



**Gesellschaft für
Versuchstierkunde**

Society for Laboratory
Animal Science

GV-SOLAS

Ausschuss für Genetik und Labortierzucht

Zielsetzung und Methoden des genetischen Monitoring isogener Maus- und Rattenstämme

Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung.....	2
2. Beeinflussung der genetischen Authentizität isogener Versuchstierstämme.....	2
3. Zielsetzung des genetischen Monitoring	3
4. Methoden der Authentizitätsprüfung.....	3
4.1 Polygen vererbte morphologische und (patho)physiologische Stammeigenschaften	3
4.1.1 Pigmentierung	3
4.1.2 Reproduktionsphysiologische Daten	3
4.1.3 Verhalten	3
4.1.4 Pathophysiologische Stammeigenschaften	4
4.2 Hauttransplantation	4
4.3 Allgemeines Markersset	5
4.3.1 Definition des allgemeinen Markersets.....	5
4.3.2 Biochemische Marker	5
4.3.3 Immunologische Marker	6
4.3.4 DNA-Marker	7
5. Methoden zur Diskriminierung der Stämme einer Zuchteinheit.....	10
5.1 Kritisches Markerset.....	10
5.2 Methoden zur Genotypisierung von Differentialloci	10
6. Literatur	11
Anhang 1	16
Anhang 2	17
Anhang 3	18
Anhang 4	18

1. Einleitung

Isogene Maus- und Rattenstämme [(Inzuchtstämme, kongene Stämme, koisogene Stämme, konsome Stämme, rekombinant ingezüchtete (RI) Stämme, rekombinant kongene (RC) Stämme] sind in der biomedizinischen und biologischen Forschung unverzichtbar. Die Aussagekraft der mit isogenen Tiermodellen erzeugten wissenschaftlichen Resultate steht und fällt mit der genetischen Authentizität der eingesetzten Stämme. Der Aufbau von Programmen zur genetischen Überwachung isogener Tierstämme ist deshalb unabdingbar. Dabei obliegt die genetische Überwachung nicht allein dem Experimentator, sondern bedingt durch die Organisationsstruktur zentraler Tierhaltungen ggf. auch dieser Einrichtung, mit Sicherheit aber jeweils dem Züchter der Tiere. Das vorliegende Manuskript wurde vom Ausschuss für Genetik und Labortierzucht der Gesellschaft für Versuchstierkunde (GV-SOLAS) erstellt und beschreibt die Zielsetzungen und die Methoden genetischer Monitoringprogramme.

2. Beeinflussung der genetischen Authentizität isogener Versuchstierstämme

Die genetische Authentizität isogener Tierstämme kann durch genetische Kontamination, durch Mutationen sowie durch differenzielle Fixierung residualer heterozygoter Gene beeinträchtigt werden. Bei hoch ingezüchteten Tierstämmen ($F > 60$ Generationen) ist die Restheterozygotie äußerst gering. Spontane Mutationen im Genom treten in ingezüchteten Stämmen unvermeidbar auf und können zu phänotypischen Veränderungen führen (Drake et al, 1998). Darüber hinaus können genetische Kontaminationen die Authentizität isogener Tierstämme zerstören. Obwohl genetische Kontaminationen isogener Stämme prinzipiell durch geeignete Maßnahmen des Tierhaltungsmanagements vermieden werden könnten, zeigen die Erfahrungen der Vergangenheit, dass sie de facto dennoch häufig auftreten (Bitter-Suermann and Lewis, 1980; Kendall et al., 1986; Naggert et al., 1995; Simpson et al., 1997; Sharp, 1981; Threadgill et al., 1997; Benavides et al., 1998; Benavides 1999; Nitzki et al., 2006).

3. Zielsetzung des genetischen Monitoring

Genetische Qualitätssicherungsprogramme müssen prinzipiell zwei Anforderungen gerecht werden:

- 1) Sie müssen in der Lage sein, die genetische Authentizität isogener Stämme zu prüfen.
- 2) Sie müssen geeignet sein, spezifische Differential-Allele zu genotypisieren bzw. deren Expression zu kontrollieren.

4. Methoden der Authentizitätsprüfung

4.1 Polygen vererbte morphologische und (pa-tho)physiologische Stammeigenschaften

4.1.1 Pigmentierung

Die Fellfarbe von Mäusen und Ratten ist ein sehr wertvoller Parameter zur Überprüfung der Authentizität ingezüchteter Stämme, da sie leicht beurteilt werden kann. Über die komplexe Fellfarbengenetik der Maus existieren hervorragende Monographien (Silvers, 1979, Searle, 1968). Fellfarbvarianten der Ratten sind bei Hedrich (1990) ausführlich beschrieben.

4.1.2 Reproduktionsphysiologische Daten

Der Kolonie-Index isogener Stämme (Anzahl abgesetzter Jungtiere pro Zuchtweibchen je Woche) liegt aufgrund der Inzuchtdepression in der Regel deutlich unter dem von Auszuchtvarianten oder Hybriden. Steigt der Kolonie-Index eines (vermeintlich) isogenen Stammes signifikant an, so ist dieses ein Hinweis auf eine genetische Kontamination des betroffenen Stammes.

4.1.3 Verhalten

Treten deutliche Änderungen des Verhaltens isogener Mäuse oder Ratten auf, so kann dieses genetische Ursachen haben. Nur entsprechend ausgebildetes und trainiertes Tierpflegepersonal ist in der Lage, Verhaltensveränderungen von Mäusen und Ratten zu erkennen.

4.1.4 Pathophysiologische Stammeigenschaften

Die Vielfalt an isogenen Stämmen bei Maus und Ratte spiegelt sich in den verschiedenen spezifischen Phänotypen wider; hierzu gibt es eine Fülle an Informationen, die u. a. die spezielle Auswahl für bestimmte Experimente erleichtern. So entwickeln beispielsweise die Vertreter des NOD Mausstamms und des BB Rattenstamms Diabetes mellitus Typ 1 (T1DM); Ratten des SHR Stamms weisen eine Hypertonie auf. Der Verlust der charakteristischen pathophysiologischen Eigenschaften solcher Stämme stellt ein zuverlässiges Anzeichen für eine genetische Kontamination dar.

