

# In-house Weiterzucht von Inzuchtstämmen und Gendrift – Nachweis und Monitoring mittels STR-Genotypisierung

Friederike-Sophie Hechler, André Strauß, Frank Götz und Peter Dobrowolski  
GVG Genetic Monitoring GmbH, Leipzig, Germany

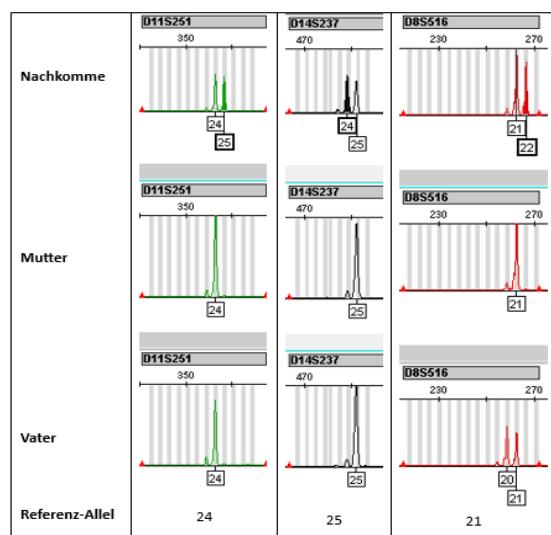


Das spontane Entstehen von Neumutation ist die Quelle biologischer Evolution und lässt sich selbst bei idealen Zuchtbedingungen nicht verhindern. Ob und wie schnell sich eine Neumutation in der Population durchsetzt, hängt entscheidend von der Populationsgröße ab. Je kleiner die Population, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass sich eine Mutation etabliert und anschließend sogar die ursprüngliche Allelvariante komplett verdrängt. Dieser Prozess wird auch als Gendrift bezeichnet. In vielen Forschungseinrichtungen werden kommerziell erworbene Mauslinien über viele Generationen hinweg in-house weiter gezüchtet. Man ist sich der Gefahr einer Gendrift bewusst, hat aber ohne eine aufwendige Komplettssequenzierung keine Möglichkeit zur Bewertung der konkreten Situation.

Die GVG Genetic Monitoring GmbH verfügt über ein Genotypisierungs-Set mit einer großen Anzahl an STR-Markern (Mikrosatelliten): Diese können stellvertretend für alle Arten von Neumutationen zielgerichtet für ein genetisches Monitoring der Gendrift genutzt werden. Ein Vergleich des STR-Profiles der in-house Zucht mit dem der kommerziell verfügbaren Ausgangstiere gibt Auskunft über den Grad der stattgefundenen Drift und kann dabei helfen, eine Entscheidung über die Notwendigkeit einer Auffrischung der Mauslinie durch Rückkreuzung mit Originaltieren zu treffen.

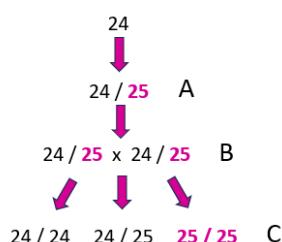
Darüber hinaus ermöglichen sie eine Aussage zur Qualität der in-house Zucht an sich und erlauben, einen gemischten genetischen Hintergrund, z.B. durch unerkannte Fehlverpaarungen, aufzudecken und diese eindeutig von der Gendrift zu unterscheiden.

## Direkter, visueller Nachweis von Neumutationen (STR-Marker) und Ermittlung des Referenz-STR-Genotyps einer Zucht



Von Originaltieren eines Züchters oder einer in-house Zucht werden 3-5 Individuen vollständig genotypisiert. Für jeden STR-Marker wird das am häufigsten nachgewiesene Allel ermittelt. Dieses wird als Referenz-Allel des betreffenden Markers definiert. Es besitzt von allen Allelen die größte Wahrscheinlichkeit, sich in den nächsten Generationen als homozygotes Allel durchzusetzen. Das komplette Set der Referenz-Allele aller STR-Marker ergibt den Referenz-Genotyp.

