



BENESSERE DEGLI ANIMALI DA LABORATORIO E METODI ALTERNATIVI ALLA SPERIMENTAZIONE ANIMALE



Nomenclatura dei ceppi murini

Dott.ssa Roberta Bernardini



Centro Interdipartimentale per la Medicina Comparata, Tecniche
Alternative ed Acquacoltura

14-18 Ottobre e 18-21 Novembre 2019

Classificazione genetica dei roditori

- Ceppi Inbred
- Ceppi Outbred
- Ibridi
- GEMM (Genetically Engineered and Mutant Mice)
 - Spontanei
 - Coisogenetici
 - Targeted Mutation (Knock-out, Knock-in)
 - Transgenici
- Collaborative Cross (CC)

Classificazione genetica dei roditori

- Ceppi Inbred
- Ceppi Outbred
- Ibridi
- GEMM (Genetically Engineered Mutant Mice)
 - Spontanei
 - Coisogenetici
 - Targeted Mutation (Knock-out, Knock-in)
 - Transgenici
- Collaborative Cross (CC)

Inbreeding

Quando la scelta del partner riproduttivo non è casuale rispetto al suo genotipo: accoppiamento assortativo

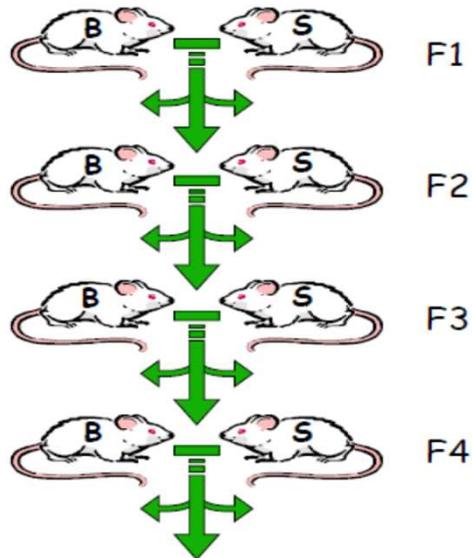
L'unione assortativa positiva (inbreeding o inincrocio) avviene quando l'accoppiamento tra individui imparentati avviene con frequenza maggiore di quella dovuta al caso; provoca un deficit di eterozigoti rispetto alle attese di H-W.

Il deficit di eterozigoti viene misurato dal coefficiente F di inbreeding

Una popolazione può essere definita inbred soltanto dopo un minimo di 20 generazioni successive di accoppiamenti tra fratelli e sorelle o genitori e figli.

Alla 21° generazione il coefficiente di inbreeding sarà del 98,4%, cioè il 98,4% dei geni sarà in uno stato di omozigosi

Ceppi Inbred



- **Isogenicità:** tutti gli animali di quel ceppo sono uguali al 99% dei loci genetici; quindi istocompatibili
- **Omozigosi:** 99%
- **Stabilità genetica:** può cambiare solo per mutazione
- **Individualità:** ogni ceppo inbred è una combinazione unica di alleli e differisce da ogni altro ceppo
- **Uniformità fenotipica**

Tutte lettere maiuscole!!!!

1913, Dr.
Halsey J.
Bagg

Una sola
eccezione

BALB/c

Bagg
ALBinos

c/c = color locus
albino

Nomenclatura basata sull'origine e sul colore del mantello

C.C. Little (1921) accoppiamento con la femmina 57



C57BL/6J (Black)



C57BR/cdJ (Brown)



C57L/J (Leaden)



Sotto-ceppi di topi Inbred "Harlan" C57BL/6

C57BL/6JRccHsd

Nel 1967 venne stabilita una colonia nel RCC (Svizzera), proveniente dal Laboratorio Jackson, acquisito da Harlan nel 2004.

C57BL/6NCrI

La colonia venne trasferita alla Charles River Laboratories (CrI) dal "National Institutes of Health" (NIH), nel 1974.

C57BL/6JOlaHsd

Colonia originata nei laboratori Jackson, Bar Harbor, Maine, al "Laboratory Animal Centre", Carshalton UK; nel 1983 vennero trasferiti all' OLAC, oggi Laboratori Harlan.

