



GV-SOLAS

Gesellschaft für Versuchstierkunde
Society for Laboratory Animal Science

Fachinformation

**aus dem Ausschuss für Genetik und
Labortierzucht**

Zuchtplanung bei Labormäusen

Stand August 2024

**verfasst von: Boris Jerchow, Johannes Schenkel,
Stefan Nagel-Riedasch, Branko Zevnik, Thorsten Buch**

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	3
1.1. Qualifikation für das Züchten von Versuchstieren	4
1.2. Zulässigkeit der Versuchstierzucht.....	5
1.3. Nomenklatur, Typisierung und Dokumentation.....	6
1.4. Genetischer Hintergrund und Drift.....	7
1.5. Käfigkontingente	8
1.6. Kryokonservierung	8
2. Grundlagen der Zucht.....	9
2.1. Allgemeines	9
2.2. Erhaltungszucht	10
2.3. Rückkreuzung	11
2.4. Kreuzung vorhandener Linien (polyhybride Erbgänge).....	11
2.5. Expansionszucht.....	13
2.6. Produktionszucht für Experimente oder Abgabe	14
2.7. Remontierung (Austausch der Zuchttiere).....	14
3. Einflüsse von Zuchtstrategien auf die Zahl erforderlicher weiblicher Zuchttiere	15
3.1. Kohortenbasierte (Produktions-)Zuchten.....	16
3.2. Koloniebasierte Zuchten/Kontinuierliche Produktionszuchten	17
3.3. Kohorten durch <i>in-vitro</i> -Fertilisation oder Revitalisierung nach Kryokonservierung ...	18
4. Zusammenfassung	19
5. Literatur	20

1. Einleitung

Ziel dieser Fachinformation ist die Vermittlung grundlegender Konzepte zur standardisierten Planung und Durchführung der Zucht von Mäusen zu wissenschaftlichen Zwecken. Eine sorgfältige Zuchtplanung ist unbedingt erforderlich, um die rechtlichen Rahmenbedingungen zu erfüllen und das Entstehen nicht verwendbarer Tiere zu minimieren (1). Es dürfen nur so viele Tiere gezüchtet werden, wie für die Durchführung eines Tierversuchsvorhabens oder für den Linienertand erforderlich sind. Die Tierzahl ist unter Berücksichtigung des genehmigten Versuchsziels, des gewählten Tiermodells und der zugrundeliegenden Genetik zu ermitteln.

Um die Zuchtplanung zu strukturieren und übersichtlicher zu gestalten, werden hier verschiedene Zuchtgründe und -strategien unterschieden, die über den Verlauf eines Projektes nacheinander in einer bestimmten Reihenfolge oder auch parallel notwendig werden können (Abb. 1). Der für die jeweilige Zuchtart erforderliche Zuchtbedarf wird mit Hilfe von Rechenhilfsmitteln bestimmt und kann zum Gesamtzuchtbedarf eines Projektes zusammengefasst werden. An diesen kalkulatorisch ermittelten Bedarfen kann die praktische Umsetzung hinterher plausibilisiert werden.

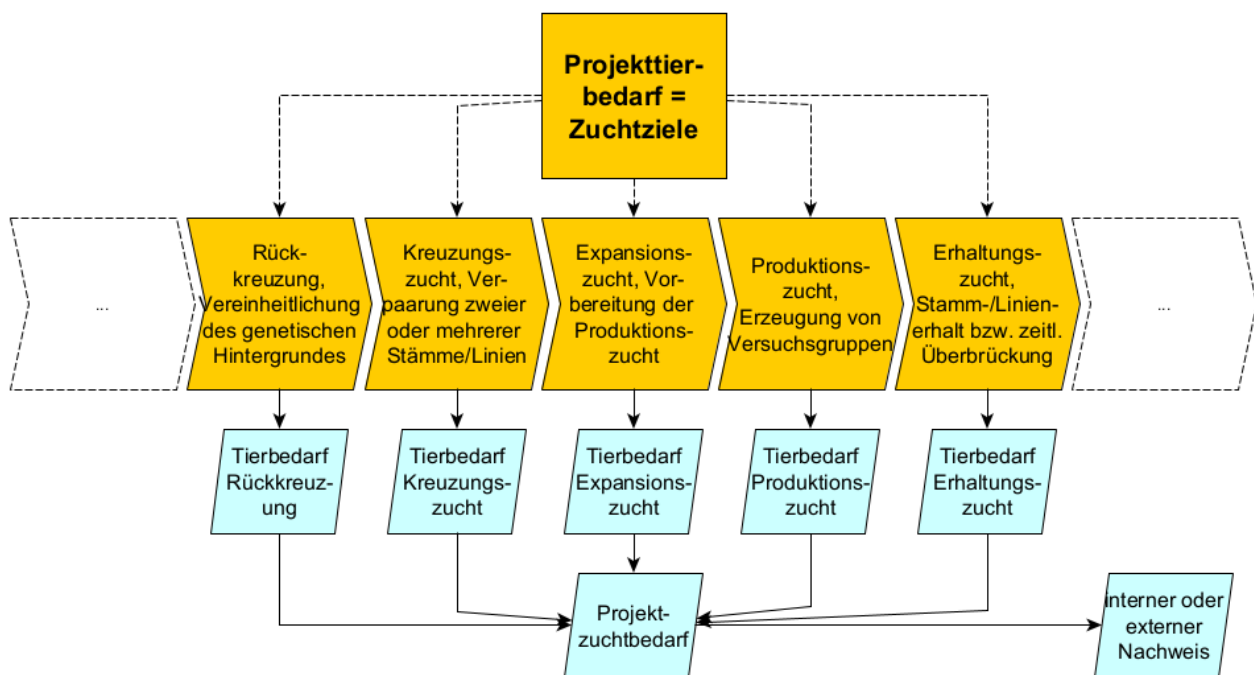


Abb. 1: Zuchtplanung/Zuchtbedarfsermittlung schematisch – Ausgehend vom biometrisch ermittelten Projektierbedarf werden Zuchtziele abgeleitet und den vorgegebenen Zuchtstrategien zugeordnet. Die Zuchtbedarfe für die verschiedenen Zuchtstrategien werden dann separat errechnet. Dies kann je nach Projektverlauf bzw. Anzahl der verwendeten Linien ein- oder mehrfach notwendig sein. Nur mit der Produktionszucht werden die erforderlichen Versuchstiere generiert, die übrigen Zuchtstrategien werden bedarfsbezogen berücksichtigt. Der zusammengefasste Gesamtzuchtbedarf kann für interne statistische Auswertungs- oder Nachweiszwecke bis hin zu einer Dokumentation im Antrag auf ein Tierversuchsvorhaben verwendet werden.

Bei der **Kreuzung vorhandener Linien** werden existierende Allele neu kombiniert, um für eine Forschungsfrage komplexe Genotypen zu generieren. Solch eine Neukombination von genetischen Merkmalen über mehrere Zuchtschritte bedarf einer detaillierten Planung. Die **Rückkreuzung** dient dazu, Allele auf einen definierten genetischen Hintergrund zu überführen oder diesen wieder herzustellen. Die **Expansionszucht** dient meist der Vorbereitung der Produktionszucht und auch z.B. aus der Erhaltungszucht heraus der Erzeugung der nötigen Kolonie an Zuchttieren. Als **Produktionszucht** wird schließlich die gezielte Produktion von Populationen definierter Größe bezeichnet. Die Produktion dient der Generierung von Tieren für geplante Experimente. Produktionszuchten können **kolonie-** oder **kohortenbasiert** geführt werden (siehe Abschnitte 3.1 und 3.2). Bei der **Erhaltungszucht** geht es darum, eine Linie zu erhalten, die in absehbarer Zeit für Experimente benötigt wird oder nicht sicher oder mit zu großem Tieraufwand (z.B. bei Kryokonservierung von Embryonen) kryokonserviert werden kann.

Diese Fachinformation richtet sich an mit der Zuchtplanung und -durchführung befasste Personen. Sie gibt Empfehlungen und praxisorientierte Hinweise zum Vorgehen und erklärt die Verwendung von Hilfsmitteln.

Zusammengefasst kann grundsätzlich Folgendes zur Zucht gesagt werden:

- Das Zuchtziel bestimmt sich nach dem geplanten Einsatz der Tiere und muss definiert werden: Erhaltung, Kreuzung, Expansion oder Produktion.
- Jede Zuchtplanung basiert auf der Generierung einer kalkulierten Zahl von Tieren mit definierten Eigenschaften, i.d.R. Geschlecht, Alter, Genotyp.
- Zuchten belasteter sowie neuer Linien bedürfen der behördlichen Genehmigung (DE, AT, CH).

1.1. Qualifikation für das Züchten von Versuchstieren

Auf Grund der Vielzahl und Komplexität zuchtgenetischer Parameter und Zusammenhänge sollte die Zuchtplanung nur von entsprechend geschultem und qualifiziertem Personal durchgeführt werden. Dies schließt in der Regel tierpflegerisches, technisches und wissenschaftliches Personal ein. Hierbei muss vor allem der unterschiedlichen Komplexität verschiedener Zuchtprogramme Rechnung getragen werden. Während die Erhaltungs- oder Expansionszucht von genetisch definierten Stämmen oder Linien selbstständig von tierpflegerischen oder technischen Assistenten geplant und durchgeführt werden können, braucht es für die Planung komplexer Zuchtschemata in Kreuzungszuchten (z.B. mehrere zu beachtende genetische Loci, Kopplung oder X-chromosomale Vererbung) hochspezialisiertes genetisches und biologisches Fachwissen. Eine Expertenkommission der EU empfiehlt im Sinne eines zentral organisierten und optimierten Zuchtmanagements das Einsetzen von regelmäßig geschulten 'Kolonie-Managern' (2). Personen, die Zuchten planen, müssen entsprechend der Komplexität eines spezifischen Zuchtprogramms qualifiziert sein.

