 75 bis 120 Plazentome, im ausgereiften Zustand kissen- oder knopfförmig, werden gebildet, wobei sich die Kotyledonen kappenartig über die Karunkelköpfe stülpen. Das Chorion als äußerste Schicht der fetalen Fruchthüllen bildet Zottenbüschel mit einschichtigem Zottenepithel, das zahlreiche Mikrovilli trägt, aus und verzahnt sich mit Hilfe dieser Mikrovilli eng in den Krypten der Uterusschleimhaut, die mit einschichtigem, homogenen Epithel überzogen sind. Somit kommt es zu einer innigen Verbindung zwischen *Placenta maternalis* und *Placenta fetalis* (SCHNORR & KRESSIN, 2011). Das Chorionepithel enthält neben den einkernigen Trophoblastzellen auch zweikernige Trophoblastriesenzellen (auch binukleäre Zellen oder Diplokaryozyten genannt), die Prostaglandine, Progesteron, das Wachstumshormon plazentäres Laktogen und „pregnancy-associated glycoproteins“ (PAGs) synthetisieren können (REIMERS et al., 1985; DUELLO et al., 1986; ROBERTS et al., 1995). Einige dieser Zellen wandern während der Trächtigkeit in Richtung der uterinen Epithelzellen und fusionieren mit diesen zu sogenannten dreikernigen feto-maternalen Hybridzellen (SCHNORR &

KRESSIN, 2011). Da fetales und maternales Epithel weitgehend erhalten bleiben, nennt sich die Art der bovinen plazentären Verbindung *Placenta epitheliochorialis* (WOODING et al., 1997; MCNAUGHTON & MURRAY, 2009). Während eines ungestörten Geburtsvorgangs löst sich die Nachgeburt (= *Placenta fetalis*) unblutig aus den Karunkeln; daher spricht man beim Rind auch von einer *Placenta adeciduata* (RÜSSE & SINOWATZ, 2008).

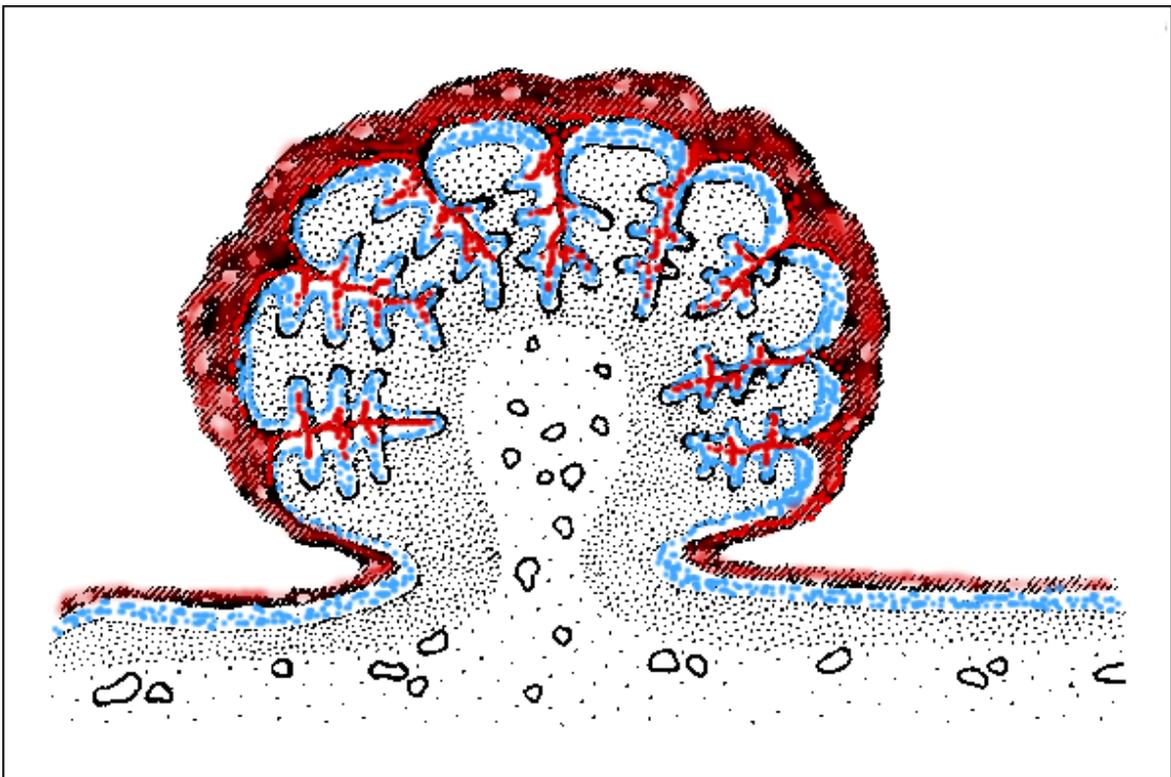


Abb. 5: Knopfförmiges Plazentom des Rindes (nach RÜSSE und SINOWATZ (2008))

Die Kotyledone (rot, *Placenta fetalis*) verzahnt sich in der Karunkel (blau, *Placenta maternalis*)

2.5.2 Definition

Die *Retentio secundinarium* (auch Placentaretention oder Nachgeburtsverhaltung genannt) ist definiert als das Misslingen der Ablösung der fetalen Placenta von der maternalen Placenta.

Bei einem ungestörten Geburtsverlauf geschieht diese Lösung der fetalen Placenta und deren Abgang innerhalb von sechs Stunden nach Austreibung des Kalbes (RICHTER & GÖTZE, 1993).

In der praktischen Anwendung variiert die Definition der Zeitspanne, nach deren Ablauf von einer Placentaretention gesprochen wird von acht (z. B. KANKOFER et al. (2004)) bis 48 Stunden (z. B. BIGRAS-POULIN et al. (1990)). Meist werden allerdings 12 bis 24 Stunden als Grenzwert gewählt (z. B. JULIEN et al. (1976), FOURICHON et al. (2000), KIMURA et al. (2002), COOK und GREEN (2007), BONNEVILLE-HEBERT et al. (2011)).

2.5.3 Risikofaktoren und mögliche Ursachen

Vielfältige Risikofaktoren für das Entstehen einer Placentaretention beim Rind sind bekannt. Die dahinterstehenden (biochemischen) pathologischen Abläufe konnten dabei bisher nur teilweise aufgeklärt werden.

Sowohl verkürzte Trächtigkeit durch Frühgeburt (MULLER & OWENS, 1974; ECHTERNKAMP & GREGORY, 1999), besonders bei einer Trächtigkeitsdauer von weniger als 270 Tagen und geringem Geburtsgewicht des Kalbes (JOOSTEN et al., 1987), als auch Abort (RICHTER & GÖTZE, 1993) sowie induzierte Abkalbung (TERBLANCHE et al., 1976) erhöhen das Risiko einer Nachgeburtsverhaltung. Die Wahrscheinlichkeit steigt hier mit größer werdendem Abstand zum errechneten Kalbetermin an (RICHTER & GÖTZE, 1993). Auch Zwillingsträchtigkeiten (MULLER & OWENS, 1974; CORREA et al., 1993), Schweregeburten (RAJALA & GROHN, 1998), Totgeburten (CORREA et al., 1993), Fetotomien (JOOSTEN et al., 1987; WEHREND et al., 2002) und Entbindung per Kaiser-

schnitt (JOOSTEN et al., 1987) sind mit einer erhöhten Inzidenz der Nachgeburtshaltung beim Rind assoziiert.

Neben Faktoren, die direkt die Trächtigkeit oder den Geburtsverlauf betreffen, werden auch andere Einflüsse in Betracht gezogen. Eine Unterversorgung mit Vitamin E und Selen soll eine physiologische Ablösung der fetalen Placenta negativ beeinflussen. Sowohl durch orale als auch durch parenterale Supplementierung von Vitamin E konnte in einer Studie von JULIEN et al. (1976) die Inzidenz der Placentaretention innerhalb der Studienpopulation von 38 % auf 0 % gesenkt werden. Auch Stoffwechselstörungen wie die hypocalcämische Gebärparese wirken sich negativ auf die Ablösungsprozesse aus (RICHTER & GÖTZE, 1993). NISKANEN et al. (1995) dokumentieren ein höheres Krankheitsrisiko in einer mit bovinen Virusdiarrhoe-Viren infizierten Tiergruppe im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe. Dies deutet darauf hin, dass infektiöse Agentien Risikofaktoren darstellen können. Einige Autoren konnten in ihren Untersuchungen einen signifikanten Einfluss der Kalbesaison aufzeigen, wobei diese Angaben sehr uneinheitlich sind. Ein weniger häufiges Auftreten des Krankheitsbilds im Herbst vergleichend zu den Wintermonaten (MULLER & OWENS, 1974) beziehungsweise im Vergleich zu den Monaten März und April (ECHTERNKAMP & GREGORY, 1999) wird ebenso beschrieben wie ein vermehrtes Vorkommen im Sommer (JOOSTEN et al., 1987). ERB und MARTIN (1980) sowie HAN und KIM (2005) fanden keinen signifikanten saisonalen Einfluss.

JOOSTEN et al. (1991) berichten, dass bei physiologischer, ungestörter Trächtigkeit und Abkalbung dennoch bei 4,1 % aller Kühe eine Placentaretention auftritt. In einer anschließenden Studie (JOOSTEN et al., 1991a) stellten sie ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer Nachgeburtshaltung bei *Major Histocompatibility Complex* (MHC) *class I* – Kompatibilität des Kalbes mit dem Muttertier fest. Die Theorie, dass die fetale Placenta nach der Geburt vom mütterlichen Immunsystem als Fremdgewebe erkannt werden muss, um abgestoßen zu werden, wurde erstmals von GUNNINK (1984) vorgestellt. Es konnte nachgewiesen werden, dass Kühe mit Placentaretention nach normaler Geburt eine geringere chemotaktische Aktivität von neutrophilen Granulozyten eine Woche vor bis eine Woche nach Abkalbung zeigen sowie eine geringere Myeloperoxidase-Aktivität (als Maß

für das Phagozytosevermögen der neutrophilen Granulozyten) zwei Wochen vor bis zwei Wochen nach Abkalbung. Zudem war die Plasmakonzentration von Interleukin 8 (IL-8), ein wichtiges Cytokin zur Anlockung von Leukozyten, bei Kühen mit Placentaretention verringert (KIMURA et al., 2002). Die Autoren sehen die verminderte Funktionstüchtigkeit der neutrophilen Granulozyten, die schon einige Zeit vor der Geburt beginnt, als wahrscheinlich ursächlich und nicht als Folge der verzögerten Nachgeburtsablösung an. Dies soll auch teilweise die erhöhte Inzidenz der Erkrankung nach Defizit oder Überschuss bestimmter Nährstoffe oder Hormone erklären, da die genannten Faktoren das Immunsystem beeinflussen können. Eine weitere Hypothese zur Erklärung einer verminderten Immunreaktion stellt die MHC class I – Kompatibilität dar. MHC class I Antigene werden am Ende der Trächtigkeit hauptsächlich von fetalen Trophoblastzellen exprimiert (DAVIES et al., 2000). Nach Annahme von JOOSTEN und HENSEN (1992) und DAVIES et al. (2004) ist eine gegen paternal abstammende MHC class I – Proteine gerichtete mütterliche Immunreaktion für eine Ablösung der Nachgeburt von großer Bedeutung, welche bei Kompatibilität des Kalbes zur Mutter unterbleibt. BENEDICTUS et al. (2011) erweitern diese Annahme, indem sie hervorheben, dass neben der maternalen auch eine vom Kalb induzierte Immunreaktion zur immunmedierten Placentallösung beitragen kann. Studien in Mäusen haben gezeigt, dass gegen Ende der Trächtigkeit das in der nun reifen fetalen Lunge produzierte Surfactant-Protein A in die Amnionflüssigkeit abgegeben wird, wo es fetale Makrophagen aktiviert. Diese Makrophagen wandern auf die maternale Seite der Plazenta, sezernieren dort Cytokine und lösen so eine Immunreaktion aus, die die Geburt einleitet (MENDELSON & CONDON, 2005). Weil eine Akkumulation von fetalen Makrophagen auch in der bovinen Placenta gezeigt wurde (SCHLAFER et al., 2000), vermuten BENEDICTUS et al. (2011) hier eine ähnliche Entzündungsreaktion. Ihre Ergebnisse lassen die Vermutung zu, dass Cytokine, die vom fetalen Immunsystem als Antwort auf fremde maternale MHC class I – Proteine sezerniert werden, ebenfalls an der immunmedierten Ausstoßung der Placenta beteiligt sind, beziehungsweise diese bei MHC class I – Kompatibilität des Muttertiers zum Kalb unterbleibt. Eine Studie zur Bedeutung von Makrophagen und T-Lymphozyten im Zusammenhang mit Nachgeburtsverhalten führten MIYOSHI et al. (2002) durch und untersuchten Placentagewebe, das innerhalb einer Stunde nach Abkalbung entnommen wurde. Zu diesem Zeitpunkt

stellten CD14-positive Makrophagen im Karunkelstroma bei Tieren, die in der Folge eine Placentaretention entwickelten und bei Kontrolltieren mit 30 bis 50 % aller detektierten Zellen eine wichtige Zellgruppe dar. CD3-positive T-Lymphozyten waren bei allen Tieren nur in geringer Anzahl vorhanden. Die Verteilungsmuster zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen Fall- und Kontrollgruppe. Bei Tieren mit Placentaretention konnte jedoch eine signifikant geringere Aktivität des Enzyms saure Phosphatase, ein wichtiges lysosomales Enzym als Maß für die Phagozytoseaktivität von Makrophagen, nachgewiesen werden. Die Forscher vermuten daher einen Zusammenhang zwischen Funktionsfähigkeit der Makrophagen und *Retentio secundinarium*; die genaue Bedeutung bleibt jedoch unklar. Eine signifikante Funktion der T-Lymphozyten im peripartalen Zeitraum sei unwahrscheinlich.

Eine weitere wichtige Voraussetzung für eine physiologische Placentallösung ist die Placentareifung zum Ende der Trächtigkeit. Dieser Prozess führt vor allem zu histologisch erkennbaren Veränderungen am endometrialen, also mütterlichen Kryptenepithel. Aufgrund verstärkter Apoptose verringert sich die Anzahl der Epithelzellen deutlich, die verbleibenden Zellen flachen ab und verbreitern sich. Auch Lücken im maternalen Epithel treten auf (BOOS et al., 2003). Zudem reduziert sich die Zahl der Trophoblastriesenzellen (WILLIAMS et al., 1987; GROSS et al., 1991). Im Falle einer Placentaretention bei Kühen wurde im peripartalen Zeitraum ein signifikant vermehrtes Vorkommen von binukleären Trophoblastriesenzellen dokumentiert (AL-SADI et al., 1994). BOOS et al. (2003) wiesen in fetalen Chorionepithelzellen von Tieren mit Nachgeburtsverhaltung signifikant mehr Apoptosekörperchen nach. Derselbe Trend zeigte sich in maternalen Epithelzellen. Diese Resultate bestärken nach Einschätzung der Forscher die Hypothese, dass der Prozess der Reifung, d. h. die Epithelzellreduktion, zum Zeitpunkt der Austreibung des Kalbes bei Tieren, die im Folgenden eine Placentaretention zeigen, noch nicht abgeschlossen ist und die Apoptose ein essentieller Prozess für einen ungestörten Abgang der fetalen Placenta ist. KAMEMORI et al. (2011) fanden eine geringere Expression von FAS und Caspase 3, wichtige Faktoren des Apoptoseprozesses, in der maternalen Placenta von Tieren mit Nachgeburtsverhaltung sowie ein deutlich vermehrtes Vorkommen von apoptotischen Zellen in Karunkeln von Kontrolltieren und schlussfolgerten daraus, dass zumindest teil-

weise eine Dysfunktion des apoptotischen Prozesses in der maternalen Placenta zur Entstehung der Placentaretention beiträgt.

Neben Zellreduktion und Immunreaktion scheint lokal auch die Degeneration der Extrazellulärmatrix (ECM) durch proteolytische Enzyme von wichtiger Bedeutung für die Placentallösung zu sein (EILER & HOPKINS, 1992). Matrixmetalloproteinasen (MMPs), eine Gruppe Zink-abhängiger Endopeptidasen, sind für den Abbau mehrerer Kompartimente der ECM (Kollagene, Proteoglykane, Fibronectin, Laminin u. a.) verantwortlich und spielen deshalb bei vielen physiologischen Gewebumbauprozessen, wie embryonale Entwicklung oder postpartale Involution des Uterus, und bei einigen Krankheiten, z. B. Osteoarthritis, eine wichtige Rolle (WOESSNER, 1991). Die intrazellulär synthetisierten MMPs werden als inaktive Vorläufer sezerniert und autokrin oder parakrin durch verschiedene Enzyme (Trypsin, Plasmin, Kallikrein, andere MMPs) oder Cytokine aktiviert. Ihre Gegenspieler sind die „*tissue inhibitors of matrix metalloproteinases*“ (TIMPs; WOESSNER, 1991; WALTER & BOOS, 2001). WALTER und BOOS (2001) und DILLY et al. (2011) untersuchten bestimmte MMPs und TIMPs im Zusammenhang mit Nachgeburtsverhalten beim Rind. Mit Hilfe immunhistochemischer Methoden konnte gezeigt werden, dass TIMP2 besonders in binukleären Zellen produziert wird. In Kombination mit dem Wissen, dass die Zahl der binukleären Zellen physiologischerweise im Zuge der Placentareifung sinkt (WILLIAMS et al., 1987), lässt dies den Schluss zu, dass die Reduktion der TIMP2-Freisetzung ein wichtiger Faktor für eine ungestörte Nachgeburtsablösung darstellt (WALTER & BOOS, 2001). DILLY et al. (2011) führten Expressionsanalysen von *MMP14*, *MMP2* und *TIMP2* an Placentomgewebe von gesunden und betroffenen Tieren durch. Die relativen mRNA-Expressionswerte blieben für *MMP14* unverändert, *MMP2* und *TIMP2* wurden bei Falltieren verstärkt exprimiert.

Die vermehrte metabolische Aktivität, welche physiologischerweise während einer Trächtigkeit auftritt, birgt die Gefahr für das Entstehen von Imbalancen zwischen Produktion und Neutralisation reaktiver Sauerstoffspezies (ROS); es entsteht oxidativer Stress (KANKOFER et al., 2010). Oxidativer Stress kann zu Störungen im Steroidhormon- und Prostaglandinhaushalt führen. Wenn Enzymaktivitäten durch ROS verändert werden, fördert dies die Proteinperoxidation und Proteolyse

(KANKOFER et al., 2004). WISCHRAL et al. (2001) sehen in einer Imbalance des antioxidativen Vermögens, gefolgt von einer verminderten Östrogenproduktion, die zu einer Akkumulation von Arachidon- und Linolsäure im Placentagewebe führt, eine mögliche Ursache der Nachgeburtsverhaltung. Eine Verbindung zwischen Östrogendefizit und Placentaretention sowie zwischen Prostaglandin F_{2α}-Defizit und Placentaretention konnte gezeigt werden (WISCHRAL et al., 2001a).

Eine Meta-Analyse von 44 Studien konnte einen positiven Einfluss einer Vitamin E-Supplementierung auf die Inzidenzrate der Nachgeburtsverhaltung beim Rind belegen (BOURNE et al., 2007). Eine Verbesserung der Ansprechbarkeit neutrophiler Granulozyten auf chemotaktische Reize (POLITIS et al., 1996) wird von BOURNE et al. (2007) als mögliche Begründung der positiven Wirkung von Vitamin E angesehen. Günstige Eigenschaften im Zusammenhang mit der Ablösung der fetalen Placenta werden auch Selen zugesprochen, besonders durch seine Rolle als Cofaktor des gewebeprotectiven, antioxidativ wirkenden Enzyms Glutathionperoxidase und seiner Beteiligung an der lokalen Umwandlung des Schilddrüsenhormons Thyroxin (T₄) in Trijodthyronin (T₃), welches an der Hochregulierung der benötigten metabolischen Aktivität Anteil hat (COOK & GREEN, 2007).

Traumaeinwirkung auf den Uterus durch Dystokie, Fetotomie, *Sectio caesarea* oder länger bestehender Uterustorsion stellt einen häufigen Risikofaktor für die Placentaretention dar (RICHTER & GÖTZE, 1993; BEAGLEY et al., 2010). Durch ein resultierendes Ödem der Kotyledonen, das bis zu den apikalen Bereichen der Chorionzotten in die Villi reicht, wird die fetale Placenta besonders stark an den Karunkeln fixiert (RICHTER & GÖTZE, 1993). Eine oftmals mit Trauma assoziierte Atonie des Uterus kann den Ausstoss der Nachgeburt verhindern und somit sekundär eine *Retentio secundinarium* hervorrufen (BEAGLEY et al., 2010).

Eine holistische Transkriptomstudie des Placentagewebes von STREYL et al. (2011) vergleicht die Genexpression 12 bis 15 Tage *ante partum* mit der Genexpression in *intra partum* gewonnenen Placentaprobe. Gene, die ein signifikant höheres mRNA-Level *intra partum* im Vergleich zu *ante partum* zeigten, konnten beinahe alle den biologischen Prozessen Apoptose, Degradation der

Extrazellulärmatrix und angeborene Immunantwort zugeordnet werden. Die Autoren bieten mit diesen Ergebnissen eine hervorragende Basis für zukünftige Studien zu Pathomechanismen der Nachgeburtsablösung.

2.5.4 Inzidenz und wirtschaftliche Bedeutung

Berichte über die Häufigkeit des Auftretens der Nachgeburtsverhaltung in einer Herde zeigen deutliche Schwankungen. In den von KELTON et al. (1998) erfassten Daten aus den Jahren 1979 bis 1995 variierten die Inzidenzen von 1,3 % bis 39,2 %, bei einem Mittelwert von 8,6 % (BENEDICTUS et al., 2011). BONNEVILLE-HEBERT et al. (2011) analysierten 418 383 Laktationen der Jahre 2000 bis 2006 und berichten von einer mittleren Inzidenz von 4,3 %, wobei ein signifikanter Anstieg von der ersten Geburt (3,1 %) bis zur vierten Geburt (5,9 %) zu verzeichnen ist.

Die wirtschaftliche Bedeutung der Erkrankung ist nicht unerheblich. Wirtschaftliche Verluste für den Landwirt entstehen zum einen durch Leistungseinbußen, zum anderen durch Kosten für die tierärztliche Behandlung. GUARD (1999) schätzt die anfallenden Kosten pro Fall auf 285 US Dollar, KOSSAIBATI und ESSLEMONT (1997) beziffern die Gesamtheit der anfallenden Kosten und Verluste mit knapp 300 englischen Pfund (Preise von 1995).

Das Auftreten einer Placentaretention erhöht das Risiko für die Kuh an einer postpartalen metabolischen Störung oder einer Krankheit des Reproduktionstrakts zu erkranken. Für die klinische Endometritis gilt die Placentaretention als dominantester Risikofaktor (POTTER et al., 2010), auch liegt ein gesteigertes Risiko für die Entwicklung einer Metritis vor (LAVEN & PETERS, 1996). Eine aktuelle Studie berichtet von 29 % aller Falltiere, die anschließend an eine Placentaretention eine Metritis entwickeln (BONNEVILLE-HEBERT et al., 2011). Dies deckt sich weitestgehend mit den Ergebnissen von LEBLANC (2008), der von 25 bis 50 % aller betroffenen Tiere mit nachfolgender Metritis spricht. Auch Assoziationen zwischen Placentaretention und dem Auftreten von Ketose (CORREA et al., 1993) sowie von Mastitis (SCHUKKEN et al., 1989) sind dokumentiert.

Als negative Folge einer Placentaretention kann häufig eine Minderung der Fruchtbarkeit beobachtet werden. Durchschnittlich vergehen zwei bis drei Tage mehr bis zum Auftreten des ersten Östrus nach der Abkalbung und die Konzeptionsrate bei der ersten Besamung ist geringer (FOURICHON et al., 2000). In einer Studie von HOLT et al. (1989) wurden im Durchschnitt 2,5 Besamungen pro Kuh bis zur Konzeption bei Tieren, die eine Placentaretention entwickelt hatten, benötigt. In der Kontrollgruppe lag der Wert bei 1,6 Besamungen pro Kuh. Somit verlängerte sich die Zeit von der Abkalbung bis zur erneuten Konzeption im Mittel von 97 auf 134 Tage. Die Trächtigkeitsrate bei einer Untersuchung der Tiere 28 Tage nach Besamung oder späterer Untersuchung ist signifikant vermindert, wenn die Tiere in der vorherigen postpartalen Periode eine Nachgeburtshaltung zeigten (MCDUGALL, 2001).

Angaben zur Auswirkung auf die Milchleistung der betroffenen Kühe in der anschließenden Laktationsperiode variieren. Bei RAJALA und GROHN (1998) ist ein Einfluss einer Placentaretention nach der ersten, zweiten und dritten Abkalbung in der jeweiligen anschließenden Laktation messbar, wobei die deutlichsten Verluste nach Placentaretention nach der zweiten Trächtigkeit auftreten, im Besonderen bei hochleistenden Milchkühen. Die Unterschiede zu nicht betroffenen Tieren betragen hier 3,4 kg pro Tag in den ersten zwei Wochen nach Diagnosestellung, 3,5 kg pro Tag in der zweiten bis vierten Woche und 1,9 kg pro Tag in der vierten bis sechsten Woche. ROWLANDS und LUCEY (1986) berichten von einer geminderten Spitzenmilchleistung und Einbußen in der 305-Tage Milchleistung von 7 %. Untersuchungen von SIMERL et al. (1992) an 1144 Färsen über die Auswirkungen von peripartalen Störungen ergaben eine verminderte Milchleistung in der ersten Laktation von insgesamt 239 kg nach vorangegangener Placentaretention. Einige Forscher konnten jedoch keinen signifikanten Einfluss der Placentaretention auf die Milchleistung nachweisen (z. B. MARTIN et al. (1986), TREVISI et al. (2008)).

2.5.5 Heritabilität und genetische Korrelation

HERINGSTAD (2010) setzte die Heritabilität der Nachgeburtsverhaltung auf 0,06 fest. In seiner Studie konnte er auf Daten von über einer halben Million Kühen in der ersten Laktation der Rasse Norwegian Red zurückgreifen. In mehreren anderen Untersuchungen lag der Wert für die Heritabilität zwischen 0,004 und 0,08 (LYONS et al., 1991; VAN DORP et al., 1998; KOECK et al., 2010).

Die genetische Korrelation zu einigen anderen Merkmalen wurde ebenfalls untersucht. HERINGSTAD et al. (2005) erreichten für die genetische Korrelation zwischen dem Auftreten der Nachgeburtsverhaltung in der ersten, zweiten oder dritten Laktation einen Wert von 0,54 und schlussfolgerten daraus, dass unabhängig vom Zeitpunkt des Auftretens dieselben Gene an der Ausprägung beteiligt sind. Eine stark positive Korrelation (0,64) wurde zwischen Metritis und Placentaretention ermittelt, wodurch die Hypothese erstellt werden konnte, dass Selektion gegen eines der beiden Merkmale gleichzeitig die Inzidenz des anderen Merkmals senkt (HERINGSTAD, 2010). VAN DORP et al. (1998) berichten im Gegensatz dazu von einer sehr geringen genetischen Korrelation (0,06) zwischen den beiden Merkmalen, basierend allerdings nur auf Daten aus 12 471 Laktationen. Die Korrelation von Nachgeburtsverhaltung mit Milchfieber (hypocalcämische Gebärparese) und mit Mastitis ist ebenfalls positiv (THOMPSON, 1984). Die Korrelation zwischen Ovarzysten und Placentaretention wird mit nahe Null angegeben (VAN DORP et al., 1998). Das Fehlen einer starken genetischen Korrelation (positiv wie negativ) spricht für unterschiedliche genetische Einflussbereiche, weshalb für jedes dieser Merkmale individuell selektiert werden muss. Bei Selektion auf gesteigerte Milchleistung ohne Beachtung anderer Merkmale wird eine erhöhte Inzidenz für Mastitis, Lahmheit, Ovarzysten, Ketose und Metritis erwartet; der Einfluss auf die Inzidenz der Nachgeburtsverhaltung ist dagegen weniger klar (BERRY et al., 2011). In BERRY et al. (2011) werden Heritabilität und genetische Korrelationen wichtiger Krankheiten bei Rindern zusammenfassend dargestellt.

2.5.6 Kartierungsstudien

Die bisher einzige Kartierungsstudie für das Merkmal Placentaretention ist eine QTL-Kartierung von HOGLUND et al. (2009), in deren Rahmen auch andere Fertilitäts-assoziierte Merkmale analysiert wurden. Es wurden 34 Familien der dänischen Holstein-Friesian Population im *Granddaughter Design* (GDD; WELLER et al., 1990) analysiert. Im Gesamten wurden 1888 Bullen (Söhne) genotypisiert, durchschnittlich 55 pro GDD Familie. Ein genomweiter Scan mit 416 Mikrosatelliten als Marker (dies entspricht einem mittleren Markerabstand von 7,64 cM und durchschnittlich 14 Markern pro Autosom) wurde durchgeführt. Die Inzidenz für Placentaretention lag in dieser Studie bei 7,8 %. Vier QTLs für Placentaretention wurden entdeckt. Diese liegen auf BTA06 (116,2 cM), BTA10 (100,1 cM), BTA18 (83,3 cM) und BTA22 (83,3 cM). In näherer Umgebung (119,0 cM) des QTL auf BTA06 liegt auch ein QTL für „uterine Infektion und intraplazentäre Verabreichung von Antibiotika“. 10 cM vom detektierten QTL auf BTA10 entfernt, liegt ein QTL für „Intervall von der ersten bis zur letzten Besamung bei Kühen“. Eine Assoziation zum selben Marker auf BTA22 wurde für die Placentaretention und für das Merkmal „veterinärmedizinische Behandlung im Zusammenhang mit Fruchtbarkeit in der ersten Laktation“ ermittelt. Zudem wurden in dieser chromosomalen Region innerhalb 40 cM in vorherigen Studien ein QTL für „Größe des Kalbes“ (THOMSEN et al., 2008) und ein QTL für „56-Tage Non Return Rate“ (HOGLUND et al., 2009) kartiert. Besonders die Region auf BTA22 sollte nach Meinung der Autoren einer Feinkartierung mit dichtem SNP-Markerset unterzogen werden.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Material

3.1.1 Probenmaterial

Die Probengewinnung der Plazentomproben erfolgte im Rahmen zweier Dissertationen am Lehrstuhl für Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung der Klinik für Wiederkäuer der LMU München durch Dorothee Lange und Anna Braunert. Die Gewinnung der Haarwurzelproben wurde im gleichen Zeitraum von Dr. Monika Höpfl durchgeführt.

3.1.1.1 Beprobte Tiere

Die Beprobungen fanden von Mitte August bis Ende Oktober 2009 und von Anfang Februar bis Anfang Mai 2010 in einem Milchvieh-Betrieb in Brandenburg (Lübbinchener Milch und Mast GbR, Feldscheunenweg 4, 03172 Schenkendöbern, Ortsteil Lübbinchen) statt. Die verwendeten Tiere gehörten alle der Rasse Deutsche Holstein-Friesian, Typ Schwarzbunt, an. Insgesamt wurden 180 Tiere beprobt. Von diesen entwickelten 39 Tiere im postpartalen Zeitraum eine Placentaretention (kein Abgang der Nachgeburt innerhalb 12 Stunden nach Abkalbung). Nachfolgend wurden zwanzig Tiere mit Placentaretention als Falltiere sowie zwanzig Kontrolltiere für die kostenintensive und aufwendige Erstellung der mRNA-Expressionsprofile aus Plazentomproben ausgewählt und zugleich nach DNA-Isolierung aus Haarwurzelproben genotypisiert. Die ausgewählten Tiere waren zum Zeitpunkt der Abkalbung klinisch gesund. Die Abkalbung fand zwischen dem 273. und 287. Trächtigkeitstag statt, eine Geburtshilfe wurde nicht benötigt und die Kälber waren vital. Zudem stellen die 40 Studientiere eine repräsentative Auswahl im Hinblick auf die prä-, intra- und postpartal untersuchten Blutparameter Kalzium, β -Hydroxybuttersäure und Progesteron dar (siehe Dissertationen von A. Braunert und D. Lange).

Tabelle 1: Studentiere sortiert nach Fall- und Kontrolltierstatus mit genotypisierten Elterntieren.

Das Vorliegen einer Placentaretention (RET) beim Studentier (TierLID) sowie das Vorhandensein einer Probe von dessen Vater (VaterLID) oder Mutter (MutterLID) sind angegeben

TierLID	RET	VaterLID	MutterLID
HF0401	ja	HF0055	
HF0402	ja	HF0074	
HF0405	ja		
HF0406	ja	HF0078	HF0301
HF0407	ja	HF0073	
HF0409	ja	HF0062	
HF0412	ja	HF0066	
HF0413	ja	HF0074	
HF0414	ja		
HF0416	ja	HF0081	
HF0417	ja	HF0077	
HF0418	ja	HF0066	
HF0421	ja	HF0081	HF0307
HF0501	ja	HF0086	
HF0502	ja	HF0079	
HF0515	ja		
HF0516	ja		
HF0519	ja	HF0066	
HF0522	ja	HF0081	
HF0523	ja	HF0077	
HF0423	nein		
HF0429	nein		HF0304
HF0434	nein	HF0078	HF0305
HF0439	nein	HF0085	
HF0464	nein	HF0085	
HF0485	nein		
HF0489	nein	HF0088	
HF0490	nein	HF0055	
HF0527	nein		
HF0546	nein		HF0300
HF0547	nein	HF0071	
HF0549	nein	HF0071	
HF0551	nein	HF0084	
HF0553	nein	HF0069	
HF0556	nein	HF0054	HF0303
HF0558	nein		
HF0567	nein	HF0053	HF0309
HF0568	nein		HF0308
HF0574	nein	HF0082	
HF0581	nein	HF0053	HF0302

Für die Ableitung möglichst richtiger und aussagekräftiger Haplotypen (siehe Kapitel 3.2.2.3) wurden Haarwurzelproben von Müttern der 40 ausgewählten Kühe, die sich noch im Bestand befanden, gezogen. Aus demselben Grund wurden anhand der Abstammungsdaten die Väter identifiziert und – soweit möglich – Spermaproben dieser Bullen bei den zuständigen Zuchtverbänden bestellt. Auch die bekannten Elterntiere wurden genotypisiert. Um eine Übersicht über die erreichte Datenstruktur zu ermöglichen, zeigt Tabelle 1 die Labornummern der 40 analysierten Tiere, sortiert nach Fall- beziehungsweise Kontrolltierstatus sowie die Labornummern der zugehörigen, genotypisierten Elterntiere.

3.1.1.2 Haarwurzelproben

Die Entnahme der Haare wurde mit behandschuhten Händen durchgeführt, um Verunreinigungen und eine Zerstörung der Proben durch körpereigene Enzyme zu vermeiden. Mit Hilfe einer Zange wurde den Kühen ein Haarbüschel aus der Schwanzquaste gezupft. War dies aufgrund erfolgter Amputation oder grober Verschmutzung nicht möglich, wurden die Haarproben aus einer Ohrmuschel gezogen.

Gewonnene Haarwurzelproben wurden gesondert in kleine Plastiktüten abgepackt und mit der Tier-Identifikationsnummer und der Labornummer beschriftet. Bis zur Weiterverarbeitung wurden die abgepackten Haarproben tiefgefroren bei minus 20 °C gelagert, um eine Zersetzung des Materials zu verhindern.

3.1.1.3 Plazentomproben

Unmittelbar nach Abkalbung wurden drei Plazentome pro Tier *via vaginalis* unter manueller Kontrolle und unter möglichst sauberen Bedingungen mit Hilfe eines Effeminators, modifiziert nach Richter, entnommen. Aus den fetomaternalen Kontaktbereichen wurden pro Plazentom wiederum drei Stanzproben gewonnen. Nach erneuter Dreiteilung jeder Stanzprobe wurden die Teilproben in geeignete Medien überführt. Jeweils eine Teilprobe jeder Stanzprobe wurde mittels

RNAlater® konserviert und nach 24 h in ein Eppendorfggefäß gegeben, in welchem sie bei -18 °C bis zur Verwendung in den Expressionsanalysen aufbewahrt wurde. Die anderen Teilproben wurden zur Hälfte in neutral gepuffertem Formalin, zur anderen Hälfte in Paraformaldehyd fixiert und danach in 70 % Ethanol eingelegt.

3.1.2 Verwendete Software und Datenbanken

ASReml 3.0	http://www.vsnl.co.uk/software/asrem1
BEAGLE 3.0.4	http://www.stat.auckland.ac.nz/~browning/beagle/beagle.html
BLAST	http://blast.cbcu.umd.edu/bosblast.html
Entrez Gene	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene
Microsoft Office 2003	http://office.microsoft.com/de-de
Microsoft SQL Server 2005	http://msdn.microsoft.com/de-de/sqlserver
Microsoft Visual Studio 2005	http://www.microsoft.com/visualstudio/de-ch/products/2005-editions
PLINK 1.07	http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/
PubMed	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed
R 2.14.1	http://www.r-project.org

3.1.3 Geräte

Autoklav	Thermo Fisher Scientific
Kühlschrank	Siemens, München
Laborfeinwaage	Sartorius, Göttingen
Magnetrührer	IKA-Werke, Staufen
NanoDrop Spectrophotometer ND-1000	peqlab, Erlangen
Pipetten, einstellbar (0,5-10 µl)	Abimed, Langenfeld
Pipetten, einstellbar (10-100 µl)	Abimed, Langenfeld
Pipetten, einstellbar (100-1000 µl)	Abimed, Langenfeld

Thermomixer 5436	Bachofer, Reutlingen
Tiefkühlschrank	Bosch, Gerlingen-Schillerhöhe
Tischzentrifuge	Qualitron Inc., Michigan, USA
Vortexer	Bachofer, Reutlingen
Wärmeschrank	Bachofer, Reutlingen
Zentrifuge	Hettich, Tuttlingen

3.1.4 Chemikalien und Reagenzien

Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4)	Merck, Darmstadt
Dithiothreitol (DTT)	Sigma-Aldrich, Steinheim
EDTA	Roth, Karlsruhe
Ethanol (ETOH)	Roth, Karlsruhe
Kaliumchlorid (KCl)	Merck, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	Merck, Darmstadt
Magnesiumchloridhexahydrat (MgCl_2)	Merck, Darmstadt
Natriumacetat	Merck, Darmstadt
Natriumchlorid (NaCl)	Roth, Karlsruhe
Polyoxyethylen(20)-sorbitan-monolaurat (Tween 20)	ICN Biomedicals, Ohio, USA
Proteinase K	Roth, Karlsruhe
Salzsäure (HCl)	Roth, Karlsruhe
Sodiumdodecylsulfat (SDS)	Sigma-Aldrich, Steinheim
Trishydroxymethylaminomethan (Tris)	Roth, Karlsruhe

3.1.5 Puffer

3.1.5.1 Extraktionspuffer

2,5 ml	2 M NaCl
5,0 ml	100 mM Tris pH 8,2
5,0 ml	20 mM EDTA pH 8,0
5,0 ml	10 %iges SDS
ad 50 ml	Aqua dest.

3.1.4.2 Lysispuffer K

8,0 ml	1 M Tris-HCl pH 8,3
0,3 ml	2 M MgCl ₂
10,0 ml	1 M KCl
2,0 ml	Tween 20
ad 400 ml	Aqua dest.

3.1.5.2 PBS-Puffer

8,0 g	NaCl
0,2 g	KCl
1,44 g	Na ₂ HPO ₄
0,24 g	KH ₂ PO ₄
ad 1000 ml	Aqua dest.

Der PBS-Puffer wird auf pH = 7,4 eingestellt, anschließend autoklaviert und im Kühlschrank gelagert.

3.1.5.3 TE-Puffer

10,0 ml	1 M Tris pH 8,0
2,0 ml	0,5 M EDTA pH 8,0
ad 1000 ml	Aqua bidest.

Der TE-Puffer muss autoklaviert werden.

3.1.6 Verbrauchsmaterial

Einmalhandschuhe	Unigloves, Troisdorf
Etiketten	Dalektron, Dreieich
Falcon-Röhrchen 15 ml	Nunc, Langenselbold
Nescofilm Klebefolie	Roth, Karlsruhe
Pinzette, anatomisch	Roth, Karlsruhe
Pipettenspitzen	Biozym Scientific GmbH, Oldendorf
Plastiktütchen	Roth, Karlsruhe
Reaktionsgefäß 1,5 ml, graduiert, mit Druckverschluss	Biozym Scientific GmbH, Oldendorf
Reaktionsgefäß 2,0 ml, graduiert, mit Druckverschluss	Biozym Scientific GmbH, Oldendorf

3.2 Methoden

3.2.1 Molekularbiologische Methoden

3.2.1.1 DNA-Isolierung

Die DNA-Isolierungen sowie die nachfolgenden photometrischen Messungen wurden in den Labors des Lehrstuhls für Tierzucht und Allgemeine Landwirtschaftslehre der LMU München durchgeführt.

3.2.1.1.1 DNA aus Haarwurzeln

Zur DNA-Isolierung aus Haarwurzeln werden pro Probe 25 bis 30 Haarwurzeln sorgfältig vom restlichen Haar abgeschnitten und in ein 1,5 ml fassendes Reaktionsgefäß überführt. Kurzes Zentrifugieren bewirkt, dass sich die Haarwurzeln am Grund des Gefäßes sammeln. Dann wird zu den Haarwurzeln 0,25 µl Proteinase K in der Konzentration 20 mg/ml und 49,8 µl Lysispuffer K zugegeben. Nach 80minütiger Inkubation bei 66 °C im Thermomixer muss die Probe 20 Minuten lang auf 96 °C erhitzt und danach für eine Minute mit 15 000 x g zentrifugiert werden. Anschließend wird eine Ethanol-fällung durchgeführt. Hierfür bestimmt man durch Aufziehen des Lysats in eine Pipette dessen Volumen. Zehn Prozent des Lysatvolumens 3 M Natriumacetat und 250 % des Lysatvolumens ETOH p. A. 100 % werden nun zugegeben. Nach gründlicher Durchmischung mit Hilfe des Vortex-Geräts wird die Probe 30 Minuten bei 15 000 x g zentrifugiert. Ein Pellet am Boden des Reaktionsgefäßes entsteht und wird im Anschluss mit 400 µl ETOH 70 % gewaschen. Nach weiterer Zentrifugation (5 Min., 16 000 x g) wird der Überstand abgegossen und die Probe für etwa 20 Minuten bei 37 °C getrocknet. Die Resuspendierung in H₂O oder TE-Puffer erfolgt über Nacht, sodass am folgenden Tag photometrische Messungen der gewonnenen DNA-Stocklösung durchgeführt werden können.

3.2.1.1.2 DNA aus Sperma

Zunächst wird ein 2,0 ml fassendes Eppendorf-Reaktionsgefäß mit Deckel mit 1,5 ml PBS-Puffer befüllt und bereit gestellt. Eine portionierte, zur Besamung verwendete Paillette Rindersperma enthält gewöhnlicherweise 200 bis 300 µl Sperma. Eine solche Paillette des betreffenden Rinderspermas wird an dem Ende, an dem sich nicht der Wattestopfen befindet mit einer Schere aufgeschnitten und mit dem offenen Ende in das vorbereitete Eppendorfgefäß gehalten. Dann wird das obere Ende (samt Wattestopfen) abgeschnitten, damit das Sperma abfließen kann. Zur kompletten Entleerung anschließend eine auf 200 µl eingestellte Pipette auf das obere Ende der Paillette aufsetzen und mehrmals auf- und abpipettieren. Die Probe sehr gut vortexen und mit PBS-Puffer waschen. Diesen Vorgang zwei- bis dreimal wiederholen, bis der Überstand klar ist. Nach fünfminütigem Zentrifugieren mit 5 000 x g, bei welchem sich ein Spermapellet am Grund des Gefäßes bilden sollte, wird die Probe mit 0,9 ml Extraktionspuffer, 100 µl einer frisch angesetzten 0,5 M DTT-Lösung und 50 µl Proteinase K in der Konzentration 20 mg/ml versetzt und über Nacht bei 65 °C im Wärmeschrank inkubiert. Während dieser Zeit werden die Zellhüllen der enthaltenen Zellen zerstört, sodass die DNA freier werden kann und sich anschließend im Überstand befindet. Am folgenden Tag wird 450 µl 6 M NaCl-Lösung zugesetzt, die Probe sehr gut gevortext und dann wiederum bei 5 000 x g 40 Minuten zentrifugiert. Der Überstand, der die DNA enthält wird danach in ein Falcon-Röhrchen mit 15 ml Fassungsvermögen überführt. Es folgt die Präzipitation der DNA durch Zusetzen von 3 ml eiskaltem ETOH p. A. 100 %. Während das Falcon-Röhrchen vorsichtig geschwenkt wird, fällt die DNA aus und ist als weißlicher, schwimmender Faden zu erkennen, der mit einer sauberen Pipettenspitze gefischt und in ein 1,5 ml fassendes Tube, das mit 10 µl H₂O befüllt wurde, verbracht werden kann. Durch Lagern über Nacht bei 37 °C löst sich die DNA und die Konzentration und Qualität dieser DNA-Stocklösung kann am folgenden Tag photometrisch bestimmt werden.

3.2.1.2 Photometrische Messungen

Die photometrischen Messungen zur Konzentrationsbestimmung sowie zur Qualitätskontrolle erfolgten mit einem UV-Spektrophotometer (NanoDrop ND-1000).

3.2.1.2.1 Photometrische Konzentrationsbestimmung der DNA

Nukleinsäuren zeigen ein charakteristisches Absorptionsmaximum bei Licht der Wellenlänge 260 nm. Im UV-Spektrophotometer wird die optische Dichte der Probe bei 260 nm bestimmt (OD_{260}) und daraus die DNA-Konzentration berechnet. Eine OD_{260} von 1 entspricht einer DNA-Konzentration von 50 µg/ml doppelsträngiger DNA. Durch Verdünnung der Stocklösung mit TE-Puffer kann die für die Illumina SNPChip-Analyse benötigte Konzentration von 50 ng/ml eingestellt werden, wobei Toleranzgrenzen der gemessenen Konzentration von 45 ng/ml sowie 60 ng/ml akzeptiert werden.

Wenn eine zeitnahe Weiterverwendung von Stocklösung und verdünnter Lösung vorgesehen ist, ist deren Lagerung im Kühlschrank bei 4 °C möglich, ansonsten sollten diese tiefgefroren aufbewahrt werden.

3.2.1.2.2 Photometrische Qualitätskontrolle der DNA

Eine Aussage zur Reinheit der vorliegenden DNA-Stocklösung kann ebenfalls mit Hilfe des UV-Spektrophotometers getroffen werden. Hierfür wird die OD_{260} in Relation zur OD_{280} gesetzt, indem der Quotient OD_{260}/OD_{280} berechnet wird. Ein Ergebnis zwischen 1,8 und 2,0 spricht für eine genügende Reinheit der vorliegenden Probe, wohingegen Werte über 2,0 auf das Vorliegen von RNA hindeuten und Werte kleiner als 1,8 einen Hinweis auf Verunreinigungen durch Proteine geben.

3.2.1.3 Genotypisierung

Für die vorliegende Studie wurden vorbereitete DNA-Proben von 40 Studientieren, 9 Muttertieren und 18 Bullen genotypisiert. Die Genotypisierungen wurden mittels Illumina BovineSNP50 Genotyping BeadChip (Illumina, San Diego, USA) von der Tierzuchtforschung e. V. München entsprechend der Illumina-Protokolle durchgeführt. Der BovineSNP50 Genotyping BeadChip enthält 54 609 gleichmäßig über das bovine Genom verteilte SNPs, die einen mittleren Abstand von 49,9 kb aufweisen.

Der Prozess vom Vorliegen genomischer DNA bis zur Detektion der SNP-Genotypen läuft in vier Schritten ab. Zunächst erfolgt eine mindestens tausendfache genomweite Amplifikation der vorliegenden DNA, damit genügend DNA für die nun folgende Fragmentierung und Hybridisierung vorhanden ist. Die Amplifikationsprodukte werden daraufhin mittels eines kontrollierten enzymatischen Prozesses fragmentiert. In einem dritten Schritt hybridisieren die fragmentierten DNA-Produkte Locus-spezifisch an Oligonukleotid-*Probes* auf dem Bead Chip. Die Auswertung der vorliegenden SNPs erfolgt mit Hilfe eines allelspezifischen, enzymatischen Primerverlängerungs-Assay, der jede SNP-Kategorie mit einer eigenen Farbe darstellen kann. Pro Oligonukleotid-*Probe* liegen zwei Typen vor, die sich nur an ihrem 3'-Ende unterscheiden, sodass Allel A an Typ A hybridisiert und Allel B an Typ B. Die Oligonukleotid-*Probe*-Sequenz wird nur mit Haptenmarkierten Desoxynukleosidtriphosphaten verlängert, wenn eine perfekte Hybridisierung mit einer allelischen Zielsequenz stattgefunden hat. Zuletzt werden die vorhandenen Signale durch immunhistochemische Färbung verstärkt, um eine genauere Auswertung durch einen konfokalen Scanner zu ermöglichen. Der Genotyp eines bestimmten SNP-Locus (AA, AB, BB) kann nun durch das Verhältnis der aufgetretenen Farbintensitäten bestimmt werden (GUNDERSON et al., 2005; GUNDERSON, 2009). Eine Übersicht über die Funktionsweise des Illumina BeadChips gibt Abbildung 6.

Durch die Probenpräparation in nur einem Reaktionsgefäß, die fehlende Notwendigkeit für die Durchführung einer Polymerasekettenreaktion (PCR), die Möglichkeit 24 Proben parallel auf einem Chip zu analysieren sowie durch das automati-

sierte Verfahren werden mögliche Fehlerquellen reduziert und vergleichbare Daten erzeugt.

