



Ausschuss für Genetik und Labortierzucht

Empfehlungen zum genetischen Monitoring isogener Maus- und Rattenstämme

Inhaltsverzeichnis:

1.	Einleitung	2
2.	Allgemeine Empfehlungen zur Bewahrung der Authentizität isogener Maus- und Rattenstämme 2	
2.1	Reduktion der Generationenzahl	2
2.2	Qualifiziertes Zuchtpersonal.....	2
2.3	Genetische Stabilitätsprogramme.....	3
2.4	Regelmäßiges Restocking isogener Maus- und Rattenstämme aus Referenzinstituten	3
3.	Bewertung der zum genetischen Monitoring isogener Maus- und Rattenstämme verwandten Merkmale	4
3.1	Pigmentierung	4
3.2	Reproduktionsphysiologische Daten.....	4
3.3	Verhalten	4
3.4	Pathophysiologische Stammeigenschaften	5
3.5	Hauttransplantation	5
3.6	Immunologische Marker.....	6
3.7	Biochemische Marker.....	6
3.8	Chromosomenmarker	7
3.9	DNA-Marker	7
3.10	Zusammenfassung.....	7
4.	Allgemeine Markersets	8
4.1	Allgemeines Maus-Markerset des TJL (The Jackson Laboratory)	8
4.2	Allgemeines Ratten-Markerset des ZTL, Hannover.....	8
5.	Empfehlungen zum genetischen Monitoring.....	9
5.1	Isolatorzuchten des ZTL, Hannover	9
5.2	Maus-Nukleuskolonien des TJL.....	10
5.3	Ratten-Nukleuskolonien des ZTL, Hannover	10
5.4	Expansionskolonien der ZVTE, Mainz	11
6.	Literatur.....	13
	Anhang 1.....	14

1. Einleitung

Isogene Tiermodelle spielen in der biomedizinischen und biologischen Forschung eine herausragende Rolle. Die Aussagekraft von Experimenten mit isogenen Mäusen und Ratten ist nur gewährleistet, wenn genetisch authentische Tiere zum Einsatz kommen. Die Zuchten isogener Maus- und Rattenstämme müssen deshalb zwingend genetisch überwacht werden. Art und Intensität der für das genetische Monitoring gewählten Maßnahmen orientieren sich an der Struktur der Zuchtanlage und den angewandten Zuchtprotokollen. So kann die genetische Authentizitätskontrolle bei Zucht eines isogenen Tierstamms in einem separaten Isolator mit deutlich weniger Aufwand gewährleistet werden, als bei Zucht verschiedener Stämme im selben Tierraum. Entsprechend sind die Überwachungsmaßnahmen für Zuchten, die über ein redundantes Mehrliniensystem geführt werden, anders auszurichten als die für nicht-redundante Einlinienzuchten. Auch sind andere Maßstäbe für einen Zuchtnukleus anzusetzen als für reine Expansionskolonien. Das vorliegende Manuskript wurde vom Ausschuss für Genetik und Labortierzucht der Gesellschaft für Versuchstierkunde (GV-SOLAS) erstellt und gibt Empfehlungen zum genetischen Monitoring isogener Maus- und Rattenstämme.

2. Allgemeine Empfehlungen zur Bewahrung der Authentizität isogener Maus- und Rattenstämme

2.1 Reduktion der Generationenzahl

Da die genetische Drift isogener Tierstämme nur beim Generationenwechsel wirkt, kann sie durch eine Begrenzung der Generationenzahl der Zuchtkolonien auf das unabdingbare Maß reduziert werden. Die limitierte Zuchtleistung vieler isogener Maus- oder Rattenstämme setzt diesem Ansatz jedoch häufig Grenzen.

2.2 Qualifiziertes Zuchtpersonal

Prinzipiell ist zu fordern, dass ausschließlich ausgebildete Tierpfleger oder Personen der FELASA Kategorie A in die Zucht isogener Maus- und Rattenstämme involviert werden. Dieses Personal muss über gute Kenntnisse der Genetik, insbesondere der klassischen Mendelschen Regeln verfügen und muss die erforderliche Erfahrungen

haben, Veränderungen innerhalb eines Stammes zu erkennen. Es muss eine ständige Fortbildung und Supervision durch Experten der FELASA Kategorie D erfolgen.