Für die Qualifikation des Personals sind folgende Punkte wichtig:

- Alle Beteiligten müssen sich regelmäßig entsprechend der lokalen Regelungen fortbilden.
- In größeren Einrichtungen wird die Beschäftigung von 'Kolonie-Managern' dringend empfohlen.

1.2. Zulässigkeit der Versuchstierzucht

Generell darf die Zucht von Versuchstieren nur erfolgen, wenn dafür ein vernünftiger Grund im Sinne des Tierschutzgesetzes vorliegt, z.B. ein Bezug zu einem geplanten Tierversuch (§§ 7 oder 4 TierSchG) oder damit zusammenhängende, vorbereitende oder zuchtbegleitende Maßnahmen (transgene Techniken, Erhalt des genetischen Hintergrundes usw.). Zuchten ohne einen solchen Bezug sind zu vermeiden (siehe auch Kryokonservierung, Abschnitt 1.6). Genauso ist die Unvermeidbarkeit von Erhaltungszuchten zu hinterfragen und solche Zuchten sind auf das unerlässliche Maß zu beschränken.

Parallele Zuchten derselben Linie innerhalb einer Einrichtung ohne besonderen Grund sind zu vermeiden. Ausnahmen können beispielsweise experimentell notwendige Sachverhalte wie Mikrobiom, Hygiene-Ebenen, Tag/Nacht-Rhythmus oder zeitlich definierte Zuchten sein. Daher muss vor dem Zukauf oder Import von Tieren geprüft werden, ob sich der betreffende Stamm oder die Linie bereits im Zuchtbestand befindet. Bei parallelem Bedarf mehrerer Arbeitsgruppen an einer spezifischen Linie ist dies mit den beteiligten Arbeitsgruppen abzustimmen und mit der Versuchstierhaltung eine Strategie zu entwickeln, die optimierte Tierzahlen zum Ziel hat. Auch bei dezentralen Tierhaltungen soll, wann immer möglich, ein Austausch zwischen den Arbeitsgruppen stattfinden.

Die bedarfsgerechte Zuchtplanung muss für jeden Stamm, jede Linie und jede Allelkombination erfolgen. Die Zuchtplanung muss angepasst werden, sobald ein erhöhter oder reduzierter Bedarf entsteht, z.B. bedingt durch eine Tierzahländerung bei Versuchsvorhaben, Tötungen zu wissenschaftlichen Zwecken (nach § 4 TierSchG) oder Export.

Neben der sorgfältigen Zuchtplanung ist ein vorausschauendes und bedarfsgerechtes Zuchtmanagement erforderlich, welches kontinuierlich überprüft und ggf. optimiert werden muss, so dass ein Zuchtüberschuss so weit wie möglich verhindert wird. Verpaarungen sind zeitlich so anzusetzen, dass die weitere Verwendung der Nachkommen gesichert ist. Auf unvorhergesehene Zuchtereignisse ist unverzüglich zu reagieren, um einen Zuchtüberschuss und nichtverwendbare Nachzuchten zu vermeiden. Grundsätzlich ist zu prüfen, inwieweit Tiere anderweitig verwendet werden können, die für den ursprünglichen Zweck aufgrund des Fehlens von Zieleigenschaften (wie Genotyp oder Geschlecht) nicht geeignet sind (Zweitnutzungsprüfung). Die Nutzung bzw. Zucht von kommerziell erworbenen oder von Dritten bereitgestellten Linien oder Tieren unterliegt in der Regel Beschränkungen durch die jeweilige Bezugsquelle (z.B. AGB [allgemeine Geschäftsbedingungen] oder MTA [*material transfer agreement*]). Um dagegen nicht zu verstoßen, sollte sich eine Einrichtung oder der jeweilige Tierbesitzer die Zweitverwendung von der Bezugsquelle, z.B. vom kommerziellen Züchter, vorab genehmigen lassen.

Grundsätzlich ist für die Zulässigkeit der Zucht folgendes zu beachten:

- Zuchten ohne Bezug zu einem konkreten wissenschaftlichen Projekt sollten vermieden werden.
- Innerhalb einer Einrichtung sollten Zuchten koordiniert werden.
- Innerhalb einer Einrichtung sollte eine mögliche Zweitnutzung schon beim Erwerb einer Linie geregelt werden.

1.3. Nomenklatur, Typisierung und Dokumentation

Bei der Vielzahl vorhandener und täglich dazukommender Stämme, Linien und Kreuzungen von Labortieren ist es unerlässlich, dass diese nach der international anerkannten Nomenklatur erfasst werden (3–5), um Verwechslungen zu vermeiden. Eine korrekte Nomenklatur schließt neben ggf. vorhandenen Mutationen immer auch den genetischen Hintergrund mit ein. Es muss dokumentiert sein, ob dieser rein, vollständig zurückgekreuzt (kongen/congenic) oder als Mischform vorliegt. Das Vorhandensein von Mutationen (oder anderen Markern) sollte grundsätzlich für jedes Tier, bei ausschließlich homozygot gezüchteten Linien stichprobenartig alle zwei bis spätestens drei Generationen, mit geeigneten Methoden (z.B. PCR, Southern Blot, Sequenzierung) überprüft und dokumentiert werden (Genotypisierung). Dies sollte bis zum Absetzen, spätestens aber vor Erreichen der Geschlechtsreife, erfolgen, um frühzeitig über die Verwendung von Tieren für die weitere Zucht entscheiden und um stabile Käfiggruppen bilden zu können. Die Genotypisierung sollte möglichst nach dem publizierten Standard dokumentiert werden (6).

Die Dokumentation erfolgt am besten in einer spezialisierten Tierhaltungsdatenbank, um die Daten verlustsicher und formateinheitlich aufzuzeichnen. Die Datenbank sollte auch für jeden Stamm und jede Linie die erforderlichen Zuchtparameter (siehe Tabelle 1) kontinuierlich erfassen und stets in aktueller Form bereitstellen. Bei neu generierten oder frisch importierten Linien muss so lange auf Standardwerte oder die Daten der Herkunftshaltung zurückgegriffen werden, bis eigene linienspezifische Werte vorliegen. Es ist zu empfehlen, dass die Dokumentation dieser und weiterer wichtiger linienspezifischer Informationen in Berichtsform, z.B. einem „Nagerpass“ (*mouse passport*) (7) oder anhand der Dokumente einer Empfehlung des Bundesinstituts für Risikobewertung (8) festgehalten werden.

Es muss berücksichtigt werden, dass sich Zuchtparameter im Laufe der Generationenfolge ändern können, wenn Linien auf einen anderen genetischen Hintergrund zurückgekreuzt werden (siehe Abschnitt 2.3).

Für die Dokumentation und Typisierung sollte Folgendes beachtet werden:

- Genotypen müssen regelmäßig bestimmt werden.
- Für alle verwendeten Linien muss die korrekte internationale Nomenklatur verwendet werden.
- Neu erstellte Linien oder Sublinien müssen das Kürzel des entsprechenden Labors tragen (Registrierung auf der ILAR-Plattform; (9)).
- Aufzeichnungen sollten in einem Tierhaltungsdatenbankprogramm erfolgen.
- Die Dokumentation der Zucht schließt die Anzahl der Generationen als separat geführte Kolonie mit ein.
- Die Dokumentation sollte automatisiert zur Bereitstellung der Zuchtparameter führen.
- Die Dokumentation sollte automatisiert Abweichungen der erwarteten Auftretswahrscheinlichkeiten von Genotypen aufzeigen (z.B. Anzeichen für Letalität).

Tab. 1: Zuchtparameter

Parameter	Beschreibung
Fertilität	Prozent produktiver Zuchtpaare
Wurfgröße	Anzahl Junge bei a) Wurf oder b) Absetzen
Produktivität (<i>Production Efficiency Index, Colony Index</i>)	Anzahl Jungtiere (bei Wurf oder Absatz) pro weiblichem Tier und Woche in Verpaarung
Zwischenwurfintervall (<i>Parturition interval</i>)	Anzahl Tage zwischen Würfen
Geschlechtsreife	Frühestmöglicher Zeitpunkt für eine Verpaarung. Nicht optimal, da meist wenig erfolgreich.
Zuchtreife	Bestmöglicher (frühester) Startzeitpunkt für die Zucht. Tier ist physiologisch reif für die Zucht.

1.4. Genetischer Hintergrund und Drift

Die genetische Drift verändert im Laufe der Zeit den genetischen Hintergrund der in einer Kolonie befindlichen Tiere. Grund für die genetischen Veränderungen können Spontanmutationen und der Verlust von Allelen sein. Nach 20 Generationen unabhängiger Zucht wird die Etablierung von Sublinien angenommen. Dabei addieren sich die Generationen zweier unabhängig voneinander gezüchteten Sublinien. Die Entstehung von Sublinien kann durch ein genetisches Stabilitätsprogramm vermieden werden. Auch wenn fixierte phänotypische Abweichungen auftreten, wird die Etablierung einer neuen Sublinie angenommen. Die Aufrechterhaltung eines bestimmten genau definierten genetischen (häufig ingezüchteten) Hintergrunds ist für die Reproduzier- und Vergleichbarkeit von Tiermodellen zwingend erforderlich.

