

**Gesellschaft für
Versuchstierkunde**

Society for Laboratory
Animal Science

GV-SOLAS

Ausschuss für Genetik und Labortierzucht

Definition und Zucht isogener Maus- und Rattenstämme

Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung	- 2 -
2. Koloniestruktur	- 2 -
2.1 Nukleuskolonie	- 3 -
2.1.1 Zuchtprogramme	- 4 -
2.1.2 Zuchtdokumentation	- 7 -
2.1.3 Kolonieindex	- 7 -
2.1.4 Genetische Überwachung	- 7 -
2.2. Erweiterungskolonie	- 8 -
2.3 Produktionskolonie	- 8 -
3. Tierzuchten an Forschungseinrichtungen	- 8 -
4. Nomenklatur	- 9 -
5. Literatur	- 9 -

1. Einleitung

Genetisch definierte Versuchstiere leisten einen wichtigen Beitrag zur Standardisierung von Versuchsbedingungen und somit zur Verbesserung der Qualität tierexperimenteller Studien. Damit wird einem wesentlichen Anliegen des Tierschutzes Rechnung getragen, denn die Optimierung der Rahmenbedingungen tierexperimenteller Studien dezimiert die Anzahl der erforderlichen Versuchstiere.

Ziel von Inzuchten ist es, die genetische Variabilität von Zuchtkolonien so weit wie möglich zu reduzieren. Dieses wird durch strikte Bruder-Schwester-Paarungen über mindestens zwanzig Generationen erreicht. Mit jeder Inzuchtgeneration nimmt die Wahrscheinlichkeit von „Incross“ Paarungen ($aa \times aa$) zu, während die Wahrscheinlichkeit von „Intercross“ ($aa \times bb$) und „Backcross“ Kreuzungen ($ab \times aa$) abnimmt. Der Prozentsatz heterozygoter Merkmalspaarungen in einer Generation verringert sich mit jeder weiteren Inzuchtgeneration um ca. 19,1%. (Green, 1981), so dass sich die Homozygotie in einer Kolonie asymptotisch einem Wert von 100% nähert. Die Wahrscheinlichkeit eines einzelnen Genes, innerhalb eines Tierstamms in homozygoter Form vorzuliegen (= Inzuchtkoeffizient), übersteigt bereits nach der zwanzigsten Inzuchtgeneration den Wert von 0,99. Inzuchtstämme sollen aber auch über die zwanzigste Generation hinaus mittels strikter Bruder x Schwester Verpaarung propagiert werden.

Eine Zuchtkolonie muss so organisiert sein, dass die genetisch definierten Inzuchttiere den Qualitätsanforderungen standardisierter Versuchsbedingungen gerecht werden. Dieser Qualitätsstandard sollte auch dann gewährleistet werden, wenn ein hoher Bedarf an Versuchstieren rasch erzüchtet werden soll.

Nachfolgend werden die Grundprinzipien der Zucht isogener Versuchstiere dargestellt.

2. Koloniestruktur

Die Zucht isogener Versuchstiere muss auch bei hohem Tierbedarf die genetische Qualität gewährleisten. Diese Forderung wird am besten erfüllt, wenn die Zucht in eine Nukleuskolonie, eine oder zwei pedigrierte Erweiterungskolonien (PEC1 bzw. PEC2) sowie eine oder mehrere Produktionskolonien (MC1, MC2, etc) substrukturiert ist (Abb. 1). Jede dieser Zuchtstufen hat ihre eigenen Aufgaben in der Tierproduktion und ist entsprechend organisiert.