4.2 Hauttransplantation

Aufgrund der Isogenität der Vertreter ingezüchteter Stämme findet bei stamminterner Gewebetransplantation keine Abstoßungsreaktion statt. Umgekehrt kann die Technik der Hauttransplantation dazu genutzt werden, die Isohistogenität ingezüchteter Stämme zu prüfen. Die Fremderkennung wird von einer Reihe von Genorten determiniert, die als Histokompatibilitäts (H) Loci bezeichnet werden. Dabei kommt dem Haupthistokompatibilitätskomplex, MHC (major histocompatibility complex), eine herausragende Bedeutung zu, während die anderen, als Nebenhistokompatibilitätsloci (minor histocompatibility loci) bezeichneten Gene in der Regel einen deutlich geringeren Einfluss auf das Transplantationsergebnis nehmen (Simpson 1991). Die Hauttransplantation bietet die Möglichkeit, die Identität der H-Loci zwischen Spendern und Empfängern zu testen. Bei divergentem MHC wird das Transplantat akut (≤ 2 Wochen) abgestoßen werden, bei Ungleichheit eines oder mehrerer Nebenhistokompatibilitätsloci kann die Abstoßungsreaktion einen chronischen Verlauf nehmen und sich über Monate hinziehen ggf. aber auch akut verlaufen.

Meistens wird eine orthotope Schwanzhauttransplantation (Bailey and Usama, 1960) durchgeführt, gelegentlich wird auch Ohrhaut heterotop auf die seitliche Brustwand transplantiert. Üblicherweise werden Tiergruppen auf standardisierte Weise transplantiert (reziprokes Zirkelsystem nach Bailey und Kohn, 1965, oder Doppelring-schema nach Zeiss, 1966).

4.3 Allgemeines Markerset

4.3.1 Definition des allgemeinen Markersets

Ein Markerset ist eine Zusammenstellung spezifischer Loci oder Genprodukte, die geeignet ist, ein genetisches Profil ingezüchteter Stämme abzubilden und somit deren Authentizität zu verifizieren. Das Markerset sollte dabei folgende Anforderungen erfüllen:

- Das Markerset soll mindestens 1 bis 3 Marker pro Chromosom in ausreichendem genetischen oder physikalischen Abstand umfassen. Dabei bestimmt die Größe des Chromosoms die Anzahl der Marker und die Marker eines spezifischen Chromosoms sollen möglichst gleichmäßig verteilt sein. Weiterhin müssen zusätzliche informative Marker in ausreichender Anzahl und adäquater genomischer Dichte existieren, um in Sonderfällen weitergehende Untersuchungen anstellen zu können.
- Die einzelnen Marker des Sets sollten einen möglichst hohen Polymorphiegrad aufweisen, um zu gewährleisten, dass ein hoher Informationswert in das genetische Überwachungsprogramm eingebracht wird.
- Das Markerset muss die Differenzierung auch eng verwandter Inzuchtstämme ermöglichen.
- Die Geno- bzw. Phänotypen der Marker müssen mit vertretbarem Aufwand bestimmt werden können.

4.3.2 Biochemische Marker

Bei biochemischen Markern handelt es sich um Proteine (meist Enzyme), die einem genetisch bedingten Polymorphismus unterliegen. Biochemische Marker werden nicht auf genetischer, sondern auf proteinchemischer Ebene analysiert. Dazu werden Organhomogenate oder Körperflüssigkeiten elektrophoretisch aufgetrennt und anschließend einer proteinspezifischen Nachweisreaktion unterzogen.

Das ehemalige Programm zur Überwachung der Authentizität isogener Mausstämme des Jackson Laboratory beinhaltete ein Set von 25 biochemischen Markern. Diese Marker sind im Anhang 1 samt chromosomaler Position und Literaturhinweisen aufgelistet. Auch im „ICLAS Manual for Genetic Monitoring of Inbred Mice“ (Esaki et al., 1984) ist ein Set biochemischer Mausmarker publiziert.

Ein Set biochemischer Marker zur Authentizitätskontrolle isogener Rattenstämme wurde von Hedrich (1990) publiziert (siehe Anhang 2).

4.3.3 Immunologische Marker

Bei immunologischen Markern handelt es entweder um Genprodukte mit immunologischer Funktion oder um Proteine, die mittels immunologischer Methoden analysiert werden.

Das ehemalige genetische Maus-Monitoringprogramm des Jackson Laboratory beinhaltete die Analyse von 3 immunologischen Markern, darunter auch der MHC. Diese Marker sind im Anhang 3 samt chromosomaler Position und Literaturhinweisen aufgelistet. Im „ICLAS Manual for Genetic Monitoring of Inbred Mice“ (Esaki et al., 1984) findet sich eine Liste immunologischer Marker, die zur Authentizitätskontrolle isogener Mausstämme benutzt werden können.

In der Monographie von Hedrich (1990) findet sich ebenfalls ein Set immunologischer Marker zur Authentizitätskontrolle isogener Rattenstämme (siehe Anhang 4).

Eine wichtige immunologische Markergruppe ist sicherlich der bereits weiter oben erwähnte MHC. Da alle T- und B-Zellimmunantworten einer MHC-Restriktion unterliegen, ist die Authentizität des MHC-Locus insbesondere für immunologisch ausgerichtete Tierexperimente von essentieller Bedeutung. Unter der Internetadresse ftp://ftp.informatics.jax.org/pub/datasets/misc/H2Haplotypes/H2_haplotypes.html

kann eine Liste der Haplotypen der am Jackson Laboratory verfügbaren murinen Inzuchtstämme und intra-MHC rekombinanten Inzuchtstämme eingesehen werden.

Die unterschiedlichen MHC Haplotypen der Ratte sind von Hedrich (1990) beschrieben und im genetischen Archiv des Instituts für Versuchstierkunde der Universität Hannover unter <http://www.mh-hannover.de/2652.html> aufgelistet worden. Auf dieser Internetseite sind auch Informationen zum genetischen Profil vieler Rattenstämme verfügbar.