Attualmente la HARLAN è stata acquisita da ENVIGO

Nomi di topi inbred basati sull'origine

SJL: Swiss, Jim Lambert – SJL/J



NZB: New Zealand Brown - NZB/BINJ



NZW: New Zealand White - NZW/LacJ



Ceppi di topi inbred:

- C57BL/6
- BALB/c
- FVB/N
- DBA/2

Ceppi ratti inbred:

- Fisher 344 (F344/N)
- Brown Norway (BN/Crl)
- Wistar Kyoto (WKY/N)
- Lewis (LEW/Crl)

Abbreviazioni nomenclatura comune

Per i principali ceppi inbred

- 129P3/J = 129P
- 129S1/SvImJ = 129S
- A/HeJ = AHe
- A/J = A
- AKR/J = AK
- BALB/cByJ = CBy
- BALB/cJ = C
- C57BL = B
- **C57BL/6J = B6**
- C57BL/6JEi = B6Ei
- C57BL/10 = B10
- C57BR/cdJ = BR
- C57L = L
- CBA/CaGnLe = CBACa
- CBA/J = CBA
- **C3H/HeJ = C3**
- C3HeB/FeJ = C3Fe
- DBA/1J = D1
- DBA/2J = D2
- NZB/BINJ = NZB
- NZW/LacJ = NZW
- RIIS/J = R3
- SJL/J = SJL or J
- SWR/J = SW

<https://www2.jax.org/nomenclature-tutorial/#slide-1>

Classificazione genetica dei roditori

- Ceppi Inbred
- **Ceppi Outbred**
- Ibridi
- GEMM (Genetically Engineered Mutant Mice)
 - Spontanei
 - Coisogenetici
 - Targeted Mutation (Knock-out, Knock-in)
 - Transgenici
- Collaborative Cross (CC)

Caratteristiche dei ceppi Outbred

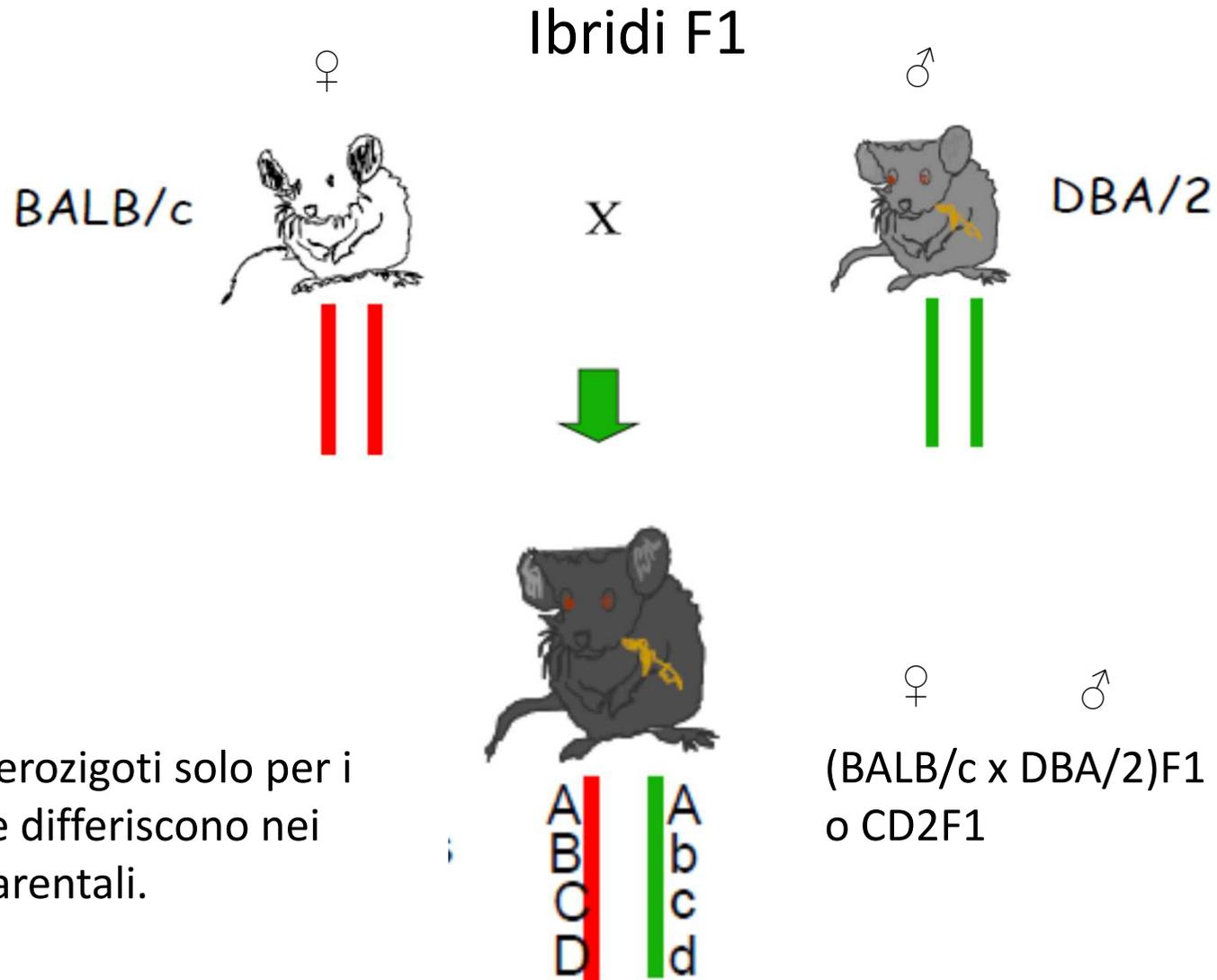
- ✓ Eterozigosi indefinita
- ✓ Profilo genetico sconosciuto
- ✓ Accoppiamenti random, colonie chiuse
- ✓ Alto rendimento riproduttivo
- ✓ Alto vigore
- ✓ Fenotipicamente variabili
- ✓ Nessuna possibilità di caratterizzazione genetica