Ein genetisches Stabilitätsprogramm kann entweder das regelmäßige Einkreuzen von zugekauften genetisch integren Tieren (z.B. des Wildtyp-Stamms) beider Geschlechter (oder zumindest der männlichen Tiere wegen des Y-Chromosoms) oder den Neustart der Zuchten durch Verwendung von kryokonservierten Embryonen vorsehen. Beides sollte nach jeweils fünf Zuchtgenerationen geschehen (10). Partielles Einkreuzen/partieller Neustart führt zu einer entsprechend anteiligen Reduktion der driftenden Generationen und muss dokumentiert werden.

Um die Wahrscheinlichkeit der Homozygotie einer spontan auftretenden Mutation zu verringern, sollte zwischen zwei Auffrischungen auf Bruder-Schwester-Verpaarungen (Stammbaumzuchten) möglichst verzichtet werden. In der Vergangenheit wurden bevorzugt Stammbaumzuchten geführt, um phänotypische Veränderungen in einer Linie im homozygoten Zustand zügig zu detektieren und die entsprechende Zuchtlinie ggf. einzustellen. Dies führt jedoch zu einem falschen Gefühl der Sicherheit, da niemals alle möglichen phänotypischen Parameter erfasst werden können und ist daher aus heutiger Sicht zu vermeiden.

Die fortdauernde Kreuzung unterschiedlicher Linien mit verschiedenen genetischen Hintergründen ist in der Regel nicht zu empfehlen. Solche Kreuzungen führen zu Tieren mit gemischtem genetischem Hintergrund. Der Hintergrund ist nicht ausreichend definiert und fixiert, sondern führt bei der weiteren Zucht mit hohem Inzuchtkoeffizient sukzessive zu einem neuen Sub-Stamm. Idealerweise sollten Linien vor ihrer Kreuzung denselben genetischen Hintergrund aufweisen. Eine Prüfung des Hintergrundes kann durch SNP- oder STR-Analyse erfolgen. Die Anpassung eines genetischen Hintergrundes erfolgt über eine Rückkreuzung (siehe Abschnitt 2.3).

Für die genetische Stabilität ist Folgendes zu beachten:

- Bruder-Schwester-Verpaarungen sollten vermieden werden.
- Rückkreuzung mit dem Original-Hintergrundstamm sollte alle fünf Zuchtgenerationen erfolgen.
- Kryokonserviertes Material sollte genutzt werden, um Stämme alle fünf Generationen wieder genetisch neu aufzubauen.
- Kreuzungen zwischen Linien mit verschiedenen genetischen Hintergründen sollten vermieden werden.

1.5. Käfigkontingente

Zu den Voraussetzungen für eine optimierte Zucht gehören die entsprechenden Haltungsmöglichkeiten in Form von Käfigplätzen, die vor dem Beginn einer Zucht seitens der Einrichtung zugesichert werden müssen. Nach Ermittlung der Zuchttierzahlen und vor dem Beginn der Zuchten muss geprüft werden, ob genügend Käfige und andere notwendige Ressourcen sowohl für die Zuchttiere als auch für die abzusetzenden Jungtiere und die nachfolgenden Experimente zur Verfügung stehen. Die Tötung von Tieren aufgrund mangelnder Planung und daraus resultierenden fehlenden Haltungskapazitäten muss vermieden werden.

Versuchstierhaltungen sollten Bedarfsspitzen in ihre Haltungskapazitäten einkalkulieren. Es hat sich bewährt, nicht mehr als 80 - 85% der insgesamt zur Verfügung stehenden Käfigplätze zu vergeben, um immer ausreichend Platz für das Absetzen von Jungtieren zu haben. Zuchtkapazitäten sollten strukturiert vergeben und die Einhaltung zugesprochener Tierhaltungskontingente automatisch überwacht (Ampelsystem) bzw. regelmäßig kontrolliert und bei nachhaltiger Überschreitung auch sanktioniert werden.

Bezüglich der Käfigkontingente ist zu beachten:

- Vor Zuchtbeginn ist sicherzustellen, dass ausreichend Käfigkapazitäten zur Verfügung stehen.
- Einrichtungen sollten über ein geeignetes Steuerungssystem für Platzkontingente verfügen.

1.6. Kryokonservierung

Mauslinien und -stämme werden üblicherweise in Form von Embryonen oder Spermien kryokonserviert. Aufgrund der unvermeidbaren genetischen Drift, zusammen mit der Gefahr, einmalige Linien aufgrund von Naturereignissen, Unfällen oder durch Infektionseinbrüche zu verlieren, sollten alle Linien konserviert werden, welche nicht mit vertretbarem Aufwand von

Dritten in guter Qualität wiederbeschafft werden können. Die Kryokonservierung ist auch ein probates Mittel, um eine Mutante in ihrer Ursprungsversion ohne Zuchtaufwand zu sichern. Da bei einer notwendigen in vitro-Fertilisation in der Regel Wildtyp-Eizellen verwendet werden, also in der nächsten Generation eine etwaige Homozygotie verloren geht, sollten komplexe Linien (z.B. Mehrfach-Mutanten) in Form von Embryonen konserviert werden. Entsprechend sollten Linien, bei denen einzelne Allele mutiert sind, in Form von Spermien vorgehalten werden. Abweichungen von dieser Regel können sich durch spezielle Phänotypen ergeben.

Im Falle der hygienischen Sanierung einer Linie sollte sinnvollerweise immer auch die Kryokonservierung durchgeführt werden, da bei diesem kombinierten Vorgehen Tiere eingespart und ein zweiter tierintensiver Vorgang vermieden werden kann. Wiederholt verwendete "Werkzeuglinien" (z.B. bestimmte *Cre*-, *Flp*-, *Rox*- oder *Vox*-Rekombinase-Linien) sollten zentral in kryokonservierter Form vorgehalten werden. In der Zuchtplanung ist die Kryokonservierung gegenüber der geplanten Dauer der Erhaltungszucht abzuwägen, da letztere zumindest längerfristig mehr Tiere benötigt.

Wichtig für die Kryokonservierung ist:

- Einfache Linien sollten als Spermien kryokonserviert werden.
- Komplexe Linien sollten als Embryonen kryokonserviert werden.
- Eine Abwägung muss individuell erfolgen, um zwischen Erhaltungszucht und Kryokonservierung zu entscheiden.

2. Grundlagen der Zucht

2.1. Allgemeines

Das Mindestalter weiblicher Mäuse für eine produktive Zucht (Zuchtreife) ist in der Regel mit zehn bis zwölf Wochen erreicht, auch wenn die Geschlechtsreife schon mit sechs (C3H/HeO_uJ) oder acht Wochen (BALB/c) erreicht ist. Beides ist jedoch stamm-/linienabhängig. Verpaarungen vor der Zuchtreife sind wenig effektiv. Auch die Wurfgrößen variieren stark zwischen verschiedenen Stämmen und (transgenen) Linien. Zuchttiere sollten weder krank noch untergewichtig sein.

Zuchten werden zumeist entweder monogam als Duos (ein weibliches und ein männliches Tier) oder polygyn, zumeist als Trios (zwei weibliche, ein männliches Tier) geführt, mit vernachlässigbarem Einfluss auf den Zuchterfolg (11-14). Falls die Zuchten im Verhältnis von einem männlichen mit mehreren (>2) weiblichen Tieren (Harem) angesetzt werden, sollten in Abhängigkeit der verwendeten Käfiggröße die trächtigen weiblichen Tiere separiert werden, mit Konsequenzen für das benötigte Käfigkontingent. In Fällen, in denen polygyne Zuchten asynchron werfen, sollten die Muttertiere getrennt werden, da die Nachkommen im zweiten Wurf in der Regel geringere Überlebenschancen haben (15). Weibliche Tiere, die nach mindestens 14 Tagen Verpaarung nicht sichtbar trächtig sind, können mit einem fremden männlichen Tier verpaart werden. Es sollte aber die Möglichkeit einer Trächtigkeit in Betracht gezogen werden. Eine Blockierung der Trächtigkeit findet in der Regel nur bei ausreichender genetischer Differenz (anderer Stamm) zwischen den Männchen statt (*Bruce Effect*) (16). Bei Trächtigkeit besteht allerdings die Gefahr, dass das neue männliche Tier die Jungtiere nach dem Wurf tötet (17). Absetzkäfige für die Nachkommen müssen rechtzeitig vorgehalten werden.

Im Folgenden zusammengefasst die Zuchtgrundlagen:

- Eine Zucht sollte mit Erlangung der stammabhängigen Zuchtreife begonnen werden.
- Käfige müssen für Absetztiere und gegebenenfalls für trächtige Tiere aus polygynen Verpaarungen vorgehalten werden.
- Zur Zucht sollten nur gesunde, normalgewichtige Tiere ohne körperliche Auffälligkeiten verwendet werden.