Für viele der MHC Antigene der Maus sind monoklonale Antikörper entwickelt worden, von denen die meisten käuflich erworben werden können. Ein Nachweis der entsprechenden Haplotypen kann somit einfach mit Hilfe eines Durchflußzytometers durchgeführt werden. Monoklonale Antikörper für die einzelnen MHCI und MHCII Allele der Ratte sind nur selten kommerziell erhältlich. Die MHC Haplotypen der Ratte werden daher meist mittels polyklonaler Antiseren determiniert. Die gängigen Methoden sind hier überwiegend der Dextranhämagglutinationstest (MHC Klasse I) und der

Komplement-abhängige Zytotoxizitätstest (MHC Klasse I + II). Alternativ zu den serologischen Nachweisverfahren können heute molekulare Nachweismethoden zur Bestimmung der MHC Haplotypen von Maus und Ratte eingesetzt werden. Mittlerweile sind polymorphe Mikrosatelliten und SNPs bekannt, die in den kodierenden und nicht-kodierenden Regionen des Haupthistokompatibilitätskomplex kartieren; sie definieren jedoch die jeweiligen Haplotypen nicht eindeutig. Als Methoden bieten sich PCR- und Hybridisierungstechniken sowie Sequenzierverfahren an.

4.3.4 DNA-Marker

In der Vergangenheit wurde eine Vielzahl von Methoden zum Nachweis von DNA Polymorphismen entwickelt, wie zum Beispiel „Restriction Fragment Length Polymorphisms“ (RFLP, Dai et al, 2005), „Variable Number of Tandem Repeats“ (VNTR, Thebault-Baumont et al, 2003), „Random Amplification of Polymorphic DNA“ (RAPD, Alexandrova and Shvemberger, 2005; Keshava et al., 1999) und „Amplified Fragment Length Polymorphisms“ (AFLP, Vos et al., 1995). Vielfach sind diese Methoden wegen des hohen damit verbundenen zeitlichen Aufwands oder ungenügender Reproduzierbarkeit der Ergebnisse nur im Einzelfall und bei besonderen Fragestellungen zur Genotypisierung von Inzuchtstämmen einsetzbar.

Zur Authentizitätskontrolle isogener Maus- und Rattenstämme haben sich Mikrosatellitenanalysen und die Untersuchung von „Single Nucleotide Polymorphisms“ (SNP) durchgesetzt.

4.3.4.1 Mikrosatelliten

Mikrosatelliten bestehen aus Tandem-Wiederholungen von DNA-Grundmotiven, die aus 2 bis 4 Nukleotiden bestehen, und deshalb auch als „simple tandem repeats“ (STR) bezeichnet werden (Miesfeld et al., 1981; Hamada et al., 1982). Sie finden sich mit großer Häufigkeit in allen Säugergenomen und zeigen einen stark ausgeprägten genetischen Polymorphismus, der durch die Anzahl der Wiederholungen des zugrunde liegenden DNA-Motivs charakterisiert ist und deshalb auch als „simple sequence length polymorphism“ (SSLP) bezeichnet wird. Der Nachweis von Mikrosatellitenpolymorphismen erfolgt mit Hilfe von Oligonukleotiden (PCR-Primern), die homolog zu den flankierenden spezifischen DNA Sequenzen des Mikrosatelliten sind und somit die gezielte Amplifikation des gesamten Mikrosatelliten erlauben. Die Amplifikatgröße kann gelelektrophoretisch (Agarose- oder Polyacrylamidgel) oder bei Verwendung fluoreszenzmarkierter Primer auch mit automatisierten Systemen bestimmt werden.

Es stehen umfangreiche Datenbanken über Maus-Mikrosatelliten sowie die Genotypen isogener Stämme zur Verfügung. Die geläufigste diesbezügliche Informationsquelle stellt sicherlich die „Mouse Genome Informatics“ (MGI) Datenbank (<http://www.informatics.jax.org/>) dar. In dieser umfangreichen Datenbank können für spezifische murine Mikrosatelliten Informationen über chromosomale Position, Allele, Stammespolymorphismen, Nachweistechnik und Literaturreferenzen abgerufen werden.

Zum Aufbau von Mikrosatelliten-basierten Authentizitätsprüfungen sind statt Datenbanken eher spezifische Datensammlungen nützlich, in denen für ausgesuchte Mikrosatelliten-Sets Genotypen isogener Mausstämme angeführt werden. So beschreiben Dietrich et al. (1992) ein Set von 317 Mikrosatelliten und informieren über die Polymorphismen bei den Inzuchtstämmen C57BL/6J-*Lep^{ob}*, CAST/Ei, C57BL/6J, SPRET/Ei, DBA/2J, A/J, C3H/HeJ, BALB/cJ, AKR/J, NON/Lt, NOD/MrkTacBr und LP/J. In ähnlicher Weise wird bei Schalkwyk et al. (1999) ein Panel von 128 Mikrosatelliten beschrieben und die Polymorphismen für die Stämme DBA/2, BALB/c, AKR, C57BL/6, C57BL/10, A/J, C3H, 129/J, SJL/J, JF1 und PWB angegeben. Das „Center for Inherited Disease Research“ (CIDR) informiert unter der Internetadresse http://www.cidr.jhmi.edu/mouse/apps_n_data.html über die Polymorphismen von 314 Mikrosatelliten bei insgesamt 54 Inzuchtstämmen. Diese Datensammlung nimmt Bezug auf eine Publikation von Witmer und Mitarbeitern (2003). Schließlich kann unter der Internetadresse <ftp://ftp.informatics.jax.org/pub/datasets/misc/Moore/Moore.xls> eine Exceltabelle geladen werden, die für eine Palette von 1562 Mikrosatelliten jeweils aufzeigt, ob Polymorphismen zwischen dem 129/SvJ Stamm und sieben anderen Inzuchtstämmen (C57BL/6J, DBA/2J, C3H/HeJ, BALB/cJ, Cast/Ei, FVB/NJ, C57BLKS/J) bestehen.

Die originäre Arbeit zu den Mikrosatelliten der Ratte wurde von James und Lindpaintner publiziert (James and Lindpaintner, 1997). Mittlerweile sind eine Vielzahl von Informationen zu Mikrosatelliten der Ratte im Internet erhältlich. Als benutzerfreundlich und praktikabel hat sich die Rat Genome Database erwiesen (<http://rgd.mcw.edu/>). Hier können für spezifische Ratten-Mikrosatelliten Informationen über chromosomale Position, Allele, Stammespolymorphismen, Nachweistechnik und Literaturreferenzen abgerufen werden. Datensammlungen, bei denen für ein ausgesuchtes Set von Mikrosatelliten die Genotypen bestimmter isogener Rattenstämme angeführt werden, sind auch unter http://www.well.ox.ac.uk/rat_mapping_resources/ erhältlich.