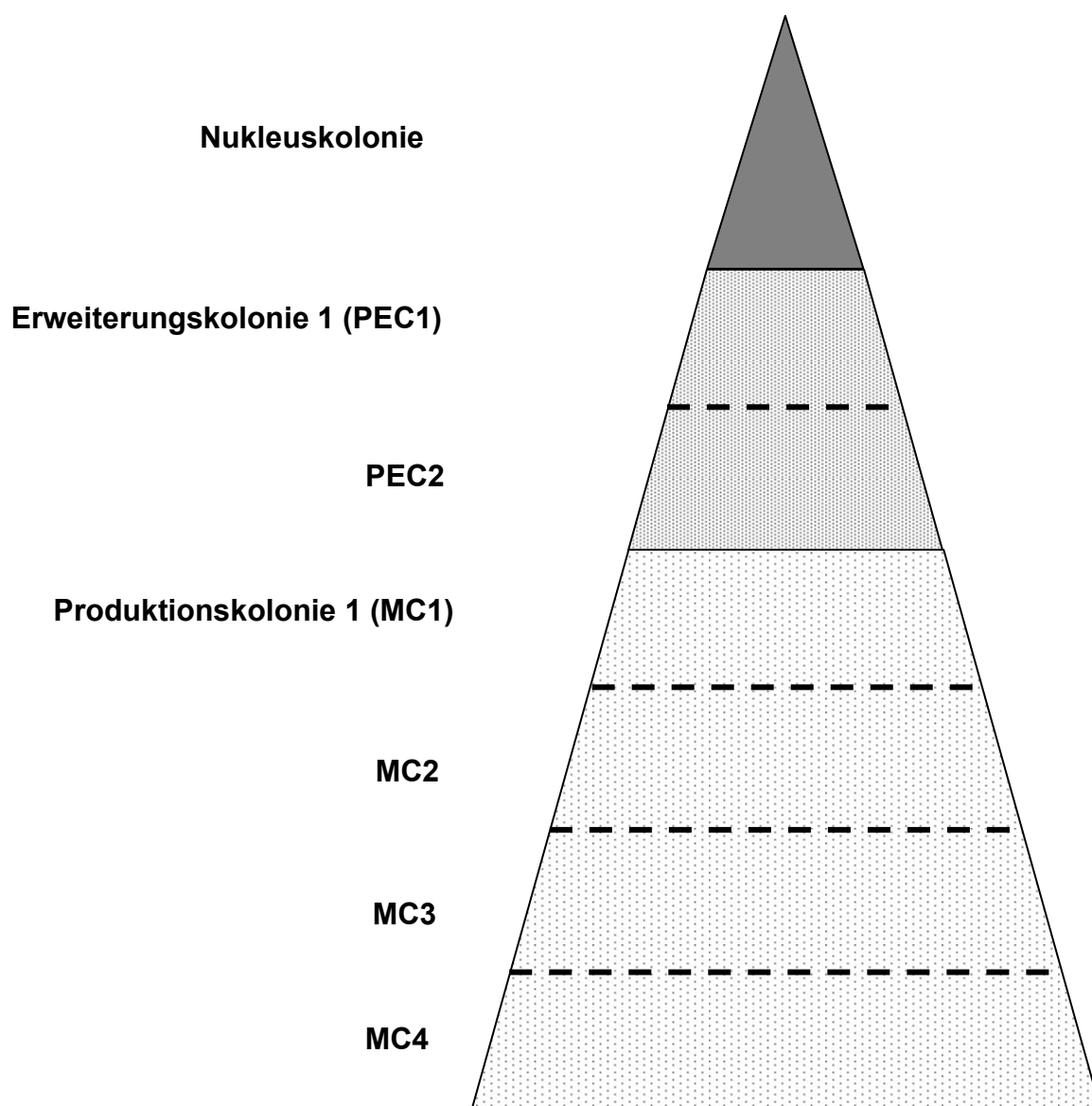


Abbildung 1: Dargestellt ist die hierarchische Struktur einer Zuchtkolonie: NC = Nucleuskolonie, PEC = Pedigrierte Erweiterungskolonien, MC = Produktions- oder Multiplikationskolonie

2.1 Nucleuskolonie

Die Nucleuskolonie ist die Basis eines jeden Stammes und stellt die genetische Reserve für alle folgenden Produktionsstufen dar. Sie ist in sich geschlossen und regeneriert sich selbst. Das bedeutet, dass in der Nucleuskolonie nur Tiere eingesetzt werden, die auch aus dieser Kolonie hervorgehen. Es ist anzuraten, die Nucleuskolonie durch die Kryokonservierung einer adäquaten Anzahl von Embryonen (≥ 500) abzusichern.