2.2. Erhaltungszucht

Erhaltungszuchten umfassen Linien, die aktuell noch nicht oder nicht mehr für die Erzeugung von Versuchstieren benötigt werden. In der Regel handelt es sich hierbei um die Erhaltung von Wildtyp- und genveränderten Linien. Die Zuchtschemata entsprechen in aller Regel:

- Wildtyp- x Wildtyp-Stamm
- heterozygote Mutante x Wildtyp-Hintergrundstamm
- homozygote Mutante x homozygote Mutante

Erhaltungszuchten sollten aus wissenschaftlichen (Drift), finanziellen und ethischen Gründen zeitlich begrenzt werden (siehe auch Abschnitt 1.4). Es ist daher zu empfehlen, die Notwendigkeit der Erhaltungszucht einer Linie mindestens einmal jährlich zu bewerten. Wenn die Linie nicht innerhalb eines Jahres für experimentelle Zwecke verwendet wird, sollte sie kryokonserviert werden. Die Größe einer Erhaltungszucht, einschließlich der vorgehaltenen Tiere, richtet sich nach den linien-/stammspezifischen Parametern Fertilität, Wurfgröße und Frequenz des benötigten Genotyps. Dies ermöglicht eine Berechnung der benötigten Tierzahlen (siehe Abschnitt 3). In Situationen mit großen züchtenden Populationen kann auf die Produktivität des Stamms zurückgegriffen werden (siehe Abschnitt 3.2).

Eine Erhaltungszucht sollte immer mit mindestens zwei Zuchtpaaren durchgeführt werden, um in der nächsten Generation Bruder-Schwester-Verpaarungen vermeiden zu können. Um unnötige Nachzucht zu vermeiden, sollte die Erhaltungszucht intermittierend, d.h. nur einmal alle zwölf bis 18 Wochen, angesetzt werden (18). Um Tiere mit unterschiedlichem Alter vorhalten zu können, kann es auch sinnvoll sein, die einzelnen Zuchtpaare versetzt voneinander zu verpaaren (z.B. nach sechs bis neun Wochen für zwei Zuchtpaare). Wenn die Zuchtparameter aus der Linienstatistik (siehe Tabelle 1) für einen neuen Verpaarungsansatz verwendet werden, sollte in z.B. neun von zehn Fällen die gewünschte Nachkommenzahl für diese Generation erreicht werden. Falls nicht, sollten die produktivsten Zuchtpaare in der erforderlichen Zahl für einen weiteren Wurf zusammenbleiben. Für die Expansion einer Linie, z.B. für eine spätere Produktionszucht, ist das Vorgehen wie für eine kohortenbasierte Zucht (siehe 3.1) inkl. Remontierung (siehe 2.7) anzuwenden, bis die erforderliche Anzahl weibliche Zuchttiere für die Produktion zur Verfügung steht.

Bezüglich Erhaltungszuchten sollte zusammengefasst Folgendes beachtet werden:

- Die Notwendigkeit einer Erhaltungszucht sollte regelmäßig bewertet werden.
- Die Erhaltungszucht sollte zeitlich begrenzt durchgeführt werden.
- Es sollten mindestens zwei Zuchtpaare geführt werden
- Intermittierende Zucht kann die Anzahl an Tieren reduzieren.

Mausstamm	Notwendige Anzahl ♀ zum Züchten von 10 ♀
C57BL/6J	5
BALB/cJ	12
C3H/HeJ	6
DBA/2J	7
129SvJa	7
FVB/N	4

Tab. 2: Benötigte weibliche Zuchttiere für die Erhaltung unterschiedlicher Wildtyp-Stämme unter der Annahme, dass zehn weibliche Tiere gleichzeitig gezüchtet werden sollen. Die benötigten fünf männlichen Tiere entstehen natürlicherweise ebenso, werden hier jedoch nicht berücksichtigt. Die Werte geben an, wie viele weibliche Zuchttiere benötigt werden, um die erwünschte Anzahl mit einer 80%igen Erfolgswahrscheinlichkeit und 100%igem Auftreten der benötigten Genotypen zu erreichen (siehe Abschnitt 3 und <https://www.ltk.uzh.ch/en/Breeding.html>). Die Stammparameter wurden von The Jackson Laboratory (19) übernommen. Es fällt auf, dass z.B. für BALB/c mehr als zehn zukünftige weibliche Zuchttiere vorgehalten werden müssen.

2.3. Rückkreuzung

Bei einer Rückkreuzung werden ein oder mehrere Allele von einem unerwünschten genetischen Donor-Hintergrund auf einen gewünschten ingezüchteten genetischen Rezipienten-Hintergrund „zurückgekreuzt“. Der genetische Hintergrund der zurückgekreuzten Linie wird nach zehn Generationen (N10) als „kongen“ bezeichnet (20). Um die Anzahl der benötigten Tiere und den zeitlichen Bedarf für die vollständige Rückkreuzung auf einen anderen genetischen Hintergrund zu reduzieren, sollte diese markerunterstützt (*speed congenics*) erfolgen (21). So können erfolgreiche Rückkreuzungen in der Regel auf fünf Generationen (N5) reduziert werden (siehe auch (22)).

Zusammengefasst sollte bei der Rückkreuzung Folgendes beachtet werden:

- Eine vollständige Rückkreuzung erfordert zehn Generationen.
- Eine markerunterstützte Kreuzung sollte erwogen werden, da damit eine Reduktion auf ca. fünf Generationen möglich ist.

2.4. Kreuzung vorhandener Linien (polyhybride Erbgänge)

Die Erstellung neuer genetischer Mausmodelle mit mehreren genetischen Veränderungen erfolgt klassischerweise durch Kreuzung von Mausstämmen mit den gewünschten Einzelallelen untereinander. Auf diesem Wege können Tiere mit mehreren kombinierten Zielallelen an verschiedenen loci erstellt werden. Aufgrund der Mendelschen Vererbungsregeln werden hierbei viele Tiere erzeugt, die nur eine Zuchtwiszenstufe darstellen, weil sie noch nicht über die angestrebte Allelkombination verfügen. Mitunter entstehen erst nach mehreren Generationen Tiere, die dann für die Produktionszucht der benötigten Experimentaltiere genutzt werden können. Ferner entstehen aufgrund der Vererbungsregeln und assoziierter stochastischer Prozesse Tiere, die weder für Experimente noch für die Weiterzucht verwendet werden können. Dies ist unvermeidbar, kann aber durch gute Planung optimiert werden.

Bevor verschiedene Genorte und ihre Allele kombiniert werden, muss zunächst geprüft werden, ob die betroffenen Genorte auf demselben Chromosom liegen, also gekoppelt sind (23). Sind sie nicht gekoppelt, kann unter Anwendung der Mendelschen Vererbungsregeln (24) die Zucht geplant werden (2.4.1), ansonsten kann ggf. mit Crossover (23) weiterverfahren werden (2.4.2).

2.4.1. Ungekoppelte polyhybride Kreuzung

Die Auftrittshäufigkeiten der verschiedenen Genotypen in der Folgegeneration wird üblicherweise durch einen Punnett-Square errechnet. Es ist nicht nötig, komplizierte, über das 2 x 2-Format hinausgehende Punnett-Squares zu erstellen. Die Frequenzen können für jeden Genort separat bestimmt und dann für die Kombination an Genorten durch Multiplikation berechnet werden (Abb. 2). Es können auch Punnett-Square-Rechner im Internet genutzt werden (25,26).

Die Zuchtplanung für das Zusammenführen von verschiedenen Allelen mehrerer Genorte stellt eine kohortenbasierte Zuchtstrategie dar (Abschnitt 3.1). Die Planung über mehrere Generationen kann zurzeit nur erfahrungsbasiert erfolgen, da entsprechende Softwarelösungen fehlen. Je nach Verfügbarkeit sollten Kombinationen von Elterntieren gewählt werden, die bei der jeweiligen Zucht die geringste Anzahl an Überschusstieren produzieren.

2.4.2. Gekoppelte polyhybride Kreuzung

Befinden sich genetische Merkmale auf demselben Chromosom, so spricht man davon, dass sie gekoppelt sind, also gemeinsam vererbt werden. In der Meiose können Stücke von Chromosomen zwischen homologen Paaren ausgetauscht werden (Crossover) und in den resultierenden Gameten neu kombiniert vorliegen. Sind die Merkmale weit genug voneinander entfernt, kann eine Zucht mit dem Ziel eines Crossovers angesetzt werden. Die Wahrscheinlichkeit eines Crossovers kann berechnet werden. Zwei Megabasenpaare (Mbp) Abstand entsprechen dabei ca. ein Centimorgan (cM), und damit einer Crossover-Wahrscheinlichkeit von 1% (27). Es kann also unter diesen Bedingungen unter hundert Nachkommen einer erwartet werden, der die gewünschte Neukombination aufweist. An diesem Beispiel ist ersichtlich, dass unter dem Reduktionsaspekt der 3R evaluiert werden muss, ob die Neugenerierung einer Doppelmutante unter Verwendung aktueller Techniken einer tierzahlintensiven Crossoverzucht vorzuziehen ist. Die für die Berechnung notwendigen chromosomalen Positionen von Genen verschiedener Labortierspezies können über eine Reihe von Datenbanken eingesehen werden, wie Ensembl, UCSC Genome Browser, NCBI-Gene (28–30). Die Position eines Genes wird mit der Chromosomennummer gefolgt von zwei meist neunstelligen Zahlen dargestellt. Jeweils eine der zwei Zahlen kann von derjenigen des zweiten Genes subtrahiert werden, um die Distanz zwischen den Genen zu ermitteln. In der Regel werden in einem ersten Schritt heterozygote Tiere für beide Genorte erstellt. Durch Rückkreuzung mit einer der beiden Ausgangslinien können in der nächsten Generation Tiere identifiziert werden, die homozygot für die verwendete Ausgangslinie und heterozygot für den anderen Genort sind. Solche Tiere sind Produkt eines Crossovers und können für die weitere Zucht verwendet werden.