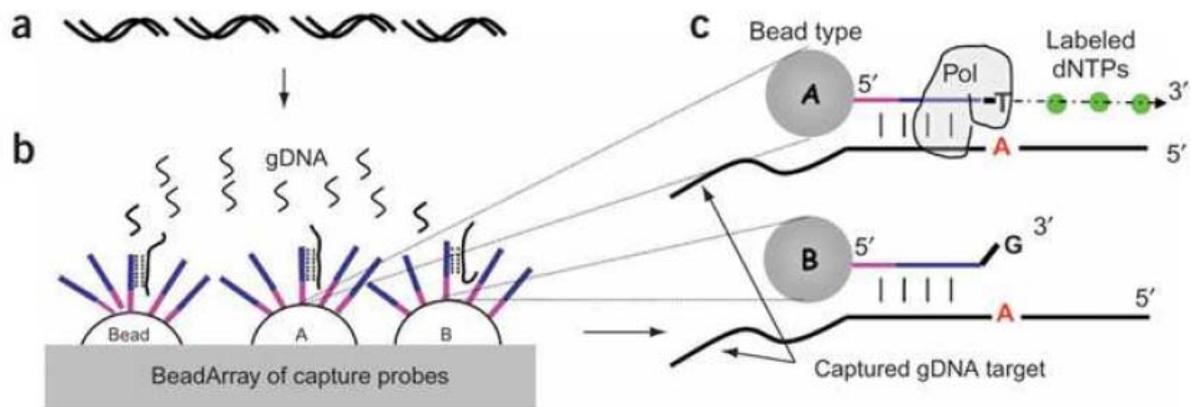


Abb 6: Schematische Darstellung zum Ablauf einer Genotypisierung mittels Bead Chip (GUNDERSON, 2005):

a) Amplifikation des gesamten Genoms b) Hybridisierung der Amplifikationsprodukte an ein spezifisches und sensibles Oligonukleotid-*Probe*-Array c) Array-basierende Primerverlängerungsreaktion zur SNP-Erkennung (Einbau von Biotin-markierten dNTP-Nukleotiden in die entsprechende Allelprobe) gefolgt von einer sensitiven Detektion und Signalamplifikation um die eingebauten Labels auszulesen.

3.2.1.4 Auswahl informativer SNP-Marker

Für eine Genomkartierung sind nur solche Marker von Bedeutung, die im vorliegenden Design informativ sind, d. h. die Allelfrequenzen aller möglichen Markerallele liegen in aussagekräftiger Häufigkeit vor. Zudem muss die Position der Marker im Genom bekannt sein.

Aufgrund der genannten Kriterien konnten insgesamt 40 860 informative SNPs mit einem Heterozygotiegrad > 5 % für die weiteren Analysen verwendet werden. Die für das hier untersuchte Design informativen SNPs sind genomweit verteilt, von maximal 2 686 SNPs in *Bos taurus* Autosom 1 (BTA01) bis 775 SNPs in BTA27. Die Anordnung der Marker basiert auf Version UMD3.1 der Karte des *Bos taurus* Genoms (http://www.cbcb.umd.edu/research/bos_taurus_assembly.shtml).

3.2.1.5 Erstellung von mRNA Expressionsprofilen

Die Erstellung der Transkriptomprofile der konservierten, tiefgefrorenen Plazentomproben mittels Microarray sowie die nötigen vorausgehenden Arbeitsschritte zur RNA-Isolierung und cDNA-Synthese erfolgten nach den Affymetrix Protokollen im Laboratorium für Funktionale Genomanalyse (LAFUGA) des Genzentrums der LMU München unter Leitung von Dr. rer. nat. Helmut Blum. Die Expressionsanalyse wurde mittels GeneChip® Bovine Gene 1.0 ST Array (Affymetrix©) durchgeführt. Dieser GeneChip® enthält 190 851 *Probe Sets* für 26 303 bovine Transkripte. Die *Probe Sets* sind so über das gesamte Transkript verteilt, dass für jedes Exon ein *Probe Set* vorhanden ist. Im Unterschied dazu ist die große Mehrheit der *Probe Sets* beim Vorläuferchip GeneChip® Bovine Genome Array (Affymetrix ©) am terminalen 3'-Bereich der Transkripte lokalisiert. Ein internationales Konsortium, das diesen neuartigen bovinen GeneChip® entwickelt hat, konnte diesen zwei Jahre lang exklusiv verwenden.

Abbildung 7 zeigt schematisch den Ablauf einer Microarrayanalyse. Anhand der gesamten vorliegenden, isolierten RNA wird zunächst komplementäre *copy-DNA* (cDNA) gebildet. Dies geschieht durch die Zugabe von *Random Primers*, die an mehreren Stellen entlang der RNA ansetzen, weshalb diese cDNA in fragmentiertem Zustand vorliegt. Anschließend wird auch der zweite cDNA-Strang synthetisiert. Um die Bildung eines zur ursprünglichen RNA komplementären RNA-Stranges zu erreichen, folgt eine *in vitro*-Transkription der doppelsträngigen cDNA-Fragmente. In einem weiteren Schritt wird wiederum der Komplementärstrang der momentan vorliegenden einzelsträngigen RNA hergestellt, mit dem Unterschied, dass anstelle von Thymin Desoxyuracil in die Desoxyribonukleotidsequenz eingebaut wird. Der Matrizenstrang wird hydrolisiert. Es liegt nun cDNA mit der gleichen Sequenz wie die der ursprünglichen RNA zum Startzeitpunkt vor, nur in fragmentiertem Zustand und U statt T beinhaltend. Durch enzymatische Erkennung und Entfernung der Desoxyuracilbasen wird die RNA weiter spezifisch fragmentiert. Nach Markierung der 3'-Fragmentenden mit biotinenthaltendem Reagenz kann die Hybridisierung mit auf dem Microarray-Chip befindlichen spezifischen Oligonukleotiden erfolgen. Abschließend werden die gebundenen cDNA-Fragmente durch Zugabe eines Fluoreszenzfarbstoffkomplexes sichtbar gemacht.

Die Intensität der Fluoreszenz dient als Maß für die relative Expression des betreffenden Gens.

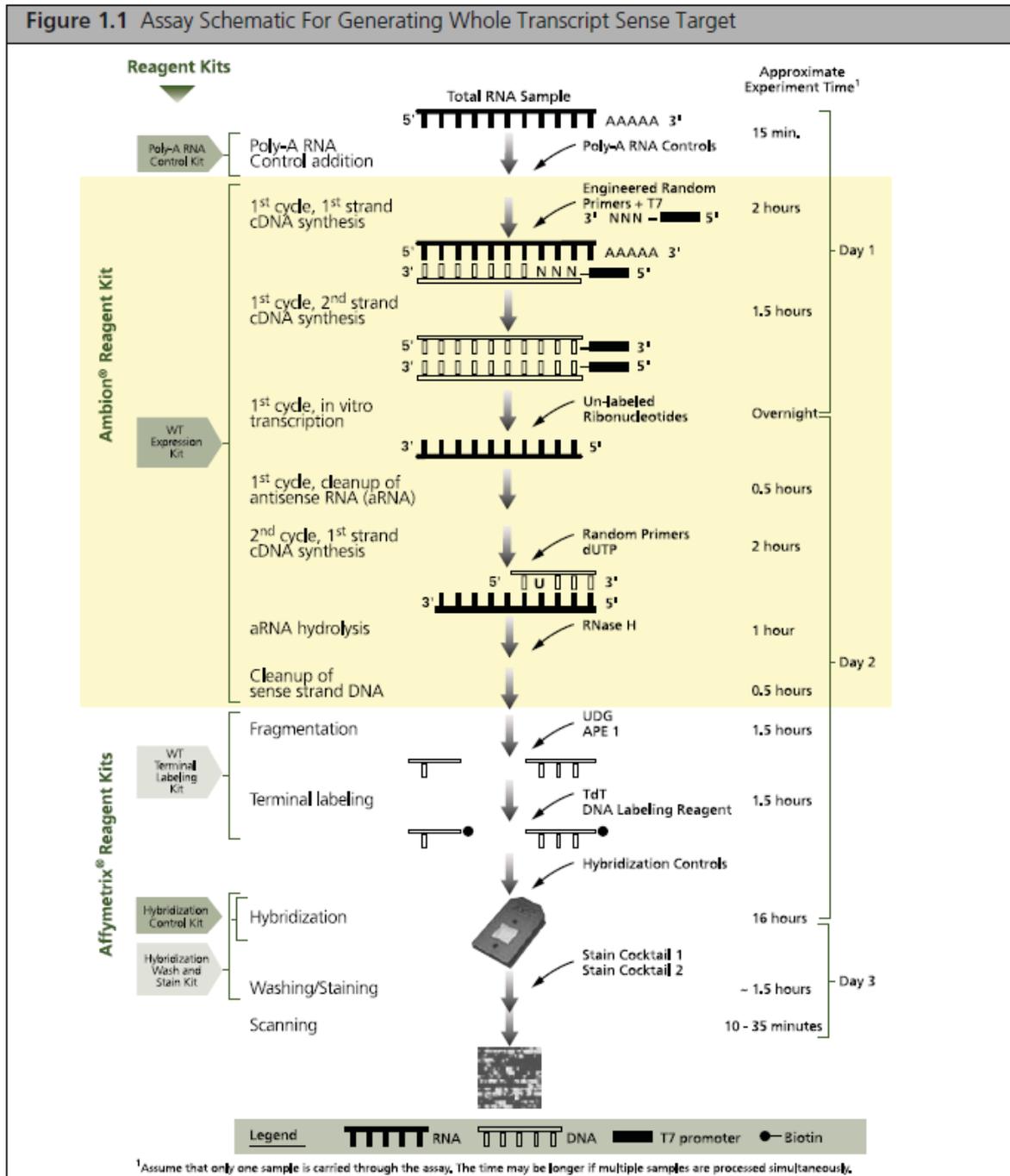


Abb. 7: Schematische Darstellung der Funktionsweise des GeneChip® Bovine Gene 1.0 ST Array (Affymetrix®)
 (http://media.affymetrix.com/support/downloads/manuals/wt_term_label_ambion_user_manual.pdf)

3.2.2 Bioinformatische und statistische Methoden

3.2.2.1 Prozessierung und Normalisierung der Expressionsdaten

Die Prozessierung und Normalisierung der Signalintensitätsdaten der einzelnen *Probe Sets*, die mittels GeneChip® Bovine Gene 1.0 ST Array (Affymetrix©) erhoben wurden, erfolgte mit Hilfe des Algorithmus RMA. Auf diesen Algorithmus kann im Rahmen der Affymetrix Power Tools zugegriffen werden (http://www.affymetrix.com/partners_programs/programs/developer/tools/powertools.affx).

3.2.2.2 Haplotypisierung

Für die meisten Methoden der Multilocusanalysen, die auf die Aufdeckung von Korrelation aufgrund eines bestehenden *linkage disequilibrium* (LD) abzielen, ist eine akkurate und zuverlässige Ableitung von maternalen und paternalen Haplotypen aus den Markergenotypdaten von Nöten. Für die Rekonstruktion von SNP-Haplotypen und Ergänzung („*imputation*“) fehlender Allele wurde in dieser Studie ein im Programm BEAGLE (BROWNING & BROWNING, 2007a) implementiertes Hidden Markov Model angewendet. In BEAGLE werden mittels eines lokalisierten Haplotyp-Cluster-Modells (BROWNING & BROWNING, 2007b), das als empirisches Modell für Haplotypfrequenzen an einem bestimmten Locus dient, die Haplotypen an jeder Markerposition t gruppiert, um eine wahrscheinliche Vorhersage über die Allele an den Positionen $t+1$, $t+2$, etc., bedingt durch den individuellen Genotyp, zu treffen. So wird ein Hidden Markov Model definiert, das genutzt werden kann, um Haplotypenpaare zu prüfen oder das wahrscheinlichste Haplotypenpaar abzuleiten. In neueren Versionen des Programms ist es zudem möglich, die zu analysierenden Individuen in drei Kohorten, nämlich Trios (zwei Eltern, ein Nachkomme), Duos (ein Elternteil, ein Nachkomme) und unverwandte Individuen einzuteilen. Sechs der verwendeten 40 Studientiere wurden der Trio-Gruppe, 26 der Duo-Gruppe zugeteilt und acht wurden innerhalb der Gruppe der unverwandten Individuen analysiert. Die zusätzliche genetische Information, die in Duos und Trios vorhanden ist, führt zu extrem genauen Ergebnissen. Weiterhin steigt die Genauigkeit der geschätzten Allelfrequenzen mit steigender Gruppengröße

(BROWNING & BROWNING, 2009), weshalb in der vorliegenden Studie neben den Studientieren und den zugehörigen Vorfahren noch die Daten weiterer 2 490 Tiere in die BEAGLE-Analyse zur Haplotypisierung und Ableitung nicht-genotypisierter Allele einbezogen wurden. Die so ermittelten vollständigen Haplotypen wurden in die institutseigene SQL-Datenbank eingelesen und stehen somit für weitere Analysen zur Verfügung.

Der Großteil der weiteren Untersuchungen in der vorliegenden Studie findet anhand gleitender Haplotyp-Fenster, bestehend aus 40 SNPs, statt. Aus den Ergebnissen der Haplotypisierung konnten mit Hilfe einer Visual Basic-Anwendung für jedes der 40 SNP-Fenster sogenannte Hap-, Map- und Dip-Files erstellt werden. Hap-Files enthalten die aus der SQL-Datenbank ausgelesenen Haplotypen für jedes der 40 Studientiere in dem jeweiligen SNP-Fenster. In den Map-Files sind die Bezeichnungen der 40 SNP-Marker mitsamt ihrer Position auf dem zugehörigen Autosom in Mb angegeben. Eine Zuordnung des vorliegenden Diplotyps für jedes Studientier erfolgt in den Dip-Files. Diese drei genannten Dateitypen dienen im weiteren Verlauf als Eingangsinformationen für die durchgeführten Analysen, insbesondere für die Erstellung der *LocIBD* (siehe Kap. 3.2.2.4).

3.2.2.2.1 Genomweite IBD-Wahrscheinlichkeiten und Hauptkomponentenanalyse

Wie bereits in Kap. 2.3.3.2 erläutert, ist besonders bei Verwendung des LD zur Kartierung quantitativer Merkmale die Gefahr falsch-positiver Ergebnisse aufgrund von Populationsstratifikation und unbekanntem Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb der Studienpopulation gegeben. In der verwendeten, kleinen Studienpopulation spielt die Populationsstratifikation eine untergeordnete Rolle, wohingegen eine Korrektur auf Verwandtschaft zwischen den Tieren von großer Wichtigkeit ist. Um verfälschten Ergebnissen vorzubeugen, wurden hier die genomweiten Wahrscheinlichkeiten für Herkunftsgleichheit (*identity by descent, gwIBD*) zwischen den Tieren im Programm PLINK (PURCELL et al., 2007) geschätzt, die dann als Eingangsdaten für eine nachfolgende Hauptkomponentenanalyse (*Principal Component Analysis = PCA*) dienten. PLINK nutzt ein Hidden

Markov Model in welchem der „verborgene“ *gwIBD*-Status zwischen Paaren der Studientiere geschätzt wird, indem die Wahrscheinlichkeit berechnet wird, dass ein gleiches Allel gleich aufgrund einer gleichen Abstammung (also IBD) ist. Die Ergebnisse lassen sich in einer Datenmatrix der Dimension 40 x 40 darstellen. Um diese Ergebnisse effizient, aber ohne bedeutenden Informationsverlust weiterverwenden zu können, wird die PCA zur Dimensionsreduktion durchgeführt. Durch die Einbeziehung der zueinander statistisch unabhängigen Hauptkomponenten (*Principal Components*, PCs) in das später verwendete lineare Modell wird Verwandtschaftsbeziehungen und möglichen Effekten einer Populationsstratifikation Rechnung getragen. In das Modell für die eQTL-Kartierung wurden 20 PCs aufgenommen, die 76 % der genetischen Varianz erklären.

3.2.2.2 Locus IBD Wahrscheinlichkeiten und *Diplotype Relationship Matrix*

Ziel dieser Arbeit ist die genomweite Untersuchung der genetischen Daten auf Korrelation mit phänotypischer Expressionsausprägung. Bei zwei Chromosomen, die den selben Markerhaplotyp tragen, der IBD ist, ist die Wahrscheinlichkeit, dass sie auch dieselben Allele der in diesem Bereich kodierten Gene tragen, größer als bei zufällig betrachteten Gameten.

Um die vorhandenen Haplotypdaten in eine Form zu bringen, die in der nachfolgenden Varianzkomponentenanalyse auf ihren Einfluss auf die Expression einzelner Gene hin untersucht werden kann, wurde zunächst eine Locus IBD Wahrscheinlichkeit (*LocIBD*) anhand der Haplotypen nach der von MEUWISSEN und GODDARD (2001) eingeführten Methode, die in einer C-Applikation implementiert wurde, geschätzt. Betrachtet wird Locus A, der von einem Markerhaplotypen umgeben ist. Die Methode schätzt die bedingte Wahrscheinlichkeit, dass ein unbeobachteter Locus A, welcher sich auf zwei Haplotypen befindet, IBD ist, vorausgesetzt den beobachteten Marker-Haplotypen auf beiden Seiten des Locus A. Dabei werden Markerdistanzen, Allelfrequenzen und IBS („*identity by state*“)-Status der beobachteten Allelen beider Haplotypen berücksichtigt. So wird zuerst der Haplotyp rechts von A von links nach rechts betrachtet, dann der Haplotyp links von

Locus A von rechts nach links und folgende Möglichkeiten dabei in Betracht gezogen: Der Bereich zwischen A und dem ersten Marker beziehungsweise zwischen zwei Markern ist IBD („_“) respektive nicht-IBD („x“) und die Marker selbst sind IBD („1“) oder nicht-IBD („0“). Die Berechnung der Haplotypen-IBD Wahrscheinlichkeit wird nur bis zum ersten Auftreten eines nicht-IBD Bereichs oder eines nicht-IBD Markers auf jeder Seite durchgeführt. Dargestellt anhand eines Beispielhaplotyps aus vier SNP-Markern (Abbildung 8) ergeben sich also 25 Kombinationsmöglichkeiten, da jede der gezeigten Möglichkeiten der einen Seite mit jeder Möglichkeit der anderen Seite kombinierbar ist.

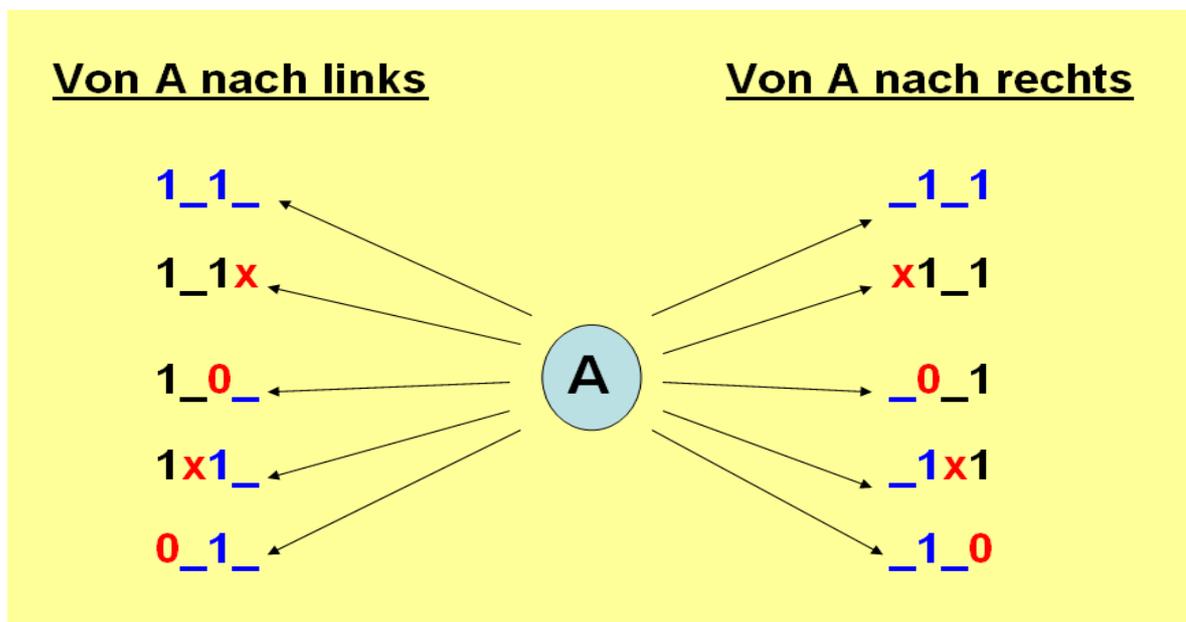


Abb. 8: Berechnung der *LocIBD* nach MEUWISSWEN und GODDARD (2001)
 Bereiche oder Marker, die zwischen zwei betrachteten Haplotypenpaaren von A ausgehend wahrscheinlich IBD sind, sind blau dargestellt. Der jeweils erste nicht-IBD Bereich oder Marker ist rot markiert.

In der vorliegenden Studie wird in einem Fenster von 40 informativen SNPs, das Marker für Marker über das Genom gleitet, jeweils die *LocIBD* für alle Haplotypenpaare zwischen den Markern an Position 20 und 21 - also in Fenstermitte - geschätzt. Genomweit werden 40 280 SNP-Fenster betrachtet. Abbildung 9 zeigt die jeweilige Fensteranzahl pro Autosom.

Ein Haplotypenpaar innerhalb eines Individuums wird als Diplotyp bezeichnet. Aus den Ergebnissen der oben gezeigten Methode wird zunächst eine Haplotypen-IBD-Matrix (d. h. *LocIBD*) erstellt, die jeweils vier IBD-Wahrscheinlichkeiten pro Individuenpaar enthält. Anschließend wird diese in eine *Diplotype Relationship Matrix* (D_{RM}) umgerechnet, indem die vier Haplotypen-IBD-Wahrscheinlichkeiten aus dem jeweiligen Diplotypenpaar aufsummiert und durch 2,0 geteilt werden. Dies entspricht der Berechnung einer G_{RM} Matrix bei LEE und VAN DER WERF (2006a), wobei G_{RM} eine additivgenetische Verwandtschaftsmatrix an einem QTL darstellt.

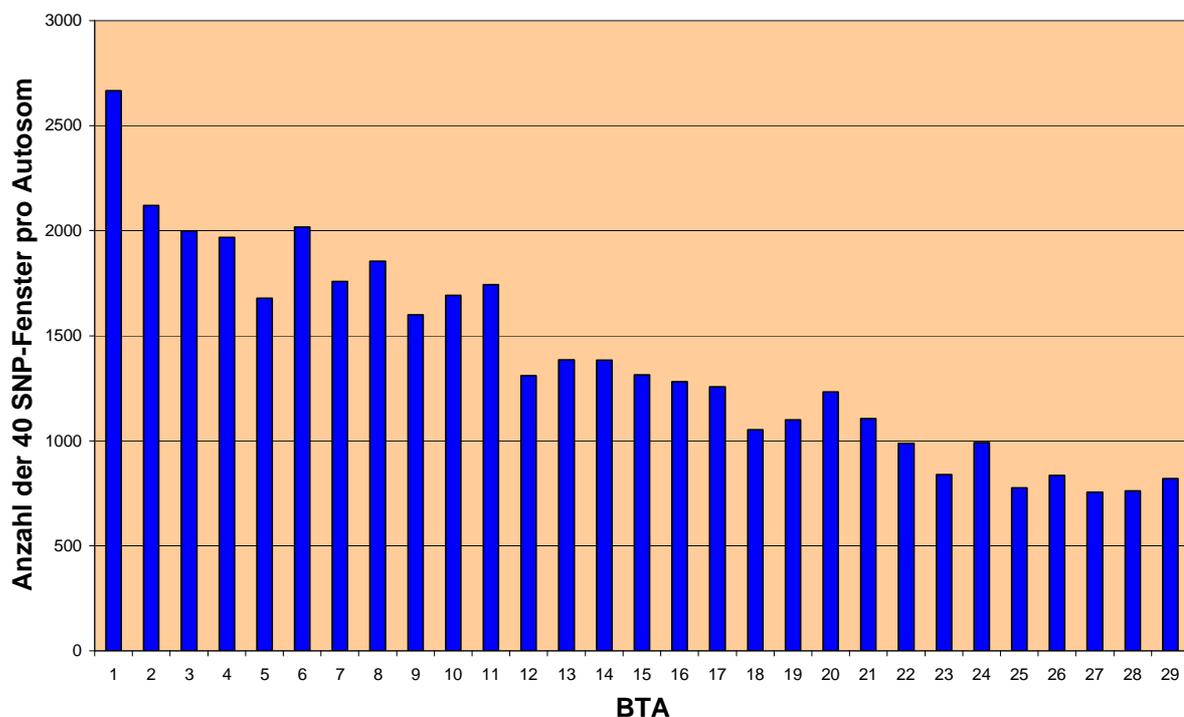


Abb. 9: Verteilung der 40280 40 SNP-Fenster über das Rindergenom
Die Anzahl der 40 SNP-Fenster (y-Achse) ist pro Autosom (x-Achse) dargestellt

3.2.2.2.3 Varianzkomponentenanalyse zur kombinierten *linkage/linkage disequilibrium* eQTL-Kartierung

Die in Kapitel 3.2.2.3 und 3.2.2.4 aufbereiteten Daten werden im Anschluss verwendet, um einen möglichen Einfluss der genetischen Sequenz auf die Ausprägung der Expression von Genen zu prüfen, indem ein gemischtes lineares Modell angewendet wird. Diese Varianzkomponentenanalyse, die genomweit an jeder vermeintlich möglichen eQTL-Position, d. h. in Mitte jedes der 40 280 SNP-Fenster, ausgeführt wird, stellt eine kombinierte Kopplungs- und Kopplungsungleichgewichtskartierung von Expressionsprofilen als quantitative Merkmale dar. Die Kopplungsinformation wurde anhand der Pedigreedaten, die bei Ableitung der Haplotypen berücksichtigt wurden, einbezogen, während das *linkage disequilibrium* bei der Berechnung der *LocIBD* eine wesentliche Rolle spielte.

Um einen Einfluss des Merkmals Placentaretention auf die Genexpression in der Studienpopulation nachzuweisen, wird ein zweistufiges Modell angewendet. In einem ersten Modell der Varianzkomponentenanalyse (MODEL1) wird auf fixe Polygeneffekte mittels 20 unabhängiger PCs als Cofaktoren und auf zufällige eQTL-Effekte über eine Diplotypen-Designmatrix \mathbf{Z} und deren Verwandtschaft \mathbf{D}_{RM} korrigiert. So kommt folgendes Modell zustande:

$$y = X\beta + Zq + e \quad (\text{MODEL1})$$

wobei y Vektor der Expressionsprofil-Beobachtungen, β Vektor der fixen Effekte, q Vektor von nD zufälligen additivgenetischen Effekten durch eQTL und e Vektor der zufälligen Resteffekte darstellt. Die fixen Effekte, β , schließen allgemeinen Mittelwert μ und PCs als 20 unabhängige Variablen ein. Die zufälligen Effekten q und e werden als miteinander unkorreliert und normalverteilt mit Mittelwert Null und Varianz $D_{RM} \sigma_q^2$ und $I \sigma_e^2$ angenommen.

Um festzulegen, welche der auf diese Weise entdeckten eQTLs relevant für das Merkmal Placentaretention sind, bedarf es der Etablierung einer Korrelation zwischen Expressionslevel und Merkmal (Schliekelman 2008). Deshalb wird ein

zweites Varianzkomponentenmodell (MODEL2) angewendet, das dieselben Effekte wie MODEL1 enthält und um einen fixen, durch Placentaretention bedingten Effekt (Ret) erweitert wurde.

$$y = X\beta + Zq + Ret + e \quad (\text{MODEL2})$$

Alle Berechnungen innerhalb der vorgestellten gemischten linearen Modelle wurden mit dem Statistikpaket ASReml 3.0 (GILMOUR, 2009) ausgeführt. Hierfür benötigte Eingangsinformationen in Form von *ASReml program files*, die die Arbeitsanweisungen für das Programm enthalten, und PHE-Dateien für die Phänotypinformationen wurden mittels einer Visual Basic-Anwendung erstellt. Die D_{RM} -Matrizen wurden dem ASReml Programm als generalisierte Inverse (D_{RM}^{-1}) zur Verfügung gestellt. Die Invertierung wurde im Linux-Programm *ginv* durchgeführt. Vor Inversion wurden alle Matrizen einem „*bending*“-Prozedere unterworfen, damit deren „positiv-definit“ Status geprüft und gegebenenfalls hergestellt wird. Dies wurde mit dem Programm *Bendpdf* (<http://www.nas.boku.ac.at/1898.html>) ausgeführt. Nach erfolgter Analyse generiert das Programm ASReml pro analysiertem Expressionsprofil und SNP-Fenster acht Ergebnisfiles verschiedener Dateitypen (.ask, .asr, .res, .rsv, .sln, .veo, .vvp, .yht).

3.2.2.3 Likelihood Ratio Teststatistik

Mit der *Likelihood Ratio* Teststatistik (LRT) ist es möglich, die Wahrscheinlichkeit eines eQTL-Effekts auf das Expressionslevel eines Gens zu schätzen. Der Logarithmus der Likelihoods des Modells, das fixe und genomweite Polygeneffekte ($LogL_0$) einschließt, wird hierfür in ein Verhältnis zu Likelihoods des Modells mit fixen, Polygen- und eQTL-Effekten ($LogL_P$) gestellt und so die LRT mit

$$LRT = -2(\log L_0 - \log L_P)$$

berechnet. Die LRT ist annähernd χ^2 verteilt mit einem Freiheitsgrad (OLSEN et al., 2004). Die Position mit dem höchsten LRT-Wert wird als wahrscheinlichste eQTL-Position angenommen.

Die Berechnung der LRT-Werte entlang der Chromosomen wurde mit einer Visual Basic Applikation durchgeführt und in Microsoft Power Point visualisiert. Das *ASReml primary output file* (asr-File), eines der Ergebnisfiles aus der punktuellen Varianzkomponentenanalyse im Programm ASReml, enthält die hierfür benötigte Likelihood.

3.2.2.4 Signifikanzniveaus

In MODEL1 werden genomweit alle eQTL-Peaks mit einem LRT-Wert größer 10,8 als signifikant angesehen. Ein LRT-Wert von 10,8 entspricht einem *P*-Wert von $p = 0,001$. Alle Expressionsprofile, die in MODEL1 signifikante eQTLs zeigen, werden direkt anschließend für die betreffenden Chromosomen nochmals in MODEL2 analysiert. Erst wenn ein Abfall des LRT-Wertes von mehr als 9,21 (= 2-LOD Intervall, in Anlehnung an die Theorie von VISSCHER und GODDARD (2004)) in MODEL2 im Vergleich zu MODEL1 zu beobachten ist, wird ein signifikanter Einfluss des Merkmals Placentaretention auf die Expression eines Gens angenommen. Einen schematisch-grafischen Überblick über das Zustandekommen eines signifikanten eQTL-Signals sowie eines signifikanten Abfalls des LRT-Werts in Abhängigkeit von Expressionswerten und Haplotypeninformation geben die Abbildungen 10 und 11.

3.2.2.8 Auswahl von Expressionsprofilen für die eQTL-Kartierung

Aufgrund des großen Computer- und Serverkapazitätenbedarfs und des hohen rechnerischen Zeitaufwandes ist es nicht möglich, alle 19 404 Expressionsprofile genomweit zu kartieren. Um dennoch den größtmöglichen Informationsgehalt zu erreichen, erfolgte eine Selektion der Expressionsprofile für die eQTL-Kartierung in drei Schritten. Zunächst wurden 20 Profile ausgewählt, die die stärkste differenzielle Expression zwischen Fall- und Kontrolltieren zeigten. Diese 20 Expressionsprofile stellen die zehn am meisten hochregulierten Gene und die zehn am meisten herunterregulierten Gene bei Falltieren im Vergleich zu Kontrolltieren dar. In einem zweiten Schritt wurden alle 19 404 Expressionsprofile anhand der gezeigten Varianz ihrer Expressionswerte (berechnet im Programm Microsoft Excel™ (Microsoft Inc., USA)) zwischen den 40 Studientieren sortiert und die 200 Profile mit der größten Varianz zur Analyse ausgewählt. Innerhalb dieser 200 Profile sind auch die 20 erstgenannten Expressionsprofile enthalten. Im letzten Schritt konnten mittels Literaturrecherche weitere Gene identifiziert werden, die in bereits publizierten Studien als eventuell mit dem Prozess der Placentaablösung in Zusammenhang stehend genannt werden. Besonders den Ergebnissen von STREYL et al. (2011) wurde hier Beachtung geschenkt. Von diesen identifizierten Genen wurden nur solche in die vorgestellte Kartierungsstudie aufgenommen, bei denen eine deutliche differentielle Expression (Fold Change Ret/Norm < -1,24 und > 1,20) im aktuellen Design zu erkennen war. Auf diese Weise wurden 99 weitere Expressionsprofile zur eQTL-Kartierung ausgesucht.

So erfolgte schließlich eine genomweite eQTL-Kartierung von 299 ausgewählten Expressionsprofilen. Die 299 Profile sind zusammen mit ihrer Position im Genom, und sortiert nach Varianz in Anhang 1 aufgelistet.

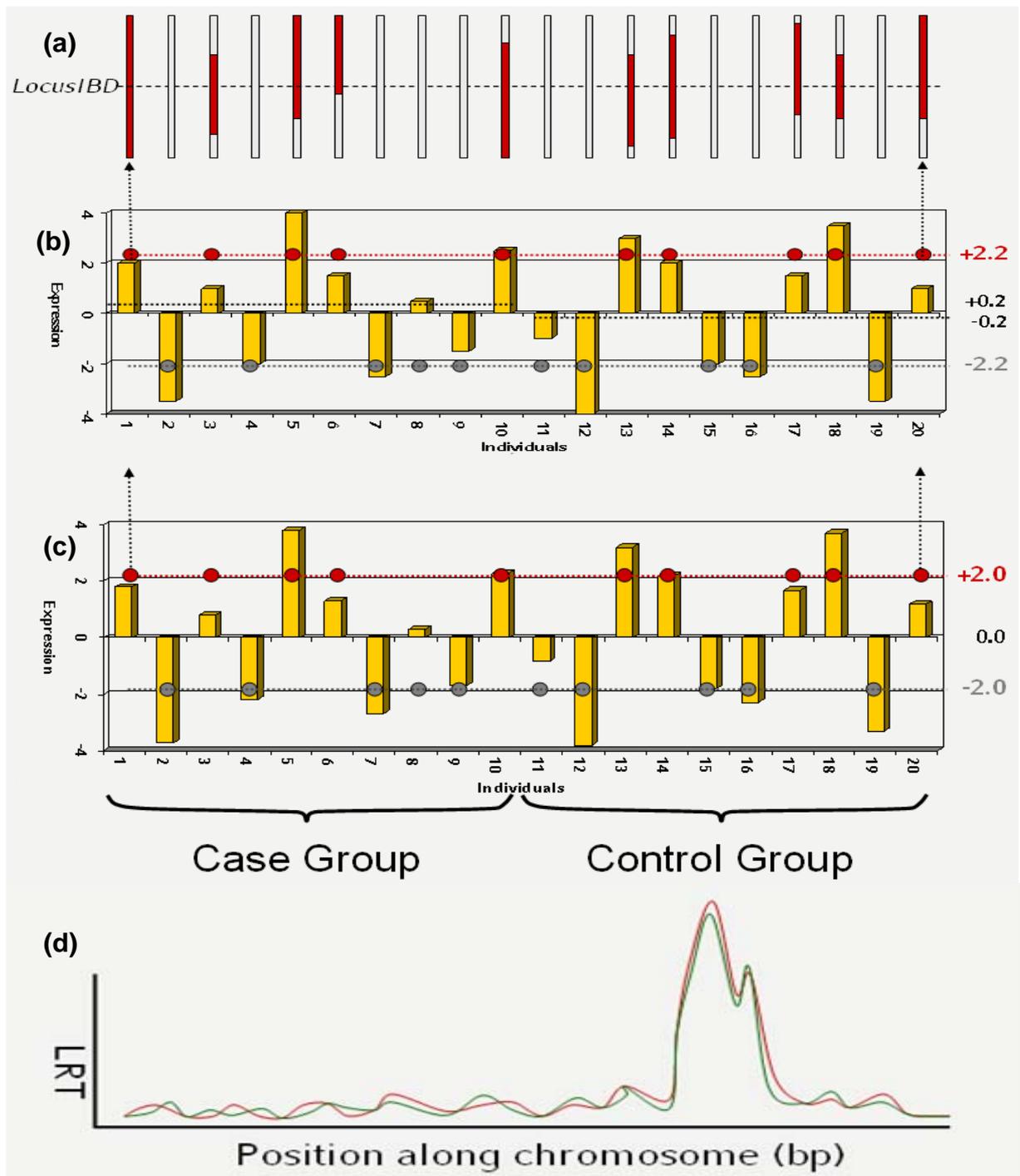


Abb. 10: Schematische Darstellung des Zustandekommens eines signifikanten eQTL in MODEL1, der sich in MODEL2 nicht als signifikant mit Placentaretention in Zusammenhang stehend erweist

(a) Die rotgefärbten Balkenabschnitte stellen die Haplotypenabschnitte in einem zufällig betrachteten 40 SNP-Fenster dar, die zwischen den Studientieren IBD sind. (b) Das Expressionsniveau jedes Studientieres für ein bestimmtes Gen ist abgebildet. Die Abweichung vom Mittelwert aller Expressionswerte beträgt 2,2 in der Gruppe der IBD-Tiere und -2,2 in der Gruppe der nicht-IBD-Tiere. Der Mittelwert der Expression in der Fallgruppe liegt 0,2 über dem allgemeinen Mittelwert. (c) Korrektur der Expressionsniveaus auf Placentaretention (d) Die grafische Darstellung der LRT-Werte zeigt einen in MODEL1 (rot, keine Korrektur auf Ret) und MODEL2 (grün, Korrektur auf Ret) nahezu identischen Verlauf.

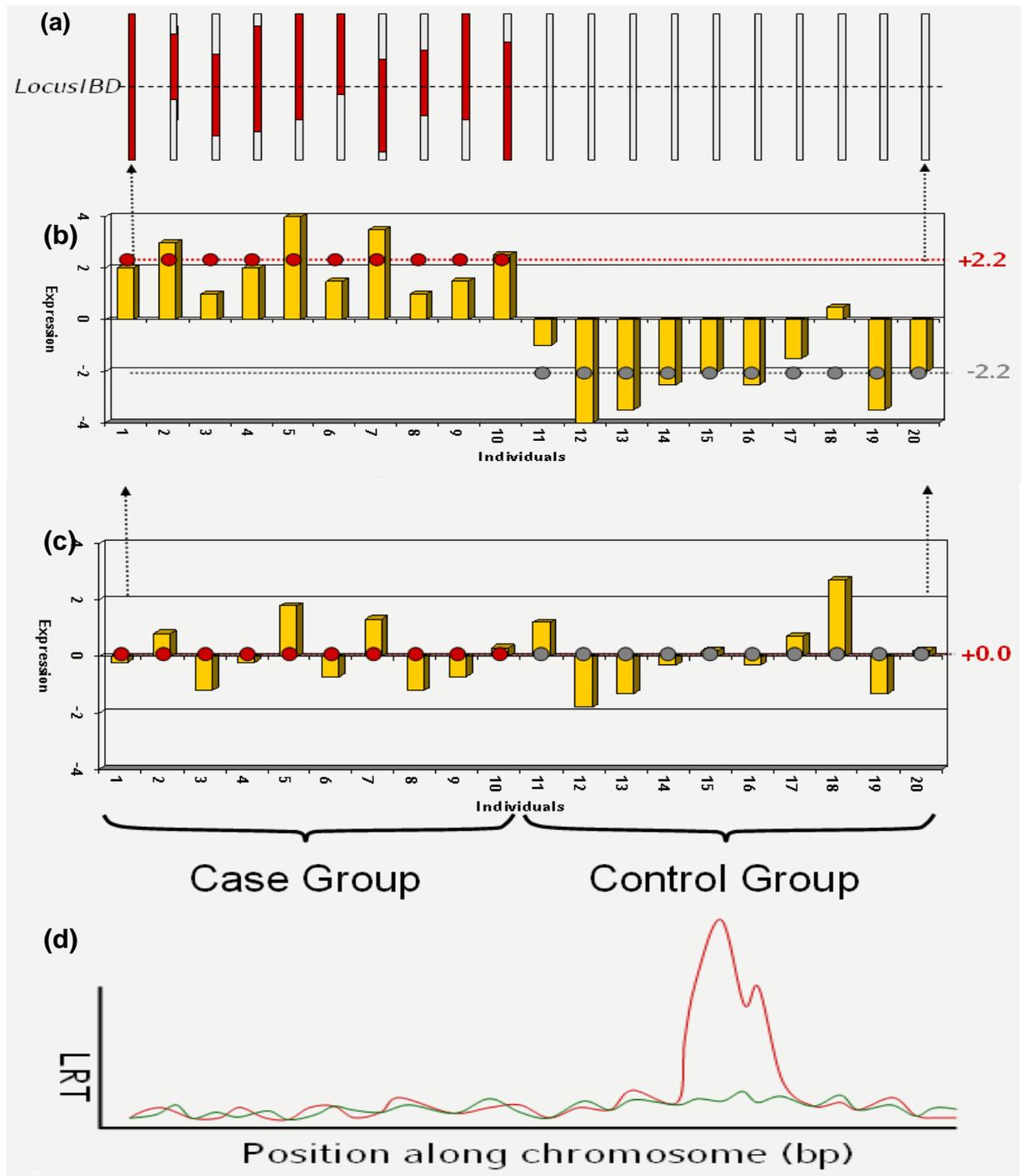


Abb. 11: Schematische Darstellung des Zustandekommens eines signifikanten eQTL in MODEL1, der sich in MODEL2 als signifikant mit Placentaretention in Zusammenhang stehend erweist

(a) Die rotgefärbten Balkenabschnitte stellen die Haplotypenabschnitte in einem zufällig betrachteten 40 SNP-Fenster dar, die zwischen den Studentieren IBD sind. (b) Das Expressionsniveau jedes Studentieres für ein bestimmtes Gen ist abgebildet. Die Abweichung vom Mittelwert aller Expressionswerte beträgt 2,2 in der Gruppe der IBD-Tiere, die in diesem Fall mit der Gruppe der Falltiere gleichzusetzen ist und -2,2 in der Gruppe der nicht-IBD-Tiere (Kontrolltiere). (c) Korrektur der Expressionsniveaus auf Placentaretention (d) Die grafische Darstellung der LRT-Werte zeigt eine deutliche Reduktion des LRT-Wertes in MODEL2 (grün, Korrektur auf Ret) vergleichend zu MODEL1 (rot, keine Korrektur auf Ret).

4 ERGEBNISSE

Im Rahmen der vorgestellten Studie erfolgte eine Erhebung von Transkriptomdaten aus Plazentomproben sowie SNP-Markergenotypdaten in 40 Holstein Friesian Kühen eines Bestandes. Bei zwanzig dieser Studientiere wurde ein verzögerter Abgang der Nachgeburt (Placentaretention) beobachtet, während die anderen zwanzig einen ungestörten Geburtsverlauf zeigten und als Kontrolltiere eingesetzt werden konnten. Aus den erzielten SNP-Genotypdaten der 40 Studientiere wurde zunächst die Haplotypisierung und Implementierung fehlender Allele mit dem Programm BEAGLE (BROWNING & BROWNING, 2007a) durchgeführt.

Von den erstellten 19 404 Expressionsprofilen wurden 299 Profile sorgfältig ausgewählt und mittels einer *linkage/linkage disequilibrium* Kartierung genomweit kartiert, wobei eine Korrektur auf verwandtschaftliche Beziehungen und Populationsstratifikation zwischen den Tieren erfolgte (MODEL1). Als Signifikanzniveau wurde ein LRT-Wert von 10,8 gewählt; dies entspricht einem *P*-Wert von 0,001. Die signifikanten Ergebnisse dieser ersten Kartierung wurden mittels eines zweiten Kartierungsmodells (MODEL2) auf ihren Zusammenhang mit dem Auftreten einer Placentaretention überprüft. Bei einer Reduktion des LRT-Wertes um 2-LOD (entspricht einem Abfall des LRT-Wertes um 9,21) in MODEL2 im Vergleich zu MODEL1 wurde von einem signifikanten Einfluss des dem eQTL-Peak zugrunde liegenden Genombereichs auf die Expression des kartierenden Gens ausgegangen. Die Varianzkomponentenanalysen in beiden Modellen wurden im Programm ASReml 3.0 (GILMOUR, 2009) ausgeführt. Im Folgenden werden sowohl die Ergebnisse aus MODEL1 als auch die Ergebnisse aus MODEL2 dargestellt. Anschließend werden die Haplotypen in den SNP-Fenstern der Genombereiche genauer betrachtet, welche signifikant mit Placentaretention in Verbindung stehen.

4.1 eQTL-Kartierung in MODEL1

Mittels eines gemischten linearen Modells wurden in Varianzkomponentenanalysen jeweils haplotypbedingte, zufällige eQTL-Effekte auf die Expression bestimmter Gene geschätzt. Um eine genomweite Untersuchung zu gewährleisten, bediente man sich einer Methode, bei der ein 40 SNP-Haplotypfenster Marker für Marker über das Genom gleitet und die eQTL-Effekte jeweils in Fenstermitte geschätzt werden. So wurden 299 Expressionsprofile in 40 280 SNP-Fenstern analysiert und die Varianzkomponentenanalyse mit MODEL1 damit insgesamt 12 043 720 Mal ausgeführt.

Die genomweite eQTL-Kartierung der 299 ausgewählten Expressionsprofile führte zu einer Vielzahl von signifikanten eQTL-Peaks, die durch eine große Anzahl von kartierenden Genen verursacht wurden.

4.1.1 Signifikante eQTLs

Insgesamt konnten 913 eQTLs mit einem signifikanten LRT-Wert von mindestens 10,8 ($P = 0,001$) detektiert werden. Diese 913 eQTLs sind genomweit auf alle Chromosomen verteilt, wobei mit 66 eQTLs die größte Anzahl auf *Bos taurus* Autosom 4 (BTA04) detektiert werden konnte und die geringste Anzahl (sieben eQTLs) auf BTA27 zu finden war. Dabei zeigte BTA19 die höchste und BTA05 die niedrigste Dichte von eQTL je 100 Mb. Abbildung 12 stellt neben der absoluten Anzahl der signifikanten eQTLs pro Chromosom deren relative Häufigkeiten dar. In Anhang 2 sind alle signifikanten eQTLs, sortiert nach Lage im Genom, aufgelistet.

Den maximal erreichten LRT-Wert von 22,13 ($P = 0,0000025$) zeigte ein eQTL des Gens *catenin (cadherin-associated protein), alpha-like 1 (CTNNAL1)* auf BTA07 an Position 48,89 Mb.

4.1.2 Kartierende Expressionsprofile

Von den 299 kartierten Profilen bedingten 252 Expressionsprofile mindestens einen signifikanten eQTL. Mit 13 genomweit verteilten, signifikanten eQTLs ist *pregnancy associated glycoprotein 6 (PAG6)* das Gen mit den meisten eQTLs. *Plasminogen activator, urokinase receptor (PLAUR)* zeigt zwölf eQTLs und *Thrombospondin 1 (THBS1)* sowie *LOC100336980 olfactory receptor, family 2, subfamily AG, member 1-like (LOC100336980)* bedingen jeweils elf signifikante eQTLs. In Anhang 3 befindet sich eine Kontingenztabelle, die die absoluten Häufigkeiten der detektierten eQTL je Expressionsprofil und Chromosom zusammenfassend darstellt.

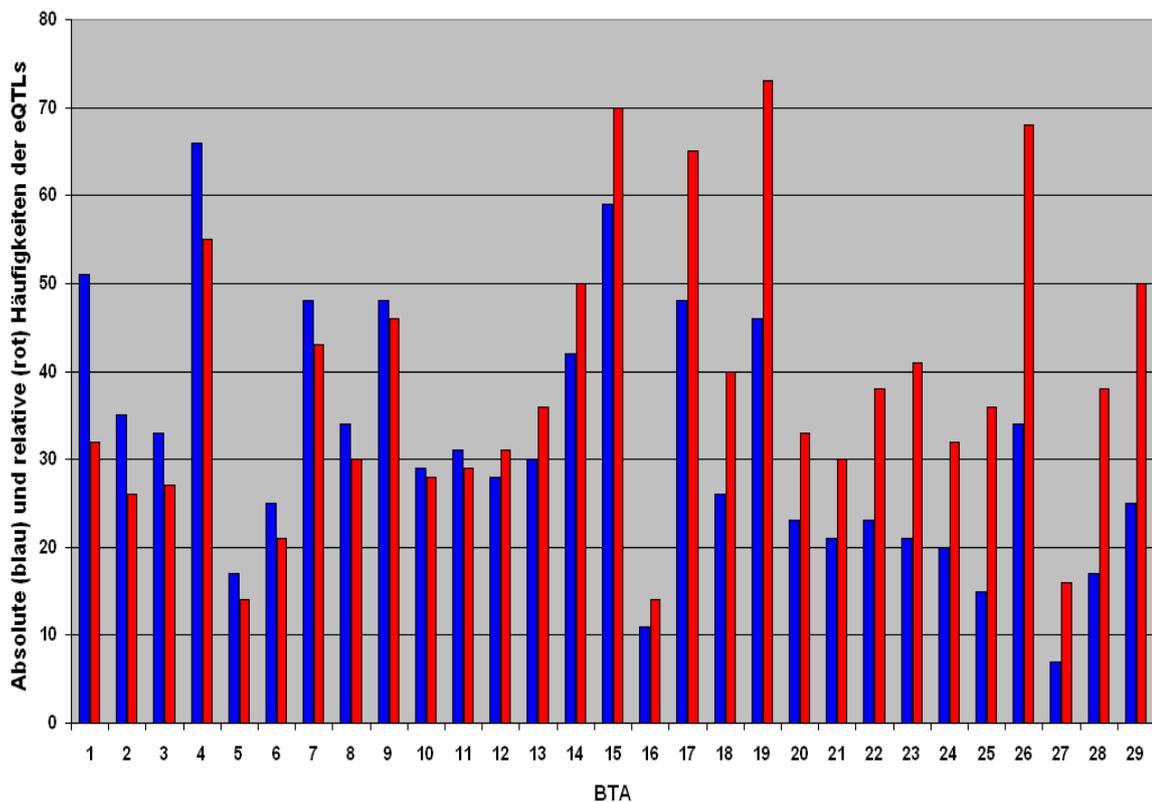


Abb. 12: Absolute und relative Häufigkeiten der 913 signifikanten eQTLs in MODEL1 verteilt auf die 29 Autosome des Rindes

Die Anzahl der signifikanten eQTLs (y-Achse) ist sowohl in absoluten Werten (blauer Balken) als auch in relativen Werten (Anzahl signifikanter eQTLs pro 100 Mb, roter Balken) in Abhängigkeit zur Nummer des jeweiligen Rinderchromosoms (x-Achse) dargestellt

4.1.3 *cis*- und *trans*-eQTLs

Wenn ein Expressionsprofil in dem Genombereich signifikant kartiert, in welchem es selbst kodiert ist, spricht man von einem *cis*-eQTL. *Per definitionem* werden in der vorgelegten Studie eQTLs, die in einem Bereich von 1,25 Mb strangaufwärts sowie 1,25 Mb strangabwärts des kodierenden Bereichs des kartierenden Gens liegen, als *cis*-eQTL angenommen. Sieben der 913 signifikanten eQTLs, aufgeführt in Tabelle 2, entsprechen den genannten Kriterien für einen *cis*-eQTL. Dies entspricht einem prozentualen Anteil der *cis*-eQTLs an der Gesamtzahl aller eQTLs von 0,77 %. Die sieben *cis*-eQTLs werden von sieben Expressionsprofilen bedingt. Das auf BTA04 bei 83,27 Mb kodierte Gen *T cell receptor gamma variable 3-2 (TRGV3-2)* zeigt einen signifikanten eQTL auf diesem Autosom bei 83,29 Mb mit einem maximalen LRT-Wert von 16,01 ($P = 0,000063$). *Matrix metalloproteinase 9 (MMP9)* bedingt einen eQTL mit einem LRT-Wert von 12,27 ($P = 0,00046$) 1,11 Mb distal seines kodierenden Bereichs, der bei 75,46 bis 75,47 Mb auf BTA13 liegt. Zwei weitere *cis*-eQTLs zeigen *LOC516636 olfactory receptor 6-like (LOC516636)* und *LOC100336980 olfactory receptor, family 2, subfamily AG, member 1-like (LOC100336980)* auf Autosom 15. Letzterer bedingt den hier detektierte LRT-Wert von 19,67 ($P = 0,0000092$), der den maximal erreichten Wert unter allen *cis*-eQTLs darstellt. Ein *cis*-eQTL wurde auch für *LOC618633 myeloid-associated differentiation marker-like (LOC618633)* bei 19,30 Mb auf BTA21 beobachtet. Die genomweite Kartierung der Expressionsprofile von *MHC class 1 heavy chain (BOLA)* und *lipase, family member K (LIPK)* deckte ebenfalls signifikante *cis*-eQTLs auf. Diese liegen distal der kodierenden Region von *BOLA* (BTA23: 28,50 Mb) und proximal der kodierenden Region von *LIPK* (BTA26: 10,43 - 10,44 Mb) und erreichten LRT-Werte von 11,36 ($P = 0,00075$) respektive 10,97 ($P = 0,00092$).