Die Anzahl der Zuchtpaare in einer Nukleuskolonie hängt vom Kolonieindex (CI, siehe 2.1.3) des jeweiligen Inzuchtstammes ab. Eine Nukleuskolonie sollte etwa 15 Nachkommen pro Woche hervorbringen. Hierzu werden bei einer durchschnittlichen Zuchtleistung ($CI = 1$) des Inzuchtstammes ca. 15 Zuchtpaare benötigt. Der Platzbedarf beträgt 15 Zucht- sowie 30 Absatzkäfige. Die Absatztiere können entweder als Zuchttiere in der Nukleuskolonie oder in einer der nachfolgenden Kolonien (Erweiterungskolonie oder Produktionskolonie) eingesetzt oder für Experimente verwandt werden. Die Zucht einer Nukleuskolonie erfolgt durch monogame Bruder x Schwester Verpaarung. Alle Zuchtdateien einer Nukleuskolonie werden aufgezeichnet, so dass ein Stammbaum erstellt und die Reproduktionsleistung des Stammes ermittelt werden kann.

2.1.1 Zuchtprogramme

Ziel eines Zuchtprogramms für genetisch definierte Inzuchtstämme ist es, bei ausreichenden Tierzahlen die genetische Authentizität der Tiere zu gewährleisten. Dafür wurden zwei Zuchtprogramme vorgeschlagen (Falconer, 1972), die im Lauf der Zeit modifiziert wurden (Festing, 1979; Hedrich, 1990) und die folglich als modifiziertes Einlinien- bzw. als modifiziertes Parallellinien-System (family-line designation system) bezeichnet werden.

Das modifizierte Einliniensystem

Bei diesem System besteht die Nukleuskolonie aus maximal 30 Zuchtkäfigen und wird nach drei bis sieben Generationen regeneriert (Abb. 2). Der Erneuerungszyklus sollte nur drei bis vier Generationen dauern, wenn einer Nukleuskolonie Erweiterungs- oder Produktionskolonien nachgeschaltet sind. Auf der anderen Seite besteht nach Festing die Gefahr, dass rezessive Mutationen zunächst unerkannt bleiben, wenn ein Regenerationszyklus aus weniger als fünf Generationen besteht (Festing, 1979).

Die genetische Kontamination einer Einlinienzucht stellt für den Inzuchtstamm ein erhebliches Risiko dar. Daher empfiehlt es sich, jedes Zuchtpaar genetisch zu überwachen. Die Nukleuskolonien von „The Jackson Laboratory“ werden mit Hilfe des Einliniensystems geführt [persönliche Mitteilung von Leah Rae Donahue, The Jackson Laboratory]. Der Einsatz von Single Nucleotide Polymorphism (SNP) zur genetischen Überwachung ermöglicht eine kostengünstige Kontrolle aller Zuchtpaare [www.ensembl.org/index.html, www.kbioscience.co.uk]