Bei der Kreuzung unterschiedlicher Linien muss auch der genetische Hintergrund beachtet werden (siehe Abschnitte 1.4 und 2.3).

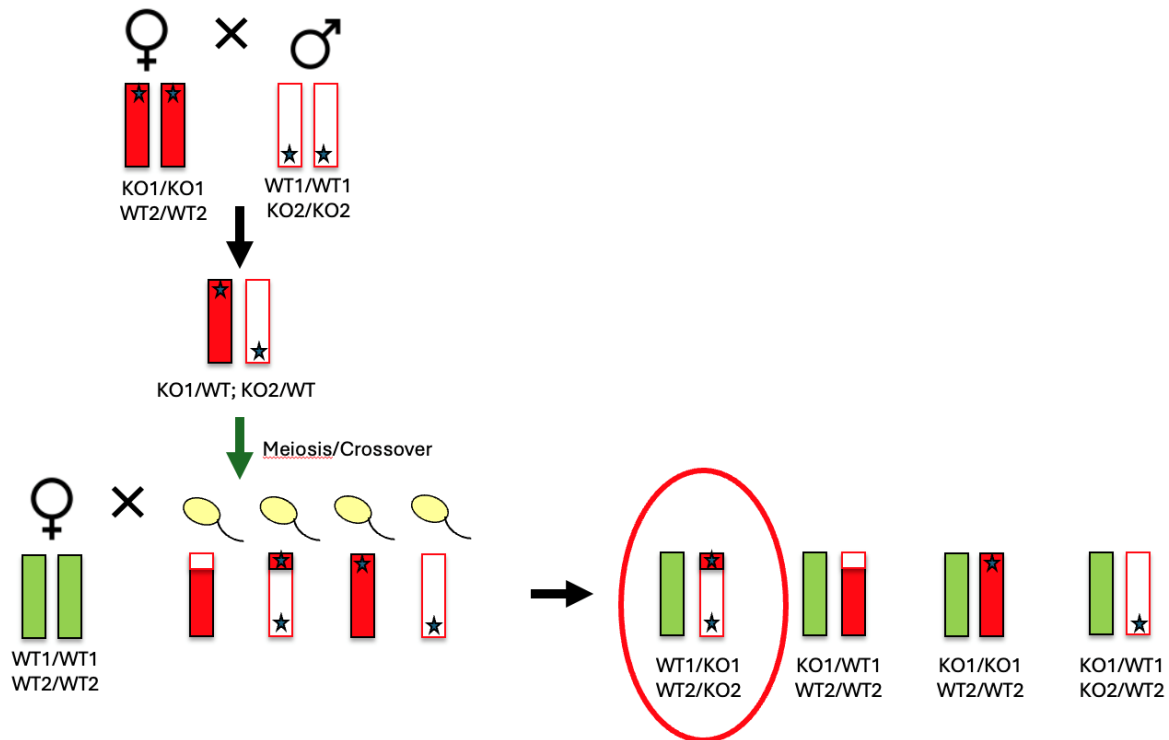


Abb. 2: Zuchtbeispiel für die Erstellung einer Linie, die nach Crossover zwei Mutationen auf demselben Chromosom aufweist. Die zwei Linien (rot und weiß) werden verpaart. In der nächsten Generation sind in heterozygoten Tieren beide Mutationen je einmal auf den Schwesterchromosomen anwesend. Diese Tiere werden anschließend mit homozygoten Tieren (entweder Wildtyp wie hier dargestellt oder eine der Mutationen) verpaart. In der darauffolgenden Generation wird nach Tieren gescreent, welche beide Mutationen aufweisen. Ist dies der Fall, hat ein Crossover stattgefunden und es kann entsprechend weitergezüchtet werden.

2.5. Expansionszucht

Die Expansionszucht ist notwendig, um die benötigte Anzahl von Zuchttieren für erstmalige Produktionszuchten und deren Remontierung zur Verfügung zu stellen. Dies bedeutet, dass sie auf den real zur Verfügung stehenden Tieren und den für Produktionszuchten nötigen Tierzahlen fußt. Häufig wird eine bereits bestehende intermittierende Erhaltungszucht in eine kontinuierliche Zucht überführt. Zur schnelleren Expansion können zusätzlich vorgehaltene Tiere in das Zuchtprogramm eingeschlossen werden. Eine Expansionszucht kann mehrere Generationen benötigen, bis sie in eine Produktionszucht überführt wird. In vielen Fällen überlappt sie mit der Kreuzung vorhandener Linien und die Planung umfasst beide Vorgänge.

Zusammengefasst:

Eine Expansionszucht generiert aus wenigen zur Verfügung stehenden Zuchttieren die für eine Produktionszucht benötigten Zuchtpaare.

2.6. Produktionszucht für Experimente oder Abgabe

Verpaarungen, aus denen unmittelbar Tiere für die Versuchsgruppen von Tierversuchsvorhaben hervorgehen, werden als Produktionszuchten geführt. Die notwendige Anzahl an Zuchttieren ergibt sich aus den Notwendigkeiten der geplanten Experimente. Die Berechnungen können, abhängig von Bedarf und Koloniegröße, als kohortenbasierte (Abschnitt 3.1) oder koloniebasierte (Abschnitt 3.2) Zucht durchgeführt werden. Wenn die Produktion für mehr als eine Generation der angesetzten Zuchten benötigt wird, muss die Remontierung, also die Erneuerung von Zuchtpaaren, mit eingerechnet werden. Dies kann entweder über eine Remontierungsrate erfolgen (in der Regel bei koloniebasierten Zuchten) oder es muss eine Berechnung der nächsten Remontierungskohorte erfolgen (kohortenbasierte Zucht). Im letzteren Fall ist zu beachten, dass Produktions- und Remontierungszuchtpaare gemeinsam berechnet werden, da dies aus stochastischen Gründen zu einer niedrigeren Anzahl von Verpaarungen führt. Soll die Linie weiterverwendet werden, werden Tiere in die Erhaltungszucht (Abschnitt 2.2) überführt oder kryokonserviert (Abschnitt 1.6).

Produktionszuchten dienen der bedarfsgerechten Zucht von Tieren, die für tierexperimentelle Versuchsvorhaben oder zur Tötung zu wissenschaftlichen Zwecken bzw. für die Abgabe benötigt werden. Dabei sollte Folgendes beachtet werden:

- Eine im Voraus berechnete Höchstzahl von Tieren des gewünschten Alters, Geschlechts und Genotyps ist entsprechend des Bedarfs nicht zu überschreiten.
- Die Remontierung muss mitberücksichtigt werden.

2.7. Remontierung (Austausch der Zuchttiere)

Für einen optimalen Zuchterfolg sollte die Zuchtspanne auf den Zeitraum mit der höchsten Fertilität, Wurfgröße und Aufzuchttrate begrenzt werden. Zuchttiere sollten jedoch auch nicht zu früh ausgetauscht werden, da dies zu einem erhöhten Remontierungsbedarf, mehr genetischer Drift und zur Erzeugung und Verwendung zusätzlicher Tiere führt. Während für die meisten genetisch nicht veränderten Hintergrundstämme die sinnvolle Zuchtspanne bekannt ist (31), wird diese durch genetische Veränderungen mitunter beeinflusst. Ohne aktuelle, linienspezifische Daten sollte die Remontierung auf Basis des jeweiligen Hintergrundstamms inklusive einem prozentualen Sicherheitszuschlag, z.B. 10%, berechnet werden.

Männliche und weibliche Tiere werden in der Regel nach derselben Zuchtzeit ausgetauscht, um negative Einflüsse auf den Zuchterfolg durch die neuen männlichen Tiere zu vermeiden, und dadurch die Produktivität der Zucht insgesamt zu senken.

Wildtypische weibliche Zuchttiere der gängigen Hintergrundlinien zeigen meist über sieben bis neun Monate eine hohe, und oft bis zu elf Monate und darüber hinaus, eine akzeptable Produktivität (32–35)

Allgemeine Hinweise zum Austausch von Zuchttieren bzw. Remontierung sind:

- Eine Zucht sollte nach stamm-/linienabhängiger Zuchtzeit beendet werden.
- Wenn keine sichtbare Trächtigkeit bzw. kein Wurf nach 35 Tagen sichtbar ist, sollte das Zuchtpaar möglichst ersetzt werden.

- Bei geringem Tierbestand für die Zucht sollte bei einer ausbleibenden Trächtigkeit im ersten ermittelten Zeitraum gegebenenfalls eine zweite Trächtigkeitsperiode abgewartet werden.
- Erreicht kein Tier eines Wurfes das Absetzalter (Aufzuchtergebnis = 0) sollte ebenso ein weiterer Wurf abgewartet werden.
- Nach Ende des produktiven Zeitraums werden weibliche und männliche Tiere in der Regel gleichzeitig getauscht.