Sämtliche anderen eQTLs sind damit sogenannte *trans*-eQTLs, deren Peaks nicht in denselben Genombereichen wie die kodierenden Sequenzen der kartierenden Gene liegen.

Tabelle 2: Signifikante *cis*-eQTLs in MODEL1

Rinderchromosom (BTA), abgekürzter Genname des Expressionsprofils, physikalische Position des Gens (Gen-Position) und des eQTL (eQTL-Position) auf dem entsprechenden BTA sowie die Likelihood-Ratio-Teststatistik (LRT-Wert) werden für jeden der sieben *cis*-eQTLs sortiert nach deren physikalischer Position in Rindergenom gezeigt.

BTA	kartierendes Gen	Gen-Position (Mb)	eQTL-Position (Mb)	LRT-Wert
04	<i>TRGV3-2</i>	83,27	83,29	16,01
13	<i>MMP9</i>	75,46 - 75,47	76,58	12,27
15	<i>LOC516636</i>	46,60	47,21	19,67
15	<i>LOC100336980</i>	46,68	47,79	12,28
21	<i>LOC618633</i>	20,15 - 20,16	19,30	15,13
23	<i>BOLA</i>	28,50	29,17	11,36
26	<i>LIPK</i>	10,43 - 10,44	9,88	10,97

4.2 eQTL-Kartierung in MODEL2

In MODEL2 wurden Chromosom für Chromosom alle Expressionsprofile analysiert, die in MODEL1 auf dem jeweiligen Chromosom mindestens einen signifikanten eQTL ($LRT > 10,8$) zeigten. Diese Analyse dient dazu, diejenigen eQTLs herauszufinden, deren Auftreten signifikant mit dem interessierenden Merkmal Placentaretention in Zusammenhang stehen. Dabei wird bei einem Abfall des LRT-Wertes in MODEL2 um $\geq 9,21$ (entspricht 2-LOD) im Vergleich zum Ergebnis in MODEL1 von einem signifikanten Einfluss ausgegangen. Hierfür wurde das Merkmal Placentaretention als zusätzlicher fixer Effekt in das gemischte lineare Modell, das auch in MODEL1 verwendet wurde, aufgenommen.

Nachdem alle 913 signifikanten eQTLs aus MODEL1 in MODEL2 analysiert worden sind, verblieben nur elf eQTLs, denen ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Nachgeburtshaltung in der Studienpopulation und der Expression der kartierenden Gene nachgewiesen werden konnte. Diese elf eQTLs verteilen sich auf neun Autosome (BTA04, BTA13, BTA14, BTA18, BTA20, BTA21, BTA24, BTA26, BTA28) und werden von den Expres-

sionsprofilen acht verschiedener Gene verursacht. *Chemokine (C-X-C motif) ligand 3 (CXCL3)*, *matrix metalloproteinase 25 (MMP25)* und *microRNA 379 (MIR379)* bedingen je zwei der signifikanten eQTLs, wohingegen *BCL2/adenovirus E19B 19kD interacting protein 3 (BNIP3)*, *mannosidase, alpha, class 1C, member 1 (MAN1C1)*, *solute carrier family 10 (sodium/bile acid cotransporter family), member 1 (SLC10A1)*, *Fas (TNFRSF6)-associated via death domain (FADD)* und *TIMP metalloproteinase inhibitor 1 (TIMP1)* jeweils einen signifikanten eQTL zeigen. Sowohl MMP25 und MAN1C1 auf BTA14, als auch FADD und MIR379 auf BTA24 kartieren im selben Genombereich. Eine Übersicht der nach Anwendung von MODEL2 als signifikant detektierten eQTLs gibt Tabelle 3. Die genannten, als signifikant identifizierten eQTLs liegen nicht in den Genombereichen, in welchen die jeweiligen kartierenden Gene kodiert sind; sie sind also allesamt *trans*-eQTLs. Im Folgenden werden nun die acht signifikant kartierenden Expressionsprofile detailliert betrachtet.

Tabelle 3: Signifikante eQTLs nach Analyse in MODEL1 und MODEL2

Rinderchromosom (BTA), abgekürzter Gencode des Expressionsprofils, physikalische Position des eQTL (eQTL-Position) auf dem entsprechenden BTA sowie die Likelihood-Ratio-Teststatistik (LRT-Wert) für MODEL1 und MODEL2 werden für jeden der elf signifikanten eQTLs sortiert nach deren physikalischer Position im Rindergenom gezeigt.

BTA	kartierendes Gen	eQTL-Position (Mb)	LRT (MODEL1)	LRT (MODEL2)
04	<i>BNIP3</i>	69,89	12,23	0,00
13	<i>CXCL3</i>	9,53	14,54	3,72
14	<i>MMP25</i>	10,74	10,94	0,56
14	<i>MAN1C1</i>	10,84	12,85	0,00
18	<i>CXCL3</i>	1,74	11,75	0,02
20	<i>MMP25</i>	64,94	11,67	2,21
21	<i>SLC10A1</i>	22,91	12,08	0,01
24	<i>FADD</i>	40,03	15,37	0,86
24	<i>MIR379</i>	40,19	13,73	0,91
26	<i>TIMP1</i>	39,84	14,42	3,64
28	<i>MIR379</i>	15,48	13,84	0,26

4.2.1 CXCL3

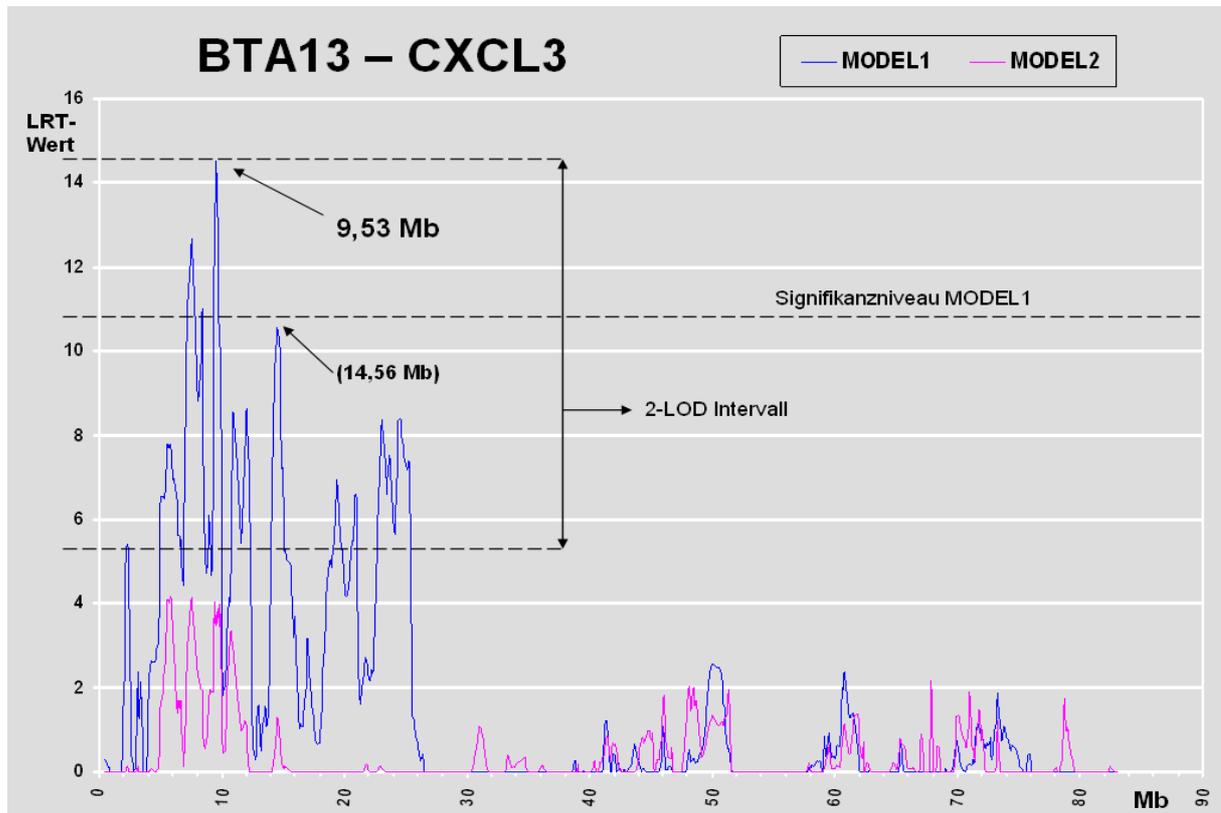


Abb. 13: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil CXCL3 entlang BTA13

Die erreichten LRT-Werte (y-Achse) in MODEL1 (blau) werden den erreichten Werten in MODEL2 (pink), in Abhängigkeit ihrer Position auf dem Autosom (x-Achse), gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau für MODEL1 (LRT-Wert > 10,8) und das 2-LOD Intervall sind gekennzeichnet.

Die Analyse der Expressionsniveaus von *Chemokine (C-X-C motif) ligand 3 (CXCL3)* in der verwendeten Studienpopulation in MODEL1 und anschließend in MODEL2 deckte zwei Genombereiche auf, welchen ein statistisch signifikanter Einfluss auf die Genexpression im Zusammenhang mit dem Merkmal Placentaretention nachgewiesen werden konnte. Die erste Region befindet sich auf BTA13 (Abb. 13). Ein hier in MODEL1 signifikanter Peak bei 9,53 Mb mit einem LRT-Wert von 14,54 ($P = 0,00014$) verringerte sich nach Korrektur auf Placentaretention deutlich auf einen Wert von 3,72 ($P = 0,054$). Eine ebenfalls signifikante Reduktion des LRT-Wertes wurde per Zufall auch an Position 14,56 Mb beobachtet. Da der zugehörige, in MODEL1 erreichte Peak nicht signifikant war, wird diese Beobachtung in der weiteren Auswertung außer Acht gelassen. Abbildung 13 zeigt den Verlauf der LRT-Werte an jeder vermeintlichen eQTL-Position für

CXCL3 entlang BTA13. In dem Bereich um 9,53 Mb kodieren die Gene *MACRO domain containing 2 (MACROD2)* an 7,79 bis 10,04 Mb und *uncharacterized LOC100849051 (LOC100849051)* bei 9,41 bis 9,43 Mb.

Ein weiterer, nach MODEL2 signifikanter eQTL zeigte sich bei 1,74 Mb auf BTA18. Dieser ist in Abbildung 14 grafisch dargestellt. Der in MODEL1 erreichte LRT-Wert von 11,75 ($P = 0,00060$) wurde durch die Einbeziehung des Merkmals Placentaretention auf nahezu Null (0,02) reduziert. In der Region des eQTL, von 1,74 bis 1,76 Mb, ist das Gen *ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 2 (ST3GAL2)* kodiert, daneben liegen *DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 19 A (DDX19A; 1,76-1,79 Mb)*, *DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 19 B (DDX19B; 1,79-1,82)* und *alanyl-tRNA synthetase (AARS; 1,82 - 1,85 Mb)*.

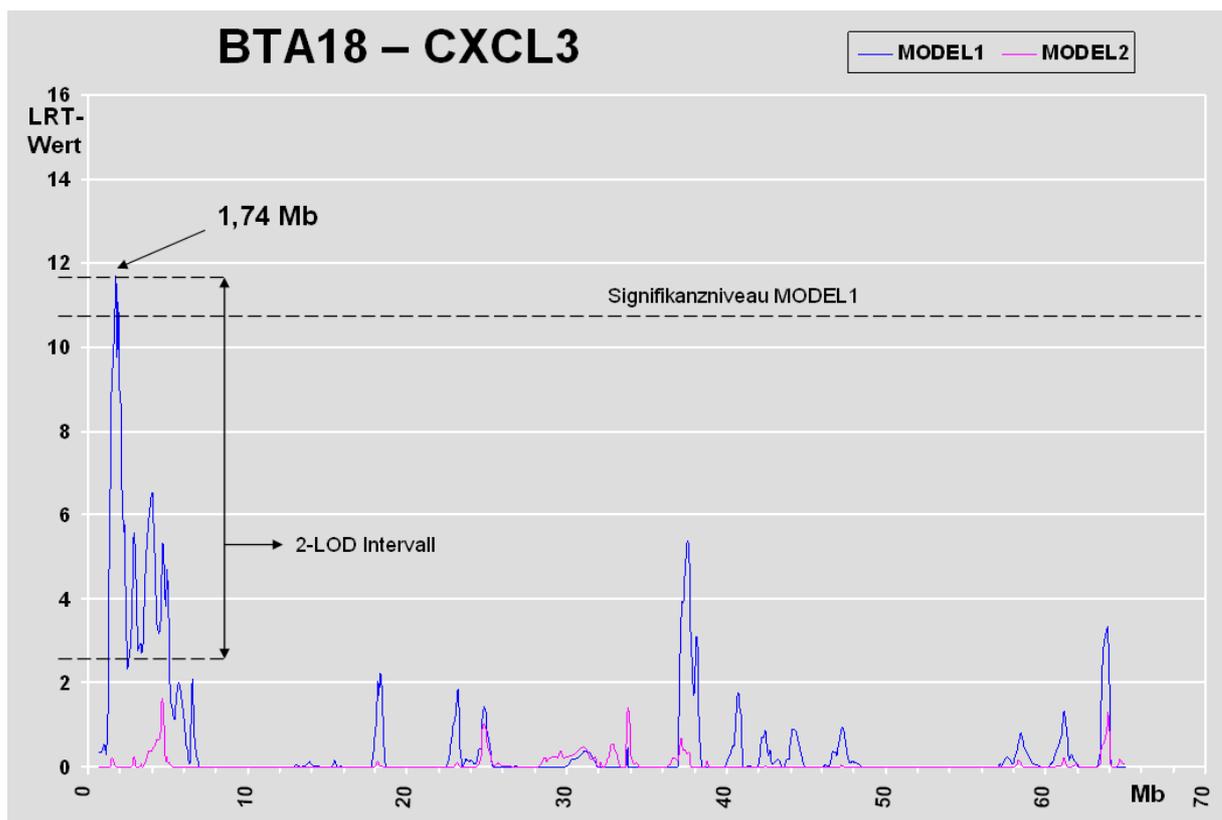


Abb. 14: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil CXCL3 entlang BTA18

Die erreichten LRT-Werte (y-Achse) in MODEL1 (blau) werden den erreichten Werten in MODEL2 (pink), in Abhängigkeit ihrer Position auf dem Autosom (x-Achse), gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau für MODEL1 (LRT-Wert > 10,8) und das 2-LOD Intervall sind gekennzeichnet.

4.2.2 MMP25

Dem Expressionsprofil MMP25 des Gens *matrix metalloproteinase 25* konnten nach Analyse in beiden Modellen zwei signifikante eQTLs zugeordnet werden. Ersterer liegt auf BTA14 bei 10,74 Mb, abgebildet in Abbildung 15. Der berechnete LRT-Wert in MODEL1 betrug 10,94 ($P = 0,00094$); die nachfolgende Analyse in MODEL2 ergab einen LRT-Wert von 0,56. Als diesem eQTL zugrunde liegende Gene konnten *uncharacterized LOC785191 (LOC785191)* von 10,71 bis 10,82 Mb und *adenylate cyclase 8 (brain) (ADCY8)* von 10,82 bis 11,04 Mb identifiziert werden. Der eQTL-Peak liegt somit inmitten der kodierenden Sequenz für LOC785191.

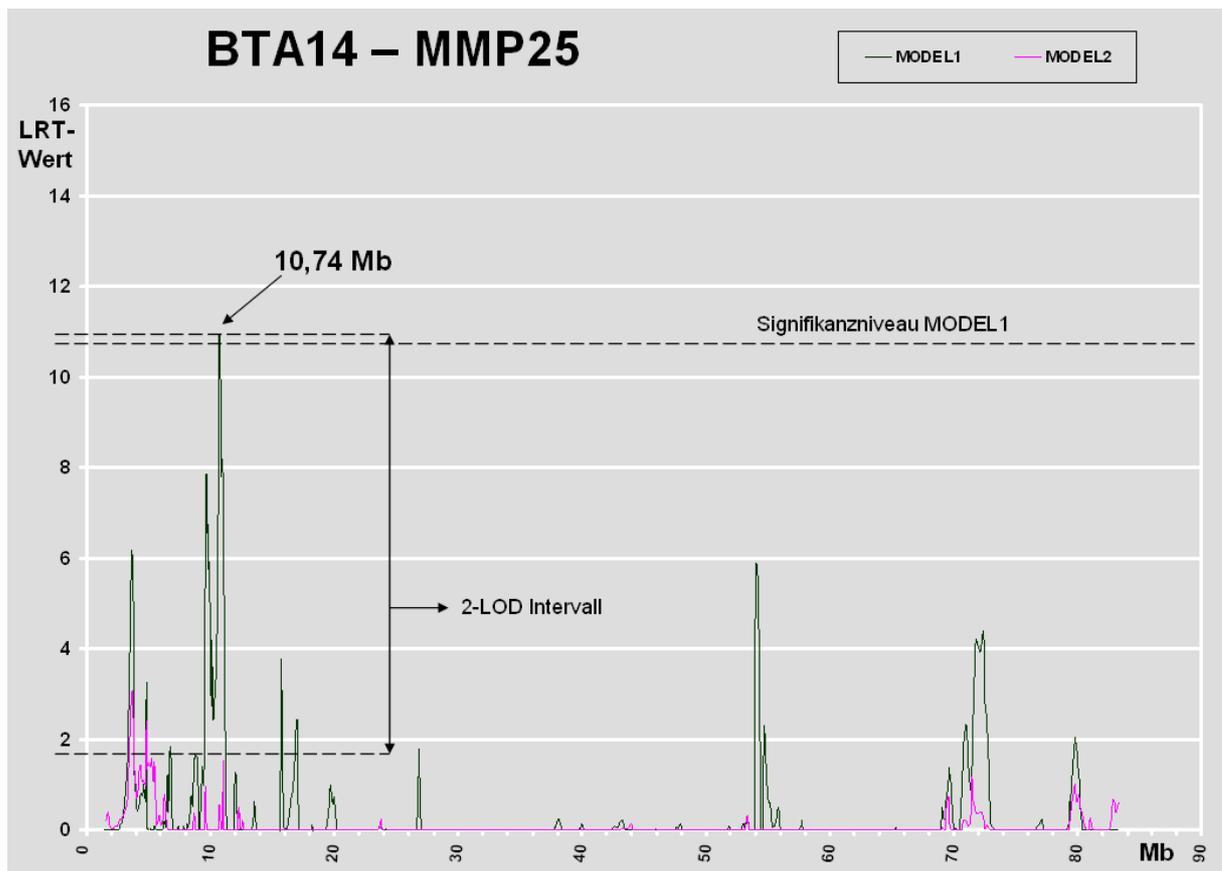


Abb. 15: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil MMP25 entlang BTA14

Die erreichten LRT-Werte (y-Achse) in MODEL1 (grün) werden den erreichten Werten in MODEL2 (pink), in Abhängigkeit ihrer Position auf dem Autosom (x-Achse), gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau für MODEL1 (LRT-Wert > 10,8) und das 2-LOD Intervall sind gekennzeichnet.

Eine Verringerung des LRT-Wertes von 11,67 (MODEL1, $P = 0,00063$) auf 2,21 (MODEL2) zeigte die Signifikanz des eQTL von MMP25 an Position 64,94 Mb auf BTA20 an. Die nächstgelegenen Gene in diesem Genombereich sind *sema domain, seven thrombospondin repeats (type 1 and type 1-like), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmatic domain, (semaphorin) 5A (SEMA5A)* und *MTRR 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase (MTRR)*. Proximal der detektierten eQTL-Position (63,97 - 64,35 Mb) liegt *SEMA5A*, distal der eQTL-Position (65,42 - 65,45 Mb) ist *MTRR* kodiert. Den Verlauf der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil MMP25 entlang BTA20 gibt Abbildung 16 wieder.

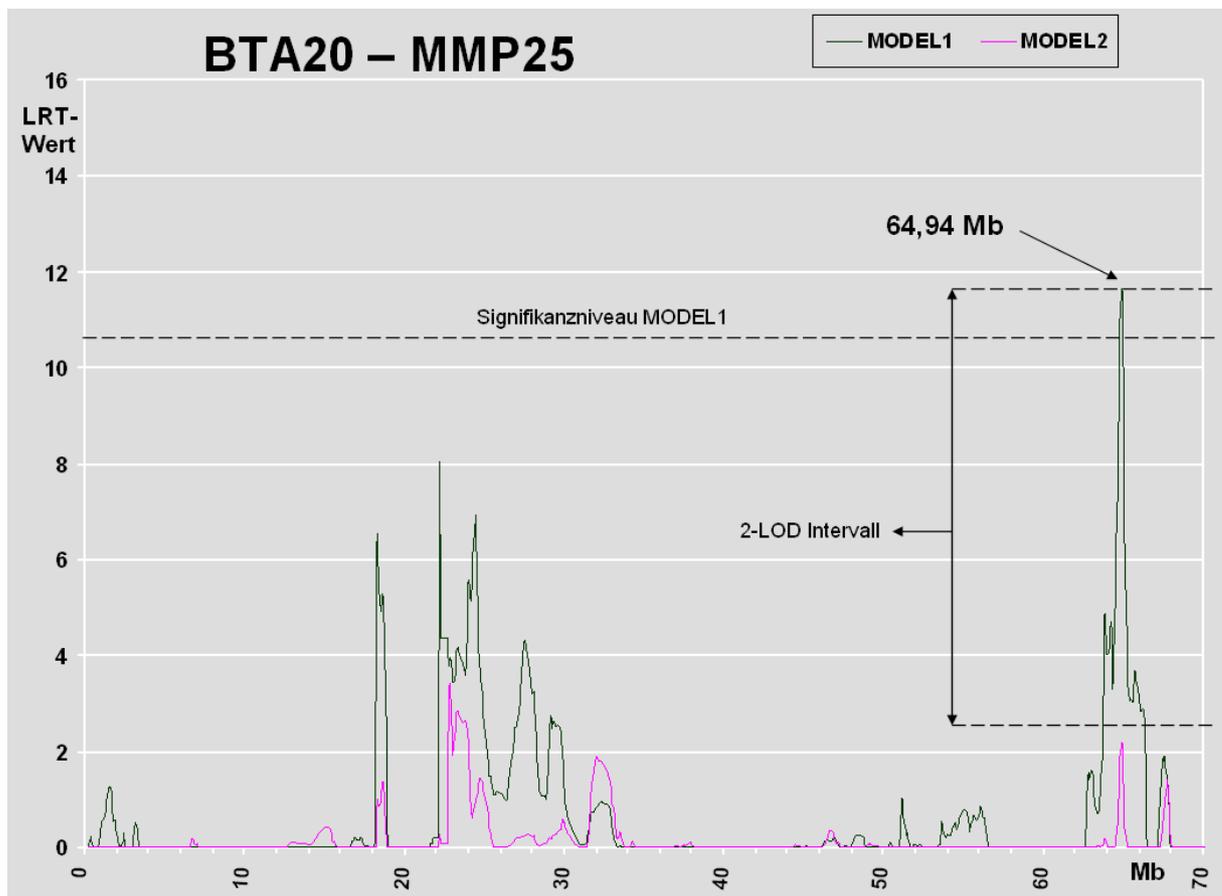


Abb. 16: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil MMP25 entlang BTA20

Die erreichten LRT-Werte (y-Achse) in MODEL1 (grün) werden den erreichten Werten in MODEL2 (pink), in Abhängigkeit ihrer Position auf dem Autosom (x-Achse), gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau für MODEL1 (LRT-Wert $> 10,8$) und das 2-LOD Intervall sind gekennzeichnet.

4.2.3 MIR379

Als signifikant einzustufender eQTL stellt sich auch ein Peak der *microRNA 379* auf BTA24 dar. Bei 40,19 Mb konnte in MODEL1 zunächst ein LRT-Wert von 13,37 ($P = 0,00026$) beobachtet werden. An gleicher Stelle wurde in MODEL2 nur noch ein LRT-Wert von 0,91 berechnet. Die signifikante Reduktion des LRT-Wertes wird in Abbildung 17 visualisiert.

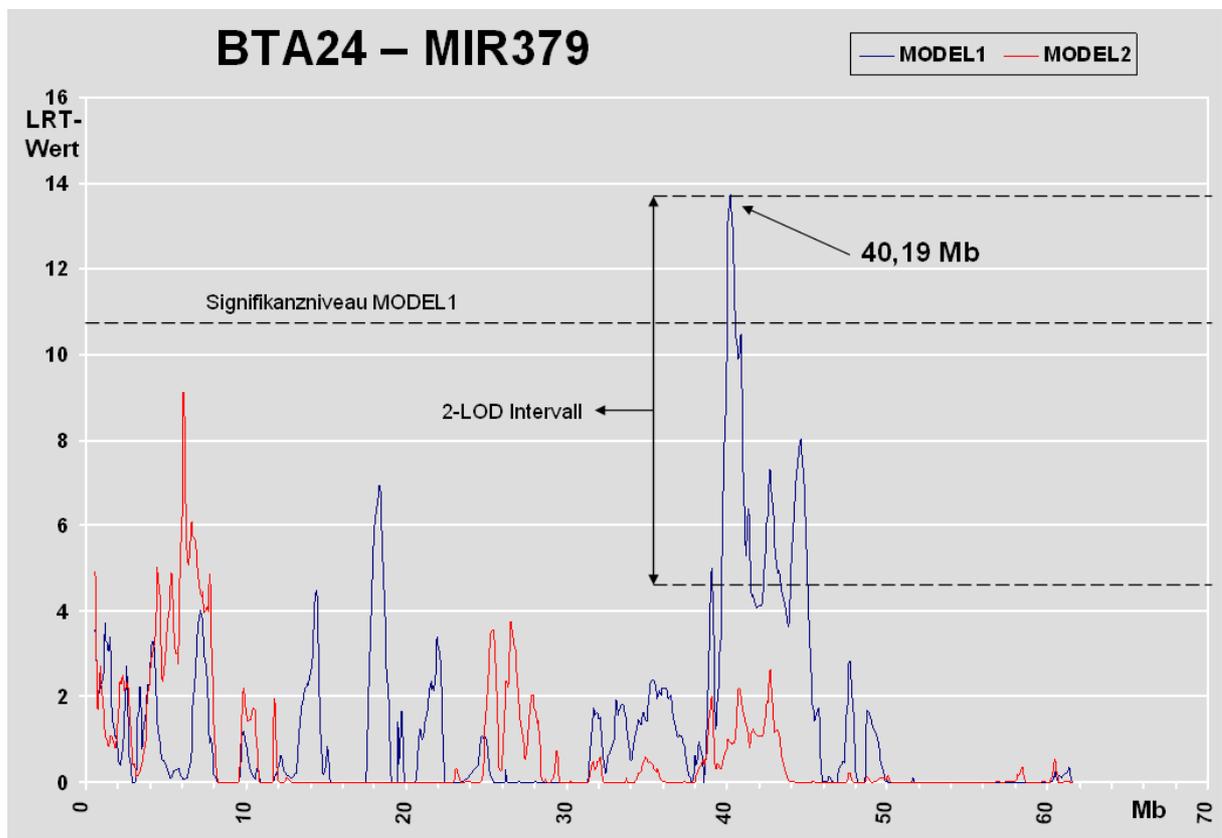


Abb. 17: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil MIR379 entlang BTA24

Die erreichten LRT-Werte (y-Achse) in MODEL1 (blau) werden den erreichten Werten in MODEL2 (rot), in Abhängigkeit ihrer Position auf dem Autosom (x-Achse), gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau für MODEL1 (LRT-Wert > 10,8) und das 2-LOD Intervall sind gekennzeichnet.

Es ist nach aktuellem Stand der Recherche kein Gen bekannt, dessen genetische Information genau im Genombereich des detektierten eQTL-Peaks kodiert ist. Die in nächster Nähe befindlichen, bekannten Gene liegen distal des Peaks. In einer Distanz von 42 kb ist *Rho GTPase activating protein 28 (ARHGAP28)* lokalisiert

(40,23 - 40,36 Mb), daneben, im Bereich 40,38 bis 40,50 Mb, liegt das Gen *laminin, alpha 1 (LAMA1)*.

Im weiteren Verlauf der Analyse des Expressionsprofils MIR379 konnte ein zweiter signifikanter eQTL entdeckt werden. Dieser befindet sich auf BTA28 an der Position 15,48 Mb und wird in Abbildung 18 gezeigt. Die Signifikanz in MODEL1, dargestellt durch einen LRT-Wert von 13,84 ($P = 0,00020$), konnte durch MODEL2, in welchem an selber Stelle ein um 13,58 Einheiten geringerer Wert berechnet wurde, als mit Placentaretention in Verbindung stehend bestätigt werden. *Solute carrier family 16, member 9 (monocarboxylic acid transporter 9) (SLC16A9)* von 15,42 bis 15,47 Mb sowie *microRNA 2403 (MIR2403)* bei 15,50 Mb sind die der Position des eQTL-Peaks nächstliegenden Gene in diesem Genombereich.

Ähnlich wie bei CXCL3 auf BTA13 ergab die zweistufige Varianzkomponentenanalyse auf diesem Autosom ein zweites Signal bei 32,53 Mb, das den Anforderungen für Signifikanz des Einflusses von Placentaretention entsprach. Da jedoch der berechnete LRT-Wert in MODEL1 an dieser Position das festgelegte Signifikanzniveau für diesen Teil der Untersuchung nicht erreichte, wird auch hier von einer genaueren Betrachtung des eQTL abgesehen.

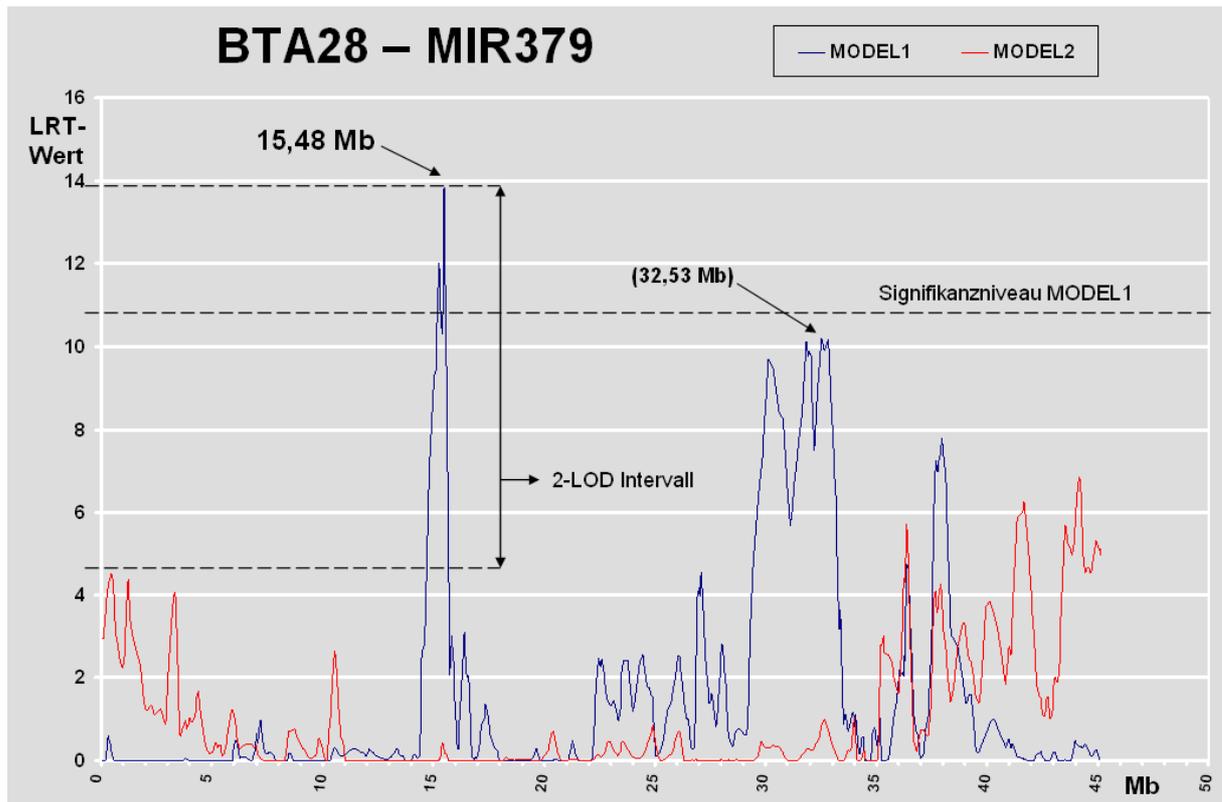


Abb. 18: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil MIR379 entlang BTA28

Die erreichten LRT-Werte (y-Achse) in MODEL1 (blau) werden den erreichten Werten in MODEL2 (rot), in Abhängigkeit ihrer Position auf dem Autosom (x-Achse), gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau für MODEL1 (LRT-Wert > 10,8) und das 2-LOD Intervall sind gekennzeichnet.

4.2.4 BNIP3

Die Untersuchung der Expressionsniveaus von *BCL2/adenovirus E19B 19kD interacting protein 3 (BNIP3)* ergab einen signifikanten eQTL. Der gefundene eQTL ist auf BTA04 an Position 69,89 Mb lokalisiert. Ergebnis der ersten Analyse in MODEL1 war ein LRT-Wert von 12,23 ($P = 0,00047$), welcher sich bei Berechnung im erweiterten zweiten Modell auf Null reduzierte. Grafisch dargestellt wird dieser eQTL-Peak in Abbildung 19.

Der eQTL-Peak ist von mehreren zugrunde liegenden Genen umgeben. Bekannte Gene befinden sich in geringer Entfernung proximal und distal der Position des eQTL-Peaks. *Uncharacterized LOC100848776 (LOC100848776)* an 69,94 bis 69,95 Mb und *sorting nexin 10 (SNX10, 70,04 bis 70,11 Mb)* sind im distalen Be-

reich die Gene mit der geringsten Distanz, während proximal *uncharacterized LOC100848483* (*LOC100848483*, 69,75-69,77 Mb) und *src kinase associated phosphoprotein 2* (*SKAP2*) von 69,58 bis 69,75 Mb kodieren. Die in Abbildung 19 dargestellten Kartierungsergebnisse sind durch einen sehr unruhigen Kurvenverlauf der Teststatistik entlang BTA04 gekennzeichnet. Dies darf als ein Unsicherheitsfaktor bei diesem Kartierungsergebnis bewertet werden.

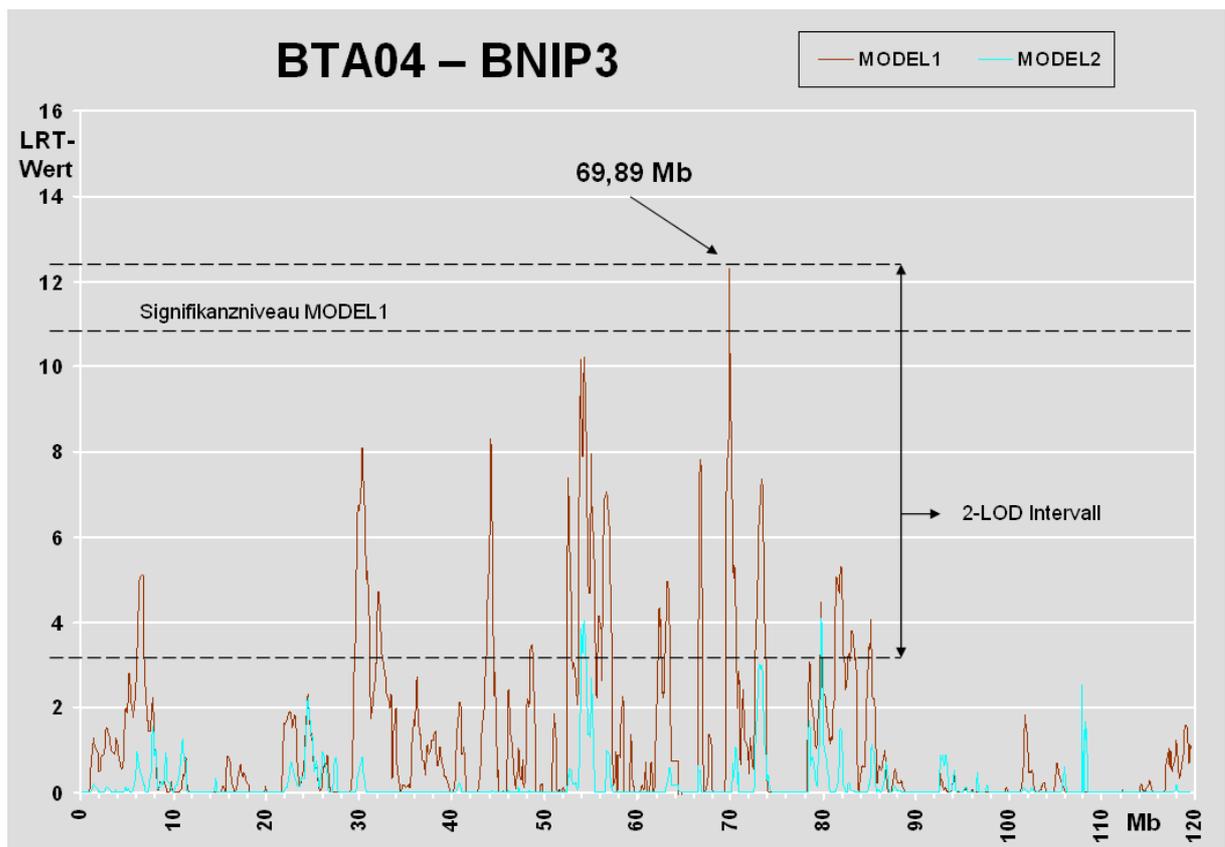


Abb. 19: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil BNIP3 entlang BTA04

Die erreichten LRT-Werte (y-Achse) in MODEL1 (braun) werden den erreichten Werten in MODEL2 (türkis), in Abhängigkeit ihrer Position auf dem Autosom (x-Achse), gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau für MODEL1 (LRT-Wert > 10,8) und das 2-LOD Intervall sind gekennzeichnet.

4.2.5 MAN1C1

Ein signifikanter eQTL wurde für MAN1C1 beobachtet. Dieser befindet sich an Position 10,85 Mb auf BTA14 und liegt damit nur circa 110 kb weiter distal des bereits gezeigten signifikanten eQTL von MMP25, welcher an Position 10,74 Mb

detektiert wurde. Ein in MODEL1 auftretender LRT-Wert von 12,85 ($P = 0,00034$) verschwindet bei erneuter Analyse in MODEL2.

Aufgrund der nahezu übereinstimmenden Lokalisation der signifikanten eQTLs beider Expressionsprofile, sind für MAN1C1 dieselben zugrunde liegenden Gene anzunehmen wie für MMP25, nämlich *uncharacterized LOC785191 (LOC785191)* von 10,71 bis 10,82 Mb und *adenylate cyclase 8 (brain) (ADCY8)* von 10,82 bis 11,04 Mb. Im Gegensatz zu MMP25, dessen eQTL-Peak inmitten des Gens *LOC785191* liegt, ist der betrachtete Peak von MAN1C1 inmitten der kodierenden Sequenz von *ADCY8* lokalisiert.

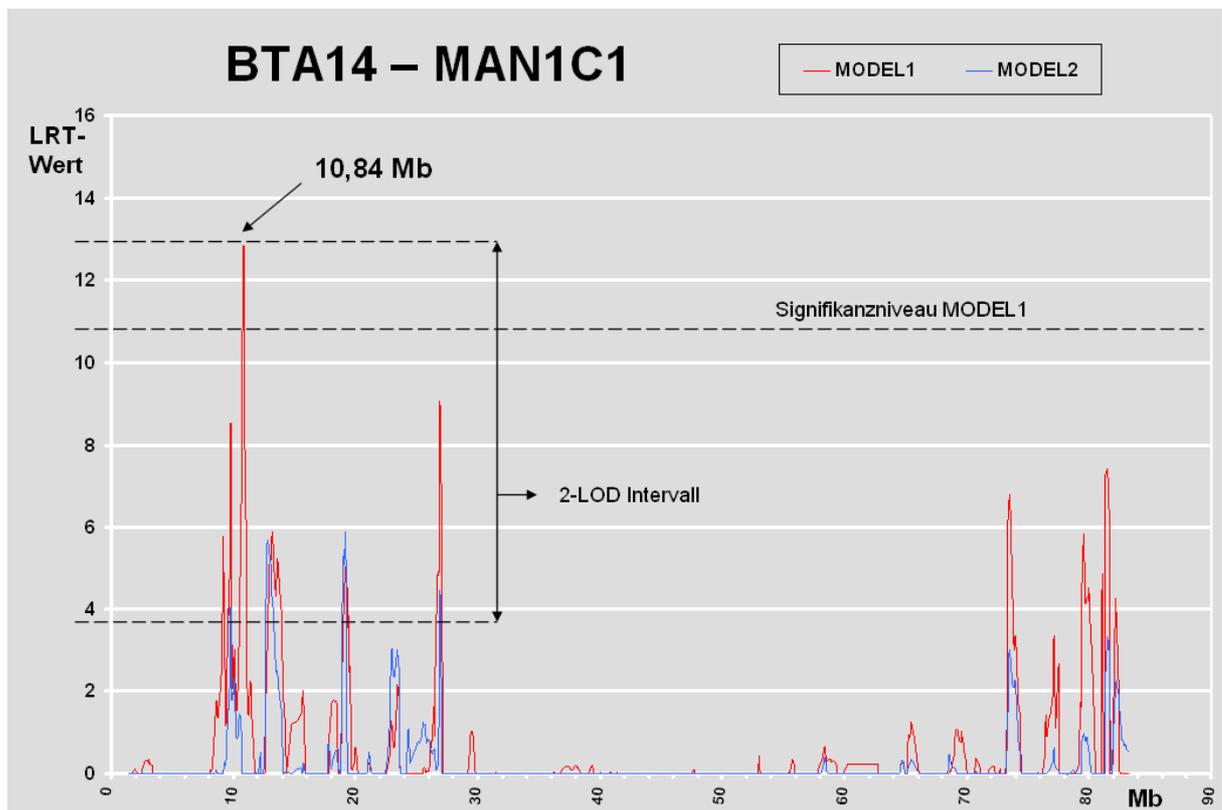


Abb. 20: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil MAN1C1 entlang BTA14

Die erreichten LRT-Werte (y-Achse) in MODEL1 (rot) werden den erreichten Werten in MODEL2 (blau), in Abhängigkeit ihrer Position auf dem Autosom (x-Achse), gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau für MODEL1 (LRT-Wert > 10,8) und das 2-LOD Intervall sind gekennzeichnet.

4.2.6 SLC10A1

Das Expressionsprofil SLC10A1 des Gens *solute carrier family 10 (sodium/bile acid cotransporter family), member 1* wurde ebenfalls als eines der Expressionsprofile identifiziert, die ein signifikantes Ergebnis in der zweistufigen Varianzkomponentenanalyse erzielten. Der entsprechende eQTL liegt bei 22,92 Mb auf BTA21. Der in MODEL1 erreichte LRT-Wert von 12,08 ($P = 0,00051$) ging auf 0,01 in MODEL2 zurück.

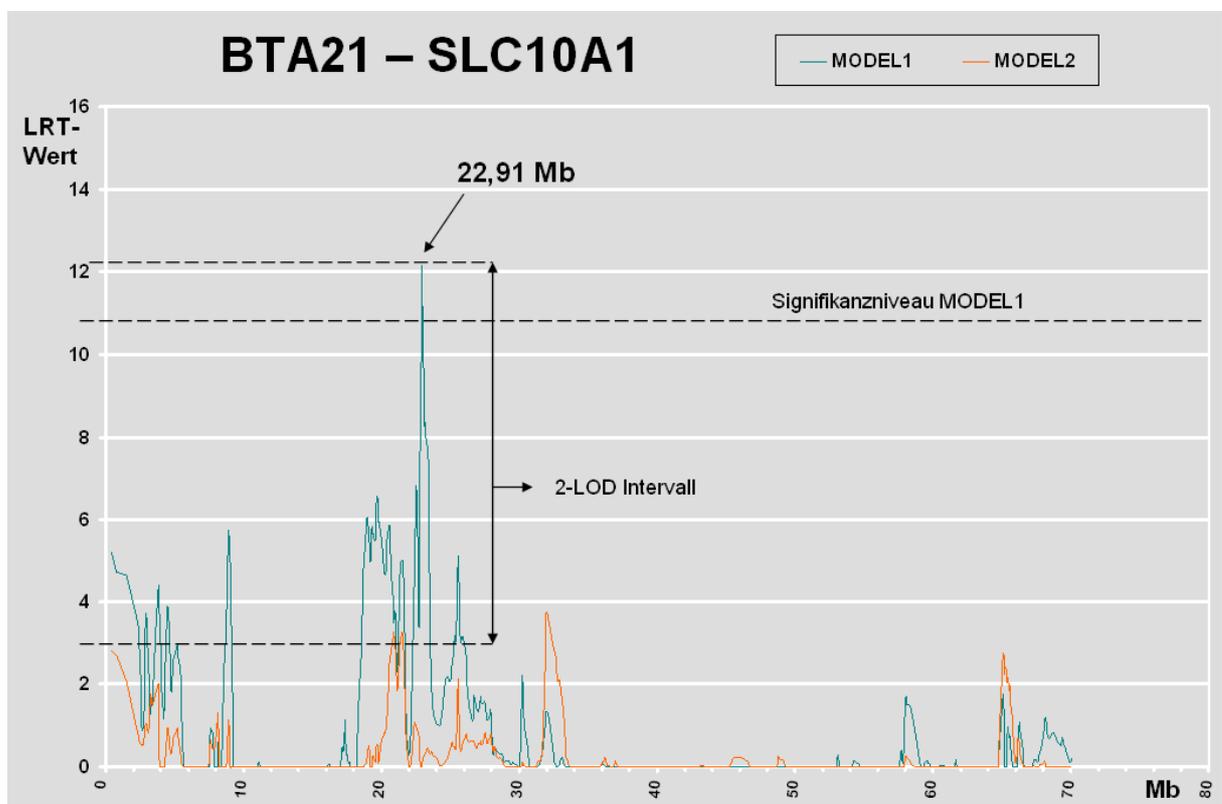


Abb. 21: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil SLC10A1 entlang BTA21

Die erreichten LRT-Werte (y-Achse) in MODEL1 (grün) werden den erreichten Werten in MODEL2 (orange), in Abhängigkeit ihrer Position auf dem Autosom (x-Achse), gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau für MODEL1 (LRT-Wert > 10,8) und das 2-LOD Intervall sind gekennzeichnet.

Dieser in Abbildung 21 grafisch dargestellte Peak ist in dem Genombereich lokalisiert, der die für das Gen *alpha-kinase 3 (ALPK3)* kodierende Sequenz (22,87 bis 22,93 Mb) beinhaltet. Der näheren Umgebung können die genomischen Positionen weiterer bekannter Gene zugeordnet werden. Proximal von *ALPK3* liegen

zink finger protein 592 (ZNF592) von 22,82 bis 22,87 Mb und die *microRNA 2364 (MIR2364)* an Position 22,85 Mb, distal von *ALPK3* befindet sich das Gen *sodium carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member1 (SLC28A1)* im Bereich von 22,95 bis 23,05 Mb.

4.2.7 FADD

Auch das Expressionsprofil FADD des Gens *Fas (TNFRSF6)-associated via death domain* kartiert statistisch signifikant in beiden Modellen. Der zugehörige eQTL befindet sich auf Autosom 24 an Position 40,03 Mb. Ein in MODEL1 detektierter signifikanter LRT-Wert von 15,37 ($P = 0,000088$), der zugleich den höchsten erreichten LRT-Wert innerhalb der in beiden Modellen signifikanten eQTLs darstellt, reduziert sich in MODEL2 um 14,51 Einheiten auf 0,86 (siehe auch Abbildung 22).

Ein ebenfalls signifikanter eQTL in diesem Genombereich wurde von Expressionsprofil MIR379 bedingt und bereits gezeigt. Durch die geringe Distanz – der eQTL-Peak von FADD liegt 160 kb weiter proximal als derjenige von MIR379 – können dieselben Gene als zugrunde liegende Gene aufgeführt werden, nämlich *Rho GTPase activating protein 28 (ARHGAP28)* von 40,23 bis 40,36 Mb und daneben liegend, im Bereich 40,38 bis 40,50 Mb, das Gen *laminin, alpha 1 (LAMA1)*. Weiterhin ist in ähnlicher Entfernung proximal des eQTL *uncharacterized LOC100847357 (LOC100847357)* von 39,74 bis 39,79 Mb lokalisiert.