2.3 Genetische Stabilitätsprogramme

Nach der Erstbeschreibung der Kryokonservierung muriner Stämme in Form von Präimplantationsembryonen (Whittingham et al., 1972) wurde schon bald vermutet, dass diese Technologie zur Minderung der genetischen Drift isogener Tierstämme eingesetzt werden könnte (Whittingham, 1974; Bailey 1977). Durch Kryokonservierung von Embryonen und davon ausgehend regelmäßiger Erneuerung der Nukleuszuchten nach 10 – 20 Generationen, was ca. 5 – 10 Jahren Zucht entspricht, kann echte genetische Konstanz erzielt werden (Hedrich, 1980)

The Jackson Laboratory (TJL) hat nun ein Programm entwickelt (Jax® Mice Genetic Stability Program; siehe <http://jaxmice.jax.org/geneticquality/stability.html>), das die genetische Drift von Mausinzuchtstämmen durch die Kryokonservierung muriner Embryonen vermindern soll. Dazu werden kryokonservierte Präimplantationsembryonen genutzt, um die Nukleuskolonien im Abstand von je 5 Zuchtgenerationen zu erneuern. Bei diesem System soll die Anzahl der kryokonservierten Embryonen ausreichen, um den regelmäßigen Austausch der Nukleuskolonien über einen Zeitraum von 25 Jahren zu gewährleisten.

2.4 Regelmäßiges Restocking isogener Maus- und Rattenstämme aus Referenzinstituten

Sofern isogene Maus- und Rattenstämme aus zuverlässigen Quellen bezogen werden können, sollte dies auch regelmäßig genutzt werden. Spätestens nach 20 Generationen ist mit Sicherheit ein neuer Substamm des jeweiligen Ursprungsstamms entstanden. Gemäß den aktuellen Nomenklaturregeln (siehe: Rules for Nomenclature of Mouse and Rat Strains; <http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strains.shtml#labcodes>) ist dieser Substamm dann auszuweisen. In diesem Zusammenhang muss auch gefordert werden, dass sich jede Einrichtung, die isogene Maus- oder Rattenstämme züchtet, offiziell registrieren lässt und über ein entsprechendes Haltersymbol verfügt. Die Codes werden vom Institute of Laboratory Animal Research (ILAR) vergeben (http://dels.nas.edu/ilar_n/ilarhome/search_lc.shtml).

3. Bewertung der zum genetischen Monitoring isogener Maus- und Rattenstämme verwendeten Merkmale

3.1 Pigmentierung

Die Pigmentierung von Maus und Ratte wird von einer Vielzahl von Genen kodiert (Silvers, 1979; Searle, 1968; Hedrich, 1990); bei der Maus determinieren die Gene *A* (agouti), *Tyrp1* (brown), *Tyr* (albino) und *Myo5a* (dilute) die Fellgrundfarbe. Der Pigmentierung kommt deshalb eine große Aussagekraft für die Authentizitätsprüfung isogener Maus- und Rattenstämme zu. Isogene Maus- oder Rattenstämme, die in derselben Zuchteinheit gezüchtet werden, sollten möglichst so ausgewählt werden, dass sie sich in der Pigmentierung unterscheiden. So können die Stämme einer Zuchteinheit sehr leicht diskriminiert werden. In Einzelfällen stellt ein spezifisches Fellfarbengen das charakteristische Differentialallel eines Tierstamms dar (z.B. *B6.Cg-Tyr^c*). In solchen Fällen kann der entsprechende Differentialgenort allein durch die Beurteilung der Fellfarbe überwacht werden. Werden in einem isogenen Maus- oder Rattenstamm auffällige Pigmentierungen entdeckt, müssen zur Charakterisierung der Vererbbarkeit Testverpaarungen durchgeführt werden. Hierfür sind Hal- tungsressourcen und gegebenenfalls Personal vorzuhalten.

3.2 Reproduktionsphysiologische Daten

Bei *lege artis* durchgeführten Versuchstierzuchten wird routinemäßig der Kolonieindex (durchschnittliche Nachkommenanzahl pro Weibchen und Woche) berechnet. Bei genetischen Kontaminationen isogener Maus- oder Rattenstämme steigt der Kolonieindex aufgrund des Heterosiseffekts in der Regel signifikant an (Festing, 1979, Hedrich, 1990, Green, 1966, Silvers, 1979). Dieser Zuchtparameter stellt deshalb ein wichtiges Instrument für die Authentizitätskontrolle isogener Maus – oder Ratten- stämme und für die Unterscheidung der Stämme einer spezifischen Zuchteinheit dar.

3.3 Verhalten

Das Verhalten von Versuchstieren wird nicht nur durch Umweltfaktoren beeinflusst, sondern ist auch polygenetisch determiniert (Silvers, 1979, Crabbe et al, 1999). Iso- gene Maus- und Rattenstämme weisen charakteristische allgemeine Verhaltenswei- sen auf; beispielsweise reagieren SJL Männchen extrem aggressiv (Page and Glen- ner, 1972; Crispens, 1973). Verhaltensanomalien einzelner Tiere - besonders in auf-