Hsd: ICR (CD-1)

- ✓ Le prime tre lettere indicano il luogo in cui vengono conservati gli stock (Hsd)
- ✓ Seguita dalla colonia (:)
- ✓ Le ultime lettere indicano i nomi degli stock (ICR)
- ✓ Il nome viene dato dopo la separazione di tre generazioni. Per esempio: Hsd:Wist

Classificazione genetica dei roditori

- Ceppi Inbred
- Ceppi Outbred
- **Ibridi**
- GEMM (Genetically Engineered Mutant Mice)
 - Spontanei
 - Coisogenetici
 - Targeted Mutation (Knock-out, Knock-in)
 - Transgenici
- Collaborative Cross (CC)



Sono eterozigoti solo per i geni che differiscono nei ceppi parentali.

Nomenclatura ibridi

C57BL/6J x C3H/HeJ



B6C3F1/J x B6C3F1/J



B6C3F2



Agouti

Classificazione genetica dei roditori

- Ceppi Inbred
- Ceppi Outbred
- Ibridi
- **GEMM (Genetically Engineered Mutant Mice)**
 - Spontanei
 - Coisogenetici
 - Targeted Mutation (Knock-out, Knock-in)
 - Transgenici
- Collaborative Cross (CC)

Cosa deve contenere il nome?

- Background genetico
- Gene/allele rilevante
- Tecnologia impiegata
- Linea del laboratorio fondatore
- Gruppo di ricerca
- Laboratorio di mantenimento colonia

Nozioni di base

- Geni – *Italico* e prima lettera maiuscola
 - Adenomatosis polyposis coli = *Apc*
 - Leptin receptor = *Lepr*

- Alleli – *Italico* e in apice
 - Prima lettera maiuscola se dominante = *Apc^{Min}*
 - Prima lettera minuscola se recessivo = *Lepr^{db}*

Classificazione genetica dei roditori

- Ceppi Inbred
- Ceppi Outbred
- Ibridi
- GEMM (Genetically Engineered Mutant Mice)
 - Spontanei
 - Coisogenetici
 - Targeted Mutation (Knock-out, Knock-in)
 - Transgenici
- Collaborative Cross (CC)