4.2.8 TIMP1

Die in der Abbildung 23 dargestellten Graphen zeigen einen weiteren eQTL auf BTA26, der statistisch signifikant mit dem Merkmal Placentaretention in Verbindung steht und von den untersuchten Expressionsniveaus des Gens *TIMP metalloproteinase inhibitor 1 (TIMP1)* bedingt wird. Anhand der gegebenen Haplotypinformation wurde der Einfluss der genetischen Information auf das Maß der Expression mittels Varianzkomponentenanalyse in MODEL1 geprüft. Hierfür konnte

für das 40 SNP-Fenster an 39,94 Mb ein signifikanter LRT-Wert von 14,42 ($P = 0,00015$) ermittelt werden. Die Berechnung des LRT-Wertes im selben SNP-Fenster ergab in MODEL2 einen Wert von 3,64, was einer Verringerung um 10,78 im Vergleich zu MODEL1 entspricht.

Im Bereich des eQTL kodieren zwei Gene. In der Region von 39,70 bis 39,93 Mb liegt *G-protein coupled receptor kinase 5 (GRK5)*, etwas distal davon (39,97 - 40,01 Mb) ist die genetische Information von *regulator of G-protein signaling 10 (RGS10)* konserviert.

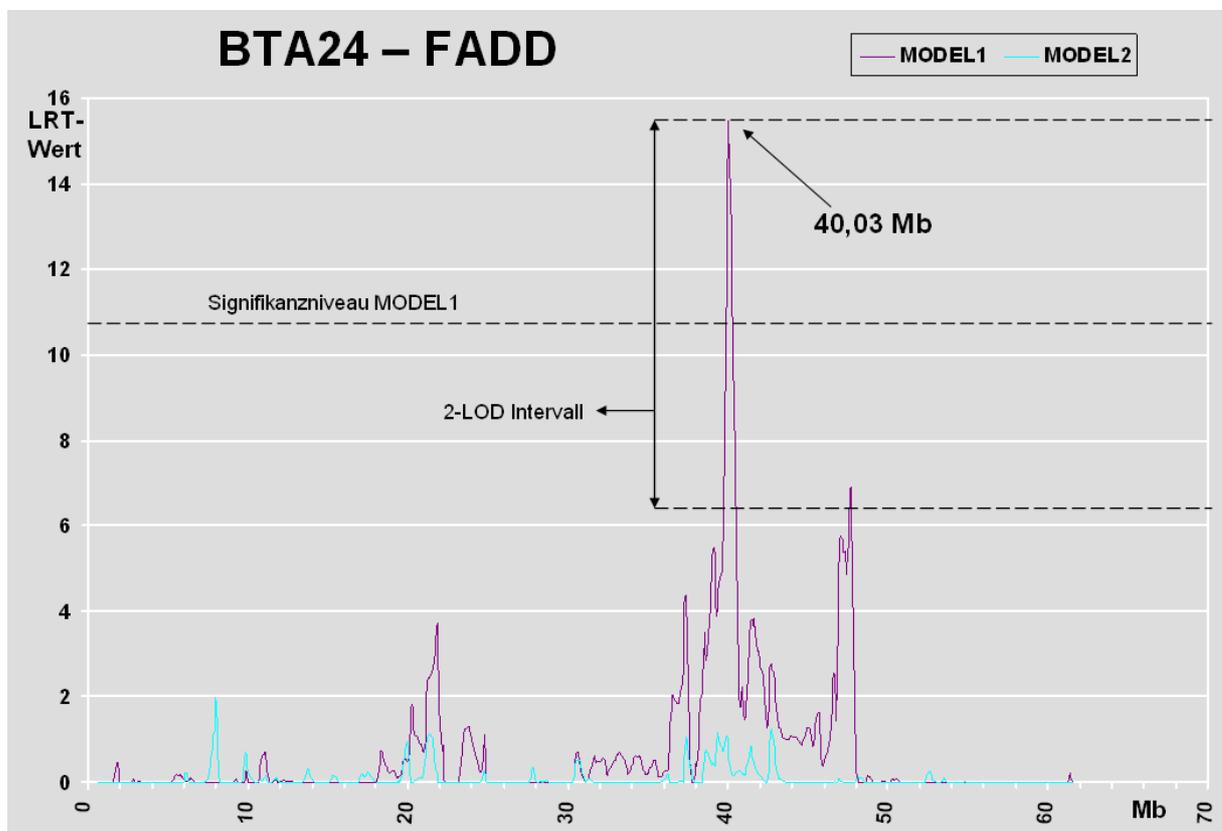


Abb. 22: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil FADD entlang BTA24

Die erreichten LRT-Werte (y-Achse) in MODEL1 (violett) werden den erreichten Werten in MODEL2 (türkis), in Abhängigkeit ihrer Position auf dem Autosom (x-Achse), gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau für MODEL1 (LRT-Wert $> 10,8$) und das 2-LOD Intervall sind gekennzeichnet.

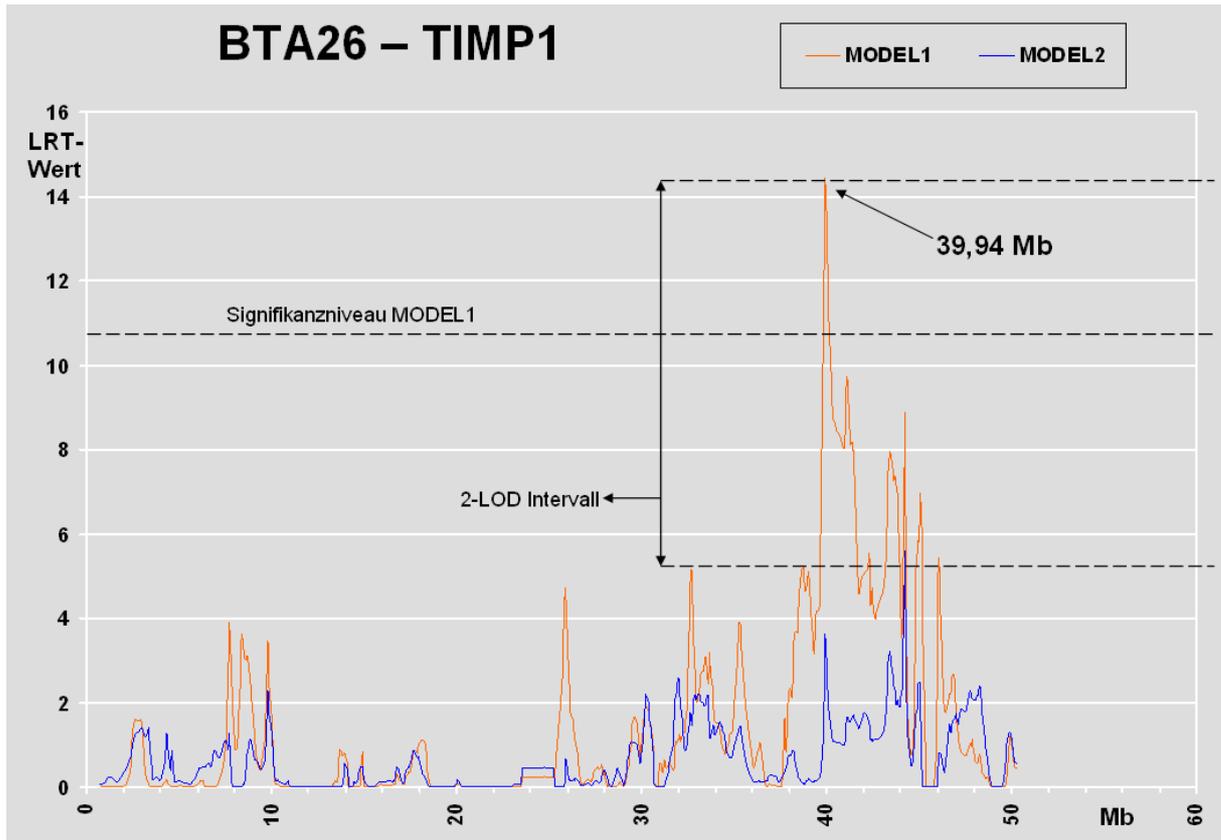


Abb. 23: Grafische Darstellung des Verlaufs der LRT-Werte jeder vermeintlichen eQTL-Position für das Expressionsprofil TIMP1 entlang BTA26

Die erreichten LRT-Werte (y-Achse) in MODEL1 (orange) werden den erreichten Werten in MODEL2 (blau), in Abhängigkeit ihrer Position auf dem Autosom (x-Achse), gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau für MODEL1 (LRT-Wert > 10,8) und das 2-LOD Intervall sind gekennzeichnet.

4.3 Diplotypeeffekte und Haplotypen in signifikanten Haplotypfenstern

Die angewendete Methode zur eQTL-Kartierung sucht nach Gruppierungen in der Studienpopulation, in welchen eine Korrelation zwischen dem Expressionsniveau des untersuchten Gens, den Haplotypen an der vermeintlichen eQTL-Position und dem Krankheitsstatus feststellbar ist. Deshalb wurde anschließend an die Kartierung betrachtet, welche Tiere sich jeweils anhand der genannten Kriterien gruppieren lassen und somit an der Auslösung eines signifikanten eQTL-Peaks beteiligt sind.

Wie bereits in Kapitel 3.2.2.5 dargestellt, wurde zur Varianzkomponentenanalyse jeweils der Effekt der Diplotypkonstellation auf das Expressionsniveau des untersuchten Gens bei jedem Studientier und jeder Genomposition geschätzt. Diese zufälligen Diplotypeffekte fließen als eQTL-Effekt in die Varianzkomponentenschätzung ein und dienen somit als Maß für die Schätzung der statistischen Wahrscheinlichkeit (LRT-Wert) einer genetisch bedingten Beeinflussung der Genexpression.

Aus dem jeweiligen *sln*-File als eines der Ergebnisfiles der ASReml-Analyse für das interessierende Haplotypfenster in MODEL1 lassen sich die Effekte jedes einzelnen Diplotyps auslesen. Bei negativem Wert des vorliegenden Diplotypeffekts wird von einem herunterregulierenden Effekt des zugrunde liegenden Diplotyps auf die Expression des betrachteten Gens ausgegangen. Umgekehrtes gilt für positive Diplotypeffekte. Zudem werden die zugehörigen maternalen und paternalen Haplotypen für das betrachtete SNP-Fenster angegeben. Diese sind nach der Reihenfolge ihres Auftretens während der Analyse in aufsteigender Zahlenfolge benannt. Die geschätzten *LocIBD*-Wahrscheinlichkeiten (siehe Kap. 3.2.2.4) lassen erkennen, welche der Haplotypen mit hoher Wahrscheinlichkeit herkunftsgleich sind. Mittels der genannten Informationen wurden die 40 SNP-Fenster an den elf signifikant mit Placentaretention in Verbindung stehenden eQTL-Positionen ausgewertet. Dabei wurde deutlich, dass in allen Fällen augenscheinlich nur wenige bis einige Tiere für das Auftreten eines signifikanten Peaks verantwortlich sind und nicht nur Untergruppen bestehend aus Falltieren signifikante Ergebnisse bedingen, sondern wahrscheinlich auch Gruppierungen von Kontrolltieren. Zudem zeigt der Vergleich zwischen signifikanten eQTL-Positionen, dass oftmals verschiedene Tiere beteiligt sind. Anhand zweier Beispiele soll dies an dieser Stelle veranschaulicht werden. Eine Übersicht über die Diplotypeffekte und Haplotypen in den jeweiligen 40 SNP-Fenstern der weiteren signifikanten eQTL-Positionen ist in Anhang 4 zu finden.

Zunächst wird auf den eQTL-Peak von MMP25 auf BTA20, der sich in MODEL2 als signifikant mit Placentaretention in Verbindung stehend erwies, eingegangen. Insgesamt können in diesem Haplotypfenster 31 verschiedene Haplotypen bei den 40 Studientieren beobachtet werden. An dieser Position ist eine relativ deutli-

che Gruppierung der Kontrolltiere im Bereich der negativen Diplotypeffekte zu erkennen. Acht der zehn Tiere mit niedrigsten Diplotypeffekte ($< -0,20$) sind Kontrolltiere und alle acht besitzen mindestens eine Kopie von dem mit Ziffer 14 bezeichneten Haplotyp (siehe Tabelle 4). Das Tier (HF0440) mit der stärksten Herunterregulierung ($-0,66$) ist homozygot für Haplotyp 14. Nur ein Falltier (HF0414) erbt Haplotyp 14 und ist ebenso stark herunterreguliert ($-0,44$). Die Wahrscheinlichkeit, dass Haplotyp 14 mit einem der anderen Haplotypen herkunftsgleich ist, beträgt 24,0 %. An dieser Position ist auch eine Gruppierung der Falltiere im Bereich der positiven Diplotypeffekte zu erkennen. Acht der Tiere weisen hier den mit Ziffer 4 bezeichneten Haplotyp auf, wobei sechs Kühe *post partum* eine Nachgeburtsverhaltung entwickelt hatten (HF0402, HF0417, HF0421, HF0501, HF0502, HF0523) und nur zwei Tiere der Kontrollgruppe angehören (HF0547, HF0568). Die Wahrscheinlichkeit, dass Haplotyp 4 mit einem der anderen Haplotypen herkunftsgleich ist, ist sehr gering; sie liegt bei maximal 2,6 %. Aufgrund der deutlicheren Gruppierung der genannten Kontrolltiere deuten diese gezeigten Ergebnisse darauf hin, dass eher eine genetische Ähnlichkeit zwischen einer Untergruppe, bestehend aus acht Tieren der Kontrolltiere (Haplotyp 14), wesentlich an der Entstehung eines signifikanten eQTL-Peaks beteiligt ist.

Ein etwas anderes Bild zeigt sich an der signifikanten eQTL-Position des Expressionsprofils *SLC10A1* auf BTA21. Hier ergibt die Sortierung anhand Diplotypeffekten, dass fünfzehn Tieren mit Placentaretention negative Diplotypeffektwerte zugeordnet werden. Bei weiterer Betrachtung fällt auf, dass innerhalb der Tiergruppe mit negativen Diplotypeffektwerten zwei verschiedene Untergruppen zu erkennen sind. Haplotyp 11 tritt ausschließlich bei fünf Tieren der Fallgruppe (Tabelle 5, HF0413, HF0416, HF0421, HF0616, HF0522) auf, wobei HF0416 und HF0413 die geringsten Expressionswerte aller Tiere für *SLC10A1* aufweisen. Zudem wurden für dieses Haplotypfenster nur geringe IBD-Wahrscheinlichkeiten zwischen Haplotyp 11 und anderen Haplotypen berechnet (maximal 8,3 %). Des Weiteren wurde eine hohe IBD-Wahrscheinlichkeit von 99,6 % zwischen Haplotyp 4 und Haplotyp 7 geschätzt. Von den neun Tieren mit den negativsten Diplotypeffektwerten besitzen sechs Tiere entweder Haplotyp 4 oder Haplotyp 7, wobei fünf von diesen (HF0405, HF0519, HF0418, HF0412, HF0414) eine Placentaretention entwickelten. Diese beiden Haplotypen treten auch bei drei weiteren Falltieren

auf. Es lässt sich daher nicht ableiten, ob die mit Haplotyp 11 oder die mit den Haplotypen 4 bzw. 7 korrelierenden Diplotypeffekte die Signifikanz des erzielten LRT-Wertes erklären können. Dass jedoch eine genetische Ähnlichkeit innerhalb einer Untergruppe der Falltiere dieses signifikante Ergebnis bedingt, erscheint wahrscheinlich.

Tabelle 4: Diplotypeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von MMP25 auf BTA20

Die Studientiere (TierLID) sind sortiert nach ihren Diplotypeffekten (DipEff) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Paternaler (pHap) und maternaler Haplotyp (mHap) sowie das zugehörige Expressionsniveau (eProfil) von MMP25 sind angegeben. Haplotyp 14 (grün) ist wahrscheinlich an der Entstehung eines signifikanten Peaks beteiligt, obwohl auch eine Untergruppe bestehend aus Falltieren (Haplotyp 4, rot) zu erkennen ist.

TierLID	pHap	mHap	eProfil	DipEff
HF0490	14	14	7.00	-0.66
HF0434	14	1	7.17	-0.64
HF0489	14	20	7.43	-0.48
HF0522	26	27	7.71	-0.45
HF0553	6	14	6.90	-0.44
HF0414	14	6	7.99	-0.44
HF0485	11	14	7.34	-0.28
HF0551	14	15	7.33	-0.24
HF0439	14	15	7.43	-0.24
HF0423	14	17	7.23	-0.22
HF0401	1	2	7.82	-0.18
HF0412	11	12	7.33	-0.17
HF0574	30	31	7.21	-0.07
HF0556	6	11	7.14	-0.06
HF0558	11	6	7.25	-0.06
HF0581	6	32	7.23	-0.04
HF0568	4	18	7.27	-0.02
HF0406	7	8	7.39	-0.02
HF0421	6	4	7.98	-0.01
HF0416	6	8	8.16	0.00
HF0405	5	6	8.12	0.01
HF0567	18	9	7.31	0.02
HF0429	18	9	7.44	0.02
HF0464	14	19	7.42	0.03
HF0407	9	10	7.47	0.06
HF0515	23	18	7.51	0.06
HF0549	28	29	7.07	0.12
HF0527	11	28	7.69	0.12
HF0501	4	21	7.79	0.15
HF0547	28	4	7.19	0.17
HF0519	11	25	7.66	0.18
HF0546	11	9	7.89	0.19
HF0417	4	15	8.06	0.19
HF0409	9	9	7.59	0.27
HF0418	11	16	7.60	0.36
HF0516	11	24	7.83	0.41
HF0402	3	4	7.52	0.46
HF0523	4	22	8.11	0.47
HF0502	22	4	8.26	0.47
HF0413	3	13	8.01	0.73

TierLID	pHap	mHap	eProfil	DipEff
HF0574	1	1	10.83	-2.84
HF0405	4	5	10.14	-2.32
HF0519	22	7	10.10	-2.18
HF0418	4	10	9.78	-2.13
HF0412	4	10	9.85	-2.13
HF0502	1	20	8.42	-2.13
HF0556	4	26	11.53	-1.90
HF0558	15	1	11.04	-1.55
HF0414	7	7	9.55	-1.47
HF0523	23	22	7.67	-1.40
HF0416	11	5	7.47	-1.34
HF0413	7	11	7.64	-1.30
HF0522	11	7	9.17	-1.30
HF0501	10	19	10.15	-1.26
HF0516	11	21	9.13	-1.03
HF0485	5	9	10.71	-0.89
HF0489	5	9	10.85	-0.89
HF0439	16	17	9.88	-0.87
HF0515	4	3	9.10	-0.81
HF0551	3	25	10.81	-0.76
HF0547	22	3	10.23	-0.75
HF0549	22	3	10.78	-0.75
HF0401	1	2	10.03	-0.64
HF0567	1	27	10.12	-0.61
HF0464	15	15	10.65	-0.26
HF0434	9	15	9.94	-0.22
HF0553	15	9	10.17	-0.22
HF0581	29	3	10.08	-0.13
HF0490	1	18	10.27	-0.11
HF0417	3	12	9.65	-0.07
HF0527	6	5	10.65	0.07
HF0406	6	7	9.98	0.10
HF0407	8	6	8.76	0.31
HF0409	9	3	10.18	0.60
HF0421	11	13	9.70	0.61
HF0546	24	17	10.05	1.09
HF0568	28	3	10.44	1.31
HF0402	3	3	9.69	1.45
HF0429	3	3	9.91	1.45
HF0423	6	14	9.92	1.46

Tabelle 5: Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von SLC10A1 auf BTA21

Die Studientiere (TierLID) sind sortiert nach ihren Diplotypeeffekten (DipEff) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Paternaler (pHap) und maternaler Haplotyp (mHap) sowie das zugehörige Expressionsniveau (eProfil) von MMP25 sind angegeben. Ob die Haplotypen 4 und sieben (grün) oder Haplotyp 11 (rot) an der Entstehung des signifikanten Peaks beteiligt sind, ist unklar.

5 DISKUSSION

5.1 Aussagekraft der vorgelegten eQTL-Studie

Hoher Kostenaufwand für die Expressionsanalysen und die eingeschränkte Verfügbarkeit von benötigtem Gewebe führen in der Regel zu relativ kleinen Tierzahlen in eQTL-Studien. Daher steigt die Wichtigkeit eines durchdachten Studiendesigns und der Analyse anderer Studien, um den bestmöglichen Nutzen aus den vorhandenen Daten zu ziehen (HALEY & DE KONING, 2006). Die genannten Einschränkungen stellen auch den limitierenden Faktor für die Populationsgröße in der vorliegenden Studie dar.

Die verwendete Studienpopulation für die eQTL-Kartierung für das Merkmal Placentaretention besteht aus 20 Kontrolltieren und 20 Tieren, die innerhalb des Beobachtungszeitraums eine Placentaretention entwickelten. Alle 40 Tiere gehören der Rasse Holstein-Friesian an. Diese 40 Tiere stellen eine sorgfältige Auswahl von über 180 Tieren eines Bestandes dar, die innerhalb zweier Beobachtungsperioden intensiv untersucht und überwacht wurden. Ausschlusskriterien waren neben abweichenden Blutparametern Schweregeburt, Totgeburt, Zwillingsgeburt, unphysiologische Trächtigkeitlänge oder klinisch erkennbare Krankheit.

Für eine Genomkartierung, die sich das LD zu Nutze macht, gilt eine Studienpopulation, bestehend aus unverwandten Individuen, als ideal (GODDARD & HAYES, 2009). Um Fehler aufgrund von Populationsstratifikation zu vermeiden, wurden – soweit möglich – unverwandte Individuen ausgewählt und zudem in der späteren Varianzkomponentenanalyse mittels 20 Hauptkomponenten auf mögliche Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den Tieren sowie auf polygene Effekte korrigiert. Durch die Kombination der Informationen von Kopplungsungleichgewicht und Kopplung bei der Kartierung sowie durch Einbeziehung der genetischen Information von mehr als 2 400 weiteren Rindern für die Ableitung der Haplotypen und Imputation fehlender Allele wurde weiterhin das Risiko für ein Auftreten falsch positiver Assoziationen stark verringert. All die genannten Maßnahmen dienen

dazu, auch aus einer Studie mit kleiner Tierzahl aussagekräftige und vertrauenswürdige Ergebnisse zu erzielen.

Wie bereits in Kapitel *linkage disequilibrium*-Kartierung (Kap. 2.3.3.2) ausführlich dargestellt, hängt die Anzahl der SNP-Marker, die für eine erfolgreiche Assoziationsanalyse benötigt wird, von Struktur und Ausdehnung des *linkage disequilibrium*s in der verwendeten Population ab (FARNIR et al., 2000; KHATKAR et al., 2008; QANBARI et al., 2010). In *Bos taurus* führten Domestikation und Zucht einzelner Rassen zu einem starken Abfall der effektiven Populationsgröße und damit zu ausgedehnten Haplotypblöcken (FARNIR et al., 2000). KHATKAR et al. (2007) ermittelten eine mittlere Länge der Haplotypblöcke in Holstein-Friesian Rindern von 69,7 kb, wobei die Mehrzahl der Blöcke kleiner ist, und schlagen daher für genomweite Assoziationsstudien und Feinkartierungen einen SNP-Markerabstand von 30 bis 50 kb vor. Der in der vorgelegten Studie verwendete Illumina BovineSNP50 BeadChip (Illumina, San Diego, USA) enthält 54 609 SNPs, die in einem mittleren Abstand von 49,4 kb annähernd gleichmäßig genomweit verteilt sind. Die Position von mehr als 54 060 SNP-Sonden auf diesem Chip kann in der Karte UMD 3.0, der derzeit gängigsten bovinen Referenzkarte, kartiert werden (ILLUMINA, 2011). Selbst unter der Annahme einer *Marker Call Rate* von 100% kann so nur von einer knappen Erfüllung der genannten Anforderungen ausgegangen werden. Zur Beginn dieser Studie war ein Chip mit einer höheren Dichte an SNPs nicht verfügbar. Aktuelle, neue Entwicklungen im Bereich der DNA-Sequenzierungstechnik, beispielsweise die DNA-Sequenzierung mittels Nanoporen (SHENDURE et al, 2011), bieten aber eventuell schon in naher Zukunft eine kostengünstige, effiziente Möglichkeit der Erfassung deutlich dichter genetischer Information.

Mit der Verwendung des GeneChip® Bovine Gene ST 1.0 Array (Affymetrix©) konnte auf den derzeit modernsten bovinen Microarray zur Erstellung der Expressionsprofile zurückgegriffen werden. Sorgsamer Umgang mit dem Probenmaterial sowie Analyse nach Herstellerprotokoll sollen die Gefahr für „Batch-Effekte“ mindern.

Neben hohen Kosten für die Erstellung der Expressionsprofile stellen die äußerst große benötigte Serverkapazität und der hohe rechnerische Aufwand für die eQTL-Kartierung einen weiteren limitierenden Faktor der vorgelegten Studie dar. So war es nicht möglich, alle 19 404 erstellten Expressionsprofile genomweit zu analysieren. Um dennoch einen möglichst großen Informationsgewinn zu erzielen, erfolgte die Auswahl der zu untersuchenden Profile im Rahmen eines dreistufigen Auswahlverfahrens. Die Wahrscheinlichkeit, dass besonders Gene, die zwischen Fall- und Kontrolltieren deutlich differenziell exprimiert werden, an der Pathogenese der Placentaretention beteiligt sind, erscheint am höchsten. Deshalb wurden zunächst die zehn bei erkrankten Tieren am meisten hochregulierten und die zehn am meisten herunterregulierten Gene ausgewählt. Ebenso wird davon ausgegangen, dass nur solche Expressionsprofile eine Gruppierung zeigen und folglich ein signifikantes Signal verursachen können, deren Expressionsniveaus eine gewisse Varianz zwischen den Individuen der Studienpopulation aufweisen. Aus diesem Grund wurden zusätzlich zu den 20 differenziell exprimierten Genen weitere 180 Expressionsprofile mit den größten gezeigten Varianzen ausgewählt. Seit mehreren Jahrzehnten beschäftigen sich Wissenschaftler mit der Ursachenforschung für die Placentaretention. So konnten verschiedene Gene und biologische Prozesse mit der Entstehung einer Nachgeburtsverhaltung in Verbindung gebracht werden. Eine Literaturrecherche konnte 99 weitere Gene beziehungsweise Expressionsprofile aufdecken, die nach Literaturangaben möglicherweise an der Pathogenese der Placentaretention beteiligt sind. Diese 99 Profile flossen ebenso in die Kartierung ein.

Die letztlich insgesamt 299 selektierten und analysierten Expressionsprofile stellen mit rund 1,55 % zwar nur einen kleinen Anteil aller erstellten Profile dar; das angewandte Stufenverfahren zur Auswahl dieser Profile verspricht jedoch die Erfassung eines hohen Anteils des in dieser Studie enthaltenen Informationsgehalts.

5.2 Relevanz der statistisch signifikanten eQTLs

Mittels der Anwendung einer zweistufigen Varianzkomponentenanalyse konnten in der vorliegenden Studie elf eQTLs, bedingt durch acht Expressionsprofile, als statistisch signifikant mit dem interessierenden Merkmal Placentaretention in Verbindung stehend identifiziert werden. Die erreichten LRT-Werte an diesen eQTLs in MODEL1 lagen mindestens bei 10,94 (MMP25 auf BTA14), wobei ein Maximalwert von 15,37 (FADD auf BTA24) erzielt wurde. Dies entspricht einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P = 0,00094$ respektive $P = 0,000088$. Die erreichte, deutliche statistische Signifikanz darf jedoch nicht unbedingt mit klinischer oder molekularbiologischer Relevanz gleichgesetzt werden. Da die Signifikanz der eQTL-Kartierung von vielen designrelevanten Faktoren (z.B. Markerdichte und Markerinformativität um die kausale Mutation) abhängt, entspricht der eQTL mit der kleinsten Irrtumswahrscheinlichkeit nicht zwangsläufig dem wichtigsten eQTL.

Einer weiteren kritischen Betrachtung bedarf die Tatsache, dass – wie in Kapitel 4.3 gezeigt – nicht nur genetische Ähnlichkeiten zwischen Falltieren, sondern auch genetische Ähnlichkeiten zwischen Kontrolltieren signifikante eQTL-Ergebnisse produzierten. Da eQTL-Effekte als zufällige Effekte definiert sind, die durch die Gruppierung von betrachteten Allelen in Fall- oder Kontrollgruppen entstehen können, steht dies im Einklang mit der verwendeten Untersuchungsmethode. Solche Ergebnisse treten allerdings in einen Disput mit der aktuell herrschenden Erwartung an ein Fall-Kontroll-Design. In einem Fall-Kontroll-Design wird normalerweise nach genetischer Ähnlichkeit zwischen Falltieren gesucht, während Kontrolltiere erwartungsgemäß eine normale genetische Diversität am gleichen Locus aufweisen.

Dennoch bleibt die Grundannahme bestehen, dass Gene, die einem signifikanten eQTL zugrunde liegen, mit hoher Wahrscheinlichkeit an der Regulation der Expression des kartierenden Gens beteiligt sind. Daher ist es von großer Bedeutung sowohl die bereits bekannten Genfunktionen der kartierenden Gene als auch die Genfunktionen der den eQTL-Peaks zugrunde liegenden, kodierten Gene zu analysieren und auf ihren möglichen Zusammenhang innerhalb der Pathogenese der

Nachgeburtungsverhalten zu prüfen. Aufgrund der geringen Distanz zwischen den eQTLs von MAN1C1 und MMP25 auf BTA14 sowie von MIR379 und FADD auf BTA24 werden diese eQTLs im Folgenden als von jeweils einem gemeinsamen Genlocus reguliert betrachtet. Auf die übrigen Loci wird einzeln eingegangen.

Zur Recherche von Genfunktionen werden verschiedene, online zugängliche Datenbanken verwendet. Mittels PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) und Google Scholar (<http://scholar.google.de>) erfolgt die Suche nach interessierenden Publikationen. In der Datenbank Entrez Gene (www.ncbi.nlm.nih.gov/gene) sind Informationen aus weiteren Datenbanken zusammenfassend hinterlegt. Im Speziellen sind dies Reference Sequence (RefSeq, www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq), die Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG, www.genome.jp/kegg), Ergebnisse aus Gene Ontology Analysen (GOA, www.geneontology.org), REACTOME (www.reactome.org) und WikiPathways (<http://wikipathways.org>). Weiterhin genutzt wurde die Universal Protein Resource Knowledgebase (www.uniprot.org).

5.2.1 Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von CXCL3 durch zwei eQTL-Regionen

Das Expressionsprofil des Gens *Chemokine (C-X-C motif) ligand 3 (CXCL3)* kartiert an zwei Positionen signifikant, nämlich auf BTA13 bei 9,53 Mb und auf BTA18 bei 1,74 Mb.

Chemokine, eine Gruppe von Molekülen mit geringem Molekulargewicht von etwa 8 - 14 kDa, werden den zur Chemotaxis befähigten Cytokinen zugeordnet, deren chemotaktische Signale auf verschiedene Arten von Leukozyten wirken (BAIRD et al., 2011). Aufgrund der unterschiedlichen Aminosäurenkomposition zweier Cysteinreste werden vier Subfamilien unterschieden: C, CC, CXC und CXXXC. Die CXC-Subfamilie wird weiterhin in zwei Subtypen anhand des Auftretens eines bestimmten Glutaminsäure-Leucin-Arginin (ELR)-Motivs in ELR⁺ und ELR⁻ aufgeteilt. Das hier betrachtete CXCL3 zählt zusammen mit CXCL1, CXCL2, CXCL8 (auch IL8 genannt) und den zugehörigen Rezeptoren CXCR1 und CXCR2 zum

Subtyp ELR⁺ (ZLOTNIK & YOSHIE, 2000). CXC (ELR⁺)-Chemokine regulieren die Zellwanderung von neutrophilen Granulozyten (BACON et al., 2002). Die Transmembranrezeptoren CXCR1 und CXCR2 dieser Chemokine sind G-Protein gekoppelt und werden hauptsächlich von neutrophilen Granulozyten exprimiert (MURPHY et al., 2000). Neben der Rekrutierung von Leukozyten wird CXC-Chemokinen die Beteiligung an weiteren biologischen Prozessen zugesprochen, wobei hier vor allem die Angiogenese zu nennen ist. Mitglieder des ELR⁺-Subtyps sind potente Promotoren der Angiogenese und medieren ihre angiogenetische Aktivität durch Bindung und Aktivierung von CXCR2 auf Endothelien (STRIETER et al., 2005).

Dem bereits erwähnten signifikanten eQTL des Expressionsprofils CXCL3 an der Position 9,53 auf BTA13 liegen zwei Gene zugrunde. Eines davon ist *MACRO domain containing 2 (MACROD2)*, das im Bereich von 7,79 bis 10,04 Mb kodiert ist. MACRO-Domänen finden sich in zahlreichen Proteinen, entweder eigenständig oder an funktionale Proteine gekoppelt. Dennoch ist ihre Funktion weitgehend unbekannt. CHEN et al. (2011) stellten in ihrer Untersuchung der humanen Proteine MACROD1 und MACROD2 eine Deacetylase-Aktivität fest, durch welche die Hydrolyse von O-acetyl-ADP-Ribose effektiv katalysiert wird, sodass ADP-Ribose und freies Acetat entsteht. Auch von einer möglichen Korrelation zwischen *MACROD2* und der Entstehung verschiedener humaner Krankheiten wie der Erbkrankheit Kabuki-Syndrom (MAAS et al., 2007), Kolorektalkrebs (DAVISON et al., 2005) oder dem Aufmerksamkeitsdefizit/Hyperaktivitätssyndrom (ADHS; LIONEL et al., 2011) wurde bereits berichtet. Der Genombereich, in dem das Gen *MACROD2* beim Menschen liegt, wurde allerdings von BRADLEY et al. (2010) als eine von 13 Regionen im humanen Genom identifiziert, in welchem Deletionen mit bis zu 100mal höherer Frequenz auftreten als in den restlichen 99,8 % des Genoms und daher „*Deletion Hotspots*“ genannt werden. Diese genomische Instabilität wird von den Autoren als wahrscheinlich ursächlich für die aufgetretenen Korrelationen zwischen *MACROD2* und verschiedenen Krankheiten gesehen, weshalb diese als zufällig einzustufenden Korrelationen vermutlich somit falsch-positive Ergebnisse widerspiegeln. Das zweite an dieser Position lokalisierte Gen

LOC100849051 (9,41 bis 9,43 Mb) wurde bisher nicht weiter charakterisiert, so dass keine Aussage zu dessen Funktion getroffen werden kann.

Unter der Hypothese, dass das Bestehen solcher „*Deletion Hotspots*“ vom Menschen auf das Rind übertragen werden kann, muss an dieser Position davon ausgegangen werden, dass die statistische Signifikanz des eQTL auf zufällige Korrelation zwischen Varianten der Gensequenz (und somit SNP-Allele) von *MACROD2* und den Expressionsniveaus von *CXCL3* zurückzuführen ist. Damit wäre keine klinische Relevanz gegeben.

Dem Expressionsprofil *CXCL3* konnte auch auf BTA18 an Position 1,74 Mb in MODEL1 ein signifikanter eQTL zugewiesen werden, welcher sich in MODEL2 als signifikant mit Placentaretention in Verbindung stehend erwies. Distal des detektierten eQTL-Peaks sind einige Gene kartiert. Das Nächstliegende ist *ST3GAL2* von 1,74 bis 1,76 Mb, in der näheren Umgebung liegen *DDX19A* und *DDX19B* sowie *AARS*. Das Protein, das von dem Gen *ST3GAL2* kodiert wird, gehört zu einem Typ von Membranproteinen, deren Aufgabe es ist, den Transfer von Sialinsäure von Cytidinmonophosphat (CMP)-Sialinsäure auf Galactose-enthaltende Substrate zu katalysieren (RefSeq). Es ist somit an Glykosaminoglykan-Biosynthese, Glykosphingolipid-Biosynthese und O-Glykan-Biosynthese beteiligt. Die Ergebnisse der GOA zeigen eine Beteiligung an den Prozessen Protein-Glykosylierung und posttranslationaler Proteinmodifikation. Die durch die Gene *DDX19A* und *DDX19B* kodierten Proteine werden von Protein Knowledgebase als ATP-abhängige RNA-Helikasen bezeichnet, die am mRNA-Export aus dem Zellkern beteiligt sind. Auch *AARS* kann anhand der Datenbanksuche biologischen Prozessen zugeordnet werden. KEGG nennt hier die Aminoacyl-tRNA-Biosynthese, wohingegen bei REACTOME dieses Gen allgemeiner als zum Prozess der Genexpression gehörig aufgeführt wird. Eine neue Untersuchung zeigt eine wahrscheinliche Beteiligung von *AARS* an der Ausbildung der sogenannten Charcot-Marie-Tooth-Krankheit, eine periphere Neuropathie mit heterogener klinischer Symptomatik. Die Forscher gehen davon aus, dass eine gefundene Genvariante für eine verminderte Genfunktion verantwortlich ist, die in der Folge durch verminderte tRNA-Synthese eine Rolle in der molekularen Pathologie der Krankheit spielt (MCLAUGHLIN et al., 2012).

Dass die Expression von *CXCL3* durch eines der aufgeführten Gene der eQTL-Region direkt oder über Zwischenschritte negativ beeinflusst wird und dadurch zur Entstehung einer Placentaretention beiträgt, ist möglich. Ob eine Beeinflussung auf Stufe des mRNA-Transports, der Translation oder durch posttranslationale Modifikation am wahrscheinlichsten ist, kann aus den erzielten Ergebnissen und Erkenntnissen nicht geschlossen werden.

5.2.2 Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von *MMP25* und *MAN1C1*

MMP25 zeigt einen mit *MAN1C1* gemeinsamen eQTL auf BTA14 sowie einen weiteren signifikanten eQTL auf BTA20.

Proteine aus der Familie der Matrixmetalloproteinasen sind meist an der Degradation der Extrazellulärmatrix in physiologischen Prozessen des Gewebeumbaus, beispielsweise bei Umbildungsvorgängen im Reproduktionstrakt oder der Entwicklung eines Embryos, beteiligt. *MMP25* jedoch gehört zur Subfamilie der membranständigen Matrixmetalloproteinasen, die mittels eines Glykosylphosphatidylankers an der Plasmamembran anhaften (RefSeq). Im Falle einer angestoßenen Entzündungsreaktion erfolgt zunächst eine Aktivierung von neutrophilen Granulozyten durch *CXCL8/IL8* und Interferon γ (FORTIN et al., 2010). Erst in einer späteren Phase der Entzündung wird *MMP25* von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten exprimiert, sodass *MMP25* dann die stark chemotaktisch auf Neutrophile wirkenden Chemokine *CXCL2* und *CXCL5* aktivieren kann. So wird eine zweite Phase der Wanderung neutrophiler Granulozyten aus der Blutbahn mittels transendothelialer Migration in das Entzündungsgebiet begünstigt und die initiale Rekrutierung von Neutrophilen wird verstärkt. Zudem ist *MMP25* in der Lage, die Anlockung von Monozyten zu fördern (STARR et al., 2012).

MAN1C1 kodiert für ein Enzym der Gruppe der α -1,2-Mannosidasen, die einen der ersten Schritte im Prozess der N-Glykanreifung katalysieren (CHACKO et al., 2011). Wie bereits im vorherigen Absatz dargestellt, ist für eine ausreichende in-

flammatorische Reaktion die Einwanderung von Leukozyten, besonders von neutrophilen Granulozyten, in das Entzündungsgebiet von Nöten (SPERANDIO et al., 2009). Ein weithin anerkannter Mechanismus, um eine gesteigerte Adhäsion von Leukozyten an Endothelien zu erreichen, ist die Hochregulierung der Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle. Eine detaillierte Analyse dieser Adhäsionsmoleküle hat ergeben, dass viele von diesen entweder glykosyliert (N- oder O-Glykosylierung) oder sulfatiert sind. Diese posttranslationalen Modifikationen scheinen für den korrekten Transport zur Plasmamembran wichtig zu sein. Sie dienen zudem in vielen Fällen als Liganden für Leukozyten und medieren somit Interaktionen zwischen Leukozyten und Zellwand (CHACKO et al., 2011). Die Wichtigkeit von N-Glykanen als endotheliale Liganden zur Erkennung von Rezeptoren auf Neutrophilen und Lymphozyten wird bei MITOMA et al. (2007) und SRIRAMARAO et al. (1993) erörtert.

Die beiden Expressionsprofile MMP25 und MAN1C1 kartieren auf BTA14 in derselben Genomregion. MMP25 zeigt einen signifikanten eQTL-Peak bei 10,74 Mb; MAN1C1 kartiert in einem Abstand von 100 kb distal von diesem bei 10,84 Mb. Aufgrund der geringen Distanz zwischen den eQTLs werden diese gemeinsam betrachtet. In der benannten Genomregion sind zwei Gene kodiert. Der eQTL von MMP25 liegt im Bereich von *LOC785191*. Dieses Gen, beziehungsweise sein zugehöriges Protein, sind noch nicht näher charakterisiert. Der eQTL von MAN1C1 kann einem Genbereich zugeordnet werden, der das Gen *ADCY8* enthält. Die Online-Datenbankrecherche für *ADCY8* ergibt eine wahrscheinliche Beteiligung an mehreren biologischen Prozessen. Dieses Membranenzym katalysiert die Bildung von cyclischem AMP aus ATP, wobei seine enzymatische Aktivität unter hormoneller Kontrolle steht und mehrere Polypeptide an der Signaltransduktion vom Rezeptor zur katalytischen Einheit beteiligt sind (RefSeq). Nach Angaben in WikiPathways wirkt *ADCY8* im „*Myometrial Relaxation and Contraction Pathway*“ mit, REACTOME spricht ihm eine Aufgabe innerhalb der G-Protein mediierten Vorgänge zu. Einen wichtigen Hinweis für eine mögliche Relevanz im Rahmen dieser Studie findet man in der KEGG-Datenbank, in welcher *ADCY8* dem „*Chemokine signaling pathway*“ zugeordnet wird.

Unter der Annahme einer physiologischerweise auftretenden proinflammatorischen, cytokinabhängigen Hochregulierung von endothelialen N-Glykanen (CHACKO et al., 2011), lässt sich ein hypothetischer Zusammenhang zwischen den erzielten Ergebnisse der eQTL-Studie auf diesem Autosom und dem Auftreten einer Placentaretention herstellen: Eine bestimmte Allele des *ADCY8*-Gens wirkt sich negativ auf die Expression von *MAN1C1* aus, sodass die aktive Enzymmenge sinkt und weniger N-Glykane synthetisiert werden, die die trans-endotheliale Migration von Leukozyten mediierten. Dies könnte wiederum zu einem reflektorischen Anstieg der Expression von *MMP25* durch die im Entzündungsgebiet vorhandenen polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten führen, durch welchen versucht werden soll, das Fehlen von neutrophilen Granulozyten zu kompensieren. Eine Gruppierung mehrerer Falltiere im negativen Bereich der Diplotypeffekte für *MAN1C1* sowie im positiven Bereich der Diplotypeffekte für *MMP25* lässt sich in den Tabellen 4 und 5 erkennen. Dass eine ungenügende Immunreaktion von Seiten des Muttertieres als eine der wahrscheinlichsten Ursachen für das Entstehen der Placentaretention gilt, wurde bereits in Kapitel 2.5.3 ausführlich erläutert. SPERANDIO et al. (2009) weisen auf die Wichtigkeit von Fortschritten im Verständnis der Glykanfunktionen hin, da sie annehmen, dass diese vielversprechende Angriffspunkte für neue therapeutische Strategien in der Behandlung von immunmedierten oder entzündungsbedingten Krankheiten bieten.

Ein zweiter, in beiden Modellen der Varianzkomponentenanalyse als signifikant detektierter eQTL, der von *MMP25* bedingt wird, liegt bei 64,94 Mb auf BTA20. Als diesem eQTL zugrunde liegende Gene wurden *SEMA5A* und *MTRR* identifiziert. *SEMA5A* gehört zur Familie der Semaphorin-Gene, die für Membranproteine mit einer Semaphorindomäne und mehreren Thrombospondin Typ 1-Wiederholungseinheiten kodieren. Wichtige, bisher bekannte Funktionen dieser Genfamilie betreffen die neurale Entwicklung. Ansonsten ist kaum etwas über ihre Genfunktion bekannt. Dem im Gen *MTRR* kodierten Protein konnte mittels GOA eine Oxidoreduktase-Aktivität im Rahmen der Methionin-Biosynthese zugeordnet werden. Methionin gehört zu den essentiellen Aminosäuren und kann folglich nicht *de novo* im menschlichen oder tierischen Organismus synthetisiert werden. Dennoch ist mittels des Enzyms Methioninsynthase eine Remethylierung von

Homocystein, ein Abbauprodukt von Methionin, zu Methionin möglich. Neben der wichtigen Bedeutung von Methionin in der Proteinsynthese (aufgrund des einheitlichen Startcodons ist die erste Aminosäure jedes Proteins ein Methionin) dient Methionin auch als Methylgruppendonator. Die Methyltransferase katalysiert die Übertragung von Methylgruppen der Aminosäure auf S-Adenosylmethionin. Die *5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase* (MTRR) regeneriert die Methioninsynthase durch reduktive Methylierung und ist somit indirekt an der Proteinsynthese und der DNA-Methylierung beteiligt (RefSeq).

Anhand der durch Recherche erhaltenen Informationen ist ein Einfluss von *SEMA5A* auf die Expression von *MMP25* im Zusammenhang mit Placentaretention nicht ersichtlich. Eine Beeinflussung der Expression durch *MTRR* erscheint hingegen möglich, kann jedoch nicht spezifiziert werden.

5.2.3 Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von *BNIP3*

Auch für das Expressionsprofil des Gens *BNIP3* wurde ein signifikanter eQTL detektiert. Das Expressionslevel von *BNIP3*, Mitglied der Bcl-2 Familie, steigt während Stresssituationen wie beispielsweise Hypoxie durch *hypoxia-inducing factor-1*-abhängige oder unabhängige Mechanismen deutlich an. Diese induzierte *BNIP3*-Proteinexpression stößt den Abfall des Membranpotentials und die Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) an, wodurch oft der Zelltod eingeleitet wird. Die Auslösung mehrerer Arten des Zelltods konnten so beobachtet werden. In der Literatur wird sowohl die Induktion von Nekrose, als auch die von Autophagie und/oder Apoptose beschrieben (BURTON & GIBSON, 2009). Die pro-apoptische Funktion des Proteins wird mit seiner Domäne BH3 und einer Transmembrandomäne assoziiert (RefSeq), wobei in Zellen unter normalen Lebensbedingungen die *BNIP3*-Expression durch transkriptionale Repression unterdrückt wird (BURTON & GIBSON, 2009). MA et al. (2012) zeigen in Kardiomyozyten, dass eine *BNIP3*-induzierte Autophagie sowohl den Abfall der Anzahl der Lysosomen, als auch eine verminderte Expression des lysosomalen Proteins LAMP-1 begründet. Dieses Phänomen könne aber durch verstärkte Expression

von Faktoren der lysosomalen Biogenese abgeschwächt werden, weshalb die Autoren schlussfolgern, dass durch Förderung der Lysosomenbiogenese die apoptotische Wirkung von BNIP3 gemindert werden kann. Im Gegensatz zu der bisher dargestellten pro-apoptotischen Funktion, sind auch Studien publiziert, die Hinweise darauf geben, dass BNIP3 das Überleben von Zellen fördern kann (BURTON & GIBSON, 2009).

Dem eQTL-Peak von BNIP3 bei 69,89 Mb auf BTA04 können vier zugrunde liegende Gene zugeordnet werden. In geringer Distanz proximal und distal des eQTL-Peaks befinden sich die bisher nicht weiter charakterisierten Gene *LOC100848776* und *LOC100848483*. Daneben liegt im distalen Bereich *SNX10*, ein Gen, das für ein Protein der *sorting nexin*-Familie kodiert. Die Mitglieder dieser Familie sind mittels ihrer Phox-Domäne, einer Phosphoinositid-bindenden Domäne, in den intrazellulären Molekültransport involviert (RefSeq). Sie scheinen eine beachtliche Rolle bei der Sortierung des zellulären Frachtguts in intrazelluläre Vesikel, besonders Endosomen, zu spielen, indem sie an die Signatur PI3P der Endosomen binden (WORBY & DIXON, 2002). Neben der Zuordnung in der GOA zu den biologischen Prozessen Zellkommunikation, Proteintransport und Endosomorganisation wird von QIN et al. (2006) eine Beteiligung an der Endosomhomöostase vermutet. Die Forscher konnten zeigen, dass eine Überexpression von *SNX10* in Säugetierzellen zu einer Vergrößerung der Endosomen und zu einer Bildung von vakuolenähnlichen Vesikeln führt. In der Region proximal des eQTL-Peaks befindet sich *SKAP2*. Das Protein, welches von diesem Gen kodiert wird, wird als Substrat der Familie der Src-Kinasen beschrieben (HARDA et al., 2008). Es wird von einer essentiellen Rolle dieses Proteins innerhalb des Src-Signalwegs in verschiedenen Zellen ausgegangen (RefSeq). Src-Kinasen stellen eine Gruppe von Tyrosinkinase dar, die an G-Protein gekoppelte Rezeptoren, an Rezeptoren von Wachstumsfaktoren sowie an Adhäsionsmoleküle binden und Signale weiterleiten. Auf diese Weise findet eine Mitwirkung an der Kontrolle mehrerer zellulärer Funktionen wie Wachstum, Migration und Adhäsion von Zellen statt (ALESHIN & FINN, 2010; CAPURSO et al., 2012). Daher ist es nicht verwunderlich, dass die Recherche in verschiedenen Datenbanken eine Beteiligung an unterschiedlichen biologischen Prozessen ergeben hat, beispielsweise Zell-Zell-Kommunikation (REACTOME), negative Regulierung der Zellproliferation und

B-Zell-Aktivierung (GOA) sowie T-Zellrezeptorsignalweg (WikiPathways). Zudem wurde SKAP2 als neues Target für den *heat shock transcription factor 4* (HSF4) identifiziert (ZHOU et al., 2011). Eine aktuelle Studie von HUANG et al. (2012) zeigt, dass nach Einwirkung von Scherspannung auf Nierengewebe auch Apoptose via Src-Signalweg stattfindet.