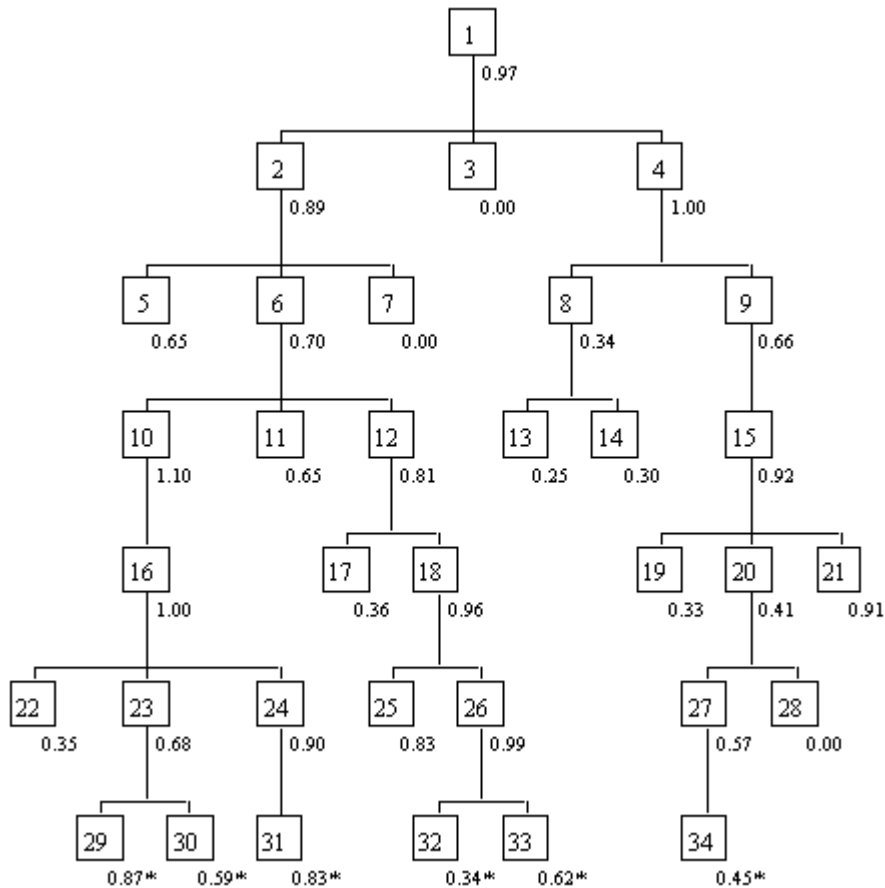


Abbildung 2: Dargestellt das modifizierte Einzelliniensystems aus (Hedrich, 1990). Die Nummern in den Kästen beschreiben die Zuchtpaare, die Nummern unter den Kästen stellen die Reproduktionsleistung dar (Absatz/Weibchen/Woche). Neue Stammeltern werden aus der Sublinie mit der besten Reproduktionsleistung ausgewählt. In diesem Beispiel ist die durchschnittliche Reproduktionsleistung der linken Sublinie

$$\frac{0.89 + 0.65 + 0.70 + 1.10 + \dots + 0.60}{20} = 0.71.$$

Die durchschnittliche Reproduktionsleistung der rechten Sublinie entspricht

$$\frac{1.00 + 0.34 + 0.60 + 0.25 + \dots + 0.31}{11} = 0.50$$

Ein neuer Produktionszyklus sollte daher mit einem Zuchtpaar aus der siebten Generation der linken Sublinie begonnen werden.

Das modifizierte Parallelliniensystem

Im modifizierten Parallelliniensystem werden anstatt einer drei Zuchtlinien parallel angelegt, deren Ursprung auf gemeinsame Stammeltern zurückgeführt werden können (Abb. 3). Aus einem Wurf der Stammeltern werden drei Zuchtpaare gebildet, die so genannten Linieneltern. Jede Sublinie (Familie) wird über vier Generationen geführt. Ein Generationswechsel findet in der Regel erst nach dem dritten Wurf statt. In jeder der Sublinien (Familien) wird ein Generationswechsel mit mehreren Zuchtpaaren vollzogen (Hedrich, 1990). Aus jeder der drei Sublinien wird ein Elternpaar aus der dritten Folgegeneration einer genetischen Kontrolle unterzogen. Die Nachkommen der getesteten Eltern werden ebenfalls einer genetischen Kontrolle unterzogen und bei genetischer Unbedenklichkeit werden aus einem der getesteten Würfe die drei neuen Linieneltern ausgewählt. (siehe GV-SOLAS Manuskript „Empfehlungen zum genetischen Monitoring“). Auswahlkriterium ist dann die Reproduktionsleistung der entsprechenden Sublinie.