4.3.4.2 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

Bei einem SNP handelt es sich um einen genetischen Polymorphismus, der durch den Austausch nur eines einzigen Nukleotids charakterisiert ist. Obwohl prinzipiell an einer bestimmten DNA-Position alle 4 möglichen Nukleotide vorkommen könnten, existieren SNPs überwiegend in nur 2 Allelen, da die Wahrscheinlichkeit für einen weiteren Basenaustausch an der betroffenen Position extrem gering ist (Vignal et al. 2002). Trotz des im Vergleich zu den multi-allelen Mikrosatelliten geringeren Polymorphismus-Ausmaßes werden SNPs vermehrt für molekulargenetische Analysen eingesetzt. Der Grund hierfür liegt in der großen Zahl, mit der diese Elemente im Genom angetroffen werden.

Auch über murine SNPs stehen umfangreiche Datenbanken zur Verfügung. So verfügt die „Mouse Genome Informatics“ (MGI) Datenbank des Jackson Laboratory (<http://www.informatics.jax.org/>) über eine eigene SNP-Datenbank (<http://www.informatics.jax.org/javawi2/servlet/WIFetch?page=snpQF>), in der chromosomale Position, Stammesgenotypen, flankierende Sequenzen (Primerdesign) und Literaturreferenzen für spezifische murine SNPs abgerufen werden können. Daneben verfügen die umfangreichen Datensammlungen des National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) ebenfalls über eine eigene SNP Datenbank.

Auch beim Aufbau von SNP-basierten Authentizitätsprogrammen sind statt Datenbanken eher spezifische Datensammlungen nützlich, in denen für ausgesuchte SNP-Sets Genotypen isogener Mausstämmen angeführt werden. So beschreiben Petkov und Mitarbeiter (2004) ein Set von 1638 SNPs und informieren über die Genotypen bei insgesamt 102 isogenen Stämmen. Der Artikel ist unter <http://www.genome.org/cgi/content/full/14/9/1806> frei im Netz verfügbar und die Datenkollektion kann unter der Rubrik „Supplemental Research Data“ als Excel-Tabelle bezogen werden. Darüber hinaus informiert das „Center for Inherited Disease Research (CIDR)“ unter der Internetadresse http://www.cidr.jhmi.edu/mouse/mouse_markers.html über die Genotypen von 1449 SNPs bei insgesamt 10 Inzuchtstämmen.

Zur Zeit werden große Anstrengungen unternommen, um eine hoch auflösende SNP Karte des Rattengenoms zu erstellen (Ziehmdahl, et al., 2004; Smits et al., 2005). Ein ökonomisch vertretbarer Nachweis von Ratten-SNPs ist noch nicht etabliert. Da-

her hat die Genotypisierung von Rattenstämmen mittels SNPs noch nicht die Bedeutung erlangt wie die von isogenen Mausvarianten.

5. Methoden zur Diskriminierung der Stämme einer Zuchteinheit

5.1 Kritisches Markerset

Werden bestimmte isogene Maus- oder Rattenstämme längerfristig gleichzeitig in einer Zuchteinheit (Raum oder Barriere) gezüchtet, so wird die genetische Authentizität dieser Stämme in erster Linie durch genetische Kontaminationen untereinander, i.e. innerhalb der Zuchteinheit, bedroht. In diesem Sonderfall kann sich das genetische Monitoring der betroffenen Stämme über einen befristeten Zeitraum auf die Diskriminierung der Stämme innerhalb der Zuchteinheit beschränken. Für diese spezifische Fragestellung sind Untersuchungen mit einem kritischen Markerset ausreichend. Das kritische Set braucht lediglich diejenigen Marker umfassen, die zur eindeutigen Unterscheidung der Tierstämme der spezifischen Zuchteinheit erforderlich sind.

5.2 Methoden zur Genotypisierung von Differentialloci

Prinzipiell müssen für alle Differentialallele (z.B. Transgene, Knock-out-Defekte, Knock-in-Veränderungen, Spontanmutationen), die eventuell von isogenen Stämmen einer spezifischen Einrichtung getragen werden, Genotypisierungsprotokolle etabliert sein. Hierzu wird überwiegend die Methodik der PCR-Amplifikation benutzt. In Sonderfällen müssen jedoch andere, gegebenenfalls komplexere Nachweisverfahren aufgebaut werden. Als Beispiele seien hier die in Lieschke et al. (1994) und Kaneko et al. (1995) beschriebenen Techniken zum Nachweis des Osteopetrosis-Allels des murinen *Csf1*-Genortes erwähnt. Werden koisogene oder kongene Stämme mit einem weitestgehend gleichen genetischen Hintergrund in einer Zuchteinheit gehalten, so muss das kritische Markerset die unterschiedlichen Allele aller koisogenen und kongenen Stämme diskriminieren können.