einander folgenden Würfen - können ein Anzeichen für eine Mutation sein. Der Beurteilung des Verhalten von Versuchstieren kommt somit eine große Bedeutung für die Authentizitätskontrolle isogener Maus- und Rattenstämme zu, das stammspezifische Verhaltens kann auch zur Unterscheidung der in einer Zuchteinheit gehaltenen Stämme herangezogen werden. Viele kongene oder koisogene Stämme weisen aufgrund des Genotyps der spezifischen Differentialallele besondere Verhaltensweisen auf. So zeigen beispielsweise die homozygoten Vertreter des Knockout-Mausstamm, bei dem das „potassium large conductance calcium-activated channel“ Gen inaktiviert wurde (*Kcnma1^{tm1Ruth}*), eine zerebellare Ataxie auf, die durch Zittern and abnormalen Gang charakterisiert ist. Weiterhin erleiden die Tiere nach der achten Lebenswoche einen Gehörverlust. (Sausbier et al., 2004). Ein deutlich verändertes Verhalten zeigen auch LEW/Ztm-*Myo15^{ci2}* Ratten. Die Tiere fallen durch ein lateralisierendes Drehverhalten, Ataxien und Opisthotonus (*Star gazing*) auf. Die Verhaltensänderungen der F344/CrlSvH-*Dpp4^{m1}* Ratten können leicht mit Hilfe eines *social interaction test* ermittelt werden. Die Tiere zeigen ein deutlich reduziertes Angstverhalten im Vergleich zu F344 Wildtyptieren.

3.4 Pathophysiologische Stammeigenschaften

Charakteristische pathophysiologische Stammeigenschaften können in speziellen Fällen für die Authentizitätskontrolle isogener Maus- oder Rattenstämme von Bedeutung sein. So ist bei polygenetisch bedingten Krankheiten, wie dem Typ 1 Diabetes mellitus (T1DM) von *NOD*-Mäusen, BB-Ratten und LEW.1AR1-*iddm* Ratten oder der Hypertonie der SHR Ratten die Überwachung des Glucosespiegels bzw. des Blutdrucks essentiell für die Authentizitätskontrolle dieser Inzuchtstämme (Kikutani and Makino, 1992). Ebenso ist die Überwachung monogen vererbter Defekte, wie der fehlende Thymus bei nackten Mäusen (z.B. BALB/c-*Foxn1^{nu}*) und Ratten (z.B. LEW-*Whn^{mu}*) oder die T- und B- Zelldefizienz bei *scid*-Mäusen wie z.B. CB17-*Prkdc^{scid}* (*scid* = severe combined immunodeficient) von großer Bedeutung für die genetische Überwachung.

3.5 Hauttransplantation

Über das Ergebnis von Hauttransplantationen entscheiden eine Vielzahl von Genprodukten (Haupt- und Neben-Histokompatibilitätsantigene). Die relevanten genetischen Loci sind über nahezu alle Chromosomen verteilt. Die Hauttransplantation stellt somit

eine sehr informative Methode dar, die primär eine Aussage über die Isogenität von Spender und Empfänger erlaubt. Die Technik kann aber durchaus auch eine Authentizitätskontrolle leisten, indem Transplantationen zwischen den Vertretern eines Test- und eines Referenzstamms durchgeführt werden. Die endgültige Beurteilung des Transplantationsergebnisses erfolgt nach ca. 100 Tagen. Hauttransplantationen stellen einen operativen Eingriff dar, der leicht erlernbar ist, jedoch eine adäquate Sachkunde der durchführenden Person voraussetzt. In Deutschland werden diese Eingriffe entweder als Zuchtmaßnahmen eingestuft, die durch die allgemeine Zucht- und Haltungsgenehmigung der Einrichtung abgedeckt sind, oder sie müssen den Behörden angezeigt werden.

3.6 Immunologische Marker

Da alle spezifischen Immunreaktionen einer Restriktion durch den MHC (Haupthistokompatibilitätskomplex) unterliegen und diese chromosomale Region einen starken Polymorphismusgrad aufweist, sollte die MHC-Überwachung immer in die Authentizitätskontrolle isogener Maus- und Rattenstämme eingebunden sein. Zumindest gilt dies für Einrichtungen, in denen in starkem Umfang immunologische Tierversuche durchgeführt werden. Im Übrigen nimmt die allgemeine Bedeutung immunologischer Marker für die Authentizitätskontrolle isogener Maus- und Rattenstämme ab. In Anbetracht der Vielzahl an kongenen oder koisogenen Tierstämmen mit Überexpression oder Inaktivierung immunologisch relevanter Gene spielen immunologische Marker aber nach wie vor eine wichtige Rolle zur genetischen Überwachung spezifischer Differentialallele.

3.7 Biochemische Marker

Die Bedeutung biochemischer Marker für die Authentizitätskontrolle isogener Maus- und Rattenstämme ist deutlich zurückgegangen. Biochemische Marker stellen jedoch auch weiterhin ein wertvolles Werkzeug zur genetischen Kontrolle von Differentialgenorten dar. Ein Beispiel dafür ist die B6.D2-*Car2ⁿ*/J Maus. Homozygote Tiere sind defizient für die Carboanhydrase 2 und die homozygoten Weibchen zeigen ein deutlich eingeschränktes Reproduktionsverhalten.