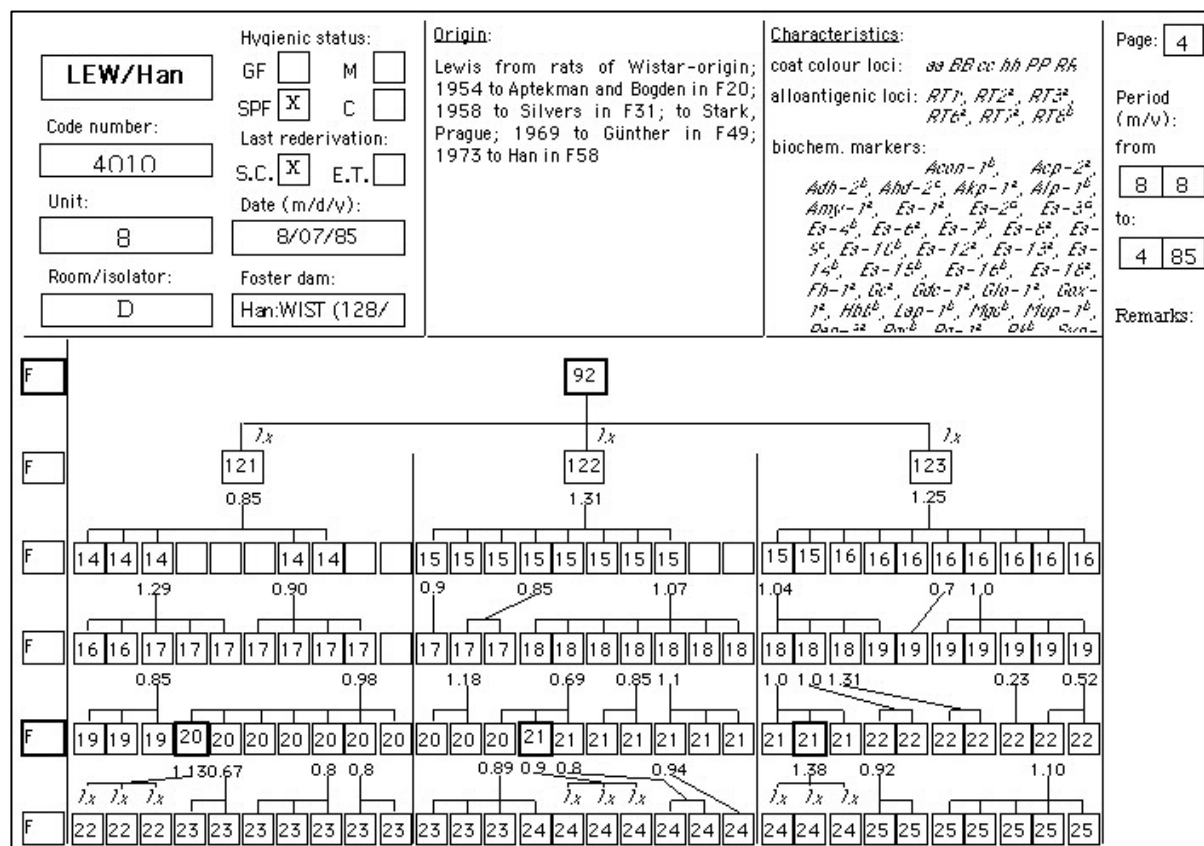


Abbildung 3: Dargestellt ist ein Stammbaum für das modifizierte Parallelliniensystem (Hedrich, 1990). Angegeben sind der Inzuchstamm, das genetische Profil des Stammes und die Reproduktionsleistung der Zuchtpaare.

2.1.2 Zuchtdokumentation

Die Dokumentation einer Versuchstierzucht ist durch das Tierschutzgesetz (§11aTierSchG) und gegebenenfalls durch das Gentechnikgesetz (GenTAufzV §1 bis §7) vorgegeben.

Unabhängig von gesetzlichen Vorgaben stellt die Zuchtdokumentation aber ein wichtiges Instrument zur Sicherung der genetischen Qualität eines Inzuchtstammes dar. Zusätzlich vermitteln die Zuchtdaten einen Überblick über die Reproduktionsleistung eines Stammes (Kolonieindex). Die Daten werden am Zuchtkäfig auf der Zuchtkarte, im Stammbaum und gegebenenfalls im Zuchtbuch aufgezeichnet. In Nukleuskolonien sollten Spezies, Stamm, Differentialallele kongener oder koisogener Stämme, Stammtyp (Inzucht, Auszucht, Rückkreuzung, etc), Geschlecht, Käfignummer, Tiernummer, Geburtsdatum, Generation, Tiernummern der Eltern, Zuchtbeginn, Wurfstag, Wurfgröße, Absatzgröße und Absatzdatum aufgezeichnet werden

2.1.3 Kolonieindex

Ein wichtiges Kriterium bei der genetischen Überwachung eines isogenen Stammes ist seine Reproduktionsleistung, die -abgesehen von jahreszeitlichen Schwankungen- über einen definierten Zeitraum konstant bleiben sollte. Die Reproduktionsleistung wird durch den Kolonieindex ausgedrückt, der die durchschnittliche Anzahl der Jungtiere eines Zuchtweibchens pro Woche angibt. Der Kolonieindex kann mit zunehmender Generationszahl in einer Inzucht abnehmen. Ein sprunghafter Anstieg des CI ist ein Hinweis auf einen veränderten genetischen Hintergrund in der Kolonie (siehe GV-SOLAS Manuskript „Zielsetzungen und Methoden des genetischen Monitoring“).