Mutazioni spontanee

129P3/J-*Lepr*^{db-3J}/J



Background Strain

Gene

Allele

Laboratorio di mantenimento

Nomenclatura Mutanti basata sul fenotipo

NOD Non Obese Diabetic

NU Nude (Athymic Nude-Foxn1^{nu})

DW Dwarf



Mutazioni recessive nei topi



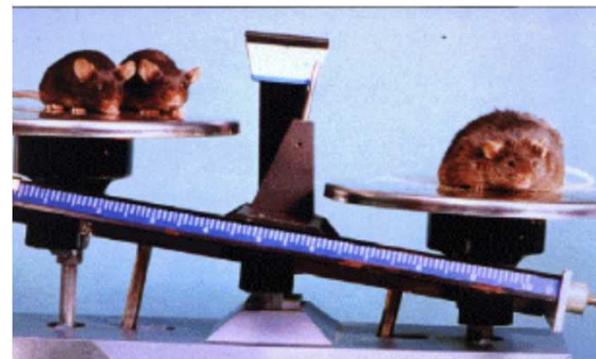
Nudi (nu/nu)



"Hairless" (hr/hr)



Microftalmia (mi/mi)



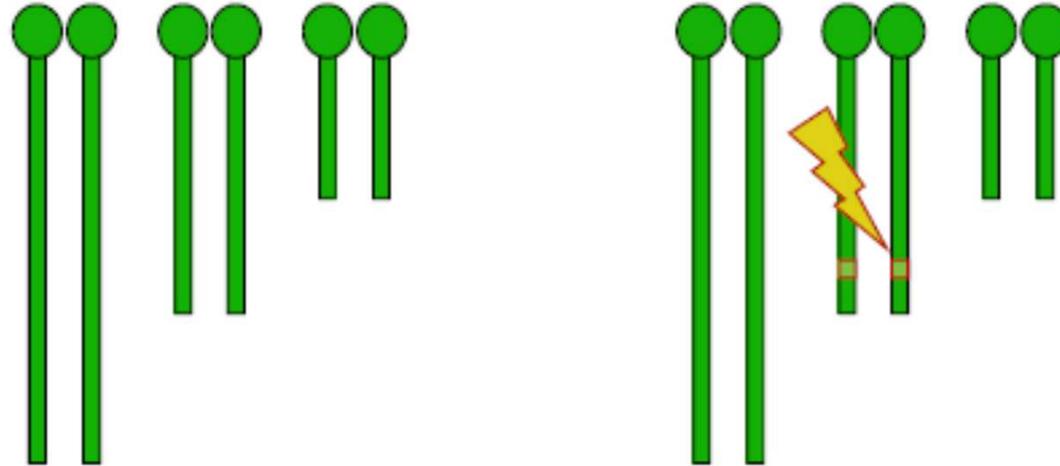
Obesi (ob/ob)

Classificazione genetica dei roditori

- Ceppi Inbred
- Ceppi Outbred
- Ibridi
- **GEMM (Genetically Engineered Mutant Mice)**
 - Spontanei
 - **Coisogenetici**
 - Targeted Mutation (Knock-out, Knock-in)
 - Transgenici
- Collaborative Cross (CC)

Ceppi Co - isogenici

Mutazioni bersaglio, indotte o spontanee in ceppi inbred



C57BL/6



C57BL/6-Tyr^c-Pas

Classificazione genetica dei roditori

- Ceppi Inbred
- Ceppi Outbred
- Ibridi
- **GEMM (Genetically Engineered Mutant Mice)**
 - Spontanei
 - Coisogenetici
 - **Targeted Mutation (Knock-out, Knock-in)**
 - Transgenici
- Collaborative Cross (CC)

