



Doctoral Thesis

Physical mapping of polymorphic DNA markers in the bovidae family (a comparative study in cattle, sheep and goat)

Author(s):

Gunawardana, Dewar Asoka

Publication Date:

1991

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000612010> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 9556

**PHYSICAL MAPPING OF POLYMORPHIC DNA
MARKERS IN THE BOVIDAE FAMILY**
(A COMPARATIVE STUDY IN CATTLE, SHEEP AND GOAT)

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZÜRICH
for the degree of Doctor of Natural Sciences

presented by
DEWAR ASOKA GUNAWARDANA
BSc. Agric. (Sri Lanka), Dipl. Ing. Agr. (ETH)
born September 26, 1951
citizen of Sri Lanka

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. G. Stranzinger, examiner
PD Dr. M. Jotterand-Bellomo, co-examiner
Dr. H.R. Fries, co-examiner

Zürich 1991

ABSTRACT

Gene mapping based on DNA technology has become an important discipline in animal agriculture. The major application of gene mapping is to identify genes which are responsible for economically important traits. The general approach is to look for co-segregation of alleles at a marker locus and phenotypic variation for the trait of interest. Therefore, a large number of polymorphic DNA markers evenly distributed over the genome is a basic requirement in this approach. Due to this reason, establishment of polymorphic markers such as DNA finger prints (minisatellites, microsatellites) have been undertaken by many laboratories and a large number of informative markers have already been reported. However their distribution in animal genome is not evident, without verification by physical mapping which will enable chromosomal localization of those markers.

The purpose of this thesis was to study the possibility to use in situ hybridization to map and characterize large numbers of polymorphic markers (VNTR) in cattle. Gene mapping was extended from cattle to sheep and goat in order to solve some of the remaining problems in the identification of homologous chromosomes among the three species.

Metaphase chromosomes were prepared from peripheral blood lymphocytes according to standard procedures in cattle, sheep and goat. Chromosomes for all three species were identified according to the ISCNDA (1989) following QFQ-banding prior to hybridization. Bovine DNA probes containing VNTR markers were hybridized with metaphase chromosomes following labelling with tritium (^3H).

All the probes detected a single predominant locus in cattle. Of the eight DNA probes, six, namely GMBT-005, -006, -011, -019, -022, and -028 were mapped to chromosomes 24, 14, 26, 10, 19 and 2 respectively and probes GMBT-015 and 016 were mapped to chromosome 21 of cattle revealing an adequate distribution of these markers throughout the genome.

Probes GMBT-015, -016 and -022 were located on the telomeric regions of their respective chromosomes while the remaining probes demonstrated an interstitial

map locations. This was in contrast to that found for human minisatellites, which are preferential located over the proterminal region of human autosomes.

Previous assignment of bovine syntenic groups U24, U5, and U21 to chromosomes 14, 10 and 19, respectively, were further confirmed by assignment of probes GMBT-006, -019 and 022 to their respective chromosomes since they have been assigned to their respective syntenic groups by independent investigators. The assignment of U4 to bovine autosome 21 can be confirmed by assignment of probes GMBT-015 and -016 which are the only markers assigned to this chromosome thus far. The assignment of probes GMBT- 005, -001 and -028 to chromosomes 24, 26 and 2, respectively, provide markers for these chromosomes for which no genetic marker had yet been mapped. Furthermore, these assignments allow tentative assignment of bovine syntenic groups U28, U26 and U13 to chromosomes 24, 26 and 2, respectively.

Map locations of the cross species hybridization of the probes with sheep and goat provides further evidence for the evolutionary conservation of genetic content among cattle, sheep and goat chromosomes which are considered homologous based on banding pattern. The comparative study further helped to confirm the reported partial homology, based on banding pattern between chromosome 14 of cattle and sheep chromosome 8 and their chromosome homologue in goat, 14. Moreover, this observation allows verification and identification of all of the homologous or partly homologous partners in the complete karyotypes of these three species. The comparative study clearly indicates the possibility of extrapolation of data from cattle to the other two species in construction of their respective gene maps. However, all the gene assignments of sheep and goat are provisional and must be confirmed using species specific DNA probes.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Genkartierung, deren Basis die DNS Technologie ist, wurde eine wichtige Disziplin in der Tierzucht. Die Hauptanwendung der Genkartierung ist die Identifizierung von Genen, die für wirtschaftlich wichtige Eigenschaften verantwortlich sind. Dabei wird im Allgemeinen überprüft, ob die Allele eines Marker Locus und die phänotypischen Unterschiede eines interessierenden Merkmals miteinander segregieren. Für diese Methode ist eine grosse Anzahl polymorpher DNS Marker, die gleichmässig über das Genom verteilt sind, eine grundlegende Voraussetzung. Aus diesem Grund arbeiten zahlreiche Labors daran solche polymorphen DNS-Marker, z.B. DNS-Fingerabdrücke (Minisatelliten und Mikrosatelliten) zu etablieren. Eine grosse Anzahl informativer Marker wurde bereits gefunden. Ihre Verteilung über das Tiergenom ist unklar, wenn sie nicht durch physische Kartierung auf die chromosomale Region, in der sie angesiedelt sind zugewiesen werden.