3.8 Chromosomenmarker

Für die genetische Kontrolle von isogenen Maus- oder Rattenstämmen mit chromosomalen Aberrationen, die mit anderen Methoden nicht erfasst werden können, sind zytogenetische Untersuchungen unabdingbar [z.B. Robertson'sche Translokationen, B6.Cg-Rb(8,12)SBnr].

3.9 DNA-Marker

DNA-Marker wie Mikrosatelliten oder SNP's spielen für die Authentizitätskontrolle isogener Maus- und Rattenstämme als wertvolle Komponenten des allgemeinen Markersets eine zunehmende Rolle. Es stehen kommerzielle Anbieter zur Genotypisierung solcher DNA-Marker zur Verfügung.

3.10 Zusammenfassung

Die nachfolgende Tabelle fasst die Bedeutung der oben aufgeführten Merkmale für die Authentizitätsprüfung, für das kritische Markersset sowie die genetische Überwachung der Differentialallele zusammen:

	Authentizitätsprüfung	Kritisches Markerset	Genetische Überwachung von Differentialallelen*
Pigmentierung	+++	+++	+/-
Reproduktionsphysiologische Daten	+++	+++	+/-
Verhalten	+++	+++	+
Pathophysiologische Stammeigenschaften	+	+	+
Hauttransplantation	+++	∅	+
Biochemische Marker	+/-	+	+
Immunologische Marker	MHC: +++ andere: +/-	+++	+++
Chromosomenmarker	+/-	+/-	+
DNA-Marker (Mikrosatelliten, SNPs)	+++	+++	+
Molekulargenetische Analysen von Differentialallelen	∅	∅	+++

(* Die aufgeführte Bewertung berücksichtigt in erster Linie die Anzahl an Stämmen, bei denen die jeweilige Technik zur Anwendung kommt.)

4. Allgemeine Markersets

Dem allgemeinen Markerset kommt eine herausragende Bedeutung für die Authentizitätskontrolle isogener Maus- und Rattenstämme zu. Leider existieren bisher kaum Publikationen über diese Thematik.

4.1 Allgemeines Maus-Markerset des TJL (The Jackson Laboratory)

Petkov und Mitarbeitern (Petkov et al., 2004a) haben kürzlich ein allgemeines DNA-Markerset für die Maus publiziert, das 28 SNPs umfasst. Bei diesem Set sind die Marker über alle murinen Chromosomen verteilt; die mittlere Markerdichte beträgt 1,4 pro Chromosom und muss als relativ niedrig bewertet werden. Dieses Markerset wurde für 96 ingezüchtete und kongene Mausstämme ermittelt, davon werden 37 der untersuchten Stämme als Prioritätsstämme in der Mouse Phenome Database (MPD, <http://aretha.jax.org/pub-cgi/phenome/mpdcgi?rtn=docs/home>) geführt. Diese Markerauswahl soll gewährleisten, dass die untersuchten 96 Stämme mit großer Sicherheit genetisch diskriminiert werden können. Circa 98% der 96 untersuchten Stämme unterscheiden sich in 3 oder mehr Markern wodurch eine genetische Kontamination zwischen diesen Stämmen erkannt werden kann. In Abhängigkeit von den spezifischen Bedingungen einer Tierhaltung kann das Markerset leicht erweitert werden. In weiteren Publikation wird ein Set von 1638 SNPs für insgesamt 102 isogene Stämmen beschrieben (Petkov et al., 2004b, <http://www.genome.org/cgi/content/full/14/9/1806>).¹

4.2 Allgemeines Ratten-Markerset des ZTL, Hannover

Das Zentrale Tierlabor (ZTL), Hannover, benutzt zur Authentizitätskontrolle von Ratten eine allgemeines Markerset, das die immunologischen Marker *RT1* (Haupthistokompatibilitätskomplex), *RT2*, *Art2p* (*RT6*) und *Ptprc* (*RT7*, *Cd45*) sowie 151 Mikrosatellitenmarker umfasst. Das Mikrosatelliten-Set ist so zusammengesetzt, dass der chromosomale Abstand benachbarter Loci ca. 10 cM beträgt. Das Markerset des ZTL, Hannover, ist im Anhang spezifiziert. Die Authentizitätskontrolle erfolgt nicht pauschal mit allen 151 Markern, sondern für jede spezifische Zuchteinheit (Tierhaltungsraum) werden aus dem Panel die ca. 40 informativsten Marker ausgesucht (1-3 Marker pro Chromosom).

¹ Diese SNPs können auf kommerzieller Basis genotypisiert werden (<http://www.kbioscience.co.uk/>).

Mittlerweile sind für viele Inzuchtstämme der Ratten SNPs beschrieben (Smits et al., 2005) und können in Datenbanken abgefragt werden (<http://www.ncbi.nlm.gov/entrez/query.fcgi?CMDsearch&DB=snp>).