## Gendrift



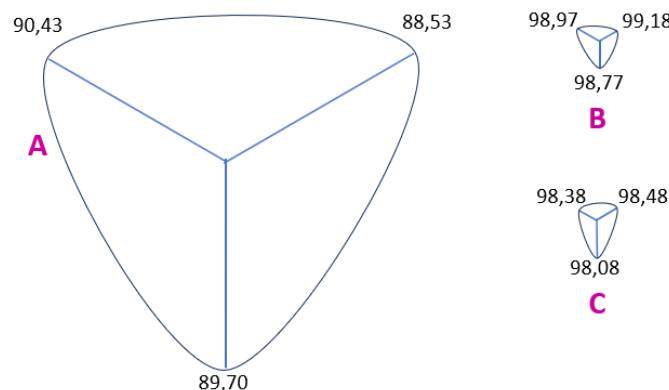
Eine Neumutation ist ein Ein-Schritt-Ereignis (A - Allel 25) und muss zunächst auf weitere Tiere vererbt werden. Nur durch Verpaarung von zwei heterozygoten Nachkommen (B) kann das Ausgangs-Allel 24 durch das Allel 25 vollständig ersetzt werden (Wahrscheinlichkeit 25%).

## Zusammenfassung:

- Die Gendrift einer in-house Zucht lässt sich messen und visuell darstellen
- Die Qualität einer Zucht kann eingeschätzt werden
- Fehlverpaarungen können schnell und sicher erkannt werden
- Ein Genotypisierungs-Set mit den ca. 50 am besten geeigneten STR-Markern zur Bestimmung der Gendrift ist in der Validierung und wird eine schnelle und kostengünstige Analyse von in-house Zuchten ermöglichen.

## Bewertung der Qualität einer Zucht im Tierhaus und der Nachweis von Fehlverpaarungen bzw. einer unvollständigen Rückkreuzung

Die genetische Varianz einzelner Individuen im Vergleich zum Referenz-Genotyp (=100%) ist ein Qualitätsmerkmal zur Einschätzung der Zucht im Tierhaus und kann als Größe der Fläche des Streuungskörpers vergleichend dargestellt werden. Werte mit einer Übereinstimmung oberhalb von 97% sind als sehr gut einzuschätzen. Originaltiere vom Züchter unterscheiden sich ebenfalls hinsichtlich des STR-Profiles und zeigen Werte im Bereich von 97-99% (C57BL/6) in Bezug auf den Referenz-Genotyp. Originaltiere von BALB/c schwanken stärker (nur ca. 90%).



**A** - Eine ungewöhnlich hohe Anzahl an heterozygoten STR-Markern und daraus resultierende Werte unterhalb von 90% sprechen für einen gemischten genetischen Hintergrund bzw. für eine kürzlich stattgefundenene Fehlverpaarung.

**B und C** - Zwei Beispiele für eine vorbildliche Zucht anhand der Werte von drei Einzeltieren: Geringe Schwankung im Hinblick zum Referenz-Genotyp bei Originaltieren von C57BL/6J (B) und C57BL/6JBomTac (C)

Rechenmethode: Der nachgewiesene Genotyp wird bei jedem STR-Marker wie folgt zahlenmäßig gewertet: 1 – homozygot, identisch mit Referenz-Allel, 0,75 – heterozygot, 0 – homozygot, aber abweichend vom Referenz-Allel. Die Summe der berechneten Werte über alle STR-Marker wird durch die Anzahl der Marker dividiert. Anm.: Für Heterozygote wurde nicht 0,5 genommen, da der Schritt von heterozygot zu homozygot (neues Allel) die Weiterzucht über mehrere nachfolgende Generationen erfordert (siehe Abb. zur Gendrift).

## Nachweis des Grades der genetischen Drift bei in-house Zuchten

Der aktuelle Drift-Status einer Mauslinie wird bestimmt, indem der in-house Referenz-Genotyp (B und C) mit dem des Originalstammes (A) abgeglichen wird. Die Abweichung zum Referenz-Genotyp (A) beträgt 4,2% für B, sowie 10,0% für C. Zahlen in Magenta: Die Werte für die Einzeltiere beim Abgleich mit dem Referenz-Genotyp A (Charles River) dokumentieren ebenso das Wegdriften der Zucht.



## Vergleich von 3 verschiedenen Zuchten von C57BL/6J:

- A** – Originaltiere von Charles River
- B** – in-house Zucht mit beginnender Drift
- C** – kommerzieller Anbieter von C57BL/6J (Polen) mit erheblicher Gendrift