Das Ziel dieser Arbeit war, zu überprüfen, ob die in situ Hybridisierung für die Kartierung und Charakterisierung einer grossen Zahl polymorpher Marker (VNTR) beim Rind geeignet ist. Die Genkartierung wurde vom Rind auf das Schaf und die Ziege ausgeweitet mit der Absicht die noch verbleibenden Probleme bei der Identifizierung von homologen Chromosomen unter den drei Spezies zu lösen.

Metaphasenchromosomen wurden aus Leukozytenkulturen bei Rind, Schaf und Ziege gemäss der Standardmethode präpariert. Die Chromosomen wurden bei allen drei Spezies nach der QFQ-Bandfärbung gemäss dem ISCND (1989) vor der Hybridisierung identifiziert. Bovine DNS-Proben, die VNTR Marker nachweisen, wurden, nach der Markierung mit Tritium (^3H), mit den Metaphasenchromosomen hybridisiert.

Jede der Proben hybridisierte bevorzugt auf einem bestimmten Locus im Rindergenom. Von den acht verwendeten DNS-Proben wurden sechs Proben mit den Bezeichnungen GMBT -005, -006, -011, -022 bzw -028 auf die Chromosomen 24, 14, 26, 19 bzw. 2 und die Proben GMBT -015 und -016 auf das Chromosom 21 zugewiesen. Sie zeigten damit eine gute Verteilung über das Rindergenom.

Die Proben GMBT -015, -016 and -022 wurden auf der telomeren Region des Ihnen zugewiesenen Chromosoms lokalisiert, während die übrigen Proben eine Zwischenstellung in den Kartenpositionen einnahmen. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen bei humanen Minisatelliten, die bevorzugt auf den proterminalen Regionen von humanen Autosomen lokalisiert sind. Die früheren Zuweisungen der Syntäniegruppen U24, U5 und U21 auf die Chromosomen 14, 10 bzw. 19 konnten desweiteren durch die Zuweisung der Proben GMBT-006,-019 und 022 bestätigt werden, weil diese Proben von anderen Labors der jeweiligen Syntäniegruppen zugeordnet wurden. Die Kartierung von U4 auf das bovine Autosom 21 wurde durch die Zuweisung der Proben GMBT-015 und -016 bestätigt. Sie sind die einzigen polymorphen Marker die bis heute auf diesem Chromosom kartiert sind. Die Proben GMBT -005, -011 und -028 sind die ersten kartierten Marker, die bisher auf den Chromosomen 24, 26 bzw. 2 lokalisiert worden sind. Die Lokalisierung der Proben erlaubt die vorläufige Zuweisung der Bovinen Syntäniegruppen U28, U26 und U13 auf die Chromosomen 24, 26 bzw. 2.

Die Lokalisierung der Proben, die mit Kreuzhybridisierung bei Schaf und Ziege erfolgte, zeigte erneut die evolutionäre Konservierung des Gengehaltes von homologen Bändern bei Rind, Schaf und Ziege. Die vergleichenden Studien waren hilfreich, die Teilhomologie zwischen dem Chromosom 14 vom Rind, dem Schafchromosom 8 und dessen homologen Gegenstück, dem Chromosom 14 der Ziege, zu bestätigen. Ferner erlauben diese Beobachtungen die Bestätigung und die Identifizierung aller homologen oder teilweise homologen Partner der vollständigen Karyotypen dieser drei Spezies. Die vergleichende Studie zeigt die Möglichkeit an, die Daten vom Rind auf die beiden anderen Spezies zu extrapolieren und so die jeweiligen Genkarten zu konstruieren. Die Genzuweisung bei Schaf und Ziege sind jedoch provisorisch und müssen mit der Verwendung speziesspezifischer DNS Proben bestätigt werden.