3. Einflüsse von Zuchtstrategien auf die Zahl erforderlicher weiblicher Zuchttiere

Die Generierung von Tieren kann grundsätzlich auf drei verschiedene Weisen erfolgen, nämlich durch: kohortenbasierte Zucht, koloniebasierte Zucht oder durch in vitro Fertilisation (IVF), respektive die Revitalisierung von kryokonservierten Embryonen. In allen drei Fällen werden unterschiedliche Zahlen von weiblichen Tieren benötigt. Für die Berechnung der Anzahl nötiger Zuchttiere ist zudem zu berücksichtigen, zu welchem Zeitpunkt wie viele Tiere benötigt werden. Dies kann je nach experimenteller Fragestellung erheblich variieren. Für Experimente, bei denen zu einem bestimmten Zeitpunkt eine große Gruppe von Tieren gleichzeitig erforderlich ist, werden andere Berechnungen benötigt als für Experimente, in denen über einen längeren Zeitraum zu verschiedenen Zeitpunkten jeweils wenige Tiere eingesetzt werden.

Die kohortenbasierte Zucht zeichnet sich dadurch aus, dass eine bestimmte Anzahl von Tieren ähnlichen oder gleichen Alters erhalten werden soll. Dies wird durch die zeitgleiche Verpaarung erzielt. So kann wenige Male oder sogar nur einmal eine Versuchskohorte einer bestimmten Größe erzüchtet werden. Das empfohlene Vorgehen wird in Abschnitt 3.1 beschrieben.

Die koloniebasierte Zucht ist bezüglich des Verpaarungszeitraums und folglich des Alters der Nachkommen nicht synchronisiert. Eine größere Gruppe von Zuchttieren produziert kontinuierlich Nachkommen. Solch eine Produktionskolonie generiert regelmäßig eine bestimmte Anzahl von Tieren für geplante Experimente, muss aber auch Tiere für ihre Remontierung hervorbringen. Details hierzu finden sich in Abschnitt 3.2.

Kohorten- wie auch koloniebasierte Zuchten folgen als biologische Prozesse stochastischen Verteilungen, z.B. schwankt die durchschnittliche Wurfgröße in Abhängigkeit vom Hintergrundstamm und Alter um einen Durchschnittswert. Im Zusammenhang mit der Zuchtplanung muss also entschieden werden, mit welcher Wahrscheinlichkeit das angestrebte Zuchtergebnis hinsichtlich Tierzahl, Genotyp oder Geschlecht erreicht werden soll. Je höher das gewünschte Konfidenzniveau, desto mehr Zuchtpaare müssen angesetzt werden, wodurch u.U. auch ein Überschuss an Tieren erzeugt wird. Eine Strategie, um diese Zahl zu reduzieren, ist, das Experiment zeitlich in mehrere aufeinanderfolgende Tiergruppen aufzuteilen, anstatt zu einem Zeitpunkt die komplette oder eine vorbestimmte Anzahl an Tieren zu untersuchen. Beispielsweise ist vorstellbar, dass ein Experiment gleichzeitig mit fünfzehn Tieren oder auch in drei Gruppen zu je fünf Tieren durchgeführt werden kann. Dann wird die Zucht so angesetzt, dass mit 90% Wahrscheinlichkeit fünf Tiere geworfen werden. Zufällig mehr geworfene geeignete Tiere werden zusätzlich genutzt, was das Verhältnis von geworfenen zu genutzten Tieren in der Bilanz verbessert.

Eine andere Strategie kann sein, erforderliche Versuchstiere mit Hilfe technischer Verfahren, z.B. der IVF in der erforderlichen Anzahl gezielt zu generieren. Bei diesem Verfahren (siehe Abschnitt 3.3.) werden Oozyten mittels ebenso gewonnener Spermien *in vitro* befruchtet und in scheinträchtige Ammen implantiert. So kann dann auch eine größere Kohorte gleichaltriger Tiere zeitlich planbar generiert werden.

Allgemein wird für die Erstellung einer standardisierten und dokumentierten Zuchtplanung das folgende Vorgehen empfohlen:

- Festlegung der Zuchtziele:
- Anzahl benötigter Tiere pro Versuchsgruppe
 - Geschlecht
 - Genotyp
 - Zygotie (heterozygot, hemizygot, homozygot)
- Entscheidung ob
 - zeitlich und zahlenmäßig determinierte Kohorten oder
 - koloniebasiert mit einer kleinen, aber festen Anzahl Zuchtpaaren über einen längeren Zeitraum gezüchtet oder
 - eine Kohorte durch eine oder mehrere IVF erzeugt werden soll.
- Durchführung der Berechnungen (siehe Abschnitt 3.1, 3.2, 3.3)
- Dokumentation der Berechnungen unter Einbeziehung der benötigten männlichen Tiere
- Abstimmung mit etwaig zugewiesenen Käfigkontingenten

3.1. Kohortenbasierte (Produktions-)Zuchten

Bei einer kohortenbasierten Zucht soll eine definierte Anzahl von Tieren eines definierten Genotyps, Alters oder Geschlechts innerhalb eines definierten Zeitraums produziert werden. Dazu werden zu einem bzw. zu mehreren Zeitpunkten eine bestimmte Anzahl Zuchttiere geeigneter Genotypen der betreffenden Linie verpaart. Einflussparameter für die erforderliche Anzahl von Zuchtpaaren sind neben der Auftrittswahrscheinlichkeit des Zielgenotyps die Fertilität und Wurfgröße nach Absetzen (36). Die Auftrittswahrscheinlichkeiten der Zielgenotypen können über einen Punnett-Square (ggf. über ein Online-Tool (25,26)) errechnet werden. Fertilität, Wurfgröße sowie die Anzahl der abgesetzten Jungtiere (siehe 2.4.1) sollten als relevante Zuchtstatistikdaten aktuell durch die hauseigene Tierhaltungsdatenbank zur Verfügung gestellt werden. Nur bei neuen Linien sollte auf frühere Daten aus der Herkunftshaltung oder Referenzwerte des Hintergrundstamms zurückgegriffen werden.

Die Anzahl der weiblichen Zuchttiere zum Erreichen der erforderlichen Nachzuchttiere kann mit Hilfe der verfügbaren Hilfsmittel für die Zuchtkalkulation (in Näherung), unabhängig ob in Duo oder Trio (12–14), berechnet werden. Die Berücksichtigung einer Erfolgswahrscheinlichkeit, z.B. 90%, ist derzeit nur mit dem Programm "*R Package BreedingCalculator*" (37,38) präzise möglich.

Sind Abweichungen von der Mendelschen Verteilung zu erwarten, sollten angepasste Werte für die Berechnungen verwendet werden (siehe 2.4.2). Genauso können Wurfgrößen vor dem Absetzen/nach dem Wurf (bei Experimenten mit Jungtieren) oder gar Wurfgrößen *in utero* (bei

Experimenten mit Föten) verwendet werden. In diesen Fällen kann sich die Auftrittswahrscheinlichkeit der verschiedenen Genotypen ändern!

Es wird wie folgt vorgegangen:

- Festlegung der Zuchtziele (siehe oben).
- Ermittlung der Zuchtparameter
 - Wurfgröße (in der Regel beim Absetzen des Wurfs)
 - Fertilität (Anteil produktiver Zuchtpaare pro weiblichem Zuchttier)
 - Genotypfrequenz nach Mendel (25,26)
 - Abweichungen von Genotypverteilungen nach Mendel
 - Abwesenheit von Kopplung (siehe Abschnitt 2.4)
- Berechnung der benötigten weiblichen Zuchttiere (37,38)

3.2. Koloniebasierte Zuchten/Kontinuierliche Produktionszuchten

Bei koloniebasierten Zuchten erfolgt keine Synchronisation der Zuchtpaare. Die Anzahl weiblicher Zuchttiere, die erforderlich ist, um eine bestimmte Anzahl von Tieren für ein bestimmtes Ziel, z.B. ein Experiment, zu erreichen, kann unter Berücksichtigung der durchschnittlichen wöchentlichen Produktivität eines weiblichen Tiers in der Zucht (*Production (efficiency) Index*, PEI) berechnet werden. Der PEI gibt die Anzahl abgesetzter Jungtiere pro weiblichem Tier pro Woche an (36). Bei diesem System besteht das Problem, dass zunächst die Höhe der durchschnittlichen Produktion mit der angenommenen Nachfrage in Relation gesetzt werden muss. Mehrere Faktoren machen dies schwierig. Zunächst kommt es zu natürlichen biologischen Schwankungen in der Produktivität der Kolonie. Diese sind zufällig und in ihrer Auswirkung stark abhängig von der Größe der zu züchtenden Kolonie. Die wöchentliche Nachfrage nach Tieren kann stark schwanken, abhängig von den Planungen der Forschenden, die wiederum häufig von Ergebnissen laufender Experimente abhängen. Die Flexibilität beim Alter der im jeweiligen Versuch einsetzbaren Tiere ist ein weiterer zu beachtender Faktor (z.B., ob Tiere nur im Alter von zehn bis zwölf Wochen oder im Alter von zehn bis sechzehn Wochen in den Versuch gehen können). Eine größere Flexibilität kann Schwankungen in der Produktion besser ausgleichen. Dies ist aber eine wissenschaftliche Entscheidung, die sich zwischen Experimenten für einen Mausstamm auch ändern kann. Es ist aus diesen Überlegungen ersichtlich, dass die Produktion zum Ausgleich von Zufallsschwankungen über der sich aus dem PEI ergebenden Zahl an benötigten Tieren liegen muss. Ferner braucht es eine Mindestkoloniegröße. Es sollte in die Überlegungen auch einfließen, welche Folgen es hat, wenn die Nachfrage nach Tieren nicht rechtzeitig bedient werden kann. Tiere für die Remontierung der Zuchttiere müssen unter Berücksichtigung der Genotypfrequenz zu den weiblichen Produktionszuchttieren hinzugerechnet werden.