Über die Funktion der beiden an diesem eQTL liegenden, nicht charakterisierten Gene lässt sich keine Aussage treffen. Ein Einfluss der anderen hier kodierten Gene, *SNX10* und *SKAP2*, auf die bei Falltieren verringerte Expression von *BNIP3* kann nicht ausgeschlossen werden. *SNX10* ist wegen seiner Funktion bei der Sortierung des zellulären Frachtguts wahrscheinlich an einer Vielzahl von Prozessen der intra- und interzellulären Kommunikation beteiligt, weshalb auch ein Einfluss auf die Expression von *BNIP3* im Bereich des Möglichen liegt. Ein Zusammenhang von *SKAP2* als Teil des Src-Signalwegs mit *BNIP3* ist in der Art vorstellbar, dass eine Variante im *SKAP2*-Gen die Induktion der Apoptose mittels des Src-Signalwegs hemmt und dadurch eine geringere Expression von *BNIP3* erklärt werden kann. Weiterhin wäre denkbar, dass aufgrund einer bestimmten Genvariante die negative Regulierung der Zellproliferation durch *SKAP2* unterbleibt und daher die transkriptionelle Repression von *BNIP3* bestehen bleibt.

5.2.4 Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von *SLC10A1*

Das Gen *SLC10A1* wies in der vom LAFUGA München durchgeführten Transkriptomanalyse der Plazentomproben eine sehr stark differenzielle Expression in der Studienpopulation auf. Die Expression keines anderen Gens war in der Gruppe der erkrankten Tiere, im Vergleich zu den Kontrolltieren, stärker herunterreguliert.

SLC10A1, ein Mitglied der *solute carrier family SLC10*, ist bekannt als Natrium-abhängiger Gallensäuretransporter (GEYER et al., 2006). Diese integralen Membranglykoproteine, die sich an der basolateralen Zellmembran der Hepatocyten befinden (RefSeq), stellen das wichtigste Transportsystem für die Absorption von konjugierten Gallensalzen dar (TRAUNER & BOYER, 2003). Unter physiolo-

gischen und pathophysiologischen Bedingungen wird die Gallensäureaufnahme stark reguliert (STIEGER, 2011). SLC10A1 ist zudem als einziges Mitglied der SLC10-Familie in der Lage, neben den konjugierten Gallensalzen auch weitere Substrate in die Zelle zu transportieren. Hierzu gehören das Schilddrüsenhormon T4 und die sulfatierten Konjugate der Schilddrüsenhormone T4 und T3 (VISSER et al., 2010).

Eine hohe Expression von *SLC10A1* wurde ausschließlich in Lebergewebe detektiert (GE et al., 2005), doch auch in anderen Gewebearten wird dieses Gen exprimiert. So konnte in neun Studien eine Expression von *SLC10A1* in humanem oder murinem Placentagewebe verzeichnet werden, die jedoch in acht von neun Fällen nicht als differentiell einzustufen war (siehe http://www.ebi.ac.uk/gxa/qs?specie_0=homo+sapiens&specie_1=bos+taurus&gprop_0=&gnot_0=&gval_0=SLC10A1&fact_1=&fexp_1=ANY&fmex_1=1&fval_1=EFO_0001407&view=hm&searchMode=advanced).

Neben dem enterohepatischen Gallensäurekreislauf findet während einer Schwangerschaft auch ein Transport von Gallensäuren vom Fetus *via* Placenta zur maternalen Leber statt. Schon *in utero* werden in der fetalen Leber Gallensalze synthetisiert, welche jedoch aufgrund der Unreife der fetalen Leber und des dadurch bedingten Fehlens von Transporterproteinen nur in geringen Mengen biliär ausgeschieden werden können. Stattdessen erfolgt die Elimination nach Übergang von der fetalen zur maternalen Blutzirkulation *via* Placenta in der Leber der Mutter. Die molekulare Identität der hierfür benötigten Transportsysteme konnte bisher noch nicht festgestellt werden (TRAUNER & BOYER, 2003).

Durch SLC10A1 wird in dieser Studie ein signifikanter eQTL auf BTA21 bedingt. Der eQTL-Peak wurde in dem Genbereich kartiert, der die kodierende Sequenz des Gens *alpha-kinase 3 (ALPK3)* beinhaltet. ALPK3 ist ein Mitglied der Familie der α -Kinasen, die deutliche strukturelle Unterschiede im Vergleich zu konventionellen eukaryotischen Proteinkinase aufweisen. Bisher wurden sechs α -Kinasen bei Säugetieren identifiziert, die an einer großen Auswahl von funktionellen Vorgängen beteiligt erscheinen (DRENNAN & RYAZANOV, 2004). Mittels GOA wurde *ALPK3* nur den relativ unspezifischen Prozessen Proteinphosphorylierung, Entwicklung multizellulärer Organismen und Herz-Entwicklung zugeord-

net. *ALPK3*-Knockoutmäuse lassen starken Einfluss innerhalb der Pathogenese der hypertrophen Kardiomyopathie erkennen. Da bei diesen Knockoutmäusen zwar eine Vergrößerung der Herzkammern, aber keine Verdünnung der Herzwand zu beobachten ist, liegt die Ursache der Kardiomyopathie wahrscheinlich in einer Reduktion der kontraktile Leistungsfähigkeit der Kardiomyozyten aufgrund einer diffusen myofibrillären Unordnung (VAN SLIGTENHORST et al., 2012). In Nachbarschaft von *ALPK3* lassen sich weitere Gene identifizieren. Proximal von *ALPK3* liegen *ZNF592* und die microRNA *MIR2364*, im distalen Bereich befindet sich *SLC28A1*. *ZNF592* scheint eine Rolle im Signalweg bei komplexen Entwicklungsschritten zu spielen. Auch scheint dieses Gen einen regulatorischen Einfluss auf die Gene, die in die cerebelläre Entwicklung involviert sind, zu nehmen, da Mutationen dieses Gens mit autosomaler rezessiver spinocerebellärer Ataxie des Menschen assoziiert werden konnten (RefSeq). Mittels GOA erfolgte beim Menschen die Zuordnung von *ZNF592* zu den biologischen Prozessen DNA-abhängige Regulation der Transkription und Zelltod. Nach aktuellem Ergebnisstand ist keine spezielle Beteiligung von *MIR2364* an einem biologischen Prozess bekannt. Dennoch kann davon ausgegangen werden, dass diese microRNA, ebenso wie viele andere Mitglieder dieser Genfamilie, an der Regulation der Genexpression durch Repression der Translation oder Destabilisierung der messenger RNA mitwirkt. Das distal von *ALPK3* gelegene Gen *SLC28A1* erfüllt ähnlich wie *SLC10A1* Transportaufgaben als membranständiges Protein. In *Bos taurus* erfolgte noch keine spezifische Charakterisierung der Genfunktion; innerhalb der Spezies *Homo sapiens* jedoch wird dieses Gen verschiedenen Transmembrantransport-assoziierten Vorgängen zugeordnet. In REACTOME ist *SLC28A1* mit den Prozessen SLC-mediierter transmembraner Transport, Transport von Nukleosiden, freien Purinen und Pyrimidinbasen durch die Plasmamembran und Transport von Vitaminen, Nukleosiden und verwandten Molekülen verknüpft. Die GOA ordnet diesem Gen sowohl eine Na⁺-Symporter-Aktivität für Pyrimidine und Adenin als auch – allgemeiner - eine Transmembrantransporter-Aktivität für Nukleoside zu.

Aufgrund der vielfältigen Funktionen, die die in der eQTL-Region kodierten Gene ausführen können, kann mittels der durchgeführten Literaturrecherche zu Gen-

funktionen der beteiligten Gene kein Aussage über das die Expression von *SLC10A1* am wahrscheinlichsten beeinflussende Gen getroffen werden.

5.2.5 Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von *TIMP1*

Wie der Name schon verrät, sind "*tissue inhibitors of metalloproteinases*" (TIMPs) endogene Inhibitoren der Matrix-Metalloproteinasen (MMPs). Die Hemmung der proteolytischen Aktivität der MMPs erfolgt durch Bildung eines nichtkovalenten Komplexes zwischen TIMP und MMP (GOMEZ et al., 1997; SIMI et al., 2004), dabei ist TIMP1 in der Lage, die Enzymaktivität der meisten Mitglieder der MMP-Familie sowie die Vorstufe des aktiven MMP9-Proteins, pro-MMP9, zu unterbinden (STETLER-STEVENSON, 2008). Neben der Hemmung von MMPs berichten zahlreiche Studien von der Beteiligung an weiteren zellulären Prozessen, die von der MMP-Hemmung unabhängig erscheinen. Hierzu zählen die Induktion des Zellwachstums genauso wie eine mögliche Hemmung des Zellwachstums, eine anti-angiogene und eine anti-apoptotische Aktivität und manchmal auch eine pro-apoptotische Funktion. Eine Übersicht über die bisher festgestellten Funktionen und biologischen Aktivitäten von TIMP1 gibt STETLER-STEVENSON (2008). Zudem wurde von einer Beteiligung an der Steroidhormonsynthese in differierenden steroidogenen Zellen und Geweben berichtet. In Granulosazellen beispielsweise wird davon ausgegangen, dass IL-1 β die Steroidhormonsynthese durch Expression von TIMPs mediiert (NOTHNICK & CURRY, 1996). TIMP1 selbst wiederum wird vorwiegend auf transkriptionaler Ebene reguliert, sodass die Expression dieses Gens von externen Stimuli wie verschiedenen Cytokinen und Wachstumsfaktoren induziert wird (CLARK et al., 2008). *TIMP1* wird in verschiedenen Geweben exprimiert, hauptsächlich jedoch in denen des Reproduktionstrakts und anderen steroidogenen Geweben, also in Ovarien, Nebenniere und Placenta (KUNAPULI & BENOVIC, 1993; LAMBERT et al., 2004).

Ein weiterer eQTL, der statistisch signifikant mit dem interessierenden Merkmal Placentaretention in Verbindung steht, findet sich auf BTA26. Hier zeigt das Expressionsprofil TIMP1 einen signifikanten Peak bei 39,94 Mb. Dieser Peak liegt

inmitten zweier bekannter Gene, nämlich *GRK5* und *RGS10*. Um zu versuchen, die Relevanz dieses eQTL besser einschätzen zu können, wurde auch für diese zwei Gene eine Recherche nach bereits bekannten Genfunktionen durchgeführt. Hierbei ergaben sich für *GRK5* und *RGS10* großteils übereinstimmende Ergebnisse. Beide werden sowohl dem biologischen Prozess „*Myometrial Relaxation and Contraction Pathway*“ (WikiPathways), als auch „*GPCR downstream signaling*“ und „*Signal Transduction*“ (beide REACTOME) zugeordnet. Allein bei *GRK5* findet sich in der KEGG eine Verknüpfung zum Chemokin-Signalweg und in der GOA zum Prozess der negativen Regulation des apoptotischen Prozesses. Die weiteren Ergebnisse der Literaturrecherche erscheinen im Zusammenhang mit dieser Studie von untergeordneter Wichtigkeit und werden deshalb nicht weiter aufgeführt.

Die Sortierung der Studientiere anhand ihrer Diplotypeeffekte zeigt eine negative Beeinflussung der Expression von *TIMP1* durch die dem eQTL-Peak zugrunde liegende Genomregion im Falle der Entwicklung einer Placentaretention. Somit ist *TIMP1* bei Falltieren herunterreguliert im Vergleich zu Kontrolltieren. Geht man von der offensichtlichen Aufgabe der TIMPs, nämlich Hemmung der proteolytischen Aktivität der MMPs zur Degradation der ECM, aus, lässt sich zunächst keine logische Verbindung zum Merkmal Placentaretention herstellen. Denn unter der Annahme, dass ein ungenügender Abbau der ECM ursächlich für eine Nachgeburtsverhaltung sein kann (siehe Kap. 2.5.3), müsste eine verringerte Hemmung der MMPs das Risiko einer Placentaretention senken.

Aufgrund der Zugehörigkeit von *GRK5* zum Chemokin-Signalweg und der steroidogenen Aktivität von *TIMP1* lässt sich dennoch eine hypothetische Beeinflussung der Genexpression von *TIMP1* ableiten, die das Auftreten einer Nachgeburtsverhaltung begünstigen könnte. Wie bereits erwähnt, ist die Expression von *TIMP1* induzierbar und kann unter anderem durch Chemokine stimuliert werden. Zudem wird *TIMP1* vorwiegend in steroidogenem Gewebe wie Placenta exprimiert und ist in die Steroidhormonsynthese involviert. Das Steroidhormon Östrogen wiederum spielt eine Rolle im physiologischen Geburtsverlauf. Ein Östrogendefizit konnte explizit mit der Placentaretention in Verbindung gebracht werden und es wird vermutet, dass eine fehlende Östrogenproduktion zu einer Anreiche-

rung von Arachidon- und Linolsäure im Placentagewebe führt, was das Risiko für eine verzögerte Ablösung der fetalen Placenta erhöhen soll (WISCHRAL et al., 2001a; WISCHRAL et al., 2001b). Somit kann vermutet werden, dass eine Variante des Gens *GRK5* eine Störung im Chemokinsignalweg hervorruft, welche unter Umständen zu einer geringeren *TIMP1*-Expression führt, daraufhin weniger Östrogen produziert wird und sich das Risiko für das Auftreten einer Placentaretention erhöht.

5.2.6 Genetischer Hintergrund für eine signifikante Beeinflussung der Expression von *FADD* und *MIR379*

Ähnlich wie bei *MMP25* und *MAN1C1* zeigen auch *MIR379* und *FADD* je einen eQTL auf BTA24 in unmittelbarer Nähe zueinander. *MIR379* kartiert bei 40,19 Mb und *FADD* bei 40,03 Mb. *MIR379* bedingt zudem einen weiteren, in beiden Modellen der Varianzkomponentenanalyse signifikanten eQTL auf BTA28.

Wie bereits mehrfach angesprochen, sind microRNAs in der Lage, die Translation auf posttranskriptionaler Ebene und so die Menge eines Proteins zu regulieren. Die einzelsträngige microRNA bindet an die 3'-untranslatierte Region (3'-UTR) seiner Target-mRNA, was entweder zu einer Unterdrückung der Translation oder zu einer Degradation der mRNA führt (WANG et al., 2011). Eine einzelne microRNA ist im Stande, die Expression mehrerer Gene zu regulieren und ein Target-Gen kann auch von mehreren microRNAs beeinflusst werden (BARTEL, 2004; SELBACH et al., 2008). *MIR379* wurde von mehreren Autoren als Inhibitor der Translation von verschiedenen Proteinen in differierenden Geweben vorgestellt (CHEN et al., 2011; HAENISCH et al., 2011).

FAS-associated protein with death domain (FADD) kodiert für ein Protein mit vielseitigen Funktionen. Lange Zeit hat sich die Wissenschaft auf seine Funktion als wichtiges Adapterprotein für die Induktion der Apoptose fokussiert. Seine Interaktion mit den *Death*-Rezeptoren von FAS und dem *tumor necrosis factor receptor 1* (TNF-R1) ermöglicht die Aktivierung der Procaspase 8 zur Caspase 8 und nachfolgend die Einleitung des Zelltods direkt via Caspase 3 (extrinsischer Signalweg)

oder mit einem Umweg über die Mitochondrien zur Aktivierung der Gene der Bcl-2 Familie (intrinsischer Signalweg, SCAFFIDI et al., 1998). Wie bei den meisten biologischen Prozessen wird auch bei der Apoptose heutzutage von einer Beteiligung einiger microRNAs ausgegangen. Beispielsweise konnte eine Verbindung zwischen MIR155 und FAS-mediierter Apoptose festgestellt werden (WANG et al., 2011). Neue Erkenntnisse zur Funktion von FADD zeigen, dass dieses Protein ein sehr viel komplexeres Molekül ist als ursprünglich gedacht, und neben der apoptotischen Aktivität in eine Vielzahl weiterer zellulärer Prozesse eingebunden ist. In Abhängigkeit vom Status seiner Phosphorylierung und seiner Lokalisation innerhalb der Zelle kann FADD sowohl Apoptose induzieren als auch zum Überleben der Zelle, zur Progression des Zellzyklus und zur Zellproliferation beitragen. Ein Review von TOURNEUR und CHIOCCHIA (2010) fasst die bisherigen Erkenntnisse übersichtlich zusammen. Im Zusammenhang mit dem in dieser Studie untersuchten Merkmal Placentaretention erscheint die wahrscheinliche Beeinflussung von NF- κ B durch FADD von besonderem Interesse. FADD sei in der Lage, positiv sowie negativ regulierend in den NF- κ B-Signalweg eingreifen zu können. Obwohl der exakte molekulare Mechanismus noch nicht geklärt werden konnte, werde angenommen, dass eine Aktivierung von NF- κ B durch FADD die Zellen vor Apoptose schützen kann, da anti-apoptotische Gene transkribiert würden. Im Gegensatz hierzu wurde FADD aber auch bereits als indirekter Inhibitor von NF- κ B beschrieben. Durch eine Bindung von FADD an das Adapterprotein MyD wird ein Signalweg zur Aktivierung von NF- κ B unterbunden und es erfolgt keine Transkription von entsprechenden Target-Genen. Da zu den Target-Genen von NF- κ B auch proinflammatorische Gene gehören, könne in dieser Situation von FADD als anti-inflammatorisches Protein gesprochen werden.

STREYL et al. (2011) deckten in ihrer vergleichenden Untersuchung der Genexpression in bovinem Placentagewebe *intra partum versus ante partum* einen signifikanten Abfall der Menge an FADD mRNA zum Geburtszeitpunkt hin auf. Die innerhalb unseres Projekts durchgeführte Transkriptomanalyse der Placentaprobe zeigt ein erhöhtes Expressionsniveau von *FADD* bei Falltieren im Vergleich zu Kontrolltieren. Daraus kann geschlossen werden, dass eine veränderte Expression von *FADD* eine kausale oder konsekutive Rolle in der Pathogenese der

Placentaretention spielt. Zusammen mit der Annahme, dass das Auftreten genügender Apoptose für eine physiologische Ablösung der Placenta von großer Wichtigkeit ist (Kap. 2.5.3) und den Beobachtungen von KAMEMORI et al. (2011), die eine geringere Expression von FAS mRNA und Caspase 3 mRNA im Placentagewebe von Tieren feststellten, die nachfolgend eine Nachgeburtsverhaltung entwickelten vergleichend zu unbetroffenen Tieren, muss in der vorgelegten Studie jedoch davon ausgegangen werden, dass das Hauptaugenmerk auf eine andere Funktion von FADD als auf die pro-apoptotische zu legen ist. Am wahrscheinlichsten erscheint die bisher unzureichend geklärte anti-apoptotische Aktivität.

Als dem gemeinsamen eQTL von MIR379 und FADD auf BTA24 zugrunde liegende Gene konnten *ARHGAP28*, *LAMA1* und das uncharakterisierte *LOC100847357* identifiziert werden. Während *ARHGAP28* nur eine Aufgabe in der Signaltransduktion zugeordnet wird (FEVRE-MONTAGNE et al., 2009), wird *LAMA1* als Mitglied in den Signalwegen „ECM-Rezeptor-Interaktion“ und „fokale Adhäsion“ (beide KEGG) angesehen. Laminine stellen die größte Familie der Komponenten von Basalmembranen dar (EKBLÖM et al., 2003) und sind daher integraler Bestandteil von diesen. Die Expression von *LAMA1* ist weitestgehend auf epitheliale Basalmembranen beschränkt. Die Basalmembranen sind über Integrine oder andere Oberflächenrezeptoren mit den Zellen verbunden (EKBLÖM et al., 2003). Über solche Rezeptoren kann die ECM mit der Zelle in Interaktion treten und direkt oder indirekt in die Regulierung verschiedener intrazellulärer Prozesse wie Adhäsion, Migration, Differenzierung, Proliferation oder Apoptose eingreifen (KEGG, *ECM-receptor interaction*).

Die bestehenden Erkenntnisse über die Notwendigkeit der Placentareifung und ECM-Degradierung für eine ungestörte Nachgeburtsablösung (siehe Kap. 2.5.3) erlauben die Vermutung, dass an dieser eQTL-Position *LAMA1* das wahrscheinlichere Gen ist, welches diesen signifikanten eQTL-Peak verursacht. Die dem detektierten eQTL auf BTA24 zugrunde liegenden Haplotypen scheinen einen negativen Effekt auf die Expression von *MIR379* und einen positiven Effekt auf die Expression von *FADD* aufzuweisen. Es kann deshalb vermutet werden, dass durch die Effekte der Diplotypen die Expression von *MIR379* verringert wird und dies wiederum die Hemmung der Translation eines weiteren Proteins unterbindet,

sodass in der Folge *FADD* vermehrt exprimiert wird. Wie bereits erwähnt scheint ein fehlendes Absinken des *FADD*-Expressionsniveaus zum Geburtstermin hin mit der Entwicklung einer Placentaretention in Zusammenhang zu stehen. *MIR379* konnte hier nun als möglicher Regulator innerhalb des zugehörigen Signalwegs identifiziert werden.

MIR379 zeigt einen zweiten eQTL, der in beiden Modellen der Varianzkomponentenanalyse als signifikant einzustufen war. Dieser eQTL befindet sich auf BTA28 an Position 15,48 Mb. In dieser Region sind das Gen *SLC16A9* und die Basenabfolge der microRNA *MIR2403* kodiert. Die Recherche zu Funktionen der Gene dieses Genombereichs erbrachte nur wenige aussagekräftige Ergebnisse. *MIR2403* kann nach aktuellem Kenntnisstand noch keiner biologischen Funktion zugeordnet werden. Das *SLC16A9*-Protein stellt einen Symporter zum Transmembrantransport (GOA) dar, dessen Hauptaufgabe die Exkretion von Harnsäure in den Nieren ist (WRIGHT et al., 2010). Diese Aussagen reichen nicht aus, um einen ersichtlichen Zusammenhang zwischen den genannten Genen und dem Auftreten einer Placentaretention aufzeigen zu können oder eine Abschätzung der Relevanz dieses eQTL zu treffen.

5.2.7 Resümee

Nahezu alle dargestellten, signifikant kartierenden Gene können biologischen Prozessen zugeordnet werden, die bereits in vorangegangenen Studien als möglicherweise an der Pathogenese der Placentaretention beteiligt aufgedeckt wurden.

Während *CXCL3*, *MMP25* und *MAN1C1* dem Gebiet der Entzündungsreaktionen und Immunantwort zugeordnet werden können, sind *BNIP3* und *FADD* wichtige Faktoren des Apoptoseprozesses. Als Inhibitor von Matrixmetalloproteinasen ist *TIMP1* zwar an der Modellierung der Extrazellulärmatrix beteiligt, diese Funktion kann jedoch in der vorgelegten eQTL-Studie nicht mit der Entwicklung einer Placentaretention in Zusammenhang gebracht werden. Hier erscheint eher seine Funktion als Förderer der Steroidhormonsynthese von Bedeutung. Aufgrund sei-

ner Funktion als Transportprotein verschiedener Moleküle, unter anderem Schilddrüsenhormonen, ist auch der eQTL von *SLC10A1* möglicherweise als relevant einzustufen, selbst wenn anhand der Onlinerecherche keine Aussage über das die Expression von *SLC10A1* am wahrscheinlichsten beeinflussende Gen getroffen werden konnte. Zudem ist die Entdeckung von *MIR379* als potentieller Regulator im Signalweg von FADD ist ein vielversprechendes Ergebnis auf dem Weg zu Klärung der Pathogenese der Nachgeburtshaltung beim Rind.

5.3 Komplexität der Erkrankung Placentaretention

Die Ergebnisse der vorgelegten eQTL-Studie geben Hinweise darauf, dass es keine einzelne dominante Ursache für das Krankheitsbild der Placentaretention gibt. Es konnte keiner der in MODEL1 detektierten, signifikanten *cis*-eQTLs in MODEL2 als mit hoher Wahrscheinlichkeit an der Entstehung einer Placentaretention beteiligt bestätigt werden. Dabei gelten besonders *cis*-eQTLs als vielversprechende Genomregionen, die potentielle Kandidatengene beinhalten, da mittels *cis*-eQTLs ein wesentlich größerer Anteil der phänotypischen Varianz erklärt werden kann als durch *trans*-eQTLs (HUBNER et al., 2005). Im Gegensatz hierzu spiegeln *trans*-Effekte eine komplexe kumulative Wirkung von genetischer, epigenetischer und umweltbedingter Regulation der Genexpression wider (LI & BURMEISTER, 2005). Weiterhin konnte kein Haplotyp oder SNP innerhalb der elf eQTLs, die in beiden Modellen der Varianzkomponentenanalyse signifikant kartiert werden konnten, entdeckt werden, der für alle Falltiere spezifisch ist. Bei Betrachtung der Diplotypeffekte in Kombination mit den zugehörigen Haplotypen fällt hingegen auf, dass die eQTL-Peaks durch mehr oder minder große Gruppierung unterschiedlicher Tiere entstehen. Dies lässt ebenfalls die Annahme zu, dass das Auftreten der Placentaretention durch verschiedene Ursachen oder multifaktoriell bedingt werden kann.

5.4 Möglichkeiten zur Nutzung der erzielten Ergebnisse

Da sich die Placentaretention als sehr heterogenes Merkmal darstellt, ist nur mit geringer Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, dass eine universell einsetzbare therapeutische Maßnahme entwickelt werden kann.

Die acht signifikant in beiden Modellen kartierenden Gene können direkt oder indirekt den als wahrscheinlich an der Entstehung der Placentaretention beteiligten Mechanismen Apoptose, Degradation der ECM und Immunreaktion zugeordnet werden. Ein Einfluss der microRNA *MIR379* auf die Regulation der Genexpression darf zudem angenommen werden. Daher können die den signifikanten eQTLs zugrunde liegenden SNPs beziehungsweise Gene als neue Targets innerhalb der Pathogenese der Placentaretention dienen. So leisten die Ergebnisse dieser eQTL-Studie einen Beitrag zu einem besseren Verständnis der Mechanismen, die eine verzögerte Ablösung der fetalen Placenta bedingen. Um die erzielten Ergebnisse in adäquater Weise in den Wirkungsweg der verzögerten Placentaablösung einbetten zu können, bedarf es allerdings der Durchführung einer sogenannten Netzwerkanalyse. Ein auf diese Weise erreichtes verbessertes Verständnis der Pathogenese der Placentaretention ermöglicht ein gezielteres Vorgehen auf dem Weg zu einer spezifischen Prophylaxe oder Therapie.

Eine direkte Nutzung der in dieser eQTL-Studie detektierten SNPs als diagnostische Biomarker für eine populationsweite, genetische Selektion erscheint jedoch nicht möglich. Die Einteilung von Tieren anhand ihres genetischen Hintergrunds in verschiedene Risikogruppen und eine anschließende Anwendung gruppenspezifischer präventiver oder therapeutischer Maßnahmen, in Anlehnung an das in der Humanmedizin bereits etablierte System der personalisierten Medizin, kann hingegen als mögliche praktische Umsetzung der in dieser Studie erzielten Ergebnisse vorgeschlagen werden. Besonders praktikabel erscheint dieses Vorgehen vor allem zur Generierung experimenteller Designs im Rahmen weiterer Untersuchungen zur Placentaretention.

Weiterhin kann die Placentaretention als Teil der maternalen Fruchtbarkeit aufgefasst werden. Die genetischen Komponenten der maternalen Fruchtbarkeit sind bislang noch nicht hinreichend untersucht und nur wenig verstanden. Eine Kombination der Ergebnisse dieser Studie mit Informationen aus weiteren Datenerhebungen könnte einen wichtigen Beitrag zur Entschlüsselung der genetischen Komponenten der maternalen Fruchtbarkeit leisten. Ein vielversprechender Ansatz dafür kann in der Kombination der eQTL-Ergebnisse mit den Ergebnissen einer genomweiten Assoziationsanalyse von Merkmalen, die der maternalen Fruchtbarkeit zugeordnet werden, gesehen werden. Hier bietet sich besonders die Kartierung von Phänotypen an, deren Werte oftmals schon standardmäßig von den Zuchtverbänden erhoben werden (beispielsweise das Intervall von der Abkalbung bis zur ersten Besamung oder die 56-Tage Non-Return-Rate). Von dem Ansatz der kombinierten Assoziationsanalyse und eQTL-Analyse für dasselbe interessierende Merkmal wird erhofft, dass genetische Marker identifiziert werden, die gleichzeitig mit der Krankheit beziehungsweise dem phänotypischen Merkmal und einem oder mehreren eQTLs assoziiert sind (COOKSEN et al., 2009). So kann die Aussagekraft der Ergebnisse der einzelnen Studien deutlich erhöht werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war die Detektion genomischer Regionen, die an der Regulation einer differentiellen Genexpression zwischen Kühen, die *post partum* eine Placentaretention entwickeln, und unbetroffenen Tieren beteiligt sind, um einen Beitrag zum Verständnis der Pathogenese der Placentaretention in Holstein-Kühen zu leisten. Hierfür wurde eine genomweite eQTL-Kartierung durchgeführt. Genomische DNA von 40 ausgewählten Holstein Friesian Kühen (20 Falltiere, 20 Kontrolltiere) und – wenn möglich – von deren Elterntieren wurde aus Haar- oder Spermaproben isoliert und unter Verwendung des Bovine SNP50 Bead Chip (Illumina, San Diego, CA) genotypisiert. Für die Ableitung der Haplotypen konnten so die Genotypinformationen der Studientiere, der Elterntiere und weiterer unverwandter Individuen genutzt werden. Die Transkriptomdaten aus Plazentomproben, die unmittelbar nach Abkalbung von denselben Kühen entnommen wurden, wurden vom LAFUGA München und der Klinik für Wiederkäuer der LMU zur Verfügung gestellt. Von insgesamt 19 404 erstellten mRNA-Expressionsprofilen wurden 299 Profile für die eQTL-Kartierung ausgewählt.

In einer eQTL-Kartierung können Transkriptmengen als quantitative Merkmale behandelt werden; deshalb konnten konventionelle QTL-Kartierungsmethoden angewendet werden. Die Kartierung erfolgte nach der erstmals von MEUWISSWEN *et al.* (2002) beim Rind eingeführten Methode der kombinierten Kopplungs- und Kopplungsungleichgewichtskartierung. Hier werden sowohl historische genetische Rekombinationen als auch Rekombinationen, die innerhalb des erfassten Pedigrees auftraten, erfasst. Um eQTL-Effekte an jedem vermeintlichen eQTL schätzen zu können, wurde jeweils die Fenstermitte eines 40 SNPs langen Haplotypfensters betrachtet, das Marker für Marker über das Genom gleitet, und dort eine Varianzkomponentenanalyse durchgeführt, in welcher auf Populationsstratifikation und Verwandtschaft zwischen Studientieren korrigiert wird (MODEL1). Als Signifikanzniveau wurde ein LRT-Wert von 10,8 gewählt; dies entspricht einem *P*-Wert von 0,001. Die signifikanten Ergebnisse dieser ersten Kartierung wurden mittels eines zweiten Modells der Varianzkomponentenanalyse (MODEL2) auf ihren Zusammenhang mit dem Auftreten einer Placentaretention

überprüft. MODEL2 enthält dieselben Effekte wie MODEL1 und wurde nur um das Merkmal Placentaretention als fixen Effekt erweitert. Bei einer Reduktion des LRT-Wertes um 2-LOD (entspricht einem LRT-Wert von 9,21) in MODEL2 vergleichend zu MODEL1 wurde ein statistisch signifikanter Einfluss des dem eQTL-Peak zugrunde liegenden Genombereichs auf die Expression des kartierenden Gens angenommen. Insgesamt konnten 913 signifikante eQTL-Peaks in MODEL1 detektiert werden. Nach weiterer Analyse in MODEL2 verblieben elf eQTLs, deren Peaks signifikant durch das Merkmal Placentaretention beeinflusst wurden. Diese elf eQTLs werden von acht verschiedenen Expressionsprofilen verursacht, verteilen sich auf neun Autosomen und sind allesamt sogenannte *trans*-eQTL. Die Expressionsprofile von *Chemokine (C-X-C motif) ligand 3 (CXCL3)* auf BTA13 und BTA18, *matrix metalloproteinase 25 (MMP25)* auf BTA14 und BTA20 und *microRNA 379 (MIR379)* auf BTA24 und BTA28 bedingen je zwei der signifikanten eQTLs, wohingegen *BCL2/adenovirus E19B 19kD interacting protein 3 (BNIP3)* auf BTA04, *mannosidase, alpha, class 1C, member 1 (MAN1C1)* auf BTA14, *solute carrier family 10 (sodium/bile acid cotransporter family), member 1 (SLC10A1)* auf BTA21, *Fas (TNFRSF6)-associated via death domain (FADD)* auf BTA24 und *TIMP metalloproteinase inhibitor 1 (TIMP1)* auf BTA26 je einen signifikanten eQTL zeigen. Sowohl MMP25 und MAN1C1 auf BTA14, als auch FADD und MIR379 auf BTA24 kartieren im selben Genombereich. Die kartierenden Gene lassen sich mit Ausnahme von *MIR379* biologischen Prozessen zuordnen, welche in bereits publizierten Studien als wahrscheinlich an der Entstehung einer Placentaretention beteiligt aufgedeckt wurden. Weiterhin gelten microRNAs als potente Regulatoren der Genexpression, weshalb eine mögliche Beeinflussung von FADD durch MIR379 ein vielversprechendes Ergebnis auf dem Weg zur Klärung der Pathogenese der Placentaretention darstellt. Durch Recherche zu Funktionen der Gene, die den eQTLs zugrunde liegen, konnten mögliche Zusammenhänge zwischen eQTLs und kartierenden Genen aufgezeigt werden.

Die Ergebnisse dieser eQTL-Studie geben Hinweise darauf, dass es sich bei der Placentaretention um ein sehr heterogenes Merkmal handelt, weshalb davon auszugehen ist, dass keine universell einsetzbare prophylaktische oder therapeutische Maßnahme entwickelt werden kann. Die den signifikanten eQTLs zugrunde liegenden Gene können jedoch als neue Targets innerhalb der Pathogenese der

Placentaretention dienen, wenn sie im Rahmen von Netzwerkanalysen oder in Kombination mit groß angelegten Assoziationsstudien validiert werden. So leisten die Ergebnisse dieser eQTL-Studie einen Beitrag zu einem besseren Verständnis der Mechanismen, die eine verzögerte Ablösung der fetalen Placenta bei Holstein Kühen bedingen.

7 SUMMARY

This study aimed to detect genomic regions which are involved in the regulation of differential expression between cows with retained foetal membranes and non-affected animals in order to improve the understanding of underlying pathological mechanisms of placental retention in Holstein cattle.

For this purpose, genomic DNA of 40 selected Holstein cows (20 cases, 20 controls) and - whenever possible – of their parents was extracted from hair roots or sperm samples and a genome-wide Single Nucleotide Polymorphism (SNP) genotyping was carried out with the Bovine SNP50 Bead Chip (Illumina, San Diego, CA). The haplotypes were inferred using genotypic information of the selected cows, their parents and additional unrelated individuals. The placental transcriptome data (19 404 expression profiles per cow) of the same 40 cows were obtained from LAFUGA Munich and the Clinic for Ruminants Oberschleißheim and as well integrated in our study design.

In the eQTL analysis the abundance of a transcript can be treated as a quantitative trait, and thus conventional QTL mapping methods can be applied. A combined linkage/linkage disequilibrium mapping was carried out covering historical recombinations and recombinations within the recorded pedigree. This method for QTL mapping in cattle was reported in MEUWISSEN *et al.* (2002). A 40 SNPs containing window sliding along the genome was considered to estimate eQTL effects at each putative eQTL and a variance component analysis correcting for population stratification and relationships between animals (MODEL1) was done in the middle of each window. All eQTLs with LRT values above 10.8 (P -value = 0.001) were treated as significant. Thereafter a second model (MODEL 2) was applied to determine which of these eQTLs are relevant for the trait of placental retention. MODEL 2 includes the same effects as MODEL1 extended by fixed effects of retained foetal membranes. Positions with a decrease of the LRT value by more than 2-LOD (equivalent to $LRT = 9.21$) in MODEL2 compared to MODEL1 were assumed to have significant impact on the expression of mapping genes. In MODEL1, 913 eQTL peaks with a significant

signal could be detected, but only eleven of these eQTLs are related to retained foetal membranes, i. e. were significantly confirmed by MODEL2. These eleven eQTLs – all *trans*-eQTLs - are caused by eight different expression profiles and are found on nine chromosomes. The expression profiles of *Chemokine (C-X-C motif) ligand 3 (CXCL3)* on BTA13 and BTA18, *matrix metalloproteinase 25 (MMP25)* on BTA14 and BTA20 and *microRNA 379 (MIR379)* on BTA24 and BTA28 cause two significant eQTL per each, whereas *BCL2/adenovirus E19B 19kD interacting protein 3 (BNIP3)* on BTA04, *mannosidase, alpha, class 1C, member 1 (MAN1C1)* on BTA14, *solute carrier family 10 (sodium/bile acid cotransporter family), member 1 (SLC10A1)* on BTA21, *Fas (TNFRSF6)-associated via death domain (FADD)* on BTA24 and *TIMP metalloproteinase inhibitor 1 (TIMP1)* on BTA26 show one significant eQTL per each. Both MMP25 and MAN1C1 on BTA14 as well as FADD and MIR379 on BTA24 map to the same genomic region. Except for *MIR379*, the mapping genes can be assigned to biological processes that have already been reported to be probably involved in the development of placental retention. Furthermore, microRNAs are presumed to be potent regulators of gene expression. Thus, a putative impact of *MIR379* on *FADD* is a promising result to unravel the pathogenesis of placental retention. Other possible correlations between the eQTLs and the mapping genes could be found by a literature review of already described functions of genes that are encoded in eQTL regions.

The results of our eQTL mapping study suggest that placental retention is a very heterogeneous trait. Therefore, an ubiquitous applicable prophylactic or therapeutic procedure seems to be unlikely. However, underlying genes at significant eQTLs could be used as new targets in the pathogenesis of retained foetal membranes, if they are validated by network analyses or large scale association analyses. In that way, the detected eQTLs can contribute to a better understanding of mechanisms that cause placental retention in Holstein cattle.

8 LITERATURVERZEICHNIS

- Abecasis, G. R., Ghosh, D., & Nichols, T. E. (2005).** Linkage disequilibrium: ancient history drives the new genetics. *Hum Hered*, 59(2), 118-124.
- Aleshin, A., & Finn, R. (2010).** SRC: A Century of Science Brought to the Clinic. *Neoplasia*, 12(8), 599-607.
- Al-Sadi, H. I., Majeed, A. F., & Ridha, A. M. (1994).** Histopathology of retained bovine fetal membranes. *Theriogenology*, 42(2), 273-278.
- Andersson, L. (2001).** Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nat Rev Genet*, 2(2), 130-138.
- Andersson, L., & Georges, M. (2004).** Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. *Nat Rev Genet*, 5(3), 202-212.
- Arias, J. A., Keehan, M., Fisher, P., Coppieters, W., & Spelman, R. (2009).** A high density linkage map of the bovine genome. *BMC Genet*, 10, 18.
- Awad, A., Russ, I., Emmerling, R., Forster, M., & Medugorac, I. (2010).** Confirmation and refinement of a QTL on BTA5 affecting milk production traits in the Fleckvieh dual purpose cattle breed. *Anim Genet*, 41(1), 1-11.
- Bacon, K., Baggiolini, M., Broxmeyer, H., Horuk, R., Lindley, I., Mantovani, A., et al. (2002).** Chemokine/chemokine receptor nomenclature. *J. Interferon Cytokine Res.*, 22, 1067-1068.
- Bailey-Wilson, J. E., & Wilson, A. F. (2011).** Linkage analysis in the next-generation sequencing era. *Hum Hered*, 72(4), 228-236.
- Baird, A. M., Gray, S. G., & O'Byrne, K. J. (2011).** Epigenetics underpinning the regulation of the CXC (ELR+) chemokines in non-small cell lung cancer. *PLoS One*, 6(1), e14593.
- Bartel, D. P. (2004).** MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2), 281-297.
- Bateson, W., & Punnett, R. C. (1906).** Experimental studies in the physiology of heredity. Reports of the Evolution Committee. *Roy Soc*, 3, 1-53.
- Beagley, J. C., Whitman, K. J., Baptiste, K. E., & Scherzer, J. (2010).** Physiology and Treatment of Retained Fetal Membranes in Cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(2), 261-268.
- Benedictus, L., Thomas, A. J., Jorritsma, R., Davies, C. J., & Koets, A. P. (2011).** Two-Way Calf to Dam Major Histocompatibility Class I Compatibility Increases Risk for Retained Placenta in Cattle. *Am J Reprod Immunol*.
- Bennewitz, J. (2009, 17. - 18. Feb.).** *Die Grundlagen der genomischen Selektion.* Paper presented at the Rinderworkshop, Ülzen.
- Berry, D. P., Bermingham, M. L., Good, M., & More, S. J. (2011).** Genetics of animal health and disease in cattle. *Ir Vet J*, 64(1), 5.
- Bigras-Poulin, M., Meek, A. H., & Martin, S. W. (1990).** Interrelationships among health problems and milk production from consecutive lactations in selected Ontario Holstein cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 8(1), 15-24.
- Blott, S., Kim, J. J., Moiso, S., Schmidt-Kuntzel, A., Cornet, A., Berzi, P., et al. (2003).** Molecular dissection of a quantitative trait locus: a phenylalanine-to-tyrosine substitution in the transmembrane domain of the bovine growth hormone receptor is associated with a major effect on milk yield and composition. *Genetics*, 163(1), 253-266.

- Bonneville-Hebert, A., Bouchard, E., Tremblay, D. D., & Lefebvre, R. (2011).** Effect of reproductive disorders and parity on repeat breeder status and culling of dairy cows in Quebec. *Can J Vet Res*, 75(2), 147-151.
- Boos, A., Janssen, V., & Mulling, C. (2003).** Proliferation and apoptosis in bovine placentomes during pregnancy and around induced and spontaneous parturition as well as in cows retaining the fetal membranes. *Reproduction*, 126(4), 469-480.
- Bourne, N., Laven, R., Wathes, D. C., Martinez, T., & McGowan, M. (2007).** A meta-analysis of the effects of Vitamin E supplementation on the incidence of retained foetal membranes in dairy cows. *Theriogenology*, 67(3), 494-501.
- Brade, W. (2010).** "Genombasierte Selektion: neue Ansätze in der Rinderzüchtung". from <http://www.lwk-niedersachsen.de/index.cfm/portal/1/nav/1092/article/15546.html>
- Bradley, W. E., Raelson, J. V., Dubois, D. Y., Godin, E., Fournier, H., Prive, C., et al. (2010).** Hotspots of large rare deletions in the human genome. *PLoS One*, 5(2), e9401.
- Brand, B., Baes, C., Mayer, M., Reinsch, N., & Kuhn, C. (2009).** Identification of a two-marker-haplotype on *Bos taurus* autosome 18 associated with somatic cell score in German Holstein cattle. *BMC Genet*, 10, 50.
- Breitling, R., Li, Y., Tesson, B. M., Fu, J., Wu, C., Wiltshire, T., et al. (2008).** Genetical genomics: spotlight on QTL hotspots. *PLoS Genet*, 4(10), e1000232.
- Brem, R. B., Yvert, G., Clinton, R., & Kruglyak, L. (2002).** Genetic dissection of transcriptional regulation in budding yeast. *Science*, 296(5568), 752-755.
- Browning, S. R., & Browning, B. L. (2007a).** Rapid and accurate haplotype phasing and missing-data inference for whole-genome association studies by use of localized haplotype clustering. *Am J Hum Genet*, 81(5), 1084-1097.
- Browning, B. L., & Browning, S. R. (2007b).** Efficient multilocus association testing for whole genome association studies using localized haplotype clustering. *Genet Epidemiol*, 31(5), 365-375.
- Browning, B. L., & Browning, S. R. (2009).** A unified approach to genotype imputation and haplotype-phase inference for large data sets of trios and unrelated individuals. *Am J Hum Genet*, 84(2), 210-223.
- Buddecke, E. (2002).** *Molekulare Medizin - Eine systematische Einführung*. Landsberg am Lech: ecomed.
- Burton, T. R., & Gibson, S. B. (2009).** The role of Bcl-2 family member BNIP3 in cell death and disease: NIPping at the heels of cell death. *Cell Death Differ*, 16(4), 515-523.
- Buselmaier, W., & Tariverdian, G. (2007).** *Humangenetik* (4. Auflage ed.). Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Capurso, G., Di Florio, A., Sette, C., & Delle Fave, G. (2012).** Signalling Pathways Passing Src in Pancreatic Endocrine Tumours: Relevance for Possible Combined Targeted Therapies. *Neuroendocrinology*.
- Chacko, B. K., Scott, D. W., Chandler, R. T., & Patel, R. P. (2011).** Endothelial surface N-glycans mediate monocyte adhesion and are targets for anti-inflammatory effects of peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands. *J Biol Chem*, 286(44), 38738-38747.

- Chen, D., Vollmar, M., Rossi, M. N., Phillips, C., Kraehenbuehl, R., Slade, D., et al. (2011).** Identification of macrodomain proteins as novel O-acetyl-ADP-ribose deacetylases. *J Biol Chem*, 286(15), 13261-13271.
- Chen, J., Shi, Y., Li, Z., Yu, H., Han, Y., Wang, X., et al. (2011).** A functional variant of IC53 correlates with the late onset of colorectal cancer. *Mol Med*, 17(7-8), 607-618.
- Cheung, V. G., Spielman, R. S., Ewens, K. G., Weber, T. M., Morley, M., & Burdick, J. T. (2005).** Mapping determinants of human gene expression by regional and genome-wide association. *Nature*, 437(7063), 1365-1369.
- Cichon, S. (2002).** Variabilität im menschlichen Genom: Bedeutung für die Krankheitsforschung. *Dtsch Arztebl*, 99(46), 3091-.
- Clark, I. M., Swingler, T. E., Sampieri, C. L., & Edwards, D. R. (2008).** The regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Int J Biochem Cell Biol*, 40(6-7), 1362-1378.
- Cook, J. G., & Green, M. J. (2007).** Reduced incidence of retained fetal membranes in dairy herds supplemented with iodine, selenium and cobalt. *Vet Rec*, 161(18), 625-626.
- Cookson, W., Liang, L., Abecasis, G., Moffatt, M., & Lathrop, M. (2009).** Mapping complex disease traits with global gene expression. *Nat Rev Genet*, 10(3), 184-194.
- Correa, M. T., Erb, H., & Scarlett, J. (1993).** Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. *J Dairy Sci*, 76(5), 1305-1312.
- Dai, J., Wang, X., Chen, Y., Zhu, J., & Lu, L. (2009).** Expression quantitative trait loci and genetic regulatory network analysis reveals that Gabra2 is involved in stress responses in the mouse. *Stress*, 12(6), 499-506.
- Darvasi, A., Weinreb, A., Minke, V., Weller, J. I., & Soller, M. (1993).** Detecting marker-QTL linkage and estimating QTL gene effect and map location using a saturated genetic map. *Genetics*, 134(3), 943-951.
- Davies, C. J., Fisher, P. J., & Schlafer, D. H. (2000).** Temporal and regional regulation of major histocompatibility complex class I expression at the bovine uterine/placental interface. *Placenta*, 21(2-3), 194-202.
- Davies, C. J., Hill, J. R., Edwards, J. L., Schrick, F. N., Fisher, P. J., Eldridge, J. A., et al. (2004).** Major histocompatibility antigen expression on the bovine placenta: its relationship to abnormal pregnancies and retained placenta. *Anim Reprod Sci*, 82-83, 267-280.
- Davison, E., Tarpey, P., Fiegler, H., Tomlinson, I., & Carter, N. (2005).** Deletion at chromosome band 20p12.1 in colorectal cancer revealed by high resolution array comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer*, 44, 384-391.
- de Koning, D. J., Cabrera, C. P., & Haley, C. S. (2007).** Genetical genomics: combining gene expression with marker genotypes in poultry. *Poult Sci*, 86(7), 1501-1509.
- De Koning, D. J., Dekkers, J. C., & Haley, C. (2003).** Designs for QTL detection in livestock and their implications for MAS. from <http://www.fao.org/biotech/docs/DeKoning.pdf>
- de Roos, A. P., Hayes, B. J., Spelman, R. J., & Goddard, M. E. (2008).** Linkage disequilibrium and persistence of phase in Holstein-Friesian, Jersey and Angus cattle. *Genetics*, 179(3), 1503-1512.
- Dekkers, J. C., & Hospital, F. (2002).** The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nat Rev Genet*, 3(1), 22-32.

- Dilly, M., Hambruch, N., Shenavai, S., Schuler, G., Froehlich, R., Haeger, J. D., et al. (2011).** Expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-14 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP)-2 during bovine placentation and at term with or without placental retention. *Theriogenology*, *75*(6), 1104-1114.
- Doss, S., Schadt, E. E., Drake, T. A., & Lusk, A. J. (2005).** Cis-acting expression quantitative trait loci in mice. *Genome Res*, *15*(5), 681-691.
- Drennan, D., & Ryazanov, A. G. (2004).** Alpha-kinases: analysis of the family and comparison with conventional protein kinases. *Prog Biophys Mol Biol*, *85*(1), 1-32.
- Druet, T., & Georges, M. (2010).** A Hidden Markov Model Combining Linkage and Linkage Disequilibrium Information for Haplotype Reconstruction and Quantitative Trait Locus Fine Mapping. *Genetics*, *184*(3), 789-798.
- Duello, T. M., Byatt, J. C., & Bremel, R. D. (1986).** Immunohistochemical localization of placental lactogen in binucleate cells of bovine placentomes. *Endocrinology*, *119*(3), 1351-1355.
- Echternkamp, S. E., & Gregory, K. E. (1999).** Effects of twinning on gestation length, retained placenta, and dystocia. *J Anim Sci*, *77*(1), 39-47.
- Eiler, H., & Hopkins, F. M. (1992).** Bovine retained placenta: effects of collagenase and hyaluronidase on detachment of placenta. *Biol Reprod*, *46*(4), 580-585.
- Ekblom, P., Lonai, P., & Talts, J. F. (2003).** Expression and biological role of laminin-1. *Matrix Biol*, *22*(1), 35-47.
- Erb, H. N., & Martin, S. W. (1980).** Interrelationships between production and reproductive diseases in Holstein cows. Data. *J Dairy Sci*, *63*(11), 1911-1917.
- Fabian, M. R., Sonenberg, N., & Filipowicz, W. (2010).** Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annu Rev Biochem*, *79*, 351-379.
- Farnir, F., Coppieters, W., Arranz, J. J., Berzi, P., Cambisano, N., Grisart, B., et al. (2000).** Extensive genome-wide linkage disequilibrium in cattle. *Genome Res*, *10*(2), 220-227.
- Farnir, F., Grisart, B., Coppieters, W., Riquet, J., Berzi, P., Cambisano, N., et al. (2002).** Simultaneous mining of linkage and linkage disequilibrium to fine map quantitative trait loci in outbred half-sib pedigrees: revisiting the location of a quantitative trait locus with major effect on milk production on bovine chromosome 14. *Genetics*, *161*(1), 275-287.
- Fevre-Montange, M., Champier, J., Durand, A., Wierinckx, A., Honnorat, J., Guyotat, J., et al. (2009).** Microarray gene expression profiling in meningiomas: differential expression according to grade or histopathological subtype. *Int J Oncol*, *35*(6), 1395-1407.
- Filipowicz, W., Bhattacharyya, S. N., & Sonenberg, N. (2008).** Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet*, *9*(2), 102-114.
- Fortin, C. F., Sohail, A., Sun, Q., McDonald, P. P., Fridman, R., & Fülöp, T. (2010).** MT6-MMP is present in lipid rafts and faces inward in living human PMNs but translocates to the cell surface during neutrophil apoptosis. *International Immunology*, *22*(8), 637-649.
- Fourichon, C., Seegers, H., & Malher, X. (2000).** Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology*, *53*(9), 1729-1759.