2.1.4 Genetische Überwachung

Die genetische Überwachung einer Nukleuskolonie erfolgt regelmäßig zu festgesetzten Zeitpunkten der Zucht und hat einerseits zum Ziel, die genetische Authentizität des Stammes zu überprüfen und verfolgt andererseits den Zweck, mögliche Kontaminationen aufzudecken. Die genetische Überwachung ist ausführlich in den GV-SOLAS Manuskripten „Zielsetzungen und Methoden des genetischen Monitoring“ und „Empfehlungen zum genetischen Monitoring“ beschrieben. Der

Zeitpunkt der Überwachung einer Nukleuskolonie hängt davon ab, ob sie als Einliniensystem oder Parallelliniensystem geführt wird.

2.2. Erweiterungskolonie

Die Größe einer Erweiterungskolonie richtet sich nach dem wöchentlichen Bedarf an Versuchstieren und dem Bedarf an Zuchtpaaren für weitere Produktionskolonien. Die Erweiterungskolonie wird genau wie die Kernzucht geführt (monogame Bruder x Schwester Verpaarung, Dokumentation der Zuchtdaten und Stammbaum). Im Unterschied zur Nukleuskolonie erhält sich die Erweiterungskolonie nicht selbst. Zur Regeneration einer Erweiterungskolonie werden Zuchtpaare aus der Nukleuskolonie verwendet.

2.3 Produktionskolonie

Eine Produktionskolonie kann einen größeren Bedarf an Versuchstieren decken als die Erweiterungskolonie. Sie unterliegt keiner strengen Bruder x Schwester Verpaarung, die Zuchtpartner sollten aber aus derselben Generation abstammen. Eine Produktionskolonie wird mit Zuchtpaaren aus der Nukleuskolonie oder der Erweiterungskolonie aufgebaut und sollte nicht mehr als 4 Generationen geführt werden. Danach beginnt der Aufbau einer neuen Kolonie mit Zuchtpaaren aus dem Nukleus oder der pedigrierten Erweiterungskolonie. Eine regelmässige Kontaminationskontrolle empfiehlt sich auf jeden Fall. Zuchtdaten sollten soweit erfasst werden, wie es für ein effektives Zuchtmanagement notwendig ist.

3. Tierzuchten an Forschungseinrichtungen

Viele Forschungseinrichtungen unterhalten eine Vielzahl eigener Zuchten, ohne dass die Zucht der Versuchstiere in Nukleuskolonie, Erweiterungskolonie und Produktionskolonie substrukturiert werden kann. In solchen Fällen empfiehlt sich die Organisation der Kolonien entsprechend der Standards einer Erweiterungskolonie oder zumindest einer Produktionskolonie. Solche Kolonien sollten regelmäßig mit Zuchttieren aus renommierten genetischen Ressourcen neu etabliert werden. Auch bei solchen Kolonien muss die genetische Authentizität des Tiermaterials durch geeignete Monitoringprogramme gewährleistet werden. (siehe hierzu GV-SOLAS

Manuskript „Empfehlungen zum genetischen Monitoring isogener Maus- und Rattenstämme“.

4. Nomenklatur

Es wurde eine standardisierte Nomenklatur zur eindeutigen Bezeichnung von Inzuchstämmen entwickelt. Die offiziellen Nomenklaturregeln der Maus- und Rattenstämme sowie ihrer Gene und Allele kann unter www.informatics.jax.org eingesehen werden. In vielen wissenschaftlichen Forschungseinrichtungen erhalten die Tierstämme vereinfachende interne Bezeichnungen. Dabei muss aber allen Beteiligten bewusst sein, dass solche internen Bezeichnungen keiner Standardisierung unterliegen und in der Regel auch nicht in der Lage sind, allen genetischen Aspekten eines spezifischen Stamms gerecht zu werden.

5. Literatur

Green EL (1981) Genetics and probability in animal breeding experiments. Macmillan Publishers, London.

Festing MFW (1979) Inbred strains in biomedical research. Macmillan Press Ltd. London.

Hedrich HJ (1990) Genetic monitoring of inbred strains of rats. Gustav Fischer Verlag Stuttgart New York.

Falconer DS (1972) Genetics aspects of breeding methods. In: The UfAW Handbook on the care and management of laboratory animals. Churchill Livingstone Edinburgh pp 5 – 25.

Autoren: Dirk Wedekind, Kurt Reifenberg, Hans Hedrich