Das *Breeding Colony Size Planning Worksheet* des Jackson Labors (39) kann bei der Planung der Koloniegröße helfen. Es bezieht aber die Zufallsschwankungen nur durch einen sogenannten „*fudge factor*“ (deutsch am ehesten mit 'Korrekturfaktor' beschrieben) in die Berechnung ein. Dies führt zu einer dramatischen Unterschätzung der nötigen Anzahl an Zuchttieren gerade bei dem in der akademischen Forschung üblichen Bedarf (Abb. 3; (36)).

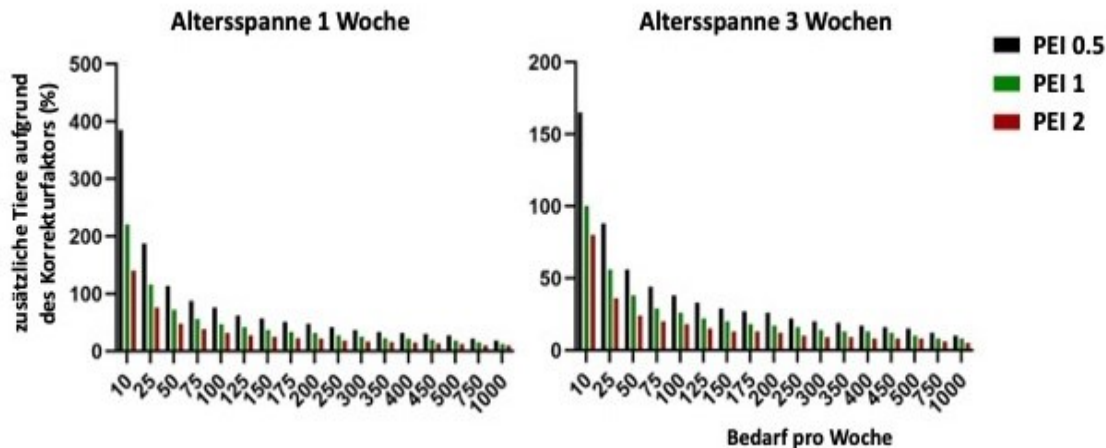


Abb. 3: Korrekturfaktor – Zuschläge für koloniebasierte Zuchten. Der Zuschlag muss umso höher sein, je weniger sich die Jungtiere, die im Experiment eingesetzt werden, vom Alter her unterscheiden dürfen (linke Grafik Altersspanne max. eine Woche, rechte Grafik max. drei Wochen). Es wird von einer Erfolgswahrscheinlichkeit von 90% ausgegangen, d.h., dass in neun von zehn Wochen mindestens so viele Jungtiere wie benötigt geboren werden. Die Abbildung gibt für drei PEIs (0,5, 1, 2) an, wie hoch die prozentualen Zuschläge sein müssen, die für den sogenannten „*Fudge Factor*“ im *Breeding Colony Size Planning Worksheet* des Jackson Laboratory eingesetzt werden. Ein Zuschlag von 200% entspricht z.B. der dreifachen Zahl, also einem Korrekturfaktor von drei. Um mit einer Erfolgswahrscheinlichkeit von 90% zehn Nachkommen mit einer Altersspanne von einer Woche zu erhalten ist bei einem PEI von eins entsprechend die Verpaarung von plus 200%, d.h. dreimal so vielen Zuchtweibchen erforderlich, wie ohne Korrekturfaktor errechnet.

Es wird wie folgt vorgegangen:

Festlegung der Zuchtziele (siehe oben).

- Ermittlung der Zuchtparameter
 - Produktions-/Kolonieindex PEI
 - Genotypfrequenz nach Mendel (24)
 - Abweichungen von Genotypverteilungen nach Mendel
 - Abwesenheit einer Kopplung (siehe Abschnitt 2.4)
- Berechnung der nötigen weiblichen Zuchttiere (39).
- Dokumentation und Abstimmung (siehe oben).

3.3. Kohorten durch *in-vitro*-Fertilisation oder Revitalisierung nach Kryokonservierung

Um eine größere Anzahl gleichaltriger Tiere für ein Experiment zu erzeugen, bietet sich eine IVF als Alternative zur kohortenbasierten Produktionszucht an (40). Ein Vorteil ist die bessere Steuerbarkeit. Ähnliches gilt für die Revitalisierung von kryokonservierten Embryonen. Ein Nachteil ist die Belastung der Tiere durch Vasektomie, Superovulation und Embryotransfer. Darüber hinaus kann diese Technik nur angewandt werden, wenn die Einrichtung über entsprechende Expertise verfügt. Es ist jedoch auch denkbar, solche Kohorten von kommerziellen Anbietern generieren zu lassen. Die Berechnung der erforderlichen Tierzahlen

erfolgt analog zur kohortenbasierten Produktionszucht. Möglicherweise sind Superovulations- und Überlebensraten der genetisch veränderten Tiere niedriger als die des wildtypischen Hintergrundstamms. Solange hier keine Daten vorliegen, empfehlen wir mit einer Sicherheitsmarge von 20% gegenüber dem Hintergrundstamm zu rechnen.

Es wird wie folgt vorgegangen:

- Festlegung der Zuchtziele (siehe oben).
 - Anzahl Tiere
 - Geschlecht
 - Genotyp
 - Zygotie
- Ermittlung der Zuchtparameter
 - Wurfgröße der Empfängertiere (in der Regel beim Absetzen)
 - Anzahl Oozyten pro Spender
 - Befruchtungsrates bei IVF
 - Verteilung der Genotypen nach Mendel
 - Abweichungen von Genotypverteilungen nach Mendel
 - Abwesenheit einer Kopplung (siehe Abschnitt 2.4)
- Berechnung der nötigen Spender- und Empfängertiere
- Dokumentation der Berechnungen
- Abstimmung mit etwaig zugewiesenen Käfigkontingenten

4. Zusammenfassung

Die vorliegende Fachinformation soll entsprechend vorgebildeten Personen ein Werkzeug sein, Zuchten bedarfsgerecht zu planen und so die Gesamtzahl benötigter Versuchsmäuse sowie von überzähligen Tieren zu optimieren und im Idealfall zu reduzieren. Um die Zahl der für die Zucht benötigten Tiere zu minimieren, hat eine vernünftige Zuchtplanung daher höchste Priorität. Eine effiziente Zucht von Mäusen für die biomedizinische Forschung ist jedoch ein komplexes Unterfangen und die für den Versuch benötigten Mausstämme und Linien müssen oft in aufwändigen Zuchten generiert werden.

Voraussetzung für eine vernünftige Zuchtplanung ist das Verständnis der genetischen Eigenschaften sowie weiterer spezifischer Parameter, die den Zuchterfolg beeinflussen. Darüber hinaus kann die Zucht grob in Kategorien unterteilt werden, die einer Standardisierung des Zuchtprozesses entgegenkommen. Der Bedarf an benötigten Zuchttieren und gezüchtetem Nachwuchs wird so innerhalb des gewählten Konfidenzrahmens berechenbar.

5. Literatur

1. Chmielewska J, Bert B, Grune B, Hensel A, Schönfelder G. 2015. Der "vernünftige Grund" zur Tötung von überzähligen Tieren. Eine klassische Frage des Tierschutzrechts im Kontext der biomedizinischen Forschung. NuR 37(10):677-682.
2. European Commission. Directorate General for Environment. 2022 [aufgerufen 08.08.2023]. Framework for the genetically altered animals under Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. [Internet]. LU: Publications Office <https://data.europa.eu/doi/10.2779/499108>
3. Dunn L, Grüneberg H, Snell G. 1940. Report of the committee on mouse genetics nomenclature. J Hered 31:505–6.
4. Davidson J, Wedekind D, Schenkel J. 2018 [aufgerufen 10.07.2023]. Fachinformation aus dem Ausschuss für Genetik und Labortierzucht: Einführung in die Nomenklatur der Gene, Mutationen und Transgene von Maus und Ratte [Internet]. GV-SOLAS Gesellschaft für Versuchstierkunde. https://www.gv-solas.de/wp-content/uploads/2018/09/Nomenklatur-Gene-Mutationen-Transgene_09-2018.pdf
5. The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine. Guidelines for Nomenclature of Genes, Genetic Markers, Alleles, and Mutations in Mouse and Rat at the Mouse Genome Informatics website <http://www.informatics.jax.org, 10/2022>
6. Dobrowolski P, Buch T, Nagel-Riedasch S. 2023. Nomenclature for standardized designation of diploid genotypes in genetically modified laboratory animals. Lab Anim 57(4):371-380.
7. Eppig JT, Motenko H, Richardson JE, Richards-Smith B, Smith CL. 2015. The International Mouse Strain Resource (IMSR): cataloging worldwide mouse and ES cell line resources. Mamm Genome 26(9-10):448-455.
8. Bundesinstitut für Risikobewertung. 2016. Severity assessment of genetically altered mice and rats – Version 2. Recommendation no. 002/2016 by the National Committee (TierSchG).
9. Lab Code Database [Internet]. 2023 [aufgerufen 10.07.2023]. Lab Code Database. <https://www.nationalacademies.org/ilar/lab-code-database>
10. Kelmenson P. 2018 [aufgerufen 09.11.2023]. How to Refresh your Mutant or Transgenic Mouse Strain. Charles River/The Jackson Laboratory. https://www.criver.com/sites/default/files/resources/doc_a/RM-CS-how-to-refresh-your-mutant-or-transgenic-mouse-strains.pdf
11. Kedl RM, Wysocki LJ, Janssen WJ, Born WK, Rosenbaum MD, Granowski J, Kench JA, Fong DL, Switzer LA, Cruse M, Huang H, Jakubzick CV, Kosmider B, Takeda K, Stranova TJ, Klumm RC, Delgado C, Tummala S, De Langhe S, Cambier J, Haskins K, Lenz LL, Curran-Everett D. 2014. General Parity between Trio and Pairwise Breeding of Laboratory Mice in Static Caging. J Immunol 193(10):4757-4760.
12. Gaskill BN, Pritchett-Corning KR. 2015. The Effect of Cage Space on Behavior and Reproduction in Crl:CD1(lcr) and C57BL/6Ncrl Laboratory Mice. Chapouthier G, editor. PLoS ONE 10(5):e0127875.
13. Wasson K. 2017. Retrospective Analysis of Reproductive Performance of Pair-bred Compared with Trio-bred Mice. J Am Assoc Lab Anim Sci 56(2):190-193.
14. Chatkupt TT, Libal NL, Mader SL, Murphy SJ, Saunders KE. 2018 [aufgerufen 13.03.2023]. Effect of Continuous Trio Breeding Compared with Continuous Pair Breeding in 'Shoebox' Caging on Measures of Reproductive Performance in Estrogen Receptor Knockout Mice. J Am Assoc Lab Anim Sci; <http://www.ingentaconnect.com/content/10.30802/AALAS-JAALAS-17-000125>