- Freudenberg, J., Cichon, S., Nöthen, M., & Propping, P. (2002).** Blockstruktur des menschlichen Genoms: Ein Organisationsprinzip der genetischen Variabilität. *Dtsch Arztebl*, 99(47), 48-49.
- Friedman, R. C., Farh, K. K., Burge, C. B., & Bartel, D. P. (2009).** Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*, 19(1), 92-105.
- Garner, C., McInnes, L. A., Service, S. K., Spesny, M., Fournier, E., Leon, P., et al. (2001).** Linkage analysis of a complex pedigree with severe bipolar disorder, using a Markov chain Monte Carlo method. *Am J Hum Genet*, 68(4), 1061-1064.
- Ge, X., Yamamoto, S., Tsutsumi, S., Midorikawa, Y., Ihara, S., Wang, S. M., et al. (2005).** Interpreting expression profiles of cancers by genome-wide survey of breadth of expression in normal tissues. *Genomics*, 86(2), 127-141.
- Geldermann, H. (1975).** Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers I. Methods. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 46(7), 319-330.
- Geldermann, H. (2005).** *Tier-Biotechnologie*: UTB.
- George, A. W., Visscher, P. M., & Haley, C. S. (2000).** Mapping Quantitative Trait Loci in Complex Pedigrees: A Two-Step Variance Component Approach. *Genetics*, 156(4), 2081-2092.
- Georges, M., Nielsen, D., Mackinnon, M., Mishra, A., Okimoto, R., Pasquino, A. T., et al. (1995).** Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics*, 139(2), 907-920.
- Geyer, J., Wilke, T., & Petzinger, E. (2006).** The solute carrier family SLC10: More than a family of bile acid transporters regarding function and phylogenetic relationships. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*(372), 413-431.
- Ghazalpour, A., Doss, S., Kang, H., Farber, C., Wen, P. Z., Brozell, A., et al. (2008).** High-resolution mapping of gene expression using association in an outbred mouse stock. *PLoS Genet*, 4(8), e1000149.
- Gibbs, R. A., Taylor, J. F., Van Tassell, C. P., Barendse, W., Eversole, K. A., Gill, C. A., et al. (2009).** Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. *Science*, 324(5926), 528-532.
- Gibson, G., & Dworkin, I. (2004).** Uncovering cryptic genetic variation. *Nat Rev Genet*, 5(9), 681-690.
- Gilad, Y., Rifkin, S. A., & Pritchard, J. K. (2008).** Revealing the architecture of gene regulation: the promise of eQTL studies. *Trends Genet*, 24(8), 408-415.
- Gilmour, A. R., Gogel, B. J., Cullis, B. R., Thompson R. (2009).** *ASReml User Guide, Release 3.0*. Unpublished manuscript.
- Goddard, M. E., & Hayes, B. J. (2009).** Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nat Rev Genet*, 10(6), 381-391.
- Gomez, D. E., Alonso, D. F., Yoshiji, H., & Thorgeirsson, U. P. (1997).** Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur. J. Cell Biol.*(74), 111-122.

- Griffiths, A. J. F., Wessler, S. R., Lewontin, R. C., & Carroll, S. B. (2008).** *Introduction To Genetic Analysis* (9th ed.). New York: W. H. Freeman and Company.
- Gross, T. S., Williams, W. F., & Russek-Cohen, E. (1991).** Cellular changes in the peripartum bovine fetal placenta related to placental separation. *Placenta*, 12(1), 27-35.
- Guard, C. (1999).** Retained Placenta: Causes and Treatments. *Advances in Dairy Technology*, 11, 81.
- Gunderson, K. L. (2009).** Whole-genome genotyping on bead arrays. *Methods Mol Biol*, 529, 197-213.
- Gunderson, K. L., Steemers, F. J., Lee, G., Mendoza, L. G., & Chee, M. S. (2005).** A genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology. *Nat Genet*, 37(5), 549-554.
- Gunnink, J. W. (1984).** Retained placenta and leucocytic activity. *Vet Q*, 6(2), 49-51.
- Haenisch, S., Laechelt, S., Bruckmueller, H., Werk, A., Noack, A., Bruhn, O., et al. (2011).** Down-regulation of ATP-binding cassette C2 protein expression in HepG2 cells after rifampicin treatment is mediated by microRNA-379. *Mol Pharmacol*, 80(2), 314-320.
- Haines, J. L., & Pericak-Vance, M. (2005).** Genetic Analysis of Complex Diseases Available from <http://ebooks.ub.uni-muenchen.de/14191/>
- Haldane, J. B. S. (1919).** The combination of linkage values and the calculation of distance between the loci of linkage factors. *J Gen*, 8, 299-309.
- Haley, C., & de Koning, D. J. (2006).** Genetical genomics in livestock: potentials and pitfalls. *Anim Genet*, 37 Suppl 1, 10-12.
- Han, I. K., & Kim, I. H. (2005).** Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. *J Vet Sci*, 6(1), 53-59.
- Harada, T., Chelala, C., Bhakta, V., Chaplin, T., Caulee, K., Baril, P., et al. (2008).** Genome-wide DNA copy number analysis in pancreatic cancer using high-density single nucleotide polymorphism arrays. *Oncogene*, 27(13), 1951-1960.
- Hayes, B. J., Visscher, P. M., McPartlan, H. C., & Goddard, M. E. (2003).** Novel multilocus measure of linkage disequilibrium to estimate past effective population size. *Genome Res*, 13(4), 635-643.
- He, W., Fernando, R. L., Dekkers, J. C., & Gilbert, H. (2010).** A gene frequency model for QTL mapping using Bayesian inference. *Genet Sel Evol*, 42, 21.
- Heringstad, B. (2010).** Genetic analysis of fertility-related diseases and disorders in Norwegian Red cows. *J Dairy Sci*, 93(6), 2751-2756.
- Heringstad, B., Chang, Y. M., Gianola, D., & Klemetsdal, G. (2005).** Genetic analysis of clinical mastitis, milk fever, ketosis, and retained placenta in three lactations of Norwegian red cows. *J Dairy Sci*, 88(9), 3273-3281.
- Hirschhorn, J. N. (2005).** Genetic approaches to studying common diseases and complex traits. *Pediatr Res*, 57(5 Pt 2), 74R-77R.
- Hoglund, J. K., Buitenhuis, A. J., Guldbandsen, B., Su, G., Thomsen, B., & Lund, M. S. (2009).** Overlapping chromosomal regions for fertility traits and production traits in the Danish Holstein population. *J Dairy Sci*, 92(11), 5712-5719.

- Hoglund, J. K., Guldbbrandtsen, B., Su, G., Thomsen, B., & Lund, M. S. (2009).** Genome scan detects quantitative trait loci affecting female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. *J Dairy Sci*, 92(5), 2136-2143.
- Holt, L. C., Whittier, W. D., Gwazdauskas, F. C., & Vinson, W. E. (1989).** Early postpartum reproductive profiles in Holstein cows with retained placenta and uterine discharges. *J Dairy Sci*, 72(2), 533-539.
- Huang, C., Bruggeman, L. A., Hydo, L. M., & Miller, R. T. (2012).** Shear stress induces cell apoptosis via a c-Src-phospholipase D-mTOR signaling pathway in cultured podocytes. *Exp Cell Res*.
- Hubner, N., Wallace, C. A., Zimdahl, H., Petretto, E., Schulz, H., Maciver, F., et al. (2005).** Integrated transcriptional profiling and linkage analysis for identification of genes underlying disease. [10.1038/ng1522]. *Nat Genet*, 37(3), 243-253.
- Illumina. (2011).** BovineSNP50 Genotyping BeadChip. from http://www.illumina.com/Documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf
- Janning, W., & Knust, E. (2008).** Genetik Available from <http://ebooks.uni-muenchen.de/20658/>
- Jansen, R. C., & Nap, J.-P. (2001).** Genetical genomics: the added value from segregation. [doi: 10.1016/S0168-9525(01)02310-1]. *Trends in Genetics*, 17(7), 388-391.
- Jeffreys, A. J., Kauppi, L., & Neumann, R. (2001).** Intensely punctate meiotic recombination in the class II region of the major histocompatibility complex. *Nat Genet*, 29(2), 217-222.
- Jeffreys, A. J., & Neumann, R. (2009).** The rise and fall of a human recombination hot spot. *Nat Genet*, 41(5), 625-629.
- Johnson, T. L., & Vilardell, J. (2012).** Regulated pre-mRNA splicing: The ghostwriter of the eukaryotic genome. *Biochim Biophys Acta*.
- Joosen, R. V., Ligterink, W., Hilhorst, H. W., & Keurentjes, J. J. (2009).** Advances in genetical genomics of plants. *Curr Genomics*, 10(8), 540-549.
- Joosten, I., & Hensen, E. J. (1992).** Retained placenta: an immunological approach. *Animal Reproduction Science*, 28(1-4), 451-461.
- Joosten, I., Sanders, M. F., & Hensen, E. J. (1991a).** Involvement of major histocompatibility complex class I compatibility between dam and calf in the aetiology of bovine retained placenta. *Animal Genetics*, 22(6), 455-463.
- Joosten, I., Van Eldik, P., Elving, L., & Van der Mey, G. J. W. (1987).** Factors Related to the Etiology of Retained Placenta in Dairy Cattle. *Anim Reprod Sci*, 14, 251-262.
- Joosten, I., van Eldik, P., Elving, L., & van der Mey, G. J. W. (1991).** Factors affecting occurrence of retained placenta in cattle. Effect of sire on incidence. *Animal Reproduction Science*, 25(1), 11-22.
- Julien, W. E., Conrad, H. R., Jones, J. E., & Moxon, A. L. (1976).** Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. *J Dairy Sci*, 59(11), 1954-1959.
- Kadarmideen, H. N., von Rohr, P., & Janss, L. L. (2006).** From genetical genomics to systems genetics: potential applications in quantitative genomics and animal breeding. *Mamm Genome*, 17(6), 548-564.
- Kamemori, Y., Wakamiya, K., Nishimura, R., Hosaka, Y., Ohtani, S., & Okuda, K. (2011).** Expressions of apoptosis-regulating factors in bovine retained placenta. *Placenta*, 32(1), 20-26.

- Kang, H. M., Zaitlen, N. A., Wade, C. M., Kirby, A., Heckerman, D., Daly, M. J., et al. (2008).** Efficient control of population structure in model organism association mapping. *Genetics*, 178(3), 1709-1723.
- Kankofer, M., Albera, E., Feldman, M., Gundling, N., & Hoedemaker, M. (2010).** Comparison of antioxidative/oxidative profiles in blood plasma of cows with and without retained fetal placental membranes. *Theriogenology*, 74(8), 1385-1395.
- Kankofer, M., Guz, L., & Wiercinski, J. (2004).** Poly(ADP-ribose) glycohydrolase in bovine retained and not retained placenta. *Reprod Domest Anim*, 39(1), 39-42.
- Kelton, D. F., Lissemore, K. D., & Martin, R. E. (1998).** Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *J Dairy Sci*, 81(9), 2502-2509.
- Kendziorski, C., & Wang, P. (2006).** A review of statistical methods for expression quantitative trait loci mapping. *Mamm Genome*, 17(6), 509-517.
- Khatkar, M. S., Nicholas, F. W., Collins, A. R., Zenger, K. R., Cavanagh, J. A., Barris, W., et al. (2008).** Extent of genome-wide linkage disequilibrium in Australian Holstein-Friesian cattle based on a high-density SNP panel. *BMC Genomics*, 9, 187.
- Khatkar, M. S., Zenger, K. R., Hobbs, M., Hawken, R. J., Cavanagh, J. A., Barris, W., et al. (2007).** A primary assembly of a bovine haplotype block map based on a 15,036-single-nucleotide polymorphism panel genotyped in holstein-friesian cattle. *Genetics*, 176(2), 763-772.
- Kim, E. S., Shi, X., Cobanoglu, O., Weigel, K., Berger, P. J., & Kirkpatrick, B. W. (2009).** Refined mapping of twinning-rate quantitative trait loci on bovine chromosome 5 and analysis of insulin-like growth factor-1 as a positional candidate gene. *J Anim Sci*, 87(3), 835-843.
- Kimura, K., Goff, J. P., Kehrl, M. E., Jr., & Reinhardt, T. A. (2002).** Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 85(3), 544-550.
- Knight, J. C. (2005).** Regulatory polymorphisms underlying complex disease traits. *J Mol Med (Berl)*, 83(2), 97-109.
- Koeck, A., Egger-Danner, C., Fuerst, C., Obritzhauser, W., & Fuerst-Waltl, B. (2010).** Genetic analysis of reproductive disorders and their relationship to fertility and milk yield in Austrian Fleckvieh dual-purpose cows. *J Dairy Sci*, 93(5), 2185-2194.
- Kornberg, R. D., & Lorch, Y. (1992).** Chromatin structure and transcription. *Annu Rev Cell Biol*, 8, 563-587.
- Kosambi, D. D. (1944).** The estimation of map distances from recombination values. *Ann Eugenics*, 12, 172-175.
- Kossaibati, M. A., & Esslemont, R. J. (1997).** The costs of production diseases in dairy herds in England. *Vet J*, 154(1), 41-51.
- Kunapuli, P., & Benovic, J. L. (1993).** Cloning and expression of GRK5: a member of the G protein-coupled receptor kinase family. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90(12), 5588-5592.
- LaFramboise, T. (2009).** Single nucleotide polymorphism arrays: a decade of biological, computational and technological advances. *Nucleic Acids Res*, 37(13), 4181-4193.
- Lambert, E., Dassé, E., Haye, B., & Petitfrère, E. (2004).** TIMPs as multifacial proteins. *Oncology/Hematology*(49), 187-198.

- Landegren, U., Nilsson, M., & Kwok, P. Y. (1998).** Reading bits of genetic information: methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Res*, 8(8), 769-776.
- Laven, R. A., & Peters, A. R. (1996).** Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss. *Vet Rec*, 139(19), 465-471.
- Le Rouzic, A., & Carlborg, O. (2008).** Evolutionary potential of hidden genetic variation. *Trends Ecol Evol*, 23(1), 33-37.
- LeBlanc, S. J. (2008).** Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. *Vet J*, 176(1), 102-114.
- Lee, S. H., & van der Werf, J. H. (2004).** The efficiency of designs for fine-mapping of quantitative trait loci using combined linkage disequilibrium and linkage. *Genet Sel Evol*, 36(2), 145-161.
- Lee, S. H., & Van der Werf, J. H. (2005).** The role of pedigree information in combined linkage disequilibrium and linkage mapping of quantitative trait loci in a general complex pedigree. *Genetics*, 169(1), 455-466.
- Lee, S. H., & van der Werf, J. H. (2006).** An efficient variance component approach implementing an average information REML suitable for combined LD and linkage mapping with a general complex pedigree. *Genet Sel Evol*, 38(1), 25-43.
- Lee, S. H., & Van der Werf, J. H. (2006a).** Using dominance relationship coefficients based on linkage disequilibrium and linkage with a general complex pedigree to increase mapping resolution. *Genetics*, 174(2), 1009-1016.
- Lee, S. H., & van der Werf, J. H. (2008).** Simultaneous fine mapping of closely linked epistatic quantitative trait loci using combined linkage disequilibrium and linkage with a general pedigree. *Genet Sel Evol*, 40(3), 265-278.
- Li, H., Chen, H., Bao, L., Manly, K. F., Chesler, E. J., Lu, L., et al. (2006).** Integrative genetic analysis of transcription modules: towards filling the gap between genetic loci and inherited traits. *Hum Mol Genet*, 15(3), 481-492.
- Li, H., & Deng, H. (2010).** Systems genetics, bioinformatics and eQTL mapping. *Genetica*, 138(9-10), 915-924.
- Li, H., Lu, L., Manly, K. F., Chesler, E. J., Bao, L., Wang, J., et al. (2005).** Inferring gene transcriptional modulatory relations: a genetical genomics approach. *Hum Mol Genet*, 14(9), 1119-1125.
- Li, J., & Burmeister, M. (2005).** Genetical genomics: combining genetics with gene expression analysis. *Human Molecular Genetics*, 14(suppl 2), R163-R169.
- Li, Y. C., Korol, A. B., Fahima, T., Beiles, A., & Nevo, E. (2002).** Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Mol Ecol*, 11(12), 2453-2465.
- Lionel, A. C., Crosbie, J., Barbosa, N., Goodale, T., Thiruvahindrapuram, B., Rickaby, J., et al. (2011).** Rare copy number variation discovery and cross-disorder comparisons identify risk genes for ADHD. *Sci Transl Med*, 3(95), 95ra75.
- Liu, C. (2011).** Brain expression quantitative trait locus mapping informs genetic studies of psychiatric diseases. *Neurosci Bull*, 27(2), 123-133.
- Lund, M. S., Sorensen, P., Guldbandsen, B., & Sorensen, D. A. (2003).** Multitrait fine mapping of quantitative trait loci using combined linkage disequilibria and linkage analysis. *Genetics*, 163(1), 405-410.

- Lyons, D. T., Freeman, A. E., & Kuck, A. L. (1991).** Genetics of health traits in Holstein cattle. *J Dairy Sci*, 74(3), 1092-1100.
- Ma, X., Godar, R. J., Liu, H., & Diwan, A. (2012).** Enhancing lysosome biogenesis attenuates BNIP3-induced cardiomyocyte death. *Autophagy*, 8(3).
- Maas, N., Van de Putte, T., Melotte, C., Francis, A., & Schrandt-Stumpel, C. (2007).** The C20orf133 gene is disrupted in a patient with Kabuki syndrome. *J. Med. Genet*, 44, 562-569.
- MacEachern, S., Hayes, B., McEwan, J., & Goddard, M. (2009).** An examination of positive selection and changing effective population size in Angus and Holstein cattle populations (*Bos taurus*) using a high density SNP genotyping platform and the contribution of ancient polymorphism to genomic diversity in Domestic cattle. *BMC Genomics*, 10, 181.
- Martin, J. M., Wilcox, C. J., Moya, J., & Klebanow, E. W. (1986).** Effects of retained fetal membranes on milk yield and reproductive performance. *J Dairy Sci*, 69(4), 1166-1168.
- McDougall, S. (2001).** Effects of periparturient diseases and conditions on the reproductive performance of New Zealand dairy cows. *N Z Vet J*, 49(2), 60-67.
- McLaughlin, H. M., Sakaguchi, R., Giblin, W., Wilson, T. E., Biesecker, L., Lupski, J. R., et al. (2012).** A recurrent loss-of-function alanyl-tRNA synthetase (AARS) mutation in patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 2N (CMT2N). *Hum Mutat*, 33(1), 244-253.
- McNaughton, A. P., & Murray, R. D. (2009).** Structure and function of the bovine fetomaternal unit in relation to the causes of retained fetal membranes. *Veterinary Record*, 165(21), 615-622.
- Mendelson, C. R., & Condon, J. C. (2005).** New insights into the molecular endocrinology of parturition. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 93(2-5), 113-119.
- Meuwissen, T. H., & Goddard, M. E. (2000).** Fine mapping of quantitative trait loci using linkage disequilibria with closely linked marker loci. *Genetics*, 155(1), 421-430.
- Meuwissen, T. H., & Goddard, M. E. (2001).** Prediction of identity by descent probabilities from marker-haplotypes. *Genet Sel Evol*, 33(6), 605-634.
- Meuwissen, T. H., Karlsen, A., Lien, S., Olsaker, I., & Goddard, M. E. (2002).** Fine mapping of a quantitative trait locus for twinning rate using combined linkage and linkage disequilibrium mapping. *Genetics*, 161(1), 373-379.
- Michaelson, J. J., Loguercio, S., & Beyer, A. (2009).** Detection and interpretation of expression quantitative trait loci (eQTL). *Methods*, 48(3), 265-276.
- Mitoma, J., Bao, X., Petryanik, B., Schaerli, P., Gauguier, J. M., Yu, S. Y., et al. (2007).** Critical functions of N-glycans in L-selectin-mediated lymphocyte homing and recruitment. *Nat Immunol*, 8(4), 409-418.
- Miyoshi, M., Sawamukai, Y., & Iwanaga, T. (2002).** Reduced phagocytotic activity of macrophages in the bovine retained placenta. *Reprod Domest Anim*, 37(1), 53-56.
- Morgan, T. H. (1911).** Random segregation versus coupling in Mendelian inheritance. *Science*, 34, 384.
- Morley, M., Molony, C. M., Weber, T. M., Devlin, J. L., Ewens, K. G., Spielman, R. S., et al. (2004).** Genetic analysis of genome-wide variation in human gene expression. *Nature*, 430(7001), 743-747.

- Muller, H. J. (1916).** The mechanism of crossing over. *Am Nat*, 50, 193-221.
- Muller, L. D., & Owens, M. J. (1974).** Factors associated with the incidence of retained placentas. *J Dairy Sci*, 57(6), 725-728.
- Murphy, P. M., Baggiolini, M., Charo, I. F., Hebert, C. A., Horuk, R., Matsushima, K., et al. (2000).** International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev*, 52(1), 145-176.
- Nadeau, J. H., & Dudley, A. M. (2011).** Genetics. Systems genetics. *Science*, 331(6020), 1015-1016.
- Nestler, E. J., & Hyman, S. E. (2002).** *Regulation of Gene Expression*: American College of Neuropsychopharmacology.
- Newman, A. (1998).** RNA splicing. *Current Biology*, 8(25), R903-R905.
- Niskanen, R., Emanuelson, U., Sundberg, J., Larsson, B., & Alenius, S. (1995).** Effects of infection with bovine virus diarrhoea virus on health and reproductive performance in 213 dairy herds in one county in Sweden. *Preventive Veterinary Medicine*, 23(3-4), 229-237.
- Nothnick, W. B., & Curry, T. E. (1996).** Divergent effects of interleukin-1 beta on steroidogenesis and matrix metalloproteinase inhibitor expression and activity in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology*, 137(9), 3784-3790.
- Olsen, H. G., Lien, S., Svendsen, M., Nilsen, H., Roseth, A., Aasland Opsal, M., et al. (2004).** Fine Mapping of Milk Production QTL on BTA6 by Combined Linkage and Linkage Disequilibrium Analysis. [doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73212-9]. *Journal of dairy science*, 87(3), 690-698.
- Perez-Enciso, M. (2003).** Fine mapping of complex trait genes combining pedigree and linkage disequilibrium information: a Bayesian unified framework. *Genetics*, 163(4), 1497-1510.
- Perez-Enciso, M. (2004).** In silico study of transcriptome genetic variation in outbred populations. *Genetics*, 166(1), 547-554.
- Petretto, E., Mangion, J., Dickens, N. J., Cook, S. A., Kumaran, M. K., Lu, H., et al. (2006).** Heritability and tissue specificity of expression quantitative trait loci. *PLoS Genet*, 2(10), e172.
- Phillips, T. (2008).** Regulation of Transcription and Gene Expression in Eukaryotes. *Scitable - Nature Education*, from <http://www.nature.com/scitable/topicpage/regulation-of-transcription-and-gene-expression-in-1086>
- Politis, I., Hidioglou, N., White, J. H., Gilmore, J. A., Williams, S. N., Scherf, H., et al. (1996).** Effects of vitamin E on mammary and blood leukocyte function, with emphasis on chemotaxis, in periparturient dairy cows. *Am J Vet Res*, 57(4), 468-471.
- Potter, T. J., Guitian, J., Fishwick, J., Gordon, P. J., & Sheldon, I. M. (2010).** Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology*, 74(1), 127-134.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., et al. (2007).** PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet*, 81(3), 559-575.
- Qanbari, S., Pimentel, E. C., Tetens, J., Thaller, G., Lichtner, P., Sharifi, A. R., et al. (2010).** The pattern of linkage disequilibrium in German Holstein cattle. *Anim Genet*, 41(4), 346-356.
- Qin, B., He, M., Chen, X., & Pei, D. (2006).** Sorting nexin 10 induces giant vacuoles in mammalian cells. *J Biol Chem*, 281(48), 36891-36896.

- Rajala, P. J., & Grohn, Y. T. (1998).** Effects of dystocia, retained placenta, and metritis on milk yield in dairy cows. *J Dairy Sci*, 81(12), 3172-3181.
- Reimers, T. J., Ullmann, M. B., & Hansel, W. (1985).** Progesterone and prostanoïd production by bovine binucleate trophoblastic cells. *Biol Reprod*, 33(5), 1227-1236.
- Richter, J., & Götze, R. (1993).** *Tiergeburtshilfe* (Vol. 4th): Paul Parey.
- Risch, N., & Merikangas, K. (1996).** The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*, 273(5281), 1516-1517.
- Roberts, R. M., Xie, S., Nagel, R. J., Low, B., Green, J., & Beckers, J. F. (1995).** Glycoproteins of the aspartyl proteinase gene family secreted by the developing placenta. *Adv Exp Med Biol*, 362, 231-240.
- Rockman, M. V., & Kruglyak, L. (2006).** Genetics of global gene expression. *Nat Rev Genet*, 7(11), 862-872.
- Rowlands, G. J., & Lucey, S. (1986).** Changes in milk yield in dairy cows associated with metabolic and reproductive disease and lameness. *Preventive Veterinary Medicine*, 4(3), 205-221.
- Rüsse, I., & Sinowatz, F. (2008).** *Lehrbuch der Embryologie der Haustiere* (Vol. 3rd). München.
- Scaffidi, C., Fulda, S., Srinivasan, A., Friesen, C., Li, F., Tomaselli, K. J., et al. (1998).** Two CD95 (APO-1/Fas) signaling pathways. [10.1093/emboj/17.6.1675]. *EMBO J*, 17(6), 1675-1687.
- Schadt, E. E., Monks, S. A., Drake, T. A., Lusk, A. J., Che, N., Colinayo, V., et al. (2003).** Genetics of gene expression surveyed in maize, mouse and man. *Nature*, 422(6929), 297-302.
- Schlafer, D. H., Fisher, P. J., & Davies, C. J. (2000).** The bovine placenta before and after birth: placental development and function in health and disease. *Anim Reprod Sci*, 60-61, 145-160.
- Schliekelman, P. (2008).** Statistical power of expression quantitative trait loci for mapping of complex trait loci in natural populations. *Genetics*, 178(4), 2201-2216.
- Schnabel, R. D., Kim, J. J., Ashwell, M. S., Sonstegard, T. S., Van Tassell, C. P., Connor, E. E., et al. (2005).** Fine-mapping milk production quantitative trait loci on BTA6: analysis of the bovine osteopontin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(19), 6896-6901.
- Schnorr, B., & Kressin, M. (2011).** *Embryologie der Haustiere* (Vol. 6th): Enke-Verlag.
- Schukken, Y. H., Erb, H. N., & Scarlett, J. M. (1989).** A hospital-based study of the relationship between retained placenta and mastitis in dairy cows. *Cornell Vet*, 79(4), 319-326.
- Selbach, M., Schwanhauser, B., Thierfelder, N., Fang, Z., Khanin, R., & Rajewsky, N. (2008).** Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature*, 455(7209), 58-63.
- Shendure, J. A., Porreca, G. J., Church, G. M., Gardner, A. F., Hendrickson, C. L., Kieleczawa, J., et al. (2011).** Overview of DNA sequencing strategies. *Curr Protoc Mol Biol*, Chapter 7, Unit7 1.
- Simerl, N. A., Wilcox, C. J., & Thatcher, W. W. (1992).** Postpartum performance of dairy heifers freshening at young ages. *J Dairy Sci*, 75(2), 590-595.
- Simi, L., Andreani, M., Davini, F., Janni, A., Pazzagli, M., Serio, M., et al. (2004).** Simultaneous measurement of MMP9 and TIMP1 mRNA in human

- non small cell lung cancers by multiplex real time RT-PCR. *Lung Cancer*, 45(2), 171-179.
- Sperandio, M., Gleissner, C. A., & Ley, K. (2009).** Glycosylation in immune cell trafficking. *Immunol Rev*, 230(1), 97-113.
- Sriramarao, P., Berger, E., Chambers, J. D., Arfors, K. E., & Gehlsen, K. R. (1993).** High mannose type N-linked oligosaccharides on endothelial cells may influence beta 2 integrin mediated neutrophil adherence in vitro. *J Cell Biochem*, 51(3), 360-368.
- Stamatoyannopoulos, J. A. (2004).** The genomics of gene expression. *Genomics*, 84(3), 449-457.
- Starr, A. E., Bellac, C. L., Dufour, A., Goebeler, V., & Overall, C. M. (2012).** Biochemical Characterization and N-terminomics Analysis of Leukolysin, the Membrane-type 6 Matrix Metalloprotease (MMP25): CHEMOKINE AND VIMENTIN CLEAVAGES ENHANCE CELL MIGRATION AND MACROPHAGE PHAGOCYTOTIC ACTIVITIES. *J Biol Chem*, 287(16), 13382-13395.
- Stetler-Stevenson, W. G. (2008).** Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in Cell Signaling: Metalloproteinase-Independent Biological Activities. *Sci. Signal.*, 1(27), re6-.
- Stieger, B. (2011).** The role of the sodium-taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) and of the bile salt export pump (BSEP) in physiology and pathophysiology of bile formation. *Handb Exp Pharmacol*(201), 205-259.
- Storch, V., Welsch, U., & Wink, M. (2007).** *Evolutionsbiologie* (Vol. 2): Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Streyl, D., Kenngott, R., Herbach, N., Wanke, R., Blum, H., Sinowatz, F., et al. (2011).** Gene expression profiling of bovine periparturient placentomes: detection of molecular pathways potentially involved in release of foetal membranes. *Reproduction*.
- Strieter, R. M., Burdick, M. D., Gomperts, B. N., Belperio, J. A., & Keane, M. P. (2005).** CXC chemokines in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev*, 16(6), 593-609.
- Struhl, K. (1999).** Fundamentally different logic of gene regulation in eukaryotes and prokaryotes. *Cell*, 98(1), 1-4.
- Stryer, L. (1995).** *Biochemie* (4th ed.): Spektrum Akademischer Verlag.
- Sturtevant, A. H. (1913).** The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila* as shown by their mode of association. *J Exp Zool*, 14, 43-59.
- Suzuki, M. M., & Bird, A. (2008).** DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. *Nat Rev Genet*, 9(6), 465-476.
- Sved, J. A. (2009).** Linkage disequilibrium and its expectation in human populations. *Twin Res Hum Genet*, 12(1), 35-43.
- Tenesa, A., Navarro, P., Hayes, B. J., Duffy, D. L., Clarke, G. M., Goddard, M. E., et al. (2007).** Recent human effective population size estimated from linkage disequilibrium. *Genome Res*, 17(4), 520-526.
- Terblanche, H. M., Kritzinger, L. J., & van Heerden, J. S. (1976).** Induced parturition in cattle. 1. Clinical studies. *J S Afr Vet Assoc*, 47(2), 113-115.
- Thomassen, J. R., Guldbandsen, B., Sorensen, P., Thomsen, B., & Lund, M. S. (2008).** Quantitative trait loci affecting calving traits in Danish Holstein cattle. *J Dairy Sci*, 91(5), 2098-2105.

- Thompson, J. R. (1984).** Genetic interrelationships of parturition problems and production. *J Dairy Sci*, 67(3), 628-635.
- Tourneur, L., & Chiocchia, G. (2010).** FADD: a regulator of life and death. *Trends Immunol*, 31(7), 260-269.
- Trauner, M., & Boyer, J. L. (2003).** Bile Salt Transporters: Molecular Characterization, Function, and Regulation. *Physiol Rev*, 83(2), 633-671.
- Trevisi, E., Ferrari, A. R., & Bertoni, G. (2008).** Productive and metabolic consequences induced by the retained placenta in dairy cows. *Vet Res Commun*, 32 Suppl 1, S363-366.
- Van Dorp, T. E., Dekkers, J. C., Martin, S. W., & Noordhuizen, J. P. (1998).** Genetic parameters of health disorders, and relationships with 305-day milk yield and conformation traits of registered Holstein cows. *J Dairy Sci*, 81(8), 2264-2270.
- Van Sligtenhorst, I., Ding, Z.-M., Shi, Z.-Z., Read, R. W., Hansen, G., & Vogel, P. (2012).** Cardiomyopathy in α -Kinase 3 (ALPK3)-Deficient Mice. *Veterinary Pathology Online*, 49(1), 131-141.
- Visscher, P. M., & Goddard, M. E. (2004).** Prediction of the confidence interval of quantitative trait Loci location. *Behav Genet*, 34(4), 477-482.
- Visser, W. E., Wong, W. S., van Mullem, A. A., Friesema, E. C., Geyer, J., & Visser, T. J. (2010).** Study of the transport of thyroid hormone by transporters of the SLC10 family. *Mol Cell Endocrinol*, 315(1-2), 138-145.
- Walter, I., & Boos, A. (2001).** Matrix Metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) and Tissue Inhibitor-2 of Matrix Metalloproteinases (TIMP-2) in the Placenta and Interplacental Uterine Wall in Normal Cows and in Cattle with Retention of Fetal Membranes. *Placenta*, 22(5), 473-483.
- Wang, H. Q., Yu, X. D., Liu, Z. H., Cheng, X., Samartzis, D., Jia, L. T., et al. (2011).** Deregulated miR-155 promotes Fas-mediated apoptosis in human intervertebral disc degeneration by targeting FADD and caspase-3. *J Pathol*, 225(2), 232-242.
- Wang, W. Y. S., Barratt, B. J., Clayton, D. G., & Todd, J. A. (2005).** Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. [10.1038/nrg1522]. *Nat Rev Genet*, 6(2), 109-118.
- Wang, X., Chen, Y., & Lu, L. (2010).** Genetic regulatory network analysis for app based on genetical genomics approach. *Exp Aging Res*, 36(1), 79-93.
- Watson, J. D., & Crick, F. H. (1953).** The structure of DNA. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 18, 123-131.
- Wehrend, A., Reinle, T., Herfen, K., & Bostedt, H. (2002).** Fetotomy in cattle with special reference to postoperative complications--an evaluation of 131 cases. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 109(2), 56-61.
- Weller, J. I., Kashi, Y., & Soller, M. (1990).** Power of daughter and granddaughter designs for determining linkage between marker loci and quantitative trait loci in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 73(9), 2525-2537.
- Williams, W. F., Margolis, M. J., Manspeaker, J., Douglass, L. W., & Davidson, J. P. (1987).** Peripartum changes in the bovine placenta related to fetal membrane retention. *Theriogenology*, 28(2), 213-223.
- Wischral, A., Nishiyama-Naruke, A., Curi, R., & Barnabe, R. C. (2001).** Plasma concentrations of estradiol 17beta and PGF2alpha metabolite and placental fatty acid composition and antioxidant enzyme activity in cows with and without retained fetal membranes. *Prostaglandins*, 65(2-3), 117-124.

- Wischral, A., Verreschi, I. T., Lima, S. B., Hayashi, L. F., & Barnabe, R. C. (2001a).** Pre-parturition profile of steroids and prostaglandin in cows with or without foetal membrane retention. *Anim Reprod Sci*, 67(3-4), 181-188.
- Wittkopp, P. J. (2005).** Genomic sources of regulatory variation in cis and in trans. *Cell Mol Life Sci*, 62(16), 1779-1783.
- Woessner, J. F., Jr. (1991).** Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J*, 5(8), 2145-2154.
- Wolf, E. (2005).** Nutztiere - quo vadite? Neue Wege durch funktionale genomanalyse. *DVG-Forum*, 1, 19-30.
- Wooding, F. B., Morgan, G., & Adam, C. L. (1997).** Structure and function in the ruminant synepitheliochorial placenta: central role of the trophoblast binucleate cell in deer. *Microsc Res Tech*, 38(1-2), 88-99.
- Worby, C. A., & Dixon, J. E. (2002).** Sorting out the cellular functions of sorting nexins. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 3(12), 919-931.
- Wright, A. F., Rudan, I., Hastie, N. D., & Campbell, H. (2010).** A 'complexity' of urate transporters. *Kidney Int*, 78(5), 446-452.
- Wu, C., Delano, D. L., Mitro, N., Su, S. V., Janes, J., McClurg, P., et al. (2008).** Gene set enrichment in eQTL data identifies novel annotations and pathway regulators. *PLoS Genet*, 4(5), e1000070.
- Xiong, M., & Jin, L. (2000).** Combined linkage and linkage disequilibrium mapping for genome screens. *Genet Epidemiol*, 19(3), 211-234.
- Yvert, G., Brem, R. B., Whittle, J., Akey, J. M., Foss, E., Smith, E. N., et al. (2003).** Trans-acting regulatory variation in *Saccharomyces cerevisiae* and the role of transcription factors. *Nat Genet*, 35(1), 57-64.
- Zhao, L. P., Quiaoit, F., Aragaki, C., & Hsu, L. (1999).** An efficient, robust and unified method for mapping complex traits (III): combined linkage/linkage-disequilibrium analysis. *Am J Med Genet*, 84(5), 433-453.
- Zhou, L., Zhang, Z., Zheng, Y., Zhu, Y., Wei, Z., Xu, H., et al. (2011).** SKAP2, a novel target of HSF4b, associates with NCK2/F-actin at membrane ruffles and regulates actin reorganization in lens cell. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 15(4), 783-795.
- Ziegler, A. (2002).** Genetische Epidemiologie – Gegenwart und Zukunft. *Dtsch Arztebl*, 99(36), 2342-.
- Zlotnik, A., & Yoshie, O. (2000).** Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*, 12(2), 121-127.

9 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
&	und
° C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
3'-UTR	3'-untranslatierte Region
A	Adenin
AARS	alanyl-tRNA synthetase
Abb.	Abbildung
ADCY8	adenylate cyclase 8 (brain)
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit/Hyperaktivitätssyndrom
ADP	Adenosindiphosphat
ALPK3	alpha-kinase 3
AMP	Adenosinmonophosphat
Aqua bidest.	Zweifach destilliertes Wasser
Aqua dest.	Destilliertes Wasser
ARHGAP289	Rho GTPase activating protein 28
ATP	Adenosintriphosphat
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BNIP3	BCL2/adenovirus E19B 19kD interacting protein 3
BOLA	MHC class 1 heavy chain
bp	Basenpaare
BTA	Rinderchromosom (<i>Bos taurus</i> Autosom)
C	Cytosin
cDNA	copy-DNA
Chr	Chromosom
cM	Centimorgan
CTNNAL1	catenin (cadherin-associated protein), alpha-like 1
CXCL	Chemokine (C-X-C motif) ligand
CXCR	CXC chemokine receptor
d. h.	das heißt
DDX	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide

DipEff	Diplotypeffekt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
D _{RM}	Diplotype Relationship Matrix
DTT	Dithiothreitol
EAE	Expression assisted Evaluation
EAS	Expressions-assistierte Selektion
ECM	Extrazellulärmatrix
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
eQTL	Expression Quantitative Trait Locus
et al.	<i>et alii/et aliae</i> (und andere)
ETOH	Ethanol
FADD	Fas (TNFRSF6)-associated via death domain
g	Gramm
x g	mal Wert der Erdbeschleunigung (g ~ 9,81 m/s ²)
G	Guanin
GbR	Gesellschaft bürgerlichen Rechts
GDD	Granddaughter Design
GOA	Gene Ontology Analysis
GRK5	G-protein coupled receptor kinase 5
G _{RM}	Genotype Relationship Matrix
gwIBD	genomweite Wahrscheinlichkeit für Herkunftsgleichheit, genomweite IBD
h	Stunden
H ₂ O	Wasser
HCl	Salzsäure
HF	Holstein Friesian
hnRNA	heterogene nukleäre RNA
HSF4	heat shock transcription factor 4
IBD	identical by descent, herkunftsgleich nach Abstammung
IL-8	Interleukin 8
Kap.	Kapitel
kb	Kilobasen
KCl	Kaliumchlorid
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

kg	Kilogramm
KH_2PO_4	Kaliumdihydrogenphosphat
LAFUGA	Laboratory for Functional Genome Analysis
LAMA1	laminin, alpha 1
LAMP-1	lysosomal-associated membrane protein
LD	linkage disequilibrium, Kopplungsungleichgewicht
LDL	kombinierte Kopplungs- und Kopplungsungleichgewichtskartierung
LID	Laboridentifikationsnummer
LIPK	lipase, family member K
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
LOC100336980	olfactory receptor, family 2, subfamily AG, member 1-like
LOC516636	olfactory receptor 6-like
LOC618633	myeloid-associated differentiation marker-like
LocIBD	Wahrscheinlichkeit für Herkunftsgleichheit eines betrachteten Genlocus/Haplotyps, Locus IBD
LOD	logarithm of the odds
LRT	Likelihood Ratio Teststatistik
M	Molar(e)
MACROD	MACRO domain containing
MAN1C1	mannosidase, alpha, class 1C, member 1
MAS	Marker-assistierte Selektion
Mb	Megabasen
mg	Milligramm
MgCl_2	Magnesiumchloridhexahydrat
MHC	Major Histocompatibility Complex
MIR	microRNA
miRNA	microRNA
ml	Milliliter
mM	millimolar
MMP	Matrixmetalloproteinase
MODEL1	Model der Varianzkomponentenanalyse, in welchem auf fixe Polygeneffekte und zufällige eQTL-Effekte korrigiert wird

MODEL2	Varianzkomponentenmodell, das im Vergleich zu MODEL1 um einen fixen, durch Placentaretention bedingten Effekt erweitert wurde
mRNA	messenger RNA
MTRR	MTRR 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase reductase
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NaCl	Natriumchlorid
N _e	effektive Populationsgröße
NF-κB	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
ng	Nanogramm
OD	optische Dichte
p	<i>P</i> -Wert
p. A.	<i>pro analysi</i>
PAG	pregnancy-associated glycoprotein
PBS	phosphate buffered saline, Phosphatgepufferte Salzlösung
PC	Principal Component, Hauptkomponente
PCA	Principal Component Analysis, Hauptkomponentenanalyse
PCR	Polymerasekettenreaktion
pH	<i>potentia Hydrogenii</i>
PLAUR	Plasminogen activator, urokinase receptor
QTL	Quantitative Trait Locus
RefSeq	Reference Sequence
Ret	<i>Retentio secundinarium</i> , Placentaretention, Nachgeburtsverhalten
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RGS10	regulator of G-protein signaling 10
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	reactive oxygen species, reaktive Sauerstoffspezies
rRNA	ribosomale RNA
SDS	Sodiumdodecylsulfat
SEMA5A	sema domain, seven thrombospondin repeats (type 1 and type 1-like), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmatic domain, (semaphorin) 5A

siRNA	small interfering RNA
SKAP2	src kinase associated phosphoprotein 2
SLC10A1	solute carrier family 10 (sodium/bile acid cotransporter family), member 1
SLC16A9	Solute carrier family 16, member 9 (monocarboxylic acid transporter 9)
SLC28A1	sodium carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member1
snoRNA	small nucleolar RNA
SNP	Single Nucleotide Polymorphism, Einzelnukleotid-Polymorphismus
snRNA	small nuclear RNA
SNX10	sorting nexin 10
SQL	Structured Query Language
SSR	simple sequence repeats
ST3GAL2	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 2
STR	short tandem repeats
T	Thymin
T3	Trijodthyronin
T4	Thyroxin
THBS1	Thrombospondin 1
TIMP	tissue inhibitor of matrix metalloproteinases
TNF-R1	tumor necrosis factor receptor 1
TRGV3-2	T cell receptor gamma variable 3-2
Tris	Trishydroxymethylaminomethan
tRNA	transfer RNA
Tween 20	Polyoxyethylen(20)-sorbitan-monolaurat
U	Uracil
u. a.	und andere(s)
US	United States
UV	ultraviolette Strahlung
Var	Varianz
VNTRs	variable number of tandem repeats
z. B.	zum Beispiel

ZNF592	zink finger protein 592
σ^2	Varianz

10 ANHANG

Anhang 1: 299 ausgewählte Expressionsprofile

Auflistung der 299 für die Kartierung ausgewählten Expressionsprofile mit ihrer Transkript-Identifikationsnummern (TranscriptID), ihrer zugehörigen Gen-Identifikationsnummern (GeneID), der vollen Bezeichnung (Gene Description) und der abgekürzten Bezeichnung (Gene Symbol) sowie der Angabe der Position der zugehörigen Gene im Genom (Gene Position). Die Expressionsprofile sind sortiert nach ihrer Varianz (Var) in absteigender Reihenfolge aufgeführt. Die Profile der 20 am meisten differenziell exprimierten Gene sind gelb unterlegt.