6. Literatur

- Adams M, Baverstock PR, Watts CH, Gutman GA (1984) Enzyme markers in inbred rat strains: genetics of new markers and strain profiles. *Biochem Genet* 22: 611-629.
- Alexandrova SA, Shvemberger IN (2005) Genetic variability of the mouse hepatoma cells MH-22a revealed by RAPD-PCR-fingerprinting under different conditions of cultivation. *Exp Oncol*. 27: 114-9.
- Bailey DW, Usama B (1960) A rapid method of grafting skin on tails of mice. *Transplant Bull*. 7: 424-5.
- Bailey DW, Kohn HI (1965) Inherited histocompatibility changes in progeny of irradiated and unirradiated inbred mice. *Genet Res*. 6: 330-40.
- Barclay AN, Jackson DI, Willis AC, Williams AF (1987) Lymphocyte Specific Heterogeneity in the Rat Leukocyte Common Antigen (T200) Is Due to Differences in Polypeptide Sequences near the Nh2-Terminus. *EMBO J* 6:1259-1264,
- Benavides F, Cazalla D, Pereira C, Fontanals A, Salaverri M, Goldman A, Buggiano V, Dran G, Corley E (1998) Evidence of genetic heterogeneity in a BALB/c mouse colony as determined by DNA fingerprinting. *Lab Anim* 32: 80-5
- Benavides FJ (1999) Genetic Contamination of an SJL/J Mouse Colony: Rapid Detection by PCR-based Microsatellite Analysis. *Contemp Top Lab Anim Sci*. 38: 54-55.
- Bender K, Cleve H, Gunther E (1981) A Previously Described Serum-Protein Polymorphism in the Rat Identified as Gc (Vitamin-D-Binding Protein). *Anim Blood Groups Biochem Genet*.12: 31-6.
- Bender K, Nagel M, Gunther E (1982) Es-6, a Further Polymorphic Esterase in the Rat. *Biochemical Genetics* 20: 221-228.
- Bender K, Adams M, Baverstock PR, den Bieman M, Bissbort S, Brdicka R, Butcher GW, Cramer DV, von Deimling O, Festing MF, et al. (1984) Biochemical markers in inbred strains of the rat (*Rattus norvegicus*). *Immunogenetics* 19: 257-266.
- Bender K, Bissbort S, Brdicka R (1985) Studies of Some Selected Protein Polymorphisms in Inbred and Wild Rats. *Transplantation Proceedings* 17:1872-1874.
- Bitter-Suermann H, Lewis MG (1980) Rejection of skin and spleen "isografts" in strain of Lewis rats. *Transplantation*. 30:158.
- Bogden AE, Aptekman PM (1960) The R-1 Factor, a Histocompatibility Antigen in the Rat. *Canc. Res*. 20: 1372-1382.
- Brdicka R, Sulc K (1965) Different Haemoglobin Patterns in Inbred Lines of Rats. *Folia Biologica* 11: 328
- Chen SH, Donahue RP, Scott CR (1973) The Genetics of Glutamic-Pyruvic Transaminase in Mice: Inheritance, Electrophoretic Phenotypes, and Postnatal Changes. *Biochem. Genet*. 10: 23-28.
- Cohen BL (1960) Genetics of Plasma Transferrin in the Mouse. *Genet. Res*. 2: 431-438.
- Cramer DV (1981) Genetic-Variation of Urinary Pepsinogen and Its Probable Linkage to Albinism in the Rat. *Immunogenetics* 13: 555-558.
- Cramer DV, Mowery PA, Adams M (1986) Biochemical markers in rats: linkage relationships of aconitase (Acon-1), aldehyde dehydrogenases (Ahd-2 and Ahd-c), alkaline phosphatase (Akp-1), and hydroxyacid oxidase (Hao-1). *Biochem Genet* 24: 217-227.

- Dai JG, Min JX, Xiao YB, Lei X, Shen WH, Wei H (2005) The absence of mitochondrial DNA diversity among common laboratory inbred mouse strains. *J Exp Biol.* 208: 4445-50.
- DeLorenzo RJ and Ruddle FH (1969) Genetic Control of Two Electrophoretic Variants of Glucosephosphate Isomerase in the Mouse (*Mus musculus*). *Biochem. Genet.* 3: 151-162.
- DeLorenzo RJ and Ruddle FH (1970) Glutamate Oxalate Transaminase (GOT) Genetics in *Mus musculus*: Linkage, Polymorphism, and Phenotypes of the Got-2 and Got-1 Loci. *Bioche. Genet.* 4: 259-273.
- Dietrich W, Katz H, Lincoln SE, Shin HS, Friedman J, Dracopoli NC, Lander ES (1992) A genetic map of the mouse suitable for typing intraspecific crosses. *Genetics.* 131: 423-47
- Drake JW, Charlesworth B, Charlesworth D, Crow JF (1998) Rates of spontaneous mutation. *Genetics.* 148: 1667-86.
- Eicher EM, Stern RH, Womack JE, Davisson MT, Roderick TH, and Reynolds SC (1976) Evolution of Mammalian Carbonic Anhydrase Loci by Tandem Duplication: Close Linkage of Car-1 and Car-2 to the Centromere Region of Chromosome 3 of the Mouse. *Biochem. Gen.,* 14: 651-660.
- Esaki K, Festing MFW, Hedrich HJ, Hoffman HA, Mobraaten LE, Moutier R, Nomura T, Radzikowski C, Tomita T, Yosida T (1984) ICLAS Manual for Genetic Monitoring of Inbred Mice, Nomura T, Esaki K, Tomita T (Eds) University of Tokyo Press
- Fox RR and Black PM (1987) Erythrocyte antigen-9 (Ea-9)., *Mouse News Lett.* 78:57
- Gasser DL (1972) Seminal Vesicle Protein in Rats - Gene in Fourth Linkage Group Determining Electrophoretic Variants. *Biochem. Genet.* 6: 61
- Greiner DL, Barton RW, Goldschneider I, Lubaroff DM (1982) Genetic-Linkage and Cell Distribution Analysis of T-Cell Alloantigens in the Rat. *J. Immunogenetics* 9: 43-50.
- Hamada H, Petrino MG, Kakunaga T (1982) A novel repeated element with Z-DNA-forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79: 6465-6469
- Hamada S, Yamada J, Bender K, Adams M (1987) A New Polymorphic Pepsinogen Locus (Pg-2) in the Rat (*Rattus-Norvegicus*). *Exp. Anim.* 36: 267-272.
- Hedrich HJ, von Deimling O (1987) Re-evaluation of Lg-V of the Rat and Assignment of 12 Carboxylesterases to 2 Gene Clusters. 78: 92-96
- Hedrich HJ, Reetz IC (1990) Typing of Inbred Strains for Rt3 and Mapping of This Antigenic System to Linkage Group-X of the Rat. *Transplantation Proceedings* 22: 2559-2560
- Hedrich, H. J. (1990). Genetic monitoring of inbred strains of rats, Gustav Fischer, Stuttgart
- Henderson NS (1965) Isozymes of Isocitric Dehydrogenase: Subunit Structure and Intracellular Location. *J. Exp. Zool.* 158: 263-273.
- Herzenberg, L.A., Dora K. Tachibana, Leonore A. Herzenberg, and Leon T. Rosenberg (1963) A Gene Locus Concerned with Hemolytic Complement in *Mus musculus*. *Genetics* 48: 711-715.
- Hjorth JP (1979) Genetic Variation in Mouse Salivary Amylase Rate of Synthesis. *Biochem. Genet.* 17: 665-682
- James MR and Lindpaintner K (1997) Why map the rat? *Trends Genet.* 13: 171-173
- Kaneko H, Iizuka K, Morohashi T, Kokai Y, Fujimoto J (1995) Non-phenotypic detection of osteopetrotic (op/op) mutation by using PCR-SSCP analysis. *Laboratory Animals* 29: 442-6.

