

Notat vedr. DNA analyse af spyt-skrab fra tre nedlagte får

Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi

Dato: 20. marts 2013

Liselotte Wesley Andersen & Aksel Bo Madsen
Institut for Bioscience

Rekvirent:
Naturstyrelsen
Antal sider: 4

Kvalitetssikring, centret:
Jesper R. Fredshavn



AARHUS
UNIVERSITET

DCE - NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

Tel.: +45 8715 0000
E-mail: dce@au.dk
<http://dce.au.dk>

Indhold

Baggrund	3
Metode	3
Bilag 1	4

Baggrund

I forbindelse med, at DTU-Veterinærinstituttet (DTU-VET) undersøgte tre dræbte får for bidmærker i begyndelsen af marts 2013 er der nu også foretaget DNA-analyse for at identificere de individer som formodedes at have nedlagt fårene. Begge dele er foretaget efter aftale med Naturstyrelsen.

Ud fra bidmærkerne kunne DTU-VET sammen med en rovdyrsansvarlig Nils Carlsson fra Länsstyrelsen i Skåne fastslå, at bidmærkerne stammede fra ulv. Der blev foretaget spyt-skrab fra alle tre får som blev sendt til analyse hos Aarhus Universitet, Institut for Bioscience/Nationalt Center for Miljø og Energi.

Metode

På baggrund af antallet af tilsendte prøver er der ekstraheret DNA separat to gange fra får nr. 2 og tre gange fra får nr. 1 og 3. Ekstraktionen er foretaget i et DNA-laboratorium, der kun bliver benyttet til prøver, hvor DNA koncentrationen forventes at være lille, som f.eks. i de tilsendte spytskrab fra byttedyrene. Dette gøres for at undgå kontaminering. Ligeledes er den efterfølgende opformering af mitokondriemarkøren foretaget i endnu et adskilt laboratorium for at undgå kontaminering fra andet materiale. Mitokondrie DNA-markøren er ca. 240 basepar lang og designet på baggrund af tilgængelige sekvenser i Genbank (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), en offentligt tilgængelig gendatabase, så den kan adskille hund og ulv med 2 mutationer. Samtidigt er det vigtigt, at markøren ikke er for lang på grund af fragmenteret DNA. I analysen er der medtaget en blindprøve ved hver opformering af DNA-fragmentet for at teste for kontaminering i prøverne.

Der blev ikke konstateret kontaminering i opformeringsfasen, så prøverne blev sendt til sekvensering hos Macrogen (professionelt sekvenserings firma). I alt blev der analyseret to prøver fra får 1, en prøve fra får 2 og tre prøver fra får 3 samt en prøve fra en tysk ulv samt ulven fra Thy. Sekvenserne blev efterfølgende analyseret efter kvalitetskontrol af sekvenseringen ved at søge efter matchende sekvenser i den ovenfor nævnte database. Resultatet af denne søgning viste for får nr. 1, at begge prøver kom ud med et 99% match på ulv. For får nr. 2 og 3 kom alle prøverne ud med 100% match på ulv. Det kan tyde på, at der kan have været flere end et individ i forbindelse med drabene, dette skal dog verificeres ved en gen-sekvensering af får nr. 1.

Der skal gøres opmærksom på, at det med den benyttede metode ikke er muligt at skelne mellem en hybrid (ulvehund og hanhund) og en ulv. Dette vil kræve en langt mere omfattende analyse, som den ulven fra Thy var igennem, som er vanskelig på grund af DNA'ets dårlige kvalitet. Det vurderes dog, at der er en meget lille sandsynlighed for at det pågældende individ er en hybrid.

Sekvenserne fra de pågældende analyser er vedlagt dette korte notat i bilag 1.

Bilag 1

Mitokondriesequensen fra spyt-skrab fra hver af de tre får

Får 1

ACCCCTACATTCATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCT
CCAGGTAAACCCTTCTTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTT
GCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACAT
ATTA ACTCAATCTCATAGTTCACTGATCTATCAACAGTAATCAAATGCAT
ATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAA

Får 2

CATTCATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATCTCCAGGTA
AACCTTCTTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTTTCCCCAT
GCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACATATTA ACT
CAATCTCATAATTCAGTATCTATCAACAGTAATCAAATGCATATCACTT
AGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAA

Får 3

CACCCCTACATTCATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCAGTATC
TCCAGGTAAACCCTTCTTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTAATGGTT
TGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATAGGACA
TATTA ACTCAATCTCATAATTCAGTATCTATCAACAGTAATCAAATGCA
TATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAA

Tysk ulv

CCTGACACCCCTACATTCATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCA
GTATCTCCAGGTAAACCCTTCTTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTA
TGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATA
GGACATATTA ACTCAATCTCATAATTCAGTATCTATCAACAGTAATCAA
ATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAA

Thy ulven

CCTGACACCCCTACATTCATATATTGAATCACCCCTACTGTGCTATGTCA
GTATCTCCAGGTAAACCCTTCTTCCCTCCCCTATGTACGTCGTGCATTA
TGGTTTGCCCCATGCATATAAGCATGTACATAATATTACATTCTTACATA
GGACATATTA ACTCAATCTCATAATTCAGTATCTATCAACAGTAATCAA
ATGCATATCACTTAGTCCAATAAGGGCTTAATCACCATGCCTCGAGAAA