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12745564	347699	OAS1X	2',5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa	8.073	17 (63.65-63.66) X (143.10-143.33)
12906425	100271759	UTY	ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked	4.688	19 (19.91-19.92)
12766526	100126815	LOC100126815	MHC class I-like family A1	3.807	2 (13.31) X (143.36-143.37)
12775207	494318	PLA2G2D1	calcium-dependent phospholipase A2 PLA2G2D1	2.116	1 (93.78-93.79)
12910493	783057	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked	2.010	15 (46.68)
12678266	100294973	LOC100294973	similar to CG11897	1.994	13 (74.52-74.53)
12726518	100336980	LOC100336980	olfactory receptor-like	1.919	9 (28.83)
12718226	404105	TKDP3	trophoblast Kunitz domain protein 3	1.750	23 (27.86)
12901478	777787	FABP7	fatty acid binding protein 7, brain	1.672	29 (39.73-39.74)
12802789	533049	BOLA	non-classical MHC class I antigen	1.627	4 (62.52-62.68)
12833967	518205	MGC157405	pregnancy-associated glycoprotein	1.614	23 ()
12854443	519486	NPSR1	neuropeptide S receptor 1	1.498	5 (22.52)
12804655	282536	BOLA-DQA3	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha, type 3	1.426	19(56.92-56.93) X (144.15-144.23)
12863039	784883	LOC784883	similar to 4932441K18Rik protein	1.269	6 (41.23-41.64)
12761259	286807	SUMO2	SMT3 suppressor of mif two 3 homolog 2 (S. cerevisiae)	1.261	
12906413	100271755	EIF2S3Y	eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 3, structural gene Y-linked	1.248	
12871689	534164	SLIT2	slit homolog 2 (Drosophila)	1.248	

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12817648	531420	GP2	glycoprotein 2 (zymogen granule membrane)	1.162	25 (18.10-18.11) X (107.78-107.86)
12910802	790347	USP9X	ubiquitin specific peptidase 9, X-linked	1.145	107.86)
12889581	507019	ADAM28	ADAM metallopeptidase domain 28	1.064	8 (72.40-72.47)
12805255	510417	BOLA-NC1	non-classical MHC class I antigen	1.055	23 (28.35)
12688130	282340	RNASE1	ribonuclease	1.040	10 (26.38)
12747893	540830	HHIP	hedgehog interacting protein	1.039	17 (13.62-13.73)
12708857	100336999	LOC100336999	ATP-binding cassette protein C4-like	1.025	12 (71.32-71.53)
12789116	282870	CYP1A1	cytochrome P450, subfamily I (aromatic compound-inducible), polypeptide 1	1.020	21 (34.34)
12864245	286841	MUC12	mucin 12, cell surface associated	0.958	25 (36.10-36.27)
12759325	616720	LOC616720	similar to mCG67989	0.956	18 (60.54-60.55)
12873199	281233	IBSP	integrin-binding sialoprotein	0.933	6 (38.30-38.32)
12728162	516636	LOC516636	similar to olfactory receptor Olr223	0.931	15 (46.60)
12699011	505058	MRPS24	mitochondrial ribosomal protein S24	0.930	22 (1.90-2.12)
12832798	337901	PAG7	pregnancy-associated glycoprotein 7	0.928	29 (38.51-38.52)
12901794	767933	HSFY2	heat shock transcription factor, Y linked 2	0.900	17 (75.15)
12704196	404173	GNLY	granulysin	0.895	11 (49.09)
12710639	616707	ABCC4	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 4	0.880	12 (73.79-73.81)
12856932	281513	TAC3	tachykinin 3	0.872	5 (56.74)
12837623	510382	LOC510382	similar to guanylate binding protein 4	0.866	3 (54.79-54.81)
12773293	781942	SECTM1	secreted and transmembrane 1	0.866	19 (51.50-51.14)
12885799	521987	IFI47	interferon gamma inducible protein 47	0.862	7 (41.82-41.84)
12814178	617785	PILRA	paired immunoglobulin-like type 2 receptor alpha	0.852	25 (36.67-36.69)
12855928	616414	RGS2	regulator of G-protein signaling 2, 24kDa	0.847	16 (58.72)
12713962	404076	TKDP1	trophoblast Kunitz domain protein 1	0.847	13 (74.79-74.81)
12713397	100301215	LOC100301215	similar to tissue factor pathway inhibitor (lipoprotein-associated coagulation inhibitor)	0.844	13 (74.72-74.75)
12752908	533481	TAT	tyrosine aminotransferase	0.839	18 (39.61-39.62)

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12889437	505890	ADAMDEC1	ADAM-like, decysin 1	0.837	8 (72.49-72.52)
12717232	618696	LOC618696	similar to trophoblast Kunitz domain protein 5	0.834	13 (74.62-74.69)
12825628	783935	DEFB5	defensin, beta 5	0.832	27 (55.60-55.64)
12806486	539241	BLA-DQB	MHC class II antigen	0.792	23 (25.85-25.86)
12695993	532890	SLC10A1	solute carrier family 10 (sodium/bile acid cotransporter family), member 1	0.789	10 (81.86-81.89)
12713191	100139386	20ALPHA-HSD	placental and ovary 20alpha hydroxysteroid dehydrogenase protein	0.785	13 (44.13-44.15)
12726713	281309	MMP3	matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	0.780	15 (6.02-6.03) 5 (100.71-100.72)
12862177	613416	LOC613416	similar to heme binding protein 1	0.774	100.72)
12892785	282353	SLC1A1	solute carrier family 1 (neuronal/epithelial high affinity glutamate transporter, system Xag), member 1	0.767	8 (40.18-40.25)
12862854	781146	LOC781146	lysozyme	0.766	5 (44.44)
12807986	522479	LOC522479	similar to serpin peptidase inhibitor, clade B, member 11 (predicted)	0.753	24 (62.53-62.55)
12888306	786607	MUC16	mucin 16	0.749	7 (14.31-14.43)
12791762	286871	SERPINA14	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 14	0.740	21 (59.66-59.67)
12697589	781681	GLDN	gliomedin	0.737	10 (59.07-59.13)
12723783	784254	CA1	carbonic anhydrase I	0.735	14 (79.52-79.53)
12853004	281450	RELN	reelin	0.733	4 (44.89-45.47)
12727165	506943	LOC506943	similar to macrophage expressed gene 1	0.722	15 (83.33)
12729690	540848	B3GNT6	UDP-GlcNAc:betaGal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 6 (core 3 synthase)	0.721	15 (57.23)
12893949	516661	LOC516661	similar to leucine-rich repeat LGI family, member 3	0.718	8 (69.96-69.97)
12688316	414732	GATM	glycine amidinotransferase (L-arginine:glycine amidinotransferase)	0.711	10 (65.32-65.34) 5 (101.64-101.65)
12857056	281908	MFAP5	microfibrillar associated protein 5	0.708	101.65)
12723501	616362	TRIM55	tripartite motif-containing 55	0.703	14 (32.16-32.21)
12902506	100300877	LOC100300877	similar to X antigen family, member 5	0.696	X (94.60-94.61)
12805748	515712	BOLA	MHC class I heavy chain	0.693	23 (28.50)
12703617	538813	bcl-xLp2	BCL2-like 1 pseudogene	0.693	11 (10.29)
12795384	512512	DNASE1L3	deoxyribonuclease I-like 3	0.691	22 (43.63-43.65)

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12890848	528382	RORB	RAR-related orphan receptor B	0.690	8 (50.87-51.07)
12899411	280897	PLG	plasminogen	0.677	9 (98.01-98.06)
12713813	282871	MMP9	matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B, 92kDa gelatinase, 92kDa type IV collagenase)	0.675	13 (75.46-75.47)
12807051	782894	LOC782894	similar to thrombin inhibitor	0.668	23 (50.55)
12733848	783299	LOC783299	similar to B7 olfactory receptor	0.666	15 (46.71-46.72)
12755491	100336354	LOC100336354	hCG15121-like	0.662	18 (43.62)
12726751	281914	MMP13	matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	0.661	15 (5.91-5.92) 1 (143.21-143.24)
12684354	511037	TMPRSS2	transmembrane protease, serine 2	0.660	1 (143.21-143.24)
12695043	516762	AQP9	aquaporin 9	0.657	10 (52.15-52.19)
12731635	509651	OR2AG2	olfactory receptor, family 2, subfamily AG, member 2	0.649	15 (46.71)
12710001	530437	LOC530437	similar to ATP-binding cassette, sub-family C, member 4	0.647	12 (73.89-73.97)
12688416	505991	CHAC1	ChaC, cation transport regulator homolog 1 (E. coli)	0.647	10 (36.59-36.60) 1 (143.11-143.15)
12678533	280873	MX2	myxovirus (influenza virus) resistance 2 (mouse)	0.641	1 (143.11-143.15)
12872642	780876	LOC780876	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 (yeast)-like	0.638	6 (5.53-5.56)
12728608	526981	MMP12	matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)	0.632	15 (6.00-6.01)
12882303	786553	PCDHB4	protocadherin beta 4	0.621	7 (53.90-53.91)
12736935	538320	PAPPA2	pappalysin 2	0.619	16 (59.13-59.45) 1 (155.38-155.40)
12685446	530116	DAZL	deleted in azoospermia-like	0.607	1 (155.38-155.40)
12688730	509034	LOC509034	feline leukemia virus subgroup C cellular receptor family, member 2-like	0.606	10 (87.87-87.89)
12679586	509596	ATP13A5	ATPase type 13A5	0.605	1 (74.63-74.77)
12846994	540149	CYP4B1	cytochrome P450, family 4, subfamily B, polypeptide 1	0.595	3 (99.93-99.95)
12699169	505979	GTF2A1L	GTF2A1L readthrough	0.589	11 (30.76-30.81)
12714863	512927	C13H20ORF118	chromosome 20 open reading frame 118 ortholog	0.585	13 (66.43-66.44)
12869630	100313258	MIR218-1	microRNA mir-218-1	0.581	6 (41.54)
12748384	785809	FAM109A	family with sequence similarity 109, member A	0.581	17 (57.30-57.35)

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12795404	512583	CCBP2	chemokine binding protein 2	0.581	22 (15.55-15.56)
12725362	518422	SLC7A13	solute carrier family 7, (cationic amino acid transporter, y+ system) member 13	0.578	14 (79.86-79.87)
12747162	529660	OAS2	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2, 69/71kDa	0.577	17 (63.61-63.64)
12910827	791047	MIR450	microRNA mir-450	0.577	X (18.17)
12864073	281952	SLC6A15	solute carrier family 6 (neutral amino acid transporter), member 15	0.576	5 (14.57-14.60)
12781790	517552	GAD1	glutamate decarboxylase 1 (brain, 67kDa)	0.575	2 (25.64-25.68)
12733686	617430	C15H11orf70	chromosome 15 open reading frame 70 ortholog	0.572	15 (6.91-6.94)
12838373	514143	LOC514143	hypothetical LOC514143	0.570	3 (54.34-54.36)
12872629	768011	MGC134093	hypothetical protein MGC134093	0.569	6 (6.22-6.26)
12874291	516104	CXCL11	chemokine (C-X-C motif) ligand 11	0.568	6 (92.64)
12805993	527645	LOC527645	similar to Histone H4 replacement CG3379-PC	0.567	23 (30.75)
12793863	618633	LOC618633	similar to Myeloid-associated differentiation marker	0.565	21 (20.15-20.16)
12788987	280985	ACAN	aggrecan	0.565	21 (20.80-20.86)
12804490	281430	PRP3	prolactin-related protein 3	0.561	23 (34.86)
12703997	282124	VSNL1	visinin-like 1	0.555	11 (81.08-81.20)
12833917	517463	MGC157408	pregnancy-associated glycoprotein	0.555	29 (39.45-39.46)
12825466	538708	SLC7A2	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 2	0.555	27 (18.78-18.81)
12856728	280881	NTS	neurotensin	0.554	5 (15.60-15.62)
12756915	512150	LOC512150	similar to Myeloid-associated differentiation marker	0.554	18 (63.70)
12818707	100139670	IFIT1	interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 1	0.553	26 (11.10-11.11)
12872729	785528	CWH43	cell wall biogenesis 43 C-terminal homolog (S. cerevisiae)	0.553	6 (69.28-69.33)
12775258	503625	PLA2G2D4	calcium-dependent phospholipase A2 PLA2G2D4	0.544	2 (133.14-133.15)
12800052	539619	LRRN1	leucine rich repeat neuronal 1	0.544	22 (22.57)
12849428	407208	TRGV3-2	T cell receptor gamma variable 3-2	0.543	4 (83.27)
12720728	540080	CYP24A1	cytochrome P450, family 24, subfamily A, polypeptide 1	0.534	13 (82.35-82.36)
12873854	509228	PLAC8	placenta-specific 8	0.533	6 (99.72-99.75)

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12866390	518047	SLCO1C1	solute carrier organic anion transporter family, member 1C1	0.532	5 (89.44-89.50)
12832873	337912	PAG17	pregnancy-associated glycoprotein 17	0.529	29 (39.62-39.63)
12899527	317707	HTR1B	5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 1B	0.527	9 (17.30)
12726914	404129	DGAT2	diacylglycerol O-acyltransferase homolog 2 (mouse)	0.527	15 (55.90-55.97)
12779974	100313159	MIR2351	microRNA mir-2351	0.523	2 (97.00)
12819300	507578	LIPK	lipase, family member K	0.523	26 (10.43-10.44)
12819045	404104	DMBT1	deleted in malignant brain tumors 1	0.520	26 (42.78-42.81)
12766839	100336469	LOC100336469	secreted and transmembrane protein 1A-like	0.517	19 (50.01)
12797804	100313172	MIR2369	microRNA mir-2369	0.517	22 (40.17)
12713955	404075	TKDP4	trophoblast Kunitz domain protein 4	0.516	13 (74.82-74.83)
12722170	510007	C14H80ORF59	chromosome 14 open reading frame, human C8orf59	0.514	14 (79.75)
12845308	522474	TCTEX1D1	Tctex1 domain containing 1	0.512	3 (78.87-78.90)
12847346	614522	LOC614522	similar to transmembrane protein 56	0.508	3 (48.45-48.49)
12745085	100296011	LOC100296011	similar to Ngg1 interacting factor 3 like 1 binding protein 1	0.507	17 (18.73)
12708934	100337216	LOC100337216	ATP-binding cassette, sub-family C, member 4-like	0.505	12 (74.29-74.37) X (146.61-146.75)
12907734	509206	STS	steroid sulfatase (microsomal), isozyme S	0.494	146.75)
12825041	509338	DKK4	dickkopf homolog 4 (Xenopus laevis)	0.491	27 (36.90)
12709756	519212	STOML3	stomatin (EPB72)-like 3	0.487	12 (23.28-23.30)
12805840	519859	PRP9	prolactin-related protein IX	0.486	23 (34.71-34.73)
12819218	505642	GSTO1	glutathione S-transferase omega 1	0.484	26 (25.08-25.09)
12736063	521326	HMCN1	hemicentin 1	0.483	16 (68.19-68.73)
12698016	100141470	LOC100141470	similar to immunoglobulin kappa chain	0.482	11 (47.16-47.17)
12841545	767907	REG4	regenerating islet-derived family, member 4	0.481	3 (23.59-23.61)
12893846	515263	ALDOB	aldolase B, fructose-bisphosphate	0.481	8 (92.77-92.78)
12696603	539079	GREM1	gremlin 1, cysteine knot superfamily, homolog (Xenopus laevis)	0.481	10 (30.03)
12809127	280948	TTR	transthyretin	0.478	24 (25.85-25.86)

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12682948	100295610	MUC13	mucin 13, cell surface associated	0.477	1 (69.93-69.95)
12726834	286794	MMP7	matrix metalloproteinase 7 (matrilysin, uterine)	0.477	15 (63.90-64.00)
12851774	613853	PIP	prolactin-induced protein	0.476	4 (107.29)
12708472	783020	SULT1C4	sulfotransferase family, cytosolic, 1C, member 4	0.476	11 (44.72-44.73)
12699429	508829	ABCG8	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 8	0.473	11 (26.15-26.17)
12707949	614711	MRPL33	mitochondrial ribosomal protein L33	0.472	11 (71.92-71.93)
12847645	617392	OTOS	otospiralin	0.468	3 (120.13)
12789156	338050	SERPINA5	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 5	0.464	21 (59.78-59.79)
12806931	618875	C23H6ORF222	chromosome 23 open reading frame, human C6orf222	0.463	23 (10.22-10.24)
12846771	538699	LOC538699	TAF5-like RNA polymerase II p300/CBP-associated factor-associated factor 65 kDa subunit 5L-like	0.462	3 (104.17-104.18)
12733869	783660	PRG3	proteoglycan 3	0.459	15 (81.92)
12832821	337907	PAG11	pregnancy-associated glycoprotein 11	0.457	29 (40.13-40.14)
12832903	337915	PAG21	pregnancy-associated glycoprotein 21	0.456	29 (39.04-39.05)
12800942	100296273	LOC100296273	similar to butyrophilin, subfamily 2, member A2	0.454	23 (26.51-26.52)
12828726	539797	RTKN2	rhotekin 2	0.452	28 (18.36-18.47)
12735389	510860	LOC510860	C4b-binding protein alpha-like	0.450	16 (4.93-4.95)
12694952	515838	ANKRD31	ankyrin repeat domain 31	0.449	10 (6.47-6.60)
12712187	525823	SLC10A2	solute carrier family 10 (sodium/bile acid cotransporter family), member 2	0.449	12 (83.25-83.27)
12832740	337896	PAG3	pregnancy-associated glycoprotein 3	0.448	29 (39.99-40.00)
12792372	512648	ELL3	elongation factor RNA polymerase II-like 3	0.447	21 (55.94-55.95)
12696234	536375	TMEM229B	transmembrane protein 229B	0.446	10 (79.69-79.71)
12726317	100125776	LOC100125776	olfactory receptor	0.445	15 (46.66-46.67)
12825663	789175	DEFB103B	defensin, beta 103B	0.445	27 (4.89)
12804563	282007	PRP14	prolactin-related protein 14	0.445	23 (34.69-34.70)
12757751	520056	NETO2	neuropilin (NRP) and tolloid (TLL)-like 2	0.445	18 (15.53-15.60)
12788780	100313043	MIR379	microRNA mir-379	0.444	21 (67.56)

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12888147	781423	ZNF474	zinc finger protein 474	0.443	7 (32.97-33.03)
12696210	535727	SLC27A2	solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 2	0.443	10 (60.22-60.27)
12835200	619012	LOC619012	pregnancy-associated glycoprotein 1-like	0.442	29 (39.32-39.33)
12722069	507526	CDH17	cadherin 17, LI cadherin (liver-intestine)	0.436	14 (72.43-72.52)
12869420	788334	LOC788334	similar to MGC152498 protein	0.436	5 (74.85-74.86)
12869915	281214	CXCL2	chemokine (C-X-C motif) ligand 2	0.436	6 (90.69)
12804755	497206	PRP-VII	prolactin-related protein VII	0.434	23 (34.80-34.81)
12767023	281043	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	0.434	19 (16.23)
12851009	533374	GGCT	gamma-glutamyl cyclotransferase	0.432	4 (66.20-66.21)
12879457	520348	MARCH3	membrane-associated ring finger (C3HC4) 3	0.431	7 (28.23-28.39)
12894406	530624	ADAMTSL1	ADAMTS-like 1	0.430	8 (25.43-25.71)
12869424	788357	LOC788357	similar to olfactory receptor 810	0.429	5 (59.61)
12692539	785763	LOC785763	similar to 2,3-bisphosphoglycerate mutase	0.428	10 (78.46)
12876092	784340	LOC784340	similar to 2,3-bisphosphoglycerate mutase	0.427	6 (80.88)
12854718	523798	PON1	paraoxonase 1	0.425	4 (12.38-12.42)
12767029	281044	CCL8	chemokine (C-C motif) ligand 8	0.425	19 (16.13)
12887709	614846	HAVCR1	hepatitis A virus cellular receptor 1	0.424	7 (70.73)
12748219	654488	OAS1Y	2',5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa	0.424	17 (63.63-63.64)
12832809	337903	PAG9	pregnancy-associated glycoprotein 9	0.423	29 (39.86-39.87)
12678517	280872	MX1	myxovirus (influenza virus) resistance 1, interferon-inducible protein p78 (mouse)	0.422	1 (143.17-143.20)
12874454	520101	RASSF6	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 6	0.419	6 (90.37-90.46)
12704418	506415	RSAD2	radical S-adenosyl methionine domain containing 2	0.418	11 (90.01-90.02)
12807029	782166	KCNK5	potassium channel, subfamily K, member 5	0.417	23 (13.05-13.09)
12873056	100337111	LOC100337111	T-cell activation Rho GTPase-activating protein-like	0.416	6 (5.41-5.44)
12803982	786324	LOC786324	similar to enterocytin	0.415	23 (26.53-26.54)
12713920	353354	DNMT3B	DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 3 beta	0.415	13 ()

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12730190	782358	FAM55B	family with sequence similarity 55, member B	0.411	15 (25.48-25.52)
12887066	538062	EDIL3	EGF-like repeats and discoidin I-like domains 3	0.410	7 (86.15-86.63)
12832787	337900	PAG6	pregnancy-associated glycoprotein 6	0.403	29 (40.06-40.07)
12832843	337909	PAG15	pregnancy-associated glycoprotein 15	0.391	29 (38.65-38.66)
12720619	538465	TRIB3	tribbles homolog 3 (Drosophila)	0.384	13 (61.17-61.18)
12869838	280828	IL8	interleukin 8	0.361	6 (90.55-90.56)
12859619	515202	USP18	ubiquitin specific peptidase 18	0.346	5 (76.38-76.40)
12832775	337899	PAG5	pregnancy-associated glycoprotein 5	0.345	29 (38.36-38.37)
12832863	337911	PAG18	pregnancy-associated glycoprotein 18	0.341	29 (38.42-38.43)
12861727	539337	WNT10B	wingless-type MMTV integration site family, member 10B	0.340	5 (31.00-31.01)
12791724	282151	BCL2A1	BCL2-related protein A1	0.310	21 (26.48-26.49)
12740864	540836	RGS1	regulator of G-protein signaling 1	0.297	16 (13.31)
12804243	100298767	LOC100298767	similar to prolactin	0.295	23 (34.57-34.61)
12866799	528390	NR4A1	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1	0.289	5 (27.97-27.99)
12703842	281251	IL1B	interleukin 1, beta	0.281	11 (46.41)
12775855	508882	FAP	fibroblast activation protein, alpha	0.262	2 (34.29-34.37)
12893495	512259	HPGD	hydroxyprostaglandin dehydrogenase 15-(NAD)	0.256	8 (66.42-66.80)
12798275	504226	URGCP	upregulator of cell proliferation	0.254	22 (2.20-2.51)
12872284	613667	CXCL3	chemokine (C-X-C motif) ligand 3	0.245	6 (90.81) 5 (102.24-102.27)
12861019	533844	CD163	CD163 molecule	0.244	5 (102.24-102.27)
12788856	100313378	MIR411	microRNA mir-411	0.243	21 (67.56)
12843823	508348	IFI44	interferon-induced protein 44	0.242	3 (66.27-66.28) 8 (100.22-100.27)
12893924	515749	CTNNA1	catenin (cadherin-associated protein), alpha-like 1	0.241	8 (100.22-100.27)
12889316	504760	DDX58	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 58	0.239	8 (11.42-11.47) 2 (126.24-126.50)
12776406	512913	IFI6	interferon, alpha-inducible protein 6	0.231	8 (11.42-11.47) 2 (126.24-126.50)

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12870010	281735	CXCL6	chemokine (C-X-C motif) ligand 6	0.228	6 (90.64) 18 (52.20-52.219)
12755776	281983	PLAUR	plasminogen activator, urokinase receptor	0.213	52.219
12693397	280894	PGF	placental growth factor	0.212	10 (86.59-86.60) 5 (103.73-103.74)
12859128	511581	C1R	complement component 1, r subcomponent	0.206	103.74
12787160	507339	C7	complement component 7	0.205	20 (33.54-33.60)
12875578	574090	TLR1	toll-like receptor 1	0.185	6 (59.68)
12776788	518283	PTAFR	platelet-activating factor receptor	0.179	2 (125.80)
12711148	281750	EDNRB	endothelin receptor type B	0.173	12 (53.31-53.40)
12714810	512548	SLPI	secretory leukocyte peptidase inhibitor	0.169	13 (74.31)
12688001	281530	THBS1	thrombospondin 1	0.168	10 (35.31-35.32) 1 (111.02-111.03)
12686574	541148	PTX3	pentraxin-related gene, rapidly induced by IL-1 beta	0.168	111.03
12804444	281137	EDN1	endothelin 1	0.164	23 (44.01)
12793325	535185	FBLN5	fibulin 5	0.157	21 (57.15-57.24)
12824843	282141	ANGPT2	angiopoietin 2	0.156	27 (4.42-4.48) 1 (113.38-113.50)
12685960	536741	MME	membrane metallo-endopeptidase	0.152	113.50
12745328	281749	EDNRA	endothelin receptor type A	0.151	17 (10.75-10.82)
12778017	535490	IFIH1	interferon induced with helicase C domain 1	0.150	2 (34.21-34.27)
12704139	347700	EIF2AK2	eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 2	0.146	11 (19.57-19.62)
12872011	538409	CASP6	caspase 6, apoptosis-related cysteine peptidase	0.144	6 (16.84-16.86)
12837063	506759	IFI16	interferon, gamma-inducible protein 16	0.141	3 (10.82-10.86)
12807256	790470	PRP2	prolactin-related protein 2	0.136	23 (34.63-34.64)
12863952	281239	IGF1	insulin-like growth factor 1 (somatomedin C)	0.134	5 (66.53-66.60)
12836080	286806	ADAMTS4	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 4	0.134	3 (8.32-8.33)
12813377	531092	MMP25	similar to matrix metalloproteinase 25 preproprotein	0.123	25 (2.45-2.48)
12811609	407124	ITGAM	integrin, alpha M (complement component 3 receptor 3 subunit)	0.119	25 (27.60-27.63)

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12823120	615342	BNIP3	BCL2/adenovirus E1B 19kDa interacting protein 3	0.117	26 (51.35)
12717920	280712	ADA	adenosine deaminase	0.115	13 (73.75-73.77)
12794515	407771	CCR1	chemokine (C-C motif) receptor 1	0.112	22 (53.85)
12902874	281647	XIAP	X-linked inhibitor of apoptosis	0.109	X (7.83-7.84)
12810056	527051	CIDEA	cell death-inducing DFFA-like effector a	0.107	24 (43.23-43.25)
12721397	789154	TNFRSF6B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6b, decoy	0.106	13 (54.52)
12681285	532209	MECOM	MDS1 and EVI1 complex locus	0.105	1 (98.51-99.14)
12845421	524222	ECM1	extracellular matrix protein 1	0.104	3 (20.22-20.23)
12745287	281161	FGF2	fibroblast growth factor 2 (basic)	0.104	17 (35.19-35.25)
12909398	535439	SMARCA1	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 1	0.102	X (13.35-13.43)
12902909	282092	TIMP1	TIMP metalloproteinase inhibitor 1	0.101	X (91.23)
12883076	281048	CD14	CD14 molecule	0.101	7 (53.44)
12779840	100125580	CXCR1	chemokine (C-X-C motif) receptor 1	0.097	2 (106.93)
12823457	281311	MSR1	macrophage scavenger receptor 1	0.096	27 (19.57-20.05)
12726663	281057	CD44	CD44 molecule (Indian blood group)	0.096	15 (66.45-66.54)
12738576	282023	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	0.094	16 (69.26-69.27)
12825859	281408	PLAU	plasminogen activator, urokinase	0.093	28 (29.96-29.97)
12791746	282291	NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	0.092	21 (46.06)
12745324	281534	TLR2	toll-like receptor 2	0.091	17 (3.94-3.96)
12888026	618405	GADD45B	growth arrest and DNA-damage-inducible, beta	0.087	7 (22.41)
12738469	281246	IL10	interleukin 10	0.087	16 (4.40)
12683618	407131	CD80	CD80 molecule	0.082	1 (64.89-64.91) 2 (127.88-128.00)
12784242	615012	MAN1C1	mannosidase, alpha, class 1C, member 1	0.081	
12907379	493686	TLR7	toll-like receptor 7	0.080	X (141.04) 1 (108.28-108.29)
12683354	281856	IL12A	interleukin 12A (natural killer cell stimulatory factor 1, cytotoxic lymphocyte maturation factor 1, p35)	0.079	108.29)
12794425	317694	TIMP4	TIMP metalloproteinase inhibitor 4	0.079	22 (57.60)

TranscriptID	GeneID	Gene Symbol	Gene Description	Var	Gene Position
12815205	281375	SERPINE1	serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 1	0.079	25 (36.19-36.20)
12733176	539997	MPEG1	macrophage expressed 1	0.078	15 (83.66-83.67)
12852910	281052	CD36	CD36 molecule (thrombospondin receptor)	0.075	4 (40.58-40.63)
12693536	281915	MMP14	matrix metalloproteinase 14 (membrane-inserted)	0.074	10 (21.80-21.81)
12788774	100313024	MIR299	microRNA mir-299	0.069	21 (67.56)
12763683	522767	NTN1	netrin 1	0.069	19 (29.08-29.26)
12730969	282866	SPON1	spondin 1, extracellular matrix protein	0.067	15 (38.99-39.30)
12767844	414925	BIRC5	baculoviral IAP repeat-containing 5	0.067	19 (54.55-54.56)
12878460	509963	ANGPTL4	angiopoietin-like 4	0.066	7 (18.23-18.24)
12802955	535297	DST	dystonin	0.059	23 (3.28-3.68)
12808103	530550	ARHGAP28	Rho GTPase activating protein 28	0.058	24 (40.22-40.36)
12789434	506182	TRAF3	TNF receptor-associated factor 3	0.058	21 (69.22-69.25)
12829677	493720	FADD	Fas (TNFRSF6)-associated via death domain	0.056	29 (48.02-48.03)
12705763	515118	RHOB	ras homolog gene family, member B	0.054	11 (78.46)
12738690	338033	TNFRSF1B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B	0.053	16 (42.37-42.40)
12767437	282303	PECAM1	platelet/endothelial cell adhesion molecule	0.050	19 (49.17-49.23)
12897782	530027	MAN1A1	mannosidase, alpha, class 1A, member 1	0.046	9 (32.09-32.26)
12857108	282094	TIMP3	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	0.043	5 (71.75-71.80)
12733099	539124	TRAF6	TNF receptor-associated factor 6	0.038	15 (67.76-67.78)
12749561	282872	MMP2	matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A, 72kDa gelatinase, 72kDa type IV collagenase)	0.035	18 (23.82-23.85)
12810780	786855	TMEM200C	transmembrane protein 200C	0.031	24 (39.73)
12801086	281572	VEGFA	vascular endothelial growth factor A	0.031	23 (17.25-17.26)
12760918	282093	TIMP2	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	0.030	19 (54.07-74.13)
12740649	539085	VASH2	vasohibin 2	0.028	16 (72.52-72.53)
12775239	497199	CFLAR	CASP8 and FADD-like apoptosis regulator	0.026	2 (90.13-90.17)

Anhang 2: Signifikante eQTLs in MODEL1

Auflistung aller eQTLs, die in MODEL1 einen LRT-Wert von 10,8 oder größer erreichten, sortiert nach ihrer Position im Genom (BTA, Position des maximal erreichten LRT-Wertes (max. Signal) in Mb). Neben der abgekürzten Bezeichnung ihres zugehörigen Gens (Gene Symbol) ist auch die Transkript-Identifikationsnummer (TranscriptID) und der für den betrachteten eQTL maximal erreichte LRT-Wert (LRT) aufgeführt. Zudem erfolgte eine Einteilung in *cis*-eQTL (*cis*) und *trans*-eQTL (*trans*).