- Kendall C, Geiger D, Wagner JE (1986) Survey of genetic authenticity of commercially produced inbred rats. *Lab Anim Sci.*36: 655-8.
- Kendall PB (1983) The Gene Esterase-12 and Esterase-13 Polymorphisms in the Norway Rat. *17*: 221-224.
- Kendall PB (1985) Glucose phosphate dehydrogenase polymorphism and the genetics of linkage group II in the Norway rat (*Rattus norvegicus*). *Lab Anim* 19: 169-172.
- Keshava C, Keshava N, Zhou G, Whong WZ, Ong TM (1999) Genomic instability in silica- and cadmium chloride-transformed BALB/c-3T3 and tumor cell lines by random amplified polymorphic DNA analysis. *Mutat Res.* 425: 117-23.
- Klein J, Figueroa F, Klein D (1982) H-2 haplotypes, genes, and antigens: second listing. I. Non-H-2 loci on chromosome 17. *Immunogenetics* 16: 285-317.
- Kluge R, Hedrich HJ, von Deimling O (1990) Genetic Variation and Biochemical Properties of Esterase-18 (Es-18) in the Laboratory Rat (*Rattus-Norvegicus*) - a New Locus of Esterase Cluster 2 in Linkage Group-V. *Biochem. Genet.* 28: 57-68
- Kondo Y, Hamada S, Serikawa T, Yamada J (1987) 2 Polymorphic Genetic-Loci of Rat Tear Proteins. *Transplantation Proceedings* 19: 3146-3147.
- Kunz HW and Gill TJ (1978) Red blood alloantigenic systems in the rat. *J. Immunogenet.* 5: 365-382
- Lewis WHP and Truslove GM (1969) Electrophoretic Heterogeneity of Mouse Erythrocytes Peptidase, *Biochem. Genet.* 3: 493-498.
- Lieschke GJ, Stanley E, Grail D, Hodgson G, Sinickas V, Gall JA, Sinclair RA, Dunn AR (1994) Mice lacking both macrophage- and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor have macrophages and coexistent osteopetrosis and severe lung disease. *Blood* 84: 27-35.
- Matsumoto K, Matsuhashi A, Aizawa M (1982) A New Genetic-Variation of the Malate Dehydrogenase-Like Enzyme (Mdl-1) in Inbred Rats and Its Possible Linkage. *20*: 443-448.
- Matsumoto K, Gasser DL (1983) Polymorphism of Glutathione S-Transferase in Laboratory Rats. *Biochem. Genet.* 21: 1209-1215.
- Matsumoto K, McCafferty E, Neilson EG, Gasser DL (1984) Mapping of the Genes for Tubular Basement-Membrane Antigen and a Submaxillary-Gland Protease in the Rat. *Immunogenetics* 20: 117-123.
- Meo T, Douglas T, and Rijnbeek AM (1977) Glyoxalase I Polymorphism in the Mouse: a New Genetic Marker Linked to H-2. *Science* 198: 311-313.
- Miesfeld R, Krystal M, Arnheim N (1981). A member of a new repeated sequence family which is conserved throughout eucaryotic evolution is found between the human delta and beta globin genes. *Nucleic. Acids Res.* 9: 5931-5947
- Mizuno M, Susuki K (1978) Genetic-Variation of Pancreatic Alpha-Amylases in Rat, *Rattus-Norvegicus*. *Japan. J. Genet.* 53:137-142.
- Naggert JK, Mu JL, Frankel W, Bailey DW, Paigen B. (1995) Genomic analysis of the C57BL/Ks mouse strain. *Mamm Genome.* 6: 131-3.
- Nichols EA, Chapman VM, and Ruddle FH (1973) Polymorphism and Linkage for Mannosephosphate Isomerase in *Mus musculus*. *Biochem. Genet.* 8: 47-53.
- Nichols EA and Ruddle FH (1975) Polymorphism and Linkage of Glutathione Reductase in *Mus musculus*. *Biochem. Genet.* 13: 323-329.
- Nitzki F, Kruger A, Reifenberg K, Wojnowski L, Hahn H (2006) Identification of a genetic contamination in a commercial mouse strain using two panels of polymorphic markers. *Lab Anim*: accepted