5. Empfehlungen zum genetischen Monitoring

Die Zuverlässigkeit, mit der ein spezifisches genetisches Monitoringsystem Kontaminationen aufzeigt, kann nicht leicht errechnet, sondern nur aufwendig mathematisch simuliert werden. Zudem müssen sich Art und Intensität des genetischen Monitorings an der Struktur der Zuchtanlage und den angewandten Zuchtprotokollen orientieren. Der Ausschuss für Genetik und Labortierzucht der Gesellschaft für Versuchstierkunde kann deshalb keine einheitlichen Empfehlungen für das genetische Monitoring isogener Maus- und Rattenstämme abgeben, sondern beschränkt sich auf die Beschreibung von Programmen, die sich unter den spezifischen Bedingungen bestimmten Einrichtungen bewährt haben.

5.1 Isolatorzuchten des ZTL, Hannover

Kontext:

Im Zentralen Tierlaboratorium der Medizinischen Hochschule Hannover (Ztm) werden immundefiziente Mausstämme in Isolatoren gehalten. Da jeder dieser Mausstämme separat in einem Isolator gehalten wird, sind genetische Kontaminationen unmöglich. Die Isolatorzucht erfolgt durch pedigrierte Bruder-Schwester-Inzuchtung. Aus Platzgründen wird ein Einlinienzuchtsystem praktiziert.

Authentizitätskontrolle:

-Polygen vererbte morphologische und (patho)physiologische Stammeigenschaften: Die Isolatorkolonien unterliegen einer gründlichen und systematischen Untersuchung der Fellfarbe, des Verhaltens und der Reproduktionsleistung (Kolonieindex).

-Allgemeines Markerset: Neu in die Isolatoren aufgenommene Tiere werden mit dem allgemeinen Maus-Markerset des Ztm untersucht. Hierzu werden ca. 40 Marker des allgemeinen Markersets (1 - 3 Marker pro Chromosom) typisiert.

5.2 Maus-Nukleuskolonien des TJL

Kontext:

The Jackson Laboratory (TJL) züchtet mehr als 1000 isogene Mausstämme. Die Haltung der Zuchtnuklei erfolgt in Räumen und nicht in separaten Isolatoren, so dass genetische Kontaminationen prinzipiell nicht auszuschließen sind. Die Zucht der Nuklei erfolgt durch pedigrierte Bruder-Schwester-Inzuchtung; es wird ein Einlinienzuchtssystem realisiert.

Authentizitätskontrolle:

-Polygen vererbte morphologische und (patho)physiologische Stammeigenschaften: Die Nukleuskolonien unterliegen einer gründlichen und systematischen Untersuchung auf phänotypische Variationen inklusive der Fellfarbe, der Körperform, der Skelettstruktur, des Verhaltens und der Reproduktionsleistung (Kolonieindex).

-Allgemeines Markerset: Alle Zuchttiere der Zuchtnuklei werden mit dem allgemeinen Maus-Markerset des TJL (Petkov et al., 2004a, siehe 4.1) untersucht und die Ergebnisse werden im Internet publiziert (<http://jaxmice.jax.org/geneticquality/gqcreport.pdf>).

Genotypisierung der Differentialloci:

Nahezu alle Differentialallele werden durch PCR-Amplifikation Locus-spezifischer Regionen typisiert. In Einzelfällen stellen die Differentialloci auch biochemische oder immunologische Marker dar, deren Typisierung andere Methoden erfordert. Die Typisierungsprotokolle der diversen isogenen Mausstämme können von der JAX® Mice Database abgerufen werden.

5.3 Ratten-Nukleuskolonien des ZTL, Hannover

Kontext:

Im Zentralen Tierlaboratorium der Medizinischen Hochschule Hannover (Ztm) der Universität Hannover werden mehr als 100 isogene Rattenstämme gezüchtet. Die Haltung der Zuchtnuklei erfolgt in Räumen und nicht in separaten Isolatoren, so dass genetische Kontaminationen prinzipiell nicht auszuschließen sind. Die Zucht der Nuklei erfolgt durch pedigrierte Bruder-Schwester-Inzucht; es wird ein redundantes Mehrlinienzuchtssystem (modifiziertes Parallelliniensystem) realisiert.

Authentizitätskontrolle:

-Polygen vererbte morphologische und (patho)physiologische Stammeigenschaften: Die Nukleuskolonien unterliegen einer gründlichen und systematischen Untersuchung der Fellfarbe, des Verhaltens und der Reproduktionsleistung (Kolonieindex).

-Schwanzhauttransplantation: Die Linieneltern (Begründer neuer Sublinien) werden mittels Schwanzhauttransplantation kontrolliert.

-Allgemeines Markerset: Die Stammeltern neuer Sublinien werden mit dem allgemeinen Ratten-Markerset des ZTL (siehe 4.2) untersucht. Hierzu werden für jede spezifische Zuchteinheit (Tierhaltungsraum) die ca. 40 informativsten Marker des allgemeinen Markersets (1-3 Marker pro Chromosom) typisiert.