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
1	12726518	LOC100336980	5.53	14.09	trans
1	12825663	DEFB103B	5.58	12.15	trans
1	12910493	DDX3Y	11.87	11.31	trans
1	12889581	ADAM28	19.16	12	trans
1	12775207	PLA2G2D1	34.05	14.53	trans
1	12695043	AQP9	44.76	11.75	trans
1	12704139	EIF2AK2	64.17	11.22	trans
1	12717232	LOC618696	71.75	12.53	trans
1	12776406	IFI6	72.82	11.78	trans
1	12713397	LOC100301215	72.82	11.39	trans
1	12720728	CYP24A1	80.12	13.17	trans
1	12726663	CD44	82.31	12.94	trans
1	12714863	C13H20ORF118	82.71	12	trans
1	12836080	ADAMTS4	83.34	12.22	trans
1	12901794	HSFY2	90.59	14.97	trans
1	12791746	NFKBIA	97.65	12.25	trans
1	12793325	FBLN5	98.51	14.01	trans
1	12683618	CD80	98.99	11.78	trans
1	12784242	MAN1C1	98.99	19.73	trans
1	12836080	ADAMTS4	99.02	20.22	trans
1	12755776	PLAUR	99.51	13.11	trans
1	12726663	CD44	100.06	11.63	trans
1	12836080	ADAMTS4	107.27	13.38	trans
1	12784242	MAN1C1	108.22	18.81	trans
1	12755776	PLAUR	108.39	17.83	trans
1	12902909	TIMP1	110.9	11.53	trans
1	12836080	ADAMTS4	111.53	14.83	trans
1	12793325	FBLN5	111.6	12.35	trans
1	12749561	MMP2	112.12	10.93	trans
1	12696603	GREM1	114.75	15.56	trans
1	12717232	LOC618696	118.14	11.12	trans
1	12696603	GREM1	118.55	14.97	trans
1	12901794	HSFY2	121.83	11.46	trans
1	12760918	TIMP2	128.56	10.86	trans
1	12846771	LOC538699	134.73	12.85	trans
1	12793325	FBLN5	136.95	14.97	trans
1	12861727	WNT10B	137.68	11.86	trans
1	12861019	CD163	138.7	11.6	trans
1	12883076	CD14	138.8	10.98	trans
1	12823457	MSR1	138.8	11.45	trans
1	12745328	EDNRA	139.57	14.29	trans
1	12910493	DDX3Y	140.13	12.66	trans
1	12755776	PLAUR	144.62	10.84	trans
1	12807029	KCNK5	145.66	18.91	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
1	12738690	TNFRSF1B	145.66	11.42	trans
1	12832775	PAG5	146.44	11.14	trans
1	12713920	DNMT3B	146.6	14.89	trans
1	12861727	WNT10B	146.6	12.61	trans
1	12722069	CDH17	154.01	12.18	trans
1	12755776	PLAUR	154.15	11.52	trans
1	12792372	ELL3	154.56	11.72	trans
2	12696234	TMEM229B	1.5	12.48	trans
2	12767029	CCL8	3.8	12.44	trans
2	12681285	MECOM	5.81	11.01	trans
2	12804655	BOLA-DQA3	17.95	12.26	trans
2	12899527	HTR1B	22.13	15.85	trans
2	12696603	GREM1	23.39	14.99	trans
2	12738690	TNFRSF1B	24.96	10.86	trans
2	12740864	RGS1	25.98	11.28	trans
2	12871689	SLIT2	26.8	12.05	trans
2	12696603	GREM1	27.21	14.37	trans
2	12832775	PAG5	32.02	12.73	trans
2	12726663	CD44	35.58	11.98	trans
2	12740864	RGS1	37.29	11.04	trans
2	12726518	LOC100336980	40.37	13.32	trans
2	12717920	ADA	41.65	12.23	trans
2	12863039	LOC784883	41.86	11.67	trans
2	12789434	TRAF3	41.86	15.38	trans
2	12847346	LOC614522	45.34	10.91	trans
2	12846994	CYP4B1	60	12.67	trans
2	12726518	LOC100336980	67	15.36	trans
2	12731635	OR2AG2	67.09	12.41	trans
2	12756915	LOC512150	67.8	13.53	trans
2	12888026	GADD45B	68.07	13.38	trans
2	12723501	TRIM55	70.06	13.39	trans
2	12726914	DGAT2	76.35	14.01	trans
2	12789156	SERPINA5	77.05	15.76	trans
2	12829677	FADD	83.48	13.18	trans
2	12779840	CXCR1	91.08	10.96	trans
2	12752908	TAT	92.66	11.7	trans
2	12892785	SLC1A1	116.45	11.75	trans
2	12738469	IL10	117.45	13.28	trans
2	12847346	LOC614522	130.39	12.58	trans
2	12869915	CXCL2	131.42	11.96	trans
2	12757751	NETO2	133.05	12.34	trans
2	12779840	CXCR1	133.6	15.79	trans
3	12902874	XIAP	0.98	14.28	trans
3	12682948	MUC13	1	12.11	trans
3	12683354	IL12A	12.45	13.87	trans
3	12872284	CXCL3	19.22	11.65	trans
3	12745328	EDNRA	25.21	10.95	trans
3	12699011	MRPS24	29.04	16.11	trans
3	12703617	bcl-xLp2	31.07	12.11	trans
3	12832787	PAG6	31.51	15.89	trans
3	12846994	CYP4B1	41.15	17.22	trans
3	12699011	MRPS24	47.42	13.55	trans
3	12832787	PAG6	48.77	14.06	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
3	12846994	CYP4B1	54.67	11.94	trans
3	12807256	PRP2	59.74	13.39	trans
3	12696234	TMEM229B	59.87	12.66	trans
3	12713191	20ALPHA-HSD	60.42	13.51	trans
3	12899411	PLG	60.47	14.96	trans
3	12696210	SLC27A2	64.85	12.95	trans
3	12807256	PRP2	68.63	12.47	trans
3	12704196	GNLY	68.98	14.37	trans
3	12738690	TNFRSF1B	69.47	11.16	trans
3	12910827	MIR450	71.49	11.99	trans
3	12902874	XIAP	74.82	11.57	trans
3	12704196	GNLY	77.54	11.18	trans
3	12899411	PLG	77.54	14.83	trans
3	12713813	MMP9	77.63	15.02	trans
3	12845308	TCTEX1D1	82.56	13.46	trans
3	12726914	DGAT2	84.43	12.89	trans
3	12872284	CXCL3	85.53	10.83	trans
3	12817648	GP2	92.31	12.04	trans
3	12708857	LOC100336999	100.36	12.41	trans
3	12832809	PAG9	102.76	13.22	trans
3	12736935	PAPPA2	112.49	12.2	trans
3	12849428	TRGV3-2	112.99	19.48	trans
4	12825628	DEFB5	1.16	12.24	trans
4	12755491	LOC100336354	3.43	12.53	trans
4	12873199	IBSP	8.59	13.68	trans
4	12696603	GREM1	18.84	12.58	trans
4	12784242	MAN1C1	20.67	10.94	trans
4	12804755	PRP-VII	28.08	13.36	trans
4	12804755	PRP-VII	33.67	14.26	trans
4	12720728	CYP24A1	34.67	11.81	trans
4	12708472	SULT1C4	36.08	13.37	trans
4	12893949	LOC516661	38.51	12.87	trans
4	12883076	CD44	41.28	11.34	trans
4	12755776	PLAUR	41.28	12.23	trans
4	12864073	SLC6A15	42.53	17.06	trans
4	12738469	IL10	45.95	13.75	trans
4	12874454	RASSF6	48.79	13.72	trans
4	12802955	DST	48.84	12.11	trans
4	12863952	IGF1	48.84	13.47	trans
4	12893949	LOC516661	49	12.8	trans
4	12775855	FAP	49.1	15.47	trans
4	12910827	MIR450	49.43	13.32	trans
4	12705763	RHOB	51.35	13.47	trans
4	12693536	MMP14	52.21	14.43	trans
4	12688001	THBS1	52.91	19.74	trans
4	12907379	TLR7	54.17	12.23	trans
4	12857108	TIMP3	54.56	14.39	trans
4	12873854	PLAC8	55.63	11.29	trans
4	12832787	PAG6	55.88	11.51	trans
4	12784242	MAN1C1	56.95	15.07	trans
4	12755776	PLAUR	57.06	15.06	trans
4	12823457	MSR1	57.15	17.31	trans
4	12861019	CD163	57.39	13.46	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
4	12883076	CD44	57.39	13.98	trans
4	12863952	IGF1	57.39	17.93	trans
4	12775855	FAP	58.04	20.7	trans
4	12846771	LOC538699	62.39	11.38	trans
4	12792372	ELL3	62.71	11.58	trans
4	12857108	TIMP3	63.07	11.32	trans
4	12836080	ADAMTS4	69.61	15.49	trans
4	12851009	GGCT	69.61	10.94	trans
4	12755776	PLAUR	69.61	19.13	trans
4	12705763	RHOB	69.8	19.88	trans
4	12823120	BNIP3	69.89	12.23	trans
4	12883076	CD44	69.89	11.73	trans
4	12792372	ELL3	69.89	18.93	trans
4	12846771	LOC538699	69.89	13.27	trans
4	12733099	TRAF6	81.56	10.92	trans
4	12705763	RHOB	82.92	11.1	trans
4	12710639	ABCC4	83.29	11.99	trans
4	12805748	BOLA	83.29	11.22	trans
4	12849428	TRGV3-2	83.29	16.01	cis
4	12878460	ANGPTL4	83.94	14.53	trans
4	12883076	CD44	84.04	11.4	trans
4	12791746	NFKBIA	86.12	14.82	trans
4	12699169	GTF2A1L	86.7	15.33	trans
4	12710639	ABCC4	88.05	13.49	trans
4	12707949	MRPL33	88.2	12.86	trans
4	12755491	LOC100336354	90.83	12.26	trans
4	12763683	NTN1	91	12.54	trans
4	12733176	MPEG1	92.01	11.29	trans
4	12722170	C14H80ORF59	96.29	12.1	trans
4	12710639	ABCC4	96.46	11.16	trans
4	12738469	IL10	100.25	11.01	trans
4	12807256	PRP2	100.63	11.12	trans
4	12738690	TNFRSF1B	100.86	12.94	trans
4	12761259	SUMO2	106.26	13.54	trans
4	12910802	USP9X	107.49	12.82	trans
5	12804444	EDN1	13.51	11.95	trans
5	12807051	LOC782894	24.59	14.7	trans
5	12776406	IFI6	40.82	11.44	trans
5	12708934	LOC100337216	42.36	12.78	trans
5	12722170	C14H80ORF59	43.61	21.95	trans
5	12721397	TNFRSF6B	51.58	11.88	trans
5	12870010	CXCL6	52.1	13.38	trans
5	12906413	EIF2S3Y	63.11	12.27	trans
5	12910802	USP9X	65.28	11.92	trans
5	12828726	RTKN2	89.22	12.26	trans
5	12731635	OR2AG2	95.7	13.3	trans
5	12766526	LOC100126815	96.45	11.38	trans
5	12766526	LOC100126815	98.59	13.22	trans
5	12893949	LOC516661	108.4	12.27	trans
5	12686574	PTX3	110.25	12.11	trans
5	12710639	ABCC4	110.36	11	trans
5	12710639	ABCC4	114.71	12.9	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
6	12694952	ANKRD31	3.51	12.41	trans
6	12776406	IFI6	4.51	11.59	trans
6	12808103	ARHGAP28	6.85	11.64	trans
6	12776788	PTAFR	7.53	13.15	trans
6	12776406	IFI6	8.45	12.14	trans
6	12832787	PAG6	9.77	12.31	trans
6	12832740	PAG3	9.89	16.25	trans
6	12818707	IFIT1	11.78	14	trans
6	12693536	MMP14	11.87	11.13	trans
6	12832787	PAG6	18.26	12.87	trans
6	12733176	MPEG1	18.73	13.2	trans
6	12755776	PLAUR	19.11	13.77	trans
6	12763683	NTN1	22.93	11.53	trans
6	12745564	OAS1X	27.18	12.5	trans
6	12688001	THBS1	35.99	11.03	trans
6	12808103	ARHGAP28	41.43	11.32	trans
6	12714863	C13H20ORF118	44.12	13.41	trans
6	12838373	LOC514143	50.69	13.83	trans
6	12894406	ADAMTSL1	57.62	12.42	trans
6	12726751	MMP13	64.69	14.38	trans
6	12808103	ARHGAP28	66.56	13.86	trans
6	12807051	LOC782894	71.32	12.03	trans
6	12740864	RGS1	73.19	11.64	trans
6	12823457	MSR1	116.28	13.9	trans
6	12807029	KCNK5	117.64	13.12	trans
7	12775855	FAP	0.97	11.02	trans
7	12795404	CCBP2	13.67	12.32	trans
7	12885855	FAP	26.87	12.91	trans
7	12907734	STS	31.81	12.18	trans
7	12726713	MMP3	32.57	12.41	trans
7	12766526	LOC100126815	34.73	11.55	trans
7	12720619	TRIB3	34.83	12.51	trans
7	12817648	GP2	35.53	11.31	trans
7	12800052	LRRN1	38.86	13.13	trans
7	12859128	C1R	48.89	11.39	trans
7	12893924	CTNNA1	48.89	22.13	trans
7	12791724	BCL2A1	48.97	14.29	trans
7	12775239	CFLAR	48.97	14.77	trans
7	12902909	TIMP1	48.97	12.38	trans
7	12798275	URGCP	48.97	15.21	trans
7	12857108	TIMP3	49.19	11.08	trans
7	12803982	LOC786324	49.95	11.6	trans
7	12792372	ELL3	53.63	14.12	trans
7	12723783	CA1	54.47	13.13	trans
7	12803982	LOC786324	58.79	14.66	trans
7	12694952	ANKRD31	58.93	12.51	trans
7	12726518	LOC100336980	59.37	16.33	trans
7	12800942	LOC100296273	59.46	14.34	trans
7	12711148	EDNRB	59.79	12.18	trans
7	12692539	LOC785763	59.84	15.26	trans
7	12851009	GGCT	61.55	11.77	trans
7	12804444	EDN1	61.67	15.61	trans
7	12713813	MMP9	61.69	12.14	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
7	12800942	LOC100296273	62.68	15.12	trans
7	12726518	LOC100336980	62.74	15.42	trans
7	12803982	LOC786324	62.74	11.16	trans
7	12726518	LOC100336980	64.39	14.4	trans
7	12726518	LOC100336980	66.74	11.72	trans
7	12882303	PCDHB4	71.42	12.81	trans
7	12797804	MIR2369	77.46	12.69	trans
7	12836080	ADAMTS4	79.82	12.96	trans
7	12699011	MRPS24	82.05	12.69	trans
7	12752908	TAT	85	12.8	trans
7	12855928	RGS2	85.83	14.36	trans
7	12788774	MIR299	89.41	13.25	trans
7	12726518	LOC100336980	94.86	13.23	trans
7	12832873	PAG17	96.73	14.3	trans
7	12788987	ACAN	97.32	13.97	trans
7	12789156	SERPINA5	104.08	11.93	trans
7	12862854	LOC781146	107.46	11.95	trans
7	12703997	VSNL1	110.11	12.12	trans
7	12721397	TNFRSF6B	110.17	13.47	trans
7	12854718	PON1	110.3	13.16	trans
8	12767844	BIRC5	4.33	11.11	trans
8	12802955	DST	8.11	12.25	trans
8	12767437	PECAM1	8.18	11.46	trans
8	12808103	ARHGAP28	8.93	11.12	trans
8	12738469	IL10	12.19	10.93	trans
8	12766526	LOC100126815	22.34	13.06	trans
8	12723501	TRIM55	24.77	16.91	trans
8	12864245	MUC12	30.93	13.11	trans
8	12767023	CCL2	40.59	12.36	trans
8	12723501	TRIM55	42.98	11.51	trans
8	12714863	C13H20ORF118	53.76	12.01	trans
8	12901794	HSFY2	55.54	12.73	trans
8	12910802	USP9X	57.86	13.05	trans
8	12901794	HSFY2	60.19	11.08	trans
8	12767023	CCL2	62.6	12.64	trans
8	12745085	LOC100296011	68.86	12.25	trans
8	12861727	WNT10B	69.41	11.63	trans
8	12859128	CFLAR	77.85	12.82	trans
8	12899527	HTR1B	78.36	14.33	trans
8	12869838	IL8	80.53	11.71	trans
8	12871689	SLIT2	83.45	12.13	trans
8	12720619	TRIB3	83.66	11.32	trans
8	12803982	LOC786324	85.16	13.57	trans
8	12871689	SLIT2	86.48	11.86	trans
8	12894406	ADAMTSL1	87.64	15.39	trans
8	12699011	MRPS24	89.57	17.73	trans
8	12684354	TMPRSS2	92.31	13.27	trans
8	12817648	GP2	96.28	12.01	trans
8	12717232	LOC618696	98.49	13.63	trans
8	12717232	LOC618696	101.59	17.33	trans
8	12745564	OAS1X	103.29	13.7	trans
8	12722170	C14H80ORF59	107.4	12.58	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
8	12794425	TIMP4	109.77	12	trans
8	12787160	C7	111.19	12.48	trans
9	12776788	PTAFR	4.34	11.34	trans
9	12894406	ADAMTSL1	5.35	13.84	trans
9	12832903	PAG21	9.83	14.71	trans
9	12811609	ITGAM	14.86	11.79	trans
9	12857108	TIMP3	14.86	12.15	trans
9	12776788	PTAFR	14.92	11.03	trans
9	12890848	RORB	20.94	14.49	trans
9	12859619	USP18	22.19	10.92	trans
9	12801086	VEGFA	22.52	11.24	trans
9	12802955	DST	23.55	10.91	trans
9	12775258	PLA2G2D4	25.12	13.76	trans
9	12807256	PRP2	31.91	11.12	trans
9	12763683	NTN1	34.41	11.02	trans
9	12792372	ELL3	34.55	12.07	trans
9	12788856	MIR411	34.92	11.28	trans
9	12738690	TNFRSF1B	35.06	13.67	trans
9	12776406	IFI6	40.36	10.83	trans
9	12814178	PILRA	40.43	13.46	trans
9	12866799	NR4A1	44.84	11.86	trans
9	12688001	THBS1	44.94	13.93	trans
9	12902909	TIMP1	44.94	11.62	trans
9	12823120	BNIP3	51.61	12.31	trans
9	12688001	THBS1	51.91	12.93	trans
9	12713397	LOC100301215	53.17	13.24	trans
9	12763683	NTN1	56.11	12.27	trans
9	12810056	CIDEA	56.21	12.74	trans
9	12757751	NETO2	60.07	11.82	trans
9	12763683	NTN1	65.39	15.14	trans
9	12807256	PRP2	67.64	11.51	trans
9	12807256	PRP2	70.23	11.47	trans
9	12726663	CD44	72.32	11.86	trans
9	12791746	NFKBIA	72.41	11.52	trans
9	12807256	PRP2	76.53	11.14	trans
9	12804243	LOC100298767	81.48	11.28	trans
9	12807256	PRP2	81.8	11.27	trans
9	12722170	C14H80ORF59	82.62	12.11	trans
9	12699011	MRPS24	88.54	11.06	trans
9	12699011	MRPS24	92	14.94	trans
9	12708934	LOC100337216	95.05	11.88	trans
9	12825041	DKK4	95.15	17.14	trans
9	12887066	EDIL3	96.11	12.31	trans
9	12811609	ITGAM	96.19	12.03	trans
9	12730190	FAM55B	96.49	11.53	trans
9	12797804	MIR2369	97.55	12.7	trans
9	12804243	LOC100298767	97.88	11.78	trans
9	12874291	CXCL11	98.2	15.84	trans
9	12887066	EDIL3	99.17	12.84	trans
9	12683354	IL12A	102.72	11.06	trans
10	12788774	MIR299	11.09	11.55	trans
10	12735389	LOC510860	12	13.34	trans
10	12735389	LOC510860	13.23	12.35	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
10	12735389	LOC510860	14.62	11.21	trans
10	12825466	SLC7A2	26.65	12.8	trans
10	12910827	MIR450	28.45	11.24	trans
10	12709756	STOML3	28.61	15.11	trans
10	12892785	SLC1A1	29.57	13.23	trans
10	12825466	SLC7A2	29.71	12.79	trans
10	12910827	MIR450	30.83	12.86	trans
10	12825466	SLC7A2	32.34	14.47	trans
10	12794425	TIMP4	32.39	12.35	trans
10	12705763	RHOB	33.02	14.7	trans
10	12793325	FBLN5	34.39	12.22	trans
10	12685960	MME	37.25	14.81	trans
10	12678266	LOC100294973	41.06	11.81	trans
10	12678266	LOC100294973	44.02	13.39	trans
10	12862177	LOC613416	44.83	12.68	trans
10	12678266	LOC100294973	47.7	15.78	trans
10	12887066	EDIL3	50.51	15.54	trans
10	12805748	BOLA	50.57	12.26	trans
10	12869838	IL8	56.61	12.63	trans
10	12779840	CXCR1	56.67	12.42	trans
10	12720619	TRIB3	76.34	11.11	trans
10	12788774	MIR299	81.67	16.23	trans
10	12682948	MUC13	88.71	12.61	trans
10	12788856	MIR411	95.94	12.99	trans
10	12788856	MIR411	99.25	14.84	trans
10	12678517	MX1	99.25	11.87	trans
11	12864245	MUC12	0.12	12	trans
11	12781790	GAD1	3.56	11.53	trans
11	12825859	PLAU	3.56	11.75	trans
11	12726914	DGAT2	8.33	11.96	trans
11	12709756	STOML3	9.06	15.81	trans
11	12788987	ACAN	9.71	11.84	trans
11	12870010	CXCL6	12.37	11.09	trans
11	12709756	STOML3	18.71	12.44	trans
11	12736063	HMCN1	24.41	11.52	trans
11	12767029	CCL8	35.27	12.02	trans
11	12683618	CD80	40.29	11.01	trans
11	12721397	TNFRSF6B	40.76	12.08	trans
11	12759325	LOC616720	43.95	17.61	trans
11	12694952	ANKRD31	45.3	11.94	trans
11	12863952	IGF1	45.3	11.2	trans
11	12721397	TNFRSF6B	45.3	10.83	trans
11	12713955	TKDP4	50.35	12.78	trans
11	12810056	CIDEA	52	11.73	trans
11	12714863	C13H20ORF118	52.57	13.57	trans
11	12828726	RTKN2	56.36	14.69	trans
11	12694952	ANKRD31	58.93	12.81	trans
11	12851774	PIP	59.77	11.79	trans
11	12678266	LOC100294973	75.06	12.25	trans
11	12710639	ABCC4	86.08	11.95	trans
11	12847346	LOC614522	97.17	12.55	trans
11	12892785	SLC1A1	102.14	12.98	trans
11	12725362	SLC7A13	102.14	11.23	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
11	12800052	LRRN1	104.52	12.35	trans
11	12823120	BNIP3	105.5	12.44	trans
11	12779840	CXCR1	105.91	14.46	trans
11	12824843	ANGPT2	106.08	11.22	trans
12	12813377	MMP25	2.66	11.24	trans
12	12763683	NTN1	3.37	11.42	trans
12	12708857	LOC100336999	3.73	12.89	trans
12	12835200	LOC619012	11.74	13.7	trans
12	12745324	TLR2	11.74	11.48	trans
12	12803982	LOC786324	16.74	13.11	trans
12	12875578	TLR1	19.14	11.57	trans
12	12686574	PTX3	19.2	14.16	trans
12	12803982	LOC786324	20.1	11.86	trans
12	12727165	LOC506943	24	11.63	trans
12	12733686	C15H11ORF70	29.28	12.62	trans
12	12866390	SLCO1C1	38.92	11.9	trans
12	12721397	TNFRSF6B	39.62	11.31	trans
12	12738469	IL10	44.73	10.82	trans
12	12869915	CXCL2	47.18	10.96	trans
12	12869915	CXCL2	51.98	15.15	trans
12	12733176	MPEG1	52.65	13.19	trans
12	12832740	PAG3	54	11.96	trans
12	12730190	FAM55B	54.53	13.87	trans
12	12825041	DKK4	54.95	12	trans
12	12811609	ITGAM	54.95	13.42	trans
12	12823457	MSR1	55.23	12.19	trans
12	12688001	THBS1	55.23	11.4	trans
12	12910827	MIR450	59.05	11.79	trans
12	12910827	MIR450	61.38	14.07	trans
12	12906413	EIF2S3Y	65.88	11.99	trans
12	12708934	LOC100337216	78.85	12.6	trans
12	12727165	LOC506943	81.15	10.96	trans
13	12872284	CXCL3	7.57	12.67	trans
13	12872284	CXCL3	9.53	14.54	trans
13	12747162	OAS2	26.51	13.86	trans
13	12704418	RSAD2	26.51	12.23	trans
13	12863952	IGF1	29.78	11.13	trans
13	12693536	MMP14	30.24	14.17	trans
13	12688001	THBS1	30.5	11.71	trans
13	12721397	TNFRSF6B	30.63	16.31	trans
13	12778017	IFIH1	40.28	12.26	trans
13	12748219	OAS1Y	40.28	13.26	trans
13	12859619	USP18	40.34	11.55	trans
13	12722170	C14H80ORF59	45.59	12.99	trans
13	12733869	PRG3	52.72	15.27	trans
13	12832903	PAG21	53.41	13.63	trans
13	12809127	TTR	53.41	13	trans
13	12805255	BOLA-NC1	56.11	12.59	trans
13	12837623	LOC510382	66.04	13.78	trans
13	12708857	LOC100336999	69.01	14.83	trans
13	12738469	IL10	69.87	10.95	trans
13	12789434	TRAF3	73.32	14.45	trans
13	12683354	IL12A	75.29	12.13	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
13	12854718	PON1	75.58	12.31	trans
13	12717920	ADA	76.53	12.68	trans
13	12804243	LOC100298767	76.53	13.42	trans
13	12832863	PAG18	76.53	16.27	trans
13	12713813	MMP9	76.58	12.27	cis
13	12767437	PECAM1	77.73	11.01	trans
13	12767844	BIRC5	78.78	13.04	trans
13	1271148	EDNRB	80.9	12.7	trans
13	12775855	FAP	81.55	13.58	trans
14	12728162	LOC516636	2.49	11.02	trans
14	12791746	NFKBIA	4.03	12	trans
14	12874291	CXCL11	4.45	15.73	trans
14	12728162	LOC516636	8.3	17.89	trans
14	12846994	CYP4B1	9.15	17.64	trans
14	12846994	CYP4B1	10.05	12.91	trans
14	12797804	MIR2369	10.05	15.11	trans
14	12910827	MIR450	10.53	11.97	trans
14	12795384	DNASE1L3	10.74	11.97	trans
14	12813377	MMP25	10.74	10.94	trans
14	12784242	MAN1C1	10.84	12.85	trans
14	12709756	STOML3	11.35	13.23	trans
14	12797804	MIR2369	13.2	13.88	trans
14	12708857	LOC100336999	13.45	11.71	trans
14	12745564	OAS1X	16.27	14.55	trans
14	12901794	HSFY2	17.53	10.84	trans
14	12823120	BNIP3	20.04	12.25	trans
14	12797804	MIR2369	20.99	11.5	trans
14	12861727	WNT10B	26.93	11.92	trans
14	12798275	URGCP	26.99	12.65	trans
14	12901794	HSFY2	30.36	13.11	trans
14	12909398	SMARCA1	43.26	12.55	trans
14	12757751	NETO2	44.77	13.64	trans
14	12763683	NTN1	45.38	11.88	trans
14	12893949	LOC516661	47.51	17.19	trans
14	12757751	NETO2	48.55	14.68	trans
14	12688730	LOC509034	68.5	12.66	trans
14	12688416	CHAC1	69.61	14.91	trans
14	12889316	DDX58	69.61	10.8	trans
14	12704139	EIF2AK2	69.61	11.06	trans
14	12713920	DNMT3B	71.67	12.92	trans
14	12843823	IFI44	71.67	10.89	trans
14	12832903	PAG21	71.67	13.22	trans
14	12713920	DNMT3B	73.34	13.14	trans
14	12791724	BCL2A1	73.64	12.13	trans
14	12711148	EDNRB	73.64	11.25	trans
14	12859128	C1R	73.79	11.41	trans
14	12851009	GGCT	73.79	13.11	trans
14	12733176	MPEG1	73.79	10.81	trans
14	12843823	IFI44	74.32	11.34	trans
14	12717920	ADA	75.55	11.52	trans
14	12872284	CXCL3	80.7	11.33	trans
15	12836080	ADAMTS4	2.95	10.84	trans
15	12683618	CD80	3	12.29	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
15	12818707	IFIT1	15.33	15.79	trans
15	12678533	MX2	15.33	16.64	trans
15	12748219	OAS1Y	15.33	13.8	trans
15	12704418	RSAD2	15.33	14.97	trans
15	12878460	ANGPTL4	15.44	13.25	trans
15	12871689	SLIT2	16.03	14.41	trans
15	12717920	ADA	16.34	11.75	trans
15	12789434	TRAF3	19.57	16.4	trans
15	12696603	GREM1	20.04	15.23	trans
15	12745287	FGF2	21.36	10.86	trans
15	12789434	TRAF3	21.78	13.63	trans
15	12789434	TRAF3	24.18	13.97	trans
15	12717920	ADA	29.13	11.36	trans
15	12824843	ANGPT2	31.31	12.12	trans
15	12733099	TRAF6	33.62	13.16	trans
15	12788774	MIR299	35.55	10.94	trans
15	12728162	LOC516636	40.01	17.39	trans
15	12907734	STS	40.62	12.54	trans
15	12761259	SUMO2	41.8	11.7	trans
15	12800052	LRRN1	42.93	13.15	trans
15	12728162	LOC516636	47.21	19.67	cis
15	12726518	LOC100339860	47.79	12.28	cis
15	12726518	LOC100336980	53.2	13.07	trans
15	12728162	LOC516636	53.34	17.54	trans
15	12832787	PAG6	64.48	12.56	trans
15	12708472	SULT1C4	64.56	11.18	trans
15	12869838	IL8	65.84	10.96	trans
15	12794425	TIMP4	66.76	11.1	trans
15	12832787	PAG6	66.96	12.51	trans
15	12837063	IFI16	68.31	10.89	trans
15	12832787	PAG6	69.11	12.76	trans
15	12825041	DKK4	69.34	12	trans
15	12823457	MSR1	69.64	14.12	trans
15	12847346	LOC614522	70.4	11.41	trans
15	12832787	PAG6	71.32	13.51	trans
15	12767844	BIRC5	71.39	14.87	trans
15	12894406	ADAMTSL1	71.58	11.53	trans
15	12869630	MIR218-1	72	16.24	trans
15	12871689	SLIT2	72.23	10.8	trans
15	12832787	PAG6	72.5	11.94	trans
15	12847346	LOC614522	72.61	12.45	trans
15	12823457	MSR1	72.61	12.72	trans
15	12708472	SULT1C4	74.31	13.18	trans
15	12910493	DDX3Y	74.62	11.83	trans
15	12805255	BOLA-NC1	75.64	14.49	trans
15	12864245	MUC12	76.24	11.11	trans
15	12708472	SULT1C4	76.5	13.77	trans
15	12894406	ADAMTSL1	77.56	15.36	trans
15	12703842	IL1B	77.66	12.87	trans
15	12894406	ADAMTSL1	79.71	18.2	trans
15	12864245	MUC12	79.71	16.4	trans
15	12864245	MUC12	81.45	13.34	trans
15	12818707	IFIT1	81.58	12.03	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
15	12704418	RSAD2	81.58	11.67	trans
15	12859619	USP18	81.84	11.55	trans
15	12778017	IFIH1	81.91	12.12	trans
15	12703842	IL1B	82.7	11.93	trans
15	12847346	LOC614522	83.49	11.18	trans
16	12855928	RGS2	3.15	12.99	trans
16	12855928	RGS2	11.23	17.36	trans
16	12810780	TMEM200C	11.6	11.57	trans
16	12855928	RGS2	13	18.85	trans
16	12852910	CD36	16.52	11.63	trans
16	12806486	BLA-DQB	34.54	10.88	trans
16	12806486	BLA-DQB	36.03	12	trans
16	12793863	LOC618633	53.14	12.97	trans
16	12685446	DAZL	53.3	12.53	trans
16	12893495	HPGD	57.72	12.7	trans
16	12733869	PRG3	61.22	14.13	trans
17	12738469	IL10	10.83	12.22	trans
17	12823457	MSR1	11.15	11.74	trans
17	12802955	DST	11.46	14.29	trans
17	12693536	MMP14	11.46	11.09	trans
17	12775855	FAP	12.66	11.66	trans
17	12693536	MMP14	15.25	11.96	trans
17	12784242	MAN1C1	17.49	13.39	trans
17	12749561	MMP2	17.49	16.89	trans
17	12755776	PLAUR	17.74	12.62	trans
17	12901478	FABP7	18.35	12.09	trans
17	12859128	C1R	21.82	12.3	trans
17	12717920	ADA	22.09	17.61	trans
17	12713920	DNMT3B	22.09	11.97	trans
17	12846771	LOC538699	22.09	12.66	trans
17	12755776	PLAUR	22.09	14.69	trans
17	12861727	WNT10B	22.09	11.22	trans
17	12775855	FAP	22.64	12.57	trans
17	12697589	GLDN	27.48	11.98	trans
17	12699011	MRPS24	28.4	11.57	trans
17	12901794	HSFY2	32.77	16.03	trans
17	12688001	THBS1	33.86	11.64	trans
17	12910493	DDX3Y	34.03	12.07	trans
17	12906413	EIF2S3Y	34.03	13.55	trans
17	12906425	UTY	34.03	13.1	trans
17	12863039	LOC784883	35.86	14.14	trans
17	12901794	HSFY2	37.36	14.23	trans
17	12906413	EIF2S3Y	38.4	11.36	trans
17	12910802	USP9X	38.4	16.14	trans
17	12775855	FAP	40.79	12.24	trans
17	12906413	EIF2S3Y	41.49	11.15	trans
17	12802955	DST	42.82	11.7	trans
17	12807029	KCNK5	46.77	13.11	trans
17	12807029	KCNK5	48.09	12.83	trans
17	12815205	SERPINE1	48.13	11.76	trans
17	12726663	CD44	48.3	12.01	trans
17	12815205	SERPINE1	49.93	10.9	trans
17	12681285	MECOM	50.5	12.13	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
17	12726663	CD44	52.3	10.87	trans
17	12889581	ADAM28	52.39	14.55	trans
17	12901794	HSFY2	57.63	17.26	trans
17	12910493	DDX3Y	59.21	11.46	trans
17	12906425	UTY	59.21	11.48	trans
17	12906413	EIF2S3Y	59.95	12.11	trans
17	12852910	CD36	61.16	11.84	trans
17	12730190	FAM55B	63.89	13.51	trans
17	12713813	MMP9	67.2	17.4	trans
17	12740649	VASH2	67.77	11.78	trans
17	12752908	TAT	73.6	12.07	trans
18	12872284	CXCL3	1.74	11.75	trans
18	12847645	OTOS	1.85	13.45	trans
18	12740864	RGS1	2.8	11.43	trans
18	12740649	VASH2	2.87	12.21	trans
18	12756915	LOC512150	8.04	13.98	trans
18	12736063	HMCN1	8.45	12.03	trans
18	12708472	SULT1C4	8.74	12.3	trans
18	12791746	NFKBIA	11.45	11.29	trans
18	12787160	C7	16.47	12.31	trans
18	12819300	LIPK	16.47	12.38	trans
18	12825466	SLC7A2	24.68	13.84	trans
18	12761259	SUMO2	33.62	15.49	trans
18	12832903	PAG21	34.1	11.32	trans
18	12761259	SUMO2	34.73	11.21	trans
18	12761259	SUMO2	35.89	15.36	trans
18	12889316	DDX58	37.2	11.21	trans
18	12778017	IFIH1	37.2	11.47	trans
18	12678517	MX1	38.11	14.06	trans
18	12678533	MX2	38.11	11.1	trans
18	12747162	OAS2	38.11	14.63	trans
18	12704418	RSAD2	38.11	14.99	trans
18	12832903	PAG21	40	19.44	trans
18	12696210	SLC27A2	56.09	12.44	trans
18	12851009	GGCT	59.96	13.56	trans
18	12791724	BCL2A1	62.69	12.81	trans
18	12789434	TRAF3	64.65	10.94	trans
19	12776788	PTAFR	6.73	12.03	trans
19	12794425	TIMP4	8.75	13.75	trans
19	12815205	SERPINE1	9.09	12.15	trans
19	12688001	THBS1	10.79	11.59	trans
19	12804444	EDN1	11.21	10.9	trans
19	12794425	TIMP4	12.59	12.73	trans
19	12878460	ANGPTL4	13.73	11.53	trans
19	12823120	BNIP3	14.02	12.65	trans
19	12853004	RELN	18.34	11.81	trans
19	12704139	EIF2AK2	18.78	12.06	trans
19	12778017	IFIH1	19.13	12.47	trans
19	12818707	IFIT1	19.13	13.94	trans
19	12748219	OAS1Y	19.13	14.47	trans
19	12859619	USP18	19.23	14.4	trans
19	12832787	PAG6	20.17	11.88	trans
19	12832775	PAG5	20.38	12.59	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
19	12784242	MAN1C1	20.41	11.14	trans
19	12688416	CHAC1	20.59	12.11	trans
19	12861019	CD163	20.62	13.07	trans
19	12807029	KCNK5	20.72	14.16	trans
19	12749561	MMP2	22.35	11.3	trans
19	12793325	FBLN5	23.15	11.95	trans
19	12745328	EDNRA	23.24	14.43	trans
19	12685960	MME	25.24	11.11	trans
19	12789434	TRAF3	28.14	16.55	trans
19	12887066	EDIL3	37.92	12.78	trans
19	12776406	IFI6	39.17	11.25	trans
19	12862854	LOC781146	42.64	16.86	trans
19	12853004	RELN	44.25	12.78	trans
19	12818707	IFIT1	44.67	11.25	trans
19	12748219	OAS1Y	44.75	12.42	trans
19	12749561	MMP2	44.82	15.32	trans
19	12748219	OAS1Y	45.66	14.12	trans
19	12893495	HPGD	46.66	16.2	trans
19	12899527	HTR1B	46.96	14.8	trans
19	12747162	OAS2	48.09	13.91	trans
19	12776406	IFI6	48.17	12.39	trans
19	12678517	MX1	48.17	16.01	trans
19	12836080	ADAMTS4	48.22	10.88	trans
19	12708857	LOC100336999	51.52	13.36	trans
19	12699011	MRPS24	51.55	11.22	trans
19	12683354	IL12A	53.9	11.26	trans
19	12833967	MGC157405	53.98	12.25	trans
19	12852910	CD36	54.27	10.87	trans
19	12810056	CIDEA	55.08	12.11	trans
19	12810056	CIDEA	60.46	11.36	trans
20	12873854	PLAC8	1.75	13.11	trans
20	12756915	LOC512150	8.06	16.58	trans
20	12759325	LOC616720	11.09	13.13	trans
20	12745085	LOC100296011	17.34	11.12	trans
20	12699169	GTF2A1L	18.91	12.41	trans
20	12745085	LOC100296011	18.91	13.36	trans
20	12832903	PAG21	19.05	12.4	trans
20	12745287	FGF2	26.42	12.39	trans
20	12825859	PLAU	34.03	12.64	trans
20	12824843	ANGPT2	43.27	12.14	trans
20	12832809	PAG9	43.7	11.98	trans
20	12824843	ANGPT2	45	12.21	trans
20	12731635	OR2AG2	46.42	11.1	trans
20	12857056	MFAP5	50.85	13.53	trans
20	12857056	MFAP5	51.46	13.46	trans
20	12731635	OR2AG2	52.53	15.68	trans
20	12788774	MIR299	52.99	11.05	trans
20	12788774	MIR299	55.6	11.15	trans
20	12857056	MFAP5	56.07	16.45	trans
20	12718226	TKDP3	57.94	14.07	trans
20	12718226	TKDP3	62.09	12.44	trans
20	12718226	TKDP3	63.36	13.75	trans
20	12813377	MMP25	64.94	11.58	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
21	12709756	STOML3	3.08	14.38	trans
21	12864073	SLC6A15	4.8	12.2	trans
21	12788987	ACAN	12.56	13.22	trans
21	12832787	PAG6	14.32	11.02	trans
21	12755776	PLAUR	15.11	12.23	trans
21	12836080	ADAMTS4	17.41	14.79	trans
21	12683618	CD80	18.99	12.8	trans
21	12793863	LOC618633	19.3	15.13	cis
21	12755491	LOC100336354	20.9	15.28	trans
21	12897782	MAN1A1	20.97	12.72	trans
21	12789434	TRAF3	21.04	14.27	trans
21	12695993	SLC10A1	22.91	12.56	trans
21	12789434	TRAF3	23.57	16.96	trans
21	12813377	MMP25	25.11	12.65	trans
21	12897782	MAN1A1	25.99	11.97	trans
21	12788987	ACAN	26.13	10.97	trans
21	12813377	MMP25	26.72	11.64	trans
21	12800942	LOC100296273	57.58	11.92	trans
21	12846994	CYP4B1	59.35	12.05	trans
21	12889581	ADAM28	59.74	12.08	trans
21	12710001	LOC530437	63.97	14.78	trans
22	12708934	LOC100337216	1.41	12.03	trans
22	12906413	EIF2S3Y	3.09	12.45	trans
22	12710001	LOC530437	3.22	14.15	trans
22	12694952	ANKRD31	3.32	13.2	trans
22	12699169	GTF2A1L	3.79	15.66	trans
22	12761259	SUMO2	5.59	13.2	trans
22	12819218	GSTO1	6	12.18	trans
22	12835200	LOC619012	18	12.7	trans
22	12733686	C15H11ORF70	21.47	11.71	trans
22	12789156	SERPINA5	24.09	14.56	trans
22	12874291	CXCL11	28.18	12.41	trans
22	12708934	LOC100337216	34.64	11.09	trans
22	12713955	TKDP4	38.89	14.07	trans
22	12714863	C13H20ORF118	39.4	14.63	trans
22	12714863	C13H20ORF118	42.48	11.19	trans
22	12688730	LOC509034	47.9	12.34	trans
22	12735389	LOC510860	47.9	11.88	trans
22	12752908	TAT	47.9	11.7	trans
22	12731635	OR2AG2	50.44	12.71	trans
22	12694952	ANKRD31	50.67	11.88	trans
22	12837623	LOC510382	50.74	11.5	trans
22	12856728	NTS	60.04	15.62	trans
22	12686574	PTX3	60.11	11.04	trans
23	12696210	SLC27A2	2.8	13.23	trans
23	12794425	TIMP4	6.21	12.65	trans
23	12718226	TKDP3	9.65	13.9	trans
23	12727165	LOC506943	10.14	12.49	trans
23	12907734	STS	11.37	18.08	trans
23	12907734	STS	12.69	11.49	trans
23	12902874	XIAP	15.13	11.25	trans
23	12847645	OTOS	16.03	13.04	trans
23	12847645	OTOS	19.18	12.47	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
23	12806486	BLA-DQB	23.38	12.08	trans
23	12805748	BOLA	29.17	11.36	cis
23	12833967	MGC157405	31.33	11.16	trans
23	12805748	BOLA	31.47	11.67	trans
23	12805748	BOLA	33.17	11.45	trans
23	12857056	MFAP5	35.75	11.36	trans
23	12745328	EDNRA	38.99	11.51	trans
23	12749561	MMP2	41.2	11.96	trans
23	12736063	HMCN1	41.82	12.09	trans
23	12864245	MUC12	45.89	16.23	trans
23	12695993	SLC10A1	46.89	11.48	trans
23	12893949	LOC516661	49.16	12.79	trans
24	12869915	CXCL2	4.17	12.28	trans
24	12869838	IL8	5.22	12.39	trans
24	12704139	EIF2AK2	8.27	14.11	trans
24	12704418	RSAD2	9.23	11.62	trans
24	12708472	SULT1C4	21.05	10.89	trans
24	12708472	SULT1C4	24.06	13.86	trans
24	12713813	MMP9	25.3	13.77	trans
24	12713813	MMP9	26.96	11.31	trans
24	12829677	FADD	40.02	15.37	trans
24	12788780	MIR379	40.18	13.73	trans
24	12683618	CD80	45.42	12.29	trans
24	12776788	PTAFR	45.48	11.06	trans
24	12688001	THBS1	46.45	11.04	trans
24	12693536	MMP14	46.56	11.44	trans
24	12683618	CD80	46.59	14.3	trans
24	12766839	LOC100336469	48.18	11.18	trans
24	12902506	LOC100300877	54.1	11.65	trans
24	12688130	RNASE1	55.24	13.33	trans
24	12832821	PAG11	56.84	13.56	trans
24	12909398	SMARCA1	61.34	11.97	trans
25	12726518	LOC100336980	7.34	12.49	trans
25	12864245	MUC12	10.56	13.4	trans
25	12823120	BNIP3	11.16	11.37	trans
25	12832787	PAG6	11.29	14.45	trans
25	12832809	PAG9	19.03	13.33	trans
25	12775239	CFLAR	25.07	11.75	trans
25	12738690	TNFRSF1B	32.11	13.19	trans
25	12804444	EDN1	32.17	11.27	trans
25	12811609	ITGAM	32.28	14.52	trans
25	12755491	LOC100336354	35	14.28	trans
25	12804755	PRP-VII	39.95	13.81	trans
25	12678517	MX1	40.85	11.67	trans
25	12748219	OAS1Y	40.85	12.93	trans
25	12836080	ADAMTS4	41.04	13.11	trans
25	12755776	PLAUR	41.08	11.4	trans
26	12807256	PRP2	5.28	19.07	trans
26	12819300	LIPK	9.88	10.97	cis
26	12862177	LOC613416	12.08	12.07	trans
26	12862177	LOC613416	14.89	14.83	trans
26	12862177	LOC613416	16.55	14.14	trans
26	12736063	HMCN1	27.98	11.73	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
26	12819300	LIPK	28.02	13.13	trans
26	12686574	PTX3	29.96	11.84	trans
26	12819300	LIPK	30.76	17.3	trans
26	12894406	ADAMTSL1	32.92	11.9	trans
26	12688001	THBS1	33.42	11.62	trans
26	12907379	TLR7	37.83	11.77	trans
26	12869630	MIR218-1	39.25	12.12	trans
26	12794515	CCR1	39.56	11.76	trans
26	12823457	MSR1	39.82	11.51	trans
26	12902909	TIMP1	39.94	14.42	trans
26	12888026	GADD45B	40.75	12.02	trans
26	12888147	ZNF474	40.98	12.64	trans
26	12818707	IFIT1	41.67	13.72	trans
26	12794515	CCR1	41.73	13.5	trans
26	12838373	LOC514143	41.79	11.7	trans
26	12678533	MX2	41.79	12.71	trans
26	12704418	RSAD2	41.79	11.23	trans
26	12837063	IFI16	41.83	12.08	trans
26	12859619	USP18	41.83	12.75	trans
26	12688001	THBS1	41.9	12.72	trans
26	12793325	FBLN5	43.24	12.22	trans
26	12832798	PAG7	43.41	17.94	trans
26	12888026	GADD45B	43.87	11.93	trans
26	12810780	TMEM200C	44.16	15.19	trans
26	12832798	PAG7	45.32	12.39	trans
26	12835200	LOC619012	45.96	12.82	trans
26	12873854	PLAC8	47.02	12.92	trans
26	12708472	SULT1C4	49.08	15.83	trans
27	12703997	VSNL1	0.26	12.17	trans
27	12832821	PAG11	1.32	12.89	trans
27	12794515	CCR1	12.95	12.49	trans
27	12767029	CCL8	20.77	13.76	trans
27	12681285	MECOM	29.19	12.04	trans
27	12851774	PIP	37.08	13.4	trans
27	12889581	ADAM28	39.71	13.1	trans
28	12878460	ANGPTL4	14.39	11.44	trans
28	12788780	MIR379	15.48	13.84	trans
28	12766526	LOC100126815	15.57	11.04	trans
28	12888026	GADD45B	15.61	13.4	trans
28	12878460	ANGPTL4	16.05	13.44	trans
28	12720619	TRIB3	16.38	12.69	trans
28	12789156	SERPINA5	18.16	11.65	trans
28	12869915	CXCL2	23.68	11.04	trans
28	12707949	MRPL33	23.77	14.12	trans
28	12745564	OAS1X	23.77	11.5	trans
28	12759325	LOC616720	25.07	13.23	trans
28	12869915	CXCL2	26.8	12.07	trans
28	12832798	PAG7	26.89	11.39	trans
28	12869915	CXCL2	27.99	14.14	trans
28	12878460	ANGPTL4	33.04	12.27	trans
28	12779840	CXCR1	34.25	12.84	trans
29	12869424	LOC788357	2.77	13.04	trans
29	12776406	IFI6	4.56	12.04	trans

BTA	TranscriptID	Gene Symbol	max. Signal (Mb)	LRT	cis/trans
29	12866799	NR4A1	9.46	11.49	trans
29	12874454	RASSF6	9.77	13.37	trans
29	12874454	RASSF6	11.02	12.02	trans
29	12708472	SULT1C4	16.38	13.93	trans
29	12699169	GTF2A1L	21.41	19.54	trans
29	12695993	SLC10A1	28.36	11.83	trans
29	12695993	SLC10A1	30.64	11.76	trans
29	12852910	CD36	34.05	12.89	trans
29	12851774	PIP	35.27	13.5	trans
29	12733176	MPEG1	36.16	13.76	trans
29	12793325	FBLN5	36.5	10.85	trans
29	12733099	TRAF6	36.63	12.85	trans
29	12733099	TRAF6	37.76	14.14	trans
29	12823120	BNIP3	38.41	12.58	trans
29	12776788	PTAFR	40.2	13.32	trans
29	12805993	LOC527645	40.25	11.58	trans
29	12733099	TRAF6	40.46	14.95	trans
29	12787160	C7	41.34	11.97	trans
29	12733099	TRAF6	41.84	11.84	trans
29	12787160	C7	42.03	11.84	trans
29	12787160	C7	43.05	11.68	trans
29	12791746	NFKBIA	45.92	13.42	trans
29	12857108	TIMP3	46.36	16.24	trans

Profil	BTA																													Zeilensumme	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29		
MAN1C1	2			2										1			1		1												7
MARCH3																	1											1			3
MECOM		1															1												1		4
MFAP5																				3			1								4
MGC134093																							1								2
MGC157405																			1				1								2
MGC157408																															2
MIR218-1															1											1					2
MIR2351																															2
MIR2369							1		1					3																	5
MIR299							1			2					1						2										6
MIR379																								1					1		2
MIR411									1	2																					3
MIR450			1	1						2		2		1																	7
MME										1									1												2
MMP12																															1
MMP13						1																									1
MMP14				1		1							1					2						1							6
MMP2	1																1		2				1								5
MMP25											1		1							1	2										5
MMP3							1																								1
MMP7																															1
MMP9			1				1						1				1							2							6
MPEG1				1		1						1		1																1	5
MRPL33				1																									1		2
MRPS24			2				1	1	2								1		1												8
MSR1	1			1		1					1				2		1										1				8
MUC12							1				1				3								1		1						7
MUC13			1							1																					2
MUC16																															2
MX1										1									1	1					1						4
MX2															1				1							1					3
NETO2		1							1					2																	4
NFKBIA	1			1					1					1					1											1	6
NPSR1																															1
NR4A1									1																				1		2
NTN1				1		1				3			1		1																7
NTS																							1								1
OAS1X						1		1						1															1		4
OAS1Y													1		1						3					1					6

Profil	BTA																													Zeilensumme
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
RHOB				3						1																				4
RNASE1																								1						1
RORB									1																					1
RSAD2												1		2			1						1		1					6
RTKN2				1						1																				2
SECTM1																														
SERPINA14																														
SERPINA5		1					1															1						1		4
SERPINE1																2		1												3
SLC10A1																					1		1						2	4
SLC10A2																														
SLC1A1		1								1	1																			3
SLC27A2			1															1					1							3
SLC6A15				1																		1								2
SLC7A13										1																				1
SLC7A2										3								1												4
SLCO1C1											1																			1
SLIT2		1						2							2															5
SLPI																														
SMARCA1														1										1						2
SPON1																														
STOML3										1	2			1								1								5
STS							1								1								2							4
SULT1C4				1											3			1					2		1			1		9
SUMO2				1											1			3				1								6
TAC3																														
TAT		1					1										1						1							4
TCTEX1D1			1																											1
THBS1				1		1			2			1	1			1		1						1		2				11
TIMP1	1						1		1																		1			4
TIMP2	1																													1
TIMP3				2			1		1																				1	5
TIMP4								1		1					1				2				1							6
TKDP1																														
TKDP3																					3		1							4
TKDP4										1													1							2
TLR1											1																			1
TLR2											1																			1
TLR7				1																							1			2
TMEM200C															1												1			2

Profil	BTA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	Zeilensumme	
		TMEM229B		1	1																											
TMPRSS2									1																							1
TNFRSF1B		1	1	1	1					1																1						6
TNFRSF6B						1		1				2	1	1												1						6
TRAF3		1												1		3			1	1		2									9	
TRAF6					1											1														4	6	
TRGV3-2			1	1																											2	
TRIB3								1	1		1																		1		4	
TRIM55		1							2																						3	
TTR														1																	1	
URGCP								1							1																2	
USP18										1				1		1				1							1				5	
USP9X				1	1				1										1												4	
UTY																			2												2	
VASH2																			1	1											2	
VEGFA										1																					1	
VSNL1								1																				1			2	
WNT10B		2							1						1			1													5	
XIAP				2																						1					3	
ZNF474																											1				1	
Spaltensumme		51	35	33	66	17	25	48	34	48	29	31	28	30	42	59	11	48	26	46	23	21	23	21	20	15	34	7	17	25	913	

Anhang 4: Diplotypeeffekte und Haplotypen in signifikanten 40 SNP-Fenstern

Anhang 4.1: Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von BNIP3 auf BTA04

Die Studientiere (TierLID) sind sortiert nach ihren Diplotypeeffekten (DipEff) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Paternaler (pHap) und maternaler Haplotyp (mHap) sowie das zugehörige Expressionsniveau (eProfil) von BNIP3 sind angegeben.

TierLID	pHap	mHap	eProfil	DipEff
HF0417	14	15	9.20	-0.73
HF0523	14	8	9.13	-0.71
HF0407	9	10	9.05	-0.55
HF0519	9	6	9.41	-0.44
HF0418	8	8	8.92	-0.42
HF0546	28	3	9.38	-0.38
HF0439	18	15	9.38	-0.36
HF0409	3	11	9.08	-0.36
HF0501	19	22	9.55	-0.34
HF0581	28	29	9.99	-0.31
HF0418	9	16	9.29	-0.30
HF0412	9	12	9.34	-0.28
HF0567	28	6	9.93	-0.27
HF0405	5	6	9.46	-0.20
HF0464	18	19	9.49	-0.13
HF0429	8	3	9.73	-0.13
HF0556	3	8	10.47	-0.13
HF0414	13	5	9.45	-0.10
HF0413	3	6	9.22	-0.08
HF0502	7	14	9.17	-0.07
HF0568	6	17	9.83	-0.02
HF0549	21	27	9.55	0.01
HF0515	23	5	9.51	0.08
HF0547	21	8	9.47	0.09
HF0558	8	21	10.19	0.09
HF0421	8	4	9.78	0.12
HF0522	8	24	9.66	0.14
HF0406	7	8	9.46	0.25
HF0485	2	20	9.69	0.31
HF0402	3	4	9.70	0.36
HF0574	8	2	10.02	0.36
HF0489	2	15	9.70	0.37
HF0516	1	17	9.56	0.37
HF0553	3	24	10.15	0.42
HF0490	1	21	9.44	0.52
HF0551	1	21	10.18	0.52
HF0423	3	7	9.76	0.52
HF0434	7	17	9.54	0.55
HF0527	25	21	10.00	0.63
HF0401	1	2	9.64	0.81

Anhang 4.2: Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von CXCL3 auf BTA13

Die Studientiere (TierLID) sind sortiert nach ihren Diplotypeeffekten (DipEff) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Paternaler (pHap) und maternaler Haplotyp (mHap) sowie das zugehörige Expressionsniveau (eProfil) von CXCL3 sind angegeben.

TierLID	pHap	mHap	eProfil	DipEff
HF0556	4	8	8.37	-0.86
HF0406	4	6	7.64	-0.67
HF0407	7	8	7.28	-0.63
HF0421	7	4	7.37	-0.47
HF0416	7	12	7.09	-0.43
HF0412	9	1	7.41	-0.43
HF0516	14	24	7.05	-0.37
HF0402	3	4	7.18	-0.36
HF0417	13	8	7.02	-0.32
HF0558	29	1	8.17	-0.27
HF0401	1	2	7.48	-0.24
HF0489	4	21	7.83	-0.23
HF0581	6	1	8.27	-0.17
HF0501	4	1	7.47	-0.14
HF0549	5	9	8.09	-0.10
HF0464	7	19	7.75	-0.08
HF0439	7	18	8.06	-0.05
HF0546	27	28	8.17	-0.03
HF0418	3	10	7.75	0.00
HF0515	22	23	7.49	0.03
HF0434	14	17	8.04	0.03
HF0429	1	16	7.58	0.06
HF0574	1	31	7.94	0.08
HF0485	2	20	8.24	0.09
HF0519	3	1	7.84	0.10
HF0405	2	5	7.31	0.12
HF0522	7	1	8.30	0.19
HF0414	5	11	7.80	0.24
HF0567	6	5	9.17	0.26
HF0409	1	1	7.05	0.27
HF0502	1	1	7.29	0.27
HF0553	1	1	8.64	0.27
HF0490	1	14	8.19	0.30
HF0413	5	10	8.16	0.44
HF0527	25	26	7.42	0.48
HF0547	5	7	8.37	0.50
HF0423	14	15	8.56	0.54
HF0523	13	5	7.65	0.59
HF0551	5	5	8.23	0.87
HF0568	30	13	8.08	1.11

Anhang 4.3: Diplotypeneffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von MMP25 auf BTA14

Die Studientiere (TierLID) sind sortiert nach ihren Diplotypeneffekten (DipEff) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Paternaler (pHap) und maternaler Haplotyp (mHap) sowie das zugehörige Expressionsniveau (eProfil) von MMP25 sind angegeben.

TierLID	pHap	mHap	eProfil	DipEff
HF0409	10	10	7.59	-0.60
HF0429	10	10	7.44	-0.60
HF0568	27	28	7.27	-0.44
HF0549	10	3	7.07	-0.42
HF0553	10	3	6.90	-0.42
HF0574	10	3	7.21	-0.42
HF0407	8	9	7.47	-0.41
HF0547	24	10	7.19	-0.35
HF0418	4	10	7.60	-0.35
HF0581	4	10	7.23	-0.35
HF0402	3	4	7.52	-0.34
HF0412	4	3	7.33	-0.34
HF0423	10	15	7.23	-0.31
HF0558	25	26	7.25	-0.31
HF0490	18	10	7.00	-0.29
HF0489	6	17	7.43	-0.27
HF0485	10	5	7.34	-0.26
HF0501	10	19	7.79	-0.22
HF0546	3	3	7.89	-0.19
HF0464	6	10	7.42	-0.18
HF0519	21	3	7.66	-0.17
HF0551	21	3	7.33	-0.17
HF0434	16	6	7.17	-0.15
HF0527	23	3	7.69	-0.10
HF0516	21	22	7.83	-0.05
HF0439	6	3	7.43	0.02
HF0556	6	3	7.14	0.02
HF0522	12	3	7.71	0.06
HF0414	1	3	7.99	0.09
HF0515	20	10	7.51	0.09
HF0421	12	4	7.98	0.10
HF0567	4	1	7.31	0.11
HF0413	3	11	8.01	0.12
HF0405	5	6	8.12	0.19
HF0406	7	2	7.39	0.19
HF0502	3	14	8.26	0.25
HF0416	12	13	8.16	0.34
HF0401	1	2	7.82	0.45
HF0523	14	13	8.11	0.48
HF0417	14	1	8.06	0.56

Anhang 4.4: Diplotypeneffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von MAN1C1 auf BTA14

Die Studientiere (TierLID) sind sortiert nach ihren Diplotypeneffekten (DipEff) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Paternaler (pHap) und maternaler Haplotyp (mHap) sowie das zugehörige Expressionsniveau (eProfil) von MAN1C1 sind angegeben.

TierLID	pHap	mHap	eProfil	DipEff
HF0523	14	13	7.86	-0.82
HF0416	12	13	8.15	-0.57
HF0421	12	4	8.46	-0.40
HF0502	3	14	7.87	-0.35
HF0417	14	1	8.55	-0.30
HF0402	3	4	8.70	-0.21
HF0412	4	3	8.68	-0.21
HF0413	3	11	8.87	-0.21
HF0406	7	2	8.88	-0.17
HF0401	1	2	8.62	-0.16
HF0567	4	1	8.95	-0.14
HF0489	6	17	8.97	-0.11
HF0418	4	10	8.85	-0.07
HF0581	4	10	8.62	-0.07
HF0439	6	3	8.82	0.04
HF0556	6	3	8.77	0.04
HF0434	16	6	8.80	0.04
HF0522	12	3	9.04	0.04
HF0490	18	10	8.56	0.05
HF0547	24	10	8.79	0.07
HF0519	21	3	8.66	0.10
HF0551	21	3	9.03	0.10
HF0546	3	3	8.76	0.14
HF0527	23	3	8.74	0.17
HF0516	21	22	8.74	0.17
HF0405	5	6	8.81	0.23
HF0414	1	3	8.88	0.24
HF0464	6	10	8.59	0.27
HF0515	20	10	8.72	0.28
HF0407	8	9	8.55	0.34
HF0549	10	3	9.24	0.35
HF0553	10	3	8.88	0.35
HF0574	10	3	8.62	0.35
HF0558	25	26	8.63	0.42
HF0501	10	19	8.58	0.45
HF0485	10	5	9.03	0.47
HF0409	10	10	8.65	0.52
HF0429	10	10	8.71	0.52
HF0568	27	28	9.13	0.64
HF0423	10	15	9.17	0.84

Anhang 4.5: Diplotypeneffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von CXCL3 auf BTA18

Die Studientiere (TierLID) sind sortiert nach ihren Diplotypeneffekten (DipEff) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Paternaler (pHap) und maternaler Haplotyp (mHap) sowie das zugehörige Expressionsniveau (eProfil) von CXCL3 sind angegeben.

TierLID	pHap	mHap	eProfil	DipEff
HF0407	8	1	7.28	-0.91
HF0401	1	2	7.48	-0.78
HF0558	3	16	8.17	-0.58
HF0402	3	4	7.18	-0.49
HF0417	16	7	7.02	-0.43
HF0549	33	16	8.09	-0.40
HF0416	6	15	7.09	-0.39
HF0574	3	37	7.94	-0.38
HF0556	22	34	8.37	-0.36
HF0464	22	24	7.75	-0.35
HF0412	10	11	7.41	-0.30
HF0414	14	4	7.60	-0.29
HF0490	1	22	8.19	-0.28
HF0501	22	10	7.47	-0.26
HF0581	22	10	8.27	-0.26
HF0502	10	26	7.29	-0.25
HF0527	1	20	7.42	-0.19
HF0439	22	23	8.06	-0.16
HF0405	1	5	7.31	-0.14
HF0489	5	4	7.83	-0.14
HF0429	10	20	7.58	-0.14
HF0516	4	13	7.05	-0.13
HF0421	6	17	7.37	-0.10
HF0418	10	13	7.75	-0.10
HF0546	3	30	8.17	-0.09
HF0406	6	7	7.64	-0.06
HF0519	10	28	7.84	-0.06
HF0409	6	9	7.05	-0.05
HF0547	31	32	8.37	0.08
HF0523	16	29	7.65	0.31
HF0485	5	25	8.24	0.31
HF0413	12	13	8.16	0.37
HF0434	18	21	8.04	0.45
HF0551	29	7	8.23	0.52
HF0553	11	29	8.64	0.53
HF0515	22	27	7.49	0.56
HF0423	18	19	8.56	0.57
HF0522	11	27	8.30	0.58
HF0568	19	29	8.08	0.63
HF0567	35	36	9.17	0.66

Anhang 4.6: Diplotypeneffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von TIMP1 auf BTA26

Die Studientiere (TierLID) sind sortiert nach ihren Diplotypeneffekten (DipEff) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Paternaler (pHap) und maternaler Haplotyp (mHap) sowie das zugehörige Expressionsniveau (eProfil) von TIMP1 sind angegeben.

TierLID	pHap	mHap	eProfil	DipEff
HF0416	13	14	10.91	-0.34
HF0558	17	30	11.52	-0.24
HF0489	2	19	11.78	-0.15
HF0516	22	23	11.53	-0.15
HF0502	13	21	10.89	-0.15
HF0407	7	8	11.59	-0.11
HF0464	12	18	11.20	-0.10
HF0406	5	6	11.91	-0.09
HF0434	5	6	11.75	-0.09
HF0567	6	5	12.18	-0.09
HF0413	11	3	11.87	-0.08
HF0523	3	25	11.31	0.00
HF0405	3	4	11.73	0.00
HF0401	1	2	11.47	0.01
HF0402	1	3	11.80	0.03
HF0417	3	1	11.51	0.03
HF0485	3	1	12.05	0.03
HF0556	1	3	12.15	0.03
HF0501	5	20	11.57	0.04
HF0527	26	27	11.60	0.06
HF0439	12	17	11.79	0.13
HF0409	3	5	11.00	0.13
HF0418	5	3	11.84	0.13
HF0546	5	3	11.85	0.13
HF0581	6	12	12.14	0.17
HF0519	9	8	11.59	0.17
HF0551	29	12	12.00	0.18
HF0574	12	13	11.81	0.20
HF0412	9	10	11.69	0.20
HF0515	3	3	11.71	0.25
HF0553	3	3	11.90	0.25
HF0429	3	16	11.67	0.25
HF0522	9	24	11.62	0.28
HF0423	15	3	12.18	0.32
HF0421	9	3	11.59	0.32
HF0414	3	12	12.04	0.39
HF0490	3	12	11.70	0.39
HF0547	3	12	11.80	0.39
HF0568	31	12	11.77	0.45
HF0549	3	28	12.22	0.53

Anhang 4.7: Diplotypeneffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von FADD auf BTA24

Die Studientiere (TierLID) sind sortiert nach ihren Diplotypeneffekten (DipEff) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Paternaler (pHap) und maternaler Haplotyp (mHap) sowie das zugehörige Expressionsniveau (eProfil) von FADD sind angegeben.

TierLID	pHap	mHap	eProfil	DipEff
HF0522	3	25	7.03	-0.49
HF0490	10	20	6.61	-0.36
HF0515	8	23	7.07	-0.30
HF0417	13	14	7.12	-0.25
HF0549	28	3	6.69	-0.23
HF0421	3	3	7.42	-0.22
HF0412	8	9	7.00	-0.22
HF0413	10	9	7.16	-0.19
HF0485	18	3	6.76	-0.17
HF0553	1	25	6.75	-0.16
HF0402	2	3	7.32	-0.16
HF0527	3	9	6.64	-0.15
HF0519	3	24	6.94	-0.13
HF0574	32	33	6.71	-0.13
HF0414	11	12	7.07	-0.10
HF0551	29	30	6.86	-0.08
HF0439	6	6	6.94	-0.07
HF0581	9	21	6.68	-0.07
HF0501	21	21	7.28	-0.06
HF0489	4	19	7.02	-0.01
HF0409	1	7	6.79	-0.01
HF0568	13	1	6.98	0.02
HF0423	15	16	6.82	0.02
HF0556	31	3	6.85	0.06
HF0523	3	26	7.43	0.07
HF0407	6	5	7.05	0.08
HF0567	9	5	6.77	0.09
HF0418	3	1	7.22	0.10
HF0516	1	3	7.03	0.10
HF0546	3	1	6.95	0.10
HF0434	15	15	6.91	0.11
HF0464	4	17	6.98	0.13
HF0405	4	5	7.34	0.17
HF0401	1	2	7.29	0.17
HF0416	9	1	7.44	0.17
HF0429	9	1	6.87	0.17
HF0547	27	3	6.89	0.18
HF0406	1	4	7.09	0.27
HF0502	9	22	7.44	0.34
HF0558	26	1	7.07	0.40

Anhang 4.8: Diplotypeneffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von MIR379 auf BTA24

Die Studientiere (TierLID) sind sortiert nach ihren Diplotypeneffekten (DipEff) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Paternaler (pHap) und maternaler Haplotyp (mHap) sowie das zugehörige Expressionsniveau (eProfil) von MIR379 sind angegeben.

TierLID	pHap	mHap	eProfil	DipEff
HF0502	10	23	4.55	-1.77
HF0409	1	8	5.19	-1.61
HF0567	10	5	5.29	-1.14
HF0405	4	5	4.76	-1.05
HF0416	10	1	3.82	-1.04
HF0429	10	1	5.72	-1.04
HF0401	1	2	4.01	-1.04
HF0406	1	4	5.07	-0.95
HF0558	26	1	4.97	-0.89
HF0501	22	22	6.13	-0.86
HF0581	10	22	6.11	-0.85
HF0464	4	18	5.61	-0.77
HF0434	16	16	6.04	-0.77
HF0423	16	17	5.71	-0.72
HF0407	6	7	4.21	-0.54
HF0413	11	10	4.06	-0.47
HF0568	14	1	4.96	-0.27
HF0553	1	25	6.17	-0.27
HF0556	31	3	6.20	0.07
HF0418	3	1	4.87	0.17
HF0516	1	3	4.23	0.17
HF0546	3	1	4.84	0.17
HF0489	4	20	5.41	0.22
HF0490	11	21	5.48	0.26
HF0439	6	6	5.12	0.30
HF0412	9	10	5.33	0.31
HF0519	3	22	5.28	0.36
HF0402	2	3	4.76	0.37
HF0527	3	10	4.95	0.37
HF0485	19	3	5.13	0.47
HF0417	14	15	5.52	0.50
HF0523	3	26	5.35	0.52
HF0414	12	13	5.57	0.64
HF0551	29	30	5.90	0.84
HF0522	3	25	4.95	1.14
HF0574	32	33	6.87	1.22
HF0547	27	3	5.50	1.43
HF0515	9	24	5.93	1.50
HF0549	28	3	4.85	1.56
HF0421	3	3	5.94	1.59

Anhang 4.9: Diplotypeeffekte und Haplotypen im signifikanten 40 SNP-Fenster von MIR379 auf BTA28

Die Studientiere (TierLID) sind sortiert nach ihren Diplotypeeffekten (DipEff) in aufsteigender Reihenfolge aufgeführt. Paternaler (pHap) und maternaler Haplotyp (mHap) sowie das zugehörige Expressionsniveau (eProfil) von MIR379 sind angegeben.

TierLID	pHap	mHap	eProfil	DipEff
HF0501	16	23	6.13	-1.86
HF0405	5	1	4.76	-1.34
HF0413	3	11	4.06	-1.22
HF0402	3	4	4.76	-0.99
HF0558	35	6	4.97	-0.68
HF0406	1	6	5.07	-0.59
HF0502	16	24	4.55	-0.56
HF0401	1	2	4.01	-0.43
HF0407	7	8	4.21	-0.42
HF0416	9	13	3.82	-0.36
HF0516	26	27	4.23	-0.24
HF0485	2	20	5.13	-0.09
HF0515	14	25	5.93	-0.04
HF0429	16	9	5.72	0.10
HF0464	9	19	5.61	0.14
HF0549	10	33	4.85	0.19
HF0567	6	9	5.29	0.23
HF0423	10	1	5.71	0.35
HF0489	21	11	5.41	0.37
HF0546	31	9	4.84	0.40
HF0434	1	17	6.04	0.43
HF0418	10	7	4.87	0.48
HF0414	12	1	5.57	0.51
HF0409	7	9	5.19	0.52
HF0574	36	37	6.87	0.53
HF0439	9	18	5.12	0.57
HF0551	2	34	5.90	0.78
HF0527	29	30	4.95	0.84
HF0523	28	10	5.35	0.87
HF0581	38	39	6.11	0.98
HF0417	14	15	5.52	1.07
HF0553	10	10	6.17	1.07
HF0568	10	10	4.96	1.07
HF0412	10	9	5.33	1.18
HF0519	10	9	5.28	1.18
HF0556	10	9	6.20	1.18
HF0490	22	9	5.48	1.20
HF0421	9	9	5.94	1.33
HF0522	9	9	4.95	1.33
HF0547	10	32	5.50	1.38

DANKSAGUNG

Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Martin Förster danke ich ganz herzlich für die Überlassung dieses interessanten Themas sowie für die Durchsicht der Arbeit.

Ein besonderes Dankeschön geht an Herrn PD Dr. Ivica Medugorac für die geduldige Betreuung in jeder Phase der Promotion.

Ich bedanke mich bei allen Kollegen (Dr. Sophie Rothammer, Dr. Jan Maxa, Gisela Andorfer, Renate Damian, Martin Dinkel, Tatiana Schröter, Uschi Werner, Heike Ziehran, Karina Schadt, Christa Nanou, Sissi Stern, Dafni Kyriakaki, Tula Hiliias, Eva Tzerpou) für die angenehme Arbeitsatmosphäre, Bearbeitung von Proben, Beantwortung von Fragen und natürlich für unterhaltsame, kaffeereiche Pausen. Liebe Sophie, dir gilt von Herzen mein großer Dank für deine Hilfe und die vielen lustigen Stunden im gemeinsamen Büro.

Fr. Dr. Claudia Veit-Kensch danke ich für die Durchsicht des Summary.

Allen Mitgliedern der Projektgruppe „RFM“ sei gedankt für die Bereitstellung von Daten und Informationen, für konstruktive Gespräche und Unterstützung.

Diese Arbeit wurde erst durch das Bereitstellen der notwendigen finanziellen Mittel durch Pfizer Animal Health im Rahmen des „Bovine Reproduction Consortium“ (unter Leitung von Pat Taube und Isabelle Dieuzy-Labaye) ermöglicht. Vielen Dank dafür!

Ich danke der Tierzuchtforschung e. V. München für die Bearbeitung von Proben sowie allen Züchtern, Zuchtverbänden und Besamungsstationen, die zum Zustandekommen der Probensammlung beitragen haben

Liebe Mama, lieber Werner, auch ihr sollt hier erwähnt werden. Vielen Dank für euren Optimismus und die vielen motivierenden Worte über die Jahre hinweg. Zuletzt möchte ich mich bei allen meinen lieben Freundinnen und Freunden bedanken, die mein Leben bereichern. DANKESCHÖN!