Targeted Mutation

Ceppo
ricevente

Ceppo
donatore

B6;129P2-*Il2*^{tm1Hor}/J

Background Strain

Gene

Targeted mutation

Allele

Codice laboratorio

Targeted Mutation da misti a congenici

B6;129P2-*I2*^{tm1Hor}/J



Backcross per più di 5 generazioni

B6.129P2-*I2*^{tm1Hor}/J



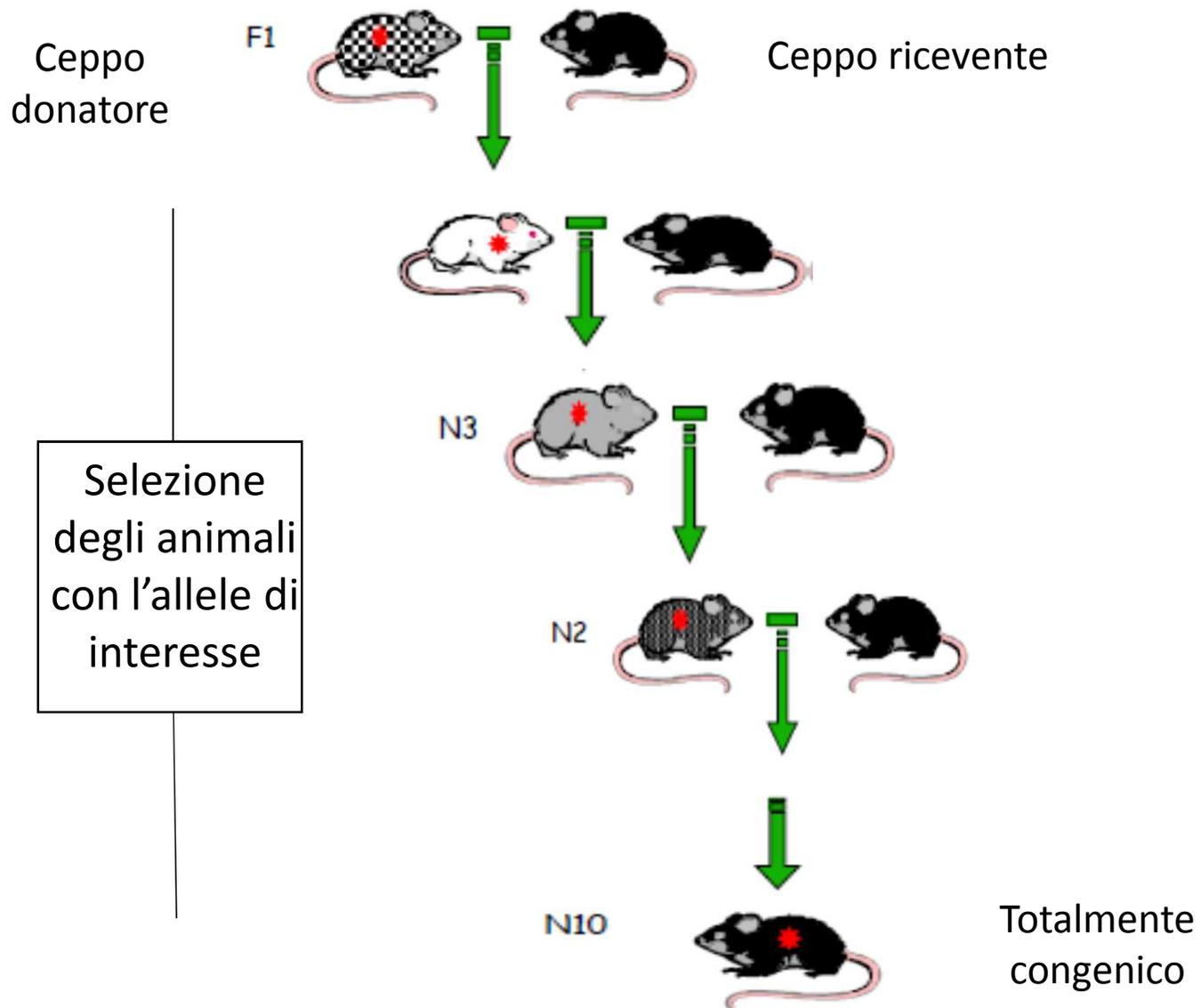
Ceppo congenico