Kritisches Markerset

Anhand des genetischen Profils der Stämme derselben Zuchteinheit wird ein kritisches Markerset ermittelt. Die diversen Zuchteinheiten werden zweimal jährlich mit dem jeweiligen kritischen Markerset untersucht, wozu eine zufällige Stichprobe von ca. 5 % der Zuchttiere herangezogen wird.

Genotypisierung der Differentialloci:

Nahezu alle Differentialallele werden durch PCR-Amplifikation Locus-spezifischer Regionen typisiert. In Einzelfällen stellen die Differentialloci auch biochemische oder immunologische Marker dar, deren Typisierung andere Methoden erfordert.

5.4 Expansionskolonien der ZVTE, Mainz²**Kontext:**

In der Zentralen Versuchstiereinrichtung (ZVTE) der Johannes Gutenberg-Universität Mainz werden ca. 200 isogene Mausstämme zentral gezüchtet. Die Stammpalette unterliegt starken Variationen. So sorgen häufige Importe sowie die eigene Generierung gentechnisch veränderter Tiere für einen kontinuierlichen Zugang neuer Stämme. Andererseits wird ein Service zur Kryokonservierung von Embryonen angeboten; die Embryonenbank umfasst aktuell 80 Stämme. Zur Gewinnung von Embryonen für die Kryokonservierung koisogener oder kongener Stämme werden üblicherweise männliche Trägartiere des Differentialallels mit hormonbehandelten Weibchen des jeweiligen Hintergrund-Inzuchtstamms angepaart. Die überwiegende Mehrzahl der kongenen und koisogenen Stämme befindet sich auf einem C57BL/6-, FVB- oder

² Einzelne Komponenten des Programms sind erst im Aufbau begriffen.

BALB/c Hintergrund; andere Inzuchtstämme spielen eine untergeordnete Rolle. Die Haltung der Mauseuchten erfolgt in Räumen und nicht in separaten Isolatoren, so dass genetische Kontaminationen prinzipiell nicht auszuschließen sind. Die Zuchten sind zwar pedigriert, aber es wird keine strikte Bruder-Schwester-Inzüchtung betrieben. Die Zucht erfolgt im Einzelliniensystem.

Authentizitätskontrolle:

-Polygen vererbte morphologische und (patho)physiologische Stammeigenschaften: Das ZVTE-Personal ist strikt angehalten, abweichende Pigmentierungen und Verhaltensabweichungen sowie signifikante Änderungen des Kolonieindex zu melden.

-Allgemeines Markerset: Alle neu importierten Zuchttiere werden mit dem allgemeinen SNP-basierten Markerset des TJL (siehe 4.1) untersucht. Einmal jährlich werden ca 10 % - 20 % der Zuchttiere der pedigrierten Expansionskolonien mit diesem Markerset analysiert. Die zur Embryonenkryokonservierung eingesetzten männlichen Trägartiere werden ebenfalls mit dem TJL-Markerset analysiert.

-MHC-Typisierung: Da in der ZVTE der Universität Mainz überwiegend immunologische Experimente durchgeführt werden, wird bei allen neu importierten Zuchttieren der MHC-Haplotyp durch FACS-Analyse peripherer Leukozyten überprüft.

Genotypisierung der Differentialloci:

Die Genotypisierung der Differentialallele erfolgt ausschließlich durch die tierexperimentellen Nutzer.

6. Literatur

- Bailey DW (1977) Genetic drift: the problem and its possible solution by frozen-embryo storage. *Ciba Found Symp.* 52: 291-303.
- Crabbe JC, Wahlsten D, Dudek BC (1999) Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory equipment. *Science.* 284: 1670 -1672
- Crispens CG (1973) Some characteristics of strain SJL/JDg mice. *Lab. Animal Sci.* 23: 408
- Festing MWF (1979). *Inbred strains in biomedical research*, The Macmillan Press LTD, London and Basingstoke
- Green EL, (1966). *The biology of the laboratory mouse*, The Jackson Laboratory, McGraw-Hill Inc.
- Hedrich HJ (1980). In 7th ICLAS Symp., Utrecht 1979 Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York Ed Spiegel A, Erichsen S, Solleveld H.A.
- Hedrich HJ (1990). *Genetic monitoring of inbred strains of rats*, Gustav Fischer, Stuttgart
- Kikutani H and Makino S (1992) The murine autoimmune diabetes model: NOD and related strains. *Adv. Immunol.* 52: 285-322.
- Page DL and Glenner GG (1972) Social interaction and wounding in the genesis of spontaneous murine amyloidosis. *Am J Pathol* 67: 555
- Petkov PM, Cassell MA, Sargent EE, Donnelly CJ, Robinson P, Crew V, Asquith S, Haar RV, Wiles MV (2004a) Development of a SNP genotyping panel for genetic monitoring of the laboratory mouse. *Genomics.* 83: 902-11
- Petkov PM, Ding Y, Cassell MA, Zhang W, Wagner G, Sargent EE, Asquith S, Crew V, Johnson KA, Robinson P, Scott VE, Wiles MV (2004b) An efficient SNP system for mouse genome scanning and elucidating strain relationships. *Genome Res.* 14: 1806-11.
- Sausbier M, Hu H, Arntz C, Feil S, Kamm S, Adelsberger H, Sausbier U, Sailer CA, Feil R, Hofmann F, Korth M, Shipston MJ, Knaus HG, Wolfer DP, Pedroarena CM, Storm JF, Ruth P (2004) Cerebellar ataxia and Purkinje cell dysfunction caused by Ca²⁺-activated K⁺ channel deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101: 9474-8.
- Searle AG (1968) *Comparative Genetics of Coat Colour in Mammals*. Logos Press Limited
- Silvers WK (1979) *The Coat Colors of Mice: A Model for Mammalian Gene Action and Interaction*, Springer Verlag, New York (elektronisch verfügbar unter <http://www.informatics.jax.org/wksilvers/>)
- Smits BM, Guryev V, Zeegers D, Wedekind D, Hedrich HJ, Cuppen E. (2005) Efficient single nucleotide polymorphisms discovery in laboratory rat strains using wild rat- derived SNP candidates. *BMC Genomics.* 6:170
- Whittingham DG, Leibo SP, Mazur P (1972) Survival of mouse embryos frozen to -196 degrees and -269 degrees C. *Science.* 178: 411-4.
- Whittingham DG (1974) Embryo banks in the future of developmental genetics. *Genetics.* 78: 395-402