15. Brajon S, Munhoz Morello G, Teixeira MS, Hultgren J, Gilbert C, Olsson IAS. 2019. Social environment as a cause of litter loss in laboratory mouse: A behavioural study. *Appl Anim Behav Sci* 218:104827.
16. Bruce HM. 1959. An Exteroceptive Block to Pregnancy in the Mouse. *Nature* 184(4680):105.
17. Labov JB, Huck UW, Elwood RW, Brooks RJ. 1985. Current problems in the study of infanticidal behavior of rodents. *Quart Rev Biol* 60:1-20.
18. NC3Rs: Worked example of intermittent breeding [Internet]. 2020 [aufgerufen 10.07.2023]. NC3Rs: Worked example of intermittent breeding. <https://nc3rs.org.uk/3rs-resources/breeding-and-colony-management/worked-example-intermittent-breeding>
19. The Jackson Laboratory. [aufgerufen 09.06.2022]. Reproductive characteristics of some important inbred strains. <http://www.informatics.jax.org/silver/tables/table4-1.shtml>
20. Festing MFW, Lutz C. 2010. Introduction to laboratory animal genetics. In: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals*. 8th ed. p. 37-60.
21. Wakeland E, Morel L, Achey K, Yui M, Longmate J. 1997. Speed congenics: a classic technique in the fast lane (relatively speaking). *Immunol Today* 18(10):472-477.
22. Davidson J, Wedekind D, Reifenberg K, Kluge R, Aigner B. 2021 [aufgerufen 16.11.2023]. Fachinformation aus dem Ausschuss für Genetik und Labortierzucht: Kongene Stämme durch Rückkreuzung und beschleunigte Rückkreuzung ('speed congenics'). GV-SOLAS Gesellschaft für Versuchstierkunde. https://www.gv-solas.de/wp-content/uploads/2021/05/Kongene-Sta%CC%88mme_2021.pdf
23. Rieger R, Michaelis A, Green MM. 1968 [aufgerufen 14.08.2023]. *A Glossary of Genetics and Cytogenetics*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-01012-9>
24. Mendel, G. 1865. Versuche über Pflanzenhybriden. *Verhandlungen des Naturforschenden Vereins Brünn*. 4:3-47.
25. Staroscik A. [aufgerufen 13.03.2023]. Punnett Square Calculator. <https://scienceprimer.com/punnett-square-calculator>
26. Zaborowska L. 2023 [aufgerufen 13.03.2023]. Punnett Square Calculator. Punnett Square Calculator. <https://www.omnicalculator.com/biology/punnett-square>
27. Silver LM. 1995 [aufgerufen 2023 Aug 14]. Quantifying the Genome. In: *Mouse Genetics: Concepts and Applications*. <http://informatics.jax.org/silver/chapters/5-1.shtml>
28. Ensembl [Internet; aufgerufen 15.08.2023]. <https://www.ensembl.org/index.html>
29. NCBI - gene [Internet; aufgerufen 15.08.2023]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>
30. UCSC Genome Browser [Internet; aufgerufen 15.08.2023]. <https://genome.ucsc.edu/>
31. Flurkey K, Curren JM (Hrsg). 2009. Characteristics of Popular Strains of JAX Mice, Including Reproductive Performance. In: *The Jackson Laboratory Handbook on Genetically Standardized Mice*. 6th ed. ISBN 978-0-578-04182-7: The Jackson Laboratory; p. 77-148.
32. Festing M. 1968. Some Aspects of Reproductive Performance in Inbred Mice. *Lab Anim* 2(1):89-100.
33. Holinka CF, Tseng YC, Finch CE. 1979. Reproductive aging in C57BL/6J mice: plasma progesterone, viable embryos and resorption frequency throughout pregnancy. *Biol Reprod* 20(5):1201-1211.

34. Flurkey K (Hrsg).2009. The Jackson laboratory handbook of genetically standardized mice: ask for the j. 6. ed., 1. printing. Bar Harbor, Me: The Jackson Laboratory; 380 p.
35. Hardy P. 2012. Gnotobiology and Breeding Techniques. In: The laboratory mouse. 2nd ed., Hedrich HJ (Hrsg). Amsterdam: Elsevier/Academic Press; p. 669.
36. Festing MFW. 1987. Animal production and breeding methods. In: UFAW handbook on the care and management of laboratory animals. 6th ed. London: Longman Scientific and Technical.
37. Milchevskaya V, Bugnon P, Ten Buren EBJ, Vanhecke D, Brand F, Tresch A, Buch T. 2023. Group size planning for breedings of gene-modified mice and other organisms following Mendelian inheritance. Lab Anim 52(8):183-188.
38. Milchevskaya V, Buch T. [aufgerufen 15.08.2023]. Breeding calculator.
<https://www.ltk.uzh.ch/en/Breeding.html>
39. The Jackson Laboratory. [aufgerufen 16.08.2023]. Breeding Colony Size Planning Worksheet.
<https://www.jax.org/-/media/jaxweb/files/jax-mice-and-services/colonysizewksht.pdf>
40. Taft R. 2017 *In Vitro* Fertilization in Mice. Cold Spring Harb Protoc (11):pdb.prot094508.

Haftungsausschluss

Die Nutzung und Verwendung der Veröffentlichungen (Fachinformationen, Stellungnahmen, Hefte, Empfehlungen, u. ä.) der Gesellschaft für Versuchstierkunde GV-SOLAS und die Umsetzung der darin enthaltenen Informationen und Inhalte erfolgt ausdrücklich auf eigenes Risiko der jeweiligen Nutzer*innen oder Verwender*innen.

Die GV-SOLAS und auch die Autor*innen können für etwaige Unfälle und Schäden jeder Art, die sich durch die Nutzung der Veröffentlichung ergeben, keine Haftung übernehmen.

Die GV-SOLAS übernimmt keine Haftung für Schäden jeglicher Art, die durch die Nutzung der Webseite und das Herunterladen der Vorlagen entstehen. Ebenfalls haftet die GV-SOLAS nicht für unmittelbare oder mittelbare Folgeschäden, Datenverlust, entgangenen Gewinn, System- oder Produktionsausfälle.

Haftungsansprüche gegen die GV-SOLAS und die Autor*innen für Schäden materieller oder ideeller Art, die durch die Nutzung oder Nichtnutzung der Informationen bzw. durch die Nutzung fehlerhafter und/oder unvollständiger Informationen verursacht wurden, sind grundsätzlich ausgeschlossen.

Schadenersatzansprüche sind daher sowohl gegen die Gesellschaft für Versuchstierkunde GV-SOLAS wie auch gegen die Autor*innen ausgeschlossen.

Die Werke inklusive aller Inhalte wurden unter größter wissenschaftlicher Sorgfalt erarbeitet. Gleichwohl übernehmen die GV-SOLAS und die Autor*innen keinerlei Gewähr und keine Haftung für die Aktualität, Korrektheit, Vollständigkeit und Qualität der bereitgestellten Informationen, ebenso nicht für Druckfehler.

Es kann keine juristische Verantwortung sowie Haftung in irgendeiner Form für fehlerhafte Angaben und daraus entstandene Folgen von der GV-SOLAS und den Autor*innen übernommen werden.

Für die Inhalte von den in diesen Veröffentlichungen abgedruckten Internetseiten sind überdies ausschließlich die Betreiber der jeweiligen Internetseiten verantwortlich.

Die GV-SOLAS und die Autor*innen haben keinen Einfluss auf Gestaltung und Inhalte fremder Internetseiten und distanzieren sich daher von allen fremden Inhalten.