- Peters J and Nash HR (1976) Polymorphisms of Es-10 in *Mus musculus*. *Biochem. Genet.* 14: 119-125.
- Peters J and Nash HR (1977) Polymorphisms of Esterase-11 in *Mus musculus*, a Further Esterase Locus on Chromosome 8. *Biochem. Genet.* 15: 217-226.
- Petkov PM, Ding Y, Cassell MA, Zhang W, Wagner G, Sargent EE, Asquith S, Crew V, Johnson KA, Robinson P, Scott VE, Wiles MV. (2004) An efficient SNP system for mouse genome scanning and elucidating strain relationships. *Genome Res.* 14: 1806-11.
- Popp RA and Popp DM (1962) Inheritance of Serum Esterases Having Different Electrophoretic Patterns Among Inbred Strains of Mice. *J. Hered.* 53: 111-114.
- Popp RA (1965) Hemoglobin Variants in Mice. *Fed. Proc.* 24: 1252-1257
- Popp RA (1966), Inheritance of an Erythrocyte and Kidney Esterase in the Mouse. *J. Hered.* 57: 197-201.
- Rosenberg LT and Tachibana DK (1962) Activity of Mouse Complement, *J. Immunol.* 89: 861-867.
- Ruddle FH and Roderick TH (1968) Allelically Determined Isozyme Polymorphisms in Laboratory Populations of Mice. *Ann. NY Acad. Sci.* 151: 531-539.
- Ruddle FH, Shows TB, and Roderick TH (1968) Autosomal Control of an Electrophoretic Variant of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in the Mouse (*Mus musculus*). *Genetics* 58: 599-606.
- Schalkwyk LC, Jung M, Daser A, Weiher M, Walter J, Himmelbauer H, Lehrach H (1999) Panel of microsatellite markers for whole-genome scans and radiation hybrid mapping and a mouse family tree. *Genome Res.* 9: 878-87.
- Searle AG (1968) *Comparative Genetics of Coat Colour in Mammals*. Logos Press Limited
- Seeley TL and Holmes RS (1981) Genetics and Ontogeny of Butyryl CoA Dehydrogenase in the Mouse and Linkage of Bcd-1 with Dao-1. *Biochem. Genet.* 19: 333-345.
- Sharp DW (1981) Rejection of islet isografts in a strain of Lewis rats. *Transplantation* 31: 229-230
- Shiroishi T, Sagai T, Moriwaki K (1981) A simplified micro-method for cytotoxicity testing using a flat-type titration plate for the detection of H2 antigens. *Microbiol Immunol* 25: 1327-1334.
- Shows TB and Ruddle FH (1968) Malate Dehydrogenase: Evidence for Tetrameric Structure in *Mus musculus*. *Science* 160: 1356-1357.
- Shows TB, Ruddle FH, Roderick TH (1969) Phosphoglucomutase Electrophoretic Variants in the Mouse, *Biochem. Genet.* 3: 25-35.
- Shreffler DC (1960) Genetic Control of Serum Transferrin Type in Mice. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 46: 1378-1384.
- Sick K and Nielsen JT (1964) Genetics of Amylase Isoenzymes in Mice. *Hereditas* 51: 291-296.
- 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/>)
- Simpson E (1991) Minor histocompatibility antigens. *Immunol Lett.* 29: 9-14.
- Simpson EM, Linder CC, Sargent EE, Davisson MT, Mobraaten LE, Sharp JJ (1997) Genetic variation among 129 substrains and its importance for targeted mutagenesis in mice. *Nat Genet.* 16: 19-27
- Smits BM, Guryev V, Zeegers D, Wedekind D, Hedrich HJ, Cuppen E (2005) Efficient single nucleotide polymorphism discovery in laboratory rat strains using wild rat-derived SNP candidates. *BMC Genomics.* 6: 170.

- Soars ER (1979) Identification of a New Allele of Es-1 Segregating in an Inbred Strain of Mice. *Biochem. Genet.* 17: 577-583.
- Thebault-Baumont K, Dubois-Laforgue D, Krief P, Briand JP, Halbout P, Vallon-Geoffroy K, Morin J, Laloux V, Lehuen A, Carel JC, Jami J, Muller S, Boitard C (2003) Acceleration of type 1 diabetes mellitus in proinsulin 2-deficient NOD mice. *J Clin Invest.* 111: 851-7.
- Threadgill DW, Yee D, Matin A, Nadeau JH, Magnuson T (1997) Genealogy of the 129 inbred strains: 129/SvJ is a contaminated inbred strain. *Mamm Genome.* 8: 390-3.
- van Zutphen LF, Lagerwerf A, Bouw J, den Bieman MG (1981) Biochemical polymorphisms in the rat. *Biochem Genet.* 19:173 - 186,
- Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A (2002) A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet Sel Evol.* 34: 275-305.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M et al. (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407-4414.
- Walker MC and JM Phillips-Quagliata (1985) A new erythrocytic antigen of C57BL/10 (B10) mice. *Proc Soc Exp Biol Med* 178: 402-6
- Wilcox FH, Hirschhorn L, Taylor BA, Womack JE, Roderick TH (1979) Genetic Variation in Alkaline Phosphatase of the House Mouse (*Mus musculus*) with emphasis on a Manganese-Requiring Isoenzyme. *Biochem. Genet.* 17: 1093-1107.
- Witmer PD, Doheny KF, Adams MK, Boehm CD, Dizon JS, Goldstein JL, Templeton TM, Wheaton AM, Dong PN, Pugh EW, Nussbaum RL, Hunter K, Kelmenson JA, Rowe LB, Brownstein MJ (2003) The development of a highly informative mouse Simple Sequence Length Polymorphism (SSLP) marker set and construction of a mouse family tree using parsimony analysis. *Genome Res.* 13: 485-91.
- Womack JE and Eicher EM (1977) Liver-specific Lysosomal Acid Phosphate Deficiency (Apl) on Mouse Chromosome 17. *Mol. Gen. Genet.* 155: 315-317.
- Zeiss IM (1966) Demonstration of isohistogenicity in groups of rats from partially inbred strains. *Transplantation.* 4: 506-9.
- Zimdahl H, Nyakatura G, Brandt P, Schulz H, Hummel O, Fartmann B, Brett D, Droege M, Monti J, Lee YA, Sun Y, Zhao S, Winter EE, Ponting CP, Chen Y, Kasprzyk A, Birney E, Ganten D, Hubner N. (2004) A SNP map of the rat genome generated from cDNA sequences. *Science.* 303: 807.

Autoren: Kurt Reifenberg, Hans Hedrich, Dirk Wedekind

Anhang 1

Biochemische Marker des Jackson Laboratory zur Authentizitätskontrolle isogener Mausstämme:

Biochemischer Marker	Gen	Chromosom	Literatur
Salivary Amylase	<i>Amy1</i>	3	Hjorth, 1979; Sick und Nielsen, 1964
Acyl-CoA Dehydrogenase	<i>Acads</i>	5	Seeley und Holmes, 1981
Alkaline Phosphatase 1	<i>Akp1</i>	1	Wilcox et al., 1979
Apolipoprotein A1 & Transferin	<i>Apoa1 und Trf</i>	9	Cohen, 1960; Shreffler, 1960
Carbonic Anhydrase 2	<i>Car2</i>	3	Eicher et al., 1976
Esterase 3, 10, and 11	<i>Es3, Es10 und Es11</i>	11, 14 und 8	Popp, 1966; Peters and Nash, 1976; Peters und Nash, 1977
Esterase 1	<i>Es1</i>	8	Popp und Popp, 1962; Ruddle und Roderick, 1968; Soars, 1979
Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase	<i>G6pd1</i>	4	Ruddle et al., 1968
Glyoxalase-1-Structural	<i>Glo1s</i>	17	Meo et al., 1977
Glutamat Oxaloacetate Transaminase 1 und 2	<i>Got1 and Got2</i>	19 und 8	DeLorenzo und Ruddle, 1970
Glucose Phosphate Isomerase 1 Structural	<i>Gpi1s</i>	7	DeLorenzo und Ruddle, 1969
Glutamic Pyruvic Transaminase 1	<i>Gpt1</i>	15	Chen et al, 1973
Glutathione Reductase 1	<i>Gr1</i>	8	Nichols und Ruddle, 1975
Beta Chain Hemoglobin	<i>Hbb</i>	7	Popp, 1965
Isocitrate Dehydrogenase 1	<i>Idh1</i>	1	Henderson, 1965
Soluble Malic Enzyme	<i>Mod 1</i>	9	Shows und Ruddle, 1968
Mannose Phosphate Isomerase 1	<i>Mpi1</i>	9	Nichols et al., 1973
Neuraminidase 1	<i>Neu1</i>	17	Womack und Eicher, 1977
Peptidase 3	<i>Pep3</i>	1	Lewis und Truslove, 1969
Phosphoglucomutase 1 und 2	<i>Pgm1 und Pgm2</i>	5 und 4	Shows et al., 1969

Anhang 2

Biochemische Marker zur Authentizitätskontrolle isogener Rattenstämme:

Biochemischer Marker	Gen	Chromosom	Literatur
Aconitase	<i>Acon1</i>	5	Adams et al., 1984
Acid phosphatase-2	<i>Acp2</i>	3	Bender et al., 1984
Aldehyde dehydrogenase-2	<i>Ahd2</i>	12	Adams et al., 1984
Aldehyde dehydrogenase-c-	<i>Aldh</i>	13	Cramer et al., 1986
Kidney alkaline phosphatase	<i>Akp1</i>	10	Adams et al., 1984
Plasma alkaline phosphatase	<i>Alp1</i>	6	Bender et al., 1984
Amylase-1	<i>Amy1</i>	2	Bender et al., 1985
Amylase-2	<i>Amy2</i>	2	Mizuno und Susuki et al., 1978
Catalase-1	<i>Cat</i>	3	Kendall, 1985
Esterase-1	<i>Es1</i>	19	Bender et al., 1984
Esterase-2	<i>Es2</i>	19	Bender et al., 1984
Esterase-3	<i>Es3</i>	19	Bender et al., 1984
Esterase-4	<i>Es4</i>	19	Bender et al., 1984
Esterase-6	<i>Es6</i>	8	Bender et al., 1982
Esterase-7	<i>Es7</i>	19	Bender et al., 1984
Esterase-10	<i>Es10</i>	19	Bender et al., 1984
Esterase-12	<i>Es12</i>	4	Bender et al., 1984
Esterase-13	<i>Es13</i>	10	Kendall, 1983
Esterase-14	<i>Es14</i>	19	Hedrich und von Deimling, 1987
Esterase-15	<i>Es15</i>	19	Hedrich et al., 1987
Esterase-16	<i>Es16</i>	19	Hedrich und von Deimling, 1987
Esterase-18	<i>Es18</i>	19	Kluge et al., 1990
Fumarate hydratase-1	<i>Fh1</i>	13	Adams et al., 1984
group-specific component/ Vitamine D binding protein	<i>Gc</i>	14	Bender et al., 1981
a-glycerophosphate de- hydrogenase	<i>Gdc1</i>	8	Bender et al., 1984
Glyoxalase -1 regulatory	<i>Glo1r</i>	20	Bender et al., 1984
Glycolate oxidase	<i>Gox1</i>	3	Bender et al., 1984
Glutathion S-transferase	<i>Gst1</i>	8	Matsumoto und Gasser, 1983
Beta-hemoglobin	<i>Hbb</i>	1	Brdicka und Sulc, 1965
Leucine aryl-aminopeptidase	<i>Lap1</i>	1	Bender et al., 1984
Malate dehydrogease-like enzyme	<i>Mdl1</i>	3	Matsumoto et al., 1982
Major urinary protein	<i>Mup1</i>		van Zutphen et al., 1981
Peptidase-3	<i>Pep3</i>	13	Adams et al., 1984
Pepsinogen-1	<i>Pg1</i>	9	Cramer et al., 1981
Pepsinogen-2	<i>Pg2</i>	9	Hamada et al., 1987
Phosphogluconate dehydro- genase	<i>Pgd</i>	5	Bender et al., 1984
Pyruvate kinase-1	<i>Pk1</i>	2	Bender et al., 1984
Rat tear protein-1	<i>Rtp1</i>	5	Kondo et al., 1987
Rat tear protein-2	<i>Rtp2</i>	1	Kondo et al., 1987
Seminal vesicle protein 1	<i>Svp1</i>	3	Gasser, 1972
Seminal vesicle protein 2	<i>Svp2</i>	1	van Zutphen et al., 1981
Tamase-1	<i>Tam1</i>	1	Matsumoto et al., 1984

Anhang 3

Immunologische Marker des Jackson Laboratory zur Authentizitätskontrolle isogener Mausstämme:

Immunologischer Marker	Gen	Chromosom	Literatur
Major histocompatibility complex (MHC)	siehe Klein et al, 1982	17	Shiroishi et al, 1981
Ea9 Hemagglutinine	<i>Ea9</i>	4	Fox und Black, 1987; Walker und Phillips-Quagliata, 1985
Complement Factor 5	<i>Hc</i>	2	Rosenberg und Tachibana, 1962; Herzenberg et al., 1963

Anhang 4

Immunologische Marker zur Authentizitätskontrolle isogener Rattenstämme:

Immunologischer Marker	Gen	Chromosom	Literatur
Major histocompatibility complex (MHC)	<i>RT1</i>	20	Bogden und Aptekman, 1960
Cell surface alloantigene, Ag-C	<i>RT2</i>	19	Kunz und Gill, 1978
Cell surface alloantigen Ag-D	<i>RT3</i>	13	Hedrich und Reetz, 1990
Cell surface alloantigen, ADP-Ribosyltransferase 2b, <i>RT6</i>	<i>Art2p</i>	1	Greiner et al., 1982
Protein tyrosine phosphatase, Receptor type c, <i>RT7, CD45</i>	<i>Ptprc</i>	13	Barclay et al., 1987