Autoren: Kurt Reifenberg, Hans Hedrich, Dirk Wedekind

Anhang 1

Allgemeines Ratten-Markerset des ZTL, Hannover:

In der Rat Genome Database (<http://rgd.mcw.edu/>) können für die angegebenen Ratten-Mikrosatelliten Informationen über chromosomale Position, Allele, Stammespolymorphismen, Nachweistechnik und Literaturreferenzen abgerufen werden.

Bezeichnung des Mikrosatelliten	Chromosom	Anfang	Ende
D1Rat245	1	390.737	391.195
D1Rat6	1	19.793.568	19.793.832
D1Rat313	1	40.047.751	40.047.957
D1Rat93	1	63.990.900	63.991.255
D1Rat96	1	80.572.712	80.572.987
D1Rat30	1	100.539.981	100.540.384
D1Mgh1	1	119.780.412	119.780.561
D1Rat272	1	139.839.018	139.839.255
D1Rat51	1	159.782.446	159.782.631
D1Rat437	1	180.678.930	180.679.071
D1Rat291	1	200.166.701	200.166.881
D1Rat368	1	220.342.256	220.342.589
D1Rat303	1	239.889.106	239.889.228
D1Rat225	1	261.180.161	261.180.301
D2Mit1	2	3.429.703	3.429.900
D2Rat4	2	20.424.673	20.424.849
D2Rat18	2	40.912.198	40.912.362
D2Rat20	2	60.329.156	60.329.587
D2Rat75	2	79.796.791	79.797.113
D2Rat24	2	100.727.965	100.728.374
D2Rat300	2	120.916.751	120.916.923
D2Rat34	2	141.755.027	141.755.420
D2Rat152	2	159.345.359	159.345.855
D2Rat228	2	181.071.574	181.071.715
D2Rat50	2	200.390.327	200.390.471
D2Rat242	2	220.244.380	220.244.597
D2Rat295	2	240.185.761	240.186.008
D2Rat107	2	257.636.368	257.636.591
D3Rat56	3	3.577.906	3.578.102
D3Rat276	3	18.892.648	18.892.790
D3Rat122	3	39.532.690	39.533.065
D3Rat272	3	60.073.487	60.073.701
D3Rat268	3	79.370.261	79.370.494
D3Rat23	3	101.170.002	101.170.173
D3Rat71	3	120.095.406	120.095.539
D3Rat245	3	138.864.636	138.864.881
D3Rat243	3	160.374.400	160.374.617
D3Rat1	3	170.016.253	170.016.653
D4Rat248	4	279.582	279.820
D4Rat251	4	19.177.213	19.177.406

D4Rat13	4	39.179.193	39.179.551
D4Rat22	4	60.974.347	60.974.511
D4Rat33	4	80.205.350	80.205.504
D4Rat41	4	96.623.260	96.623.433
D4Rat46	4	122.550.936	122.551.234
D4Rat104	4	140.454.609	140.454.760
D4Rat90	4	159.949.127	159.949.335
D4Mgh29	4	179854689	179854833
D5Rat116	5	1.220.774	1.221.009
D5Rat249	5	21883101	21883301
D5Rat3	5	40136670	40137122
D5Rat136	5	60987922	60988083
D5Rat14	5	79.540.688	79.540.838
D5Rat183	5	100.548.333	100.548.462
D5Rat78	5	120.304.282	120.304.526
D5Rat31	5	139.996.029	139.996.194
D5Rat177	5	160.669.362	160.669.624
D6Rat180	6	312.868	313.022
D6Rat43	6	19.869.335	19.869.511
D6Rat139	6	40.536.018	40.536.365
D6Mit4	6	59.946.629	59.946.874
D6Rat126	6	80.102.143	80.102.311
D6Rat88	6	100.193.177	100.193.393
D6Rat184	6	121.381.066	121.381.163
D6Rat152	6	142.449.310.	142.449.451
D7Rat36	7	1.526.178	1.526.344
D7Rat35	7	20.307.480	20.307.622
D7Rat91	7	38.635.371	38.635.578
D7Rat25	7	60.576.517	60.576.660
D7Rat177	7	79.323.845	79.323.948
D7Rat41	7	99.896.265	99.896.653
D7Rat68	7	119.785.295	119.785.506
D7Rat101	7	140.846.402	140.846.882
D8Rat228	8	1.127.281	1.127.498
D8Rat52	8	20.962.779	20.963.147
D8Rat219	8	38.212.434	38.212.563
D8Rat151	8	60.624.411	60.624.716
D8Rat96	8	79.531.691	79.531.888
D8Rat66	8	100.508.476	100.508.575
D8Rat7	8	120.832.585	120.832.743
D9Rat137	9	323.032	323.188
D9Rat130	9	20.102.035	20.102.447
D9Mit4	9	39.330.744	39.330.947
D9Rat18	9	59.642.918	59.643.096
D9Rat186	9	80.610.240	80.610.466
D9Rat153	9	99.896.313	99.896.713
D9Rat2	9	111.490.522	111.490.656
D10Rat225	10	695.260	695.466
D10Rat75	10	21.235.992	21.236.123
D10Rat170	10	41.047.282	41.047.418
D10Rat241	10	59.977.080	59.977.301
D10Rat93	10	81.887.168	81.887.390
D10Rat5	10	108.116.570	108.116.741

D11Rat88	11	597.139	597.383
D11Rat77	11	19.441.712	19.441.823
D11Rat9	11	39.872.695	39.872.849
D11Mit9	11	61.063.359	61.063.614
D11Rat53	11	86.943.500	86.944.076
D12Rat59	12	155.314	155.496
D12Rat70	12	20.901.333	20.901.478
D12Rat49	12	45.342.502	45.342.632
D13Rat7	13	1.084.269	1.084.470
D13Rat65	13	20.159.677	20.159.843
D13Rat147	13	40.324.394	40.324.654
D13Rat178	13	59.830.974	59.831.216
D13Rat197	13	80.109.433	80.109.632
D13Rat192	13	100.133.218	100.133.413
D14Rat23	14	1.764.387	1.764.554
D14Mit6	14	19.800.226	19.800.418
D14Mit12	14	40.156.029	40.156.166
D14Rat17	14	59.440.339	59.440.502
D14Rat27	14	81.222.781	81.222.938
D14Rat132	14	107.101.606	107.101.727
D15Rat55	15	188.498	188.626
D15Mit3	15	20.063.838	20.064.045
D15Rat171	15	40.022.843	40.022.945
D15Rat48	15	61.160.981	61.161.186
D15Rat98	15	80.370.338	80.370.669
D15Rat29	15	108.387.243	108.387.411
D16Rat112	16	64.719	64.959
D16Rat78	16	19.664.562	19.664.667
D16Rat118	16	40.677.636	40.677.858
D16Rat114	16	60.194.002	60.194.220
D16Rat48	16	79.850.042	79.850.195
D17Rat185	17	5.982.721	5.982.853
D17Rat75	17	22.932.287	22.932.563
D17Rat77	17	39.628.637	39.628.852
D17Rat164	17	60.613.535	60.613.743
D17Rat82	17	80.162.496	80.162.692
D17Rat51	17	96.587.775	96.587.905
D18Mit12	18	1.069.989	1.070.224
D18Rat102	18	19.892.651	19.892.822
D18Rat116	18	40.600.399	40.600.626
D18Rat91	18	61.205.326	61.205.436
D18Rat1	18	86.857.781	86.857.890
D19Rat34	19	2.264.958	2.265.367
D19Rat31	19	20.410.590	20.410.790
D19Rat117	19	40.725.527	40.725.729
D19Rat102	19	58.704.961	58.705.156
D20Rat47	20	1.616.333	1.616.449
D20Rat35	20	20.755.975	20.756.158
D20Rat54	20	40.802.969	40.803.178
D20Mgh1	20	51.121.949	51.122.133
DXRat102	X	1.792.719	1.792.941
DXRat78	X	20.782.103	20.782.289

DXMgh5	X	39.834.773	39.834.910
DXRat61	X	61.066.739	61.066.937
DXMit4	X	79.625.917	79.626.109
DXRat50	X	99.773.357	99.773.589
DXRat94	X	120.688.640	120.688.845
DXRat117	X	139.745.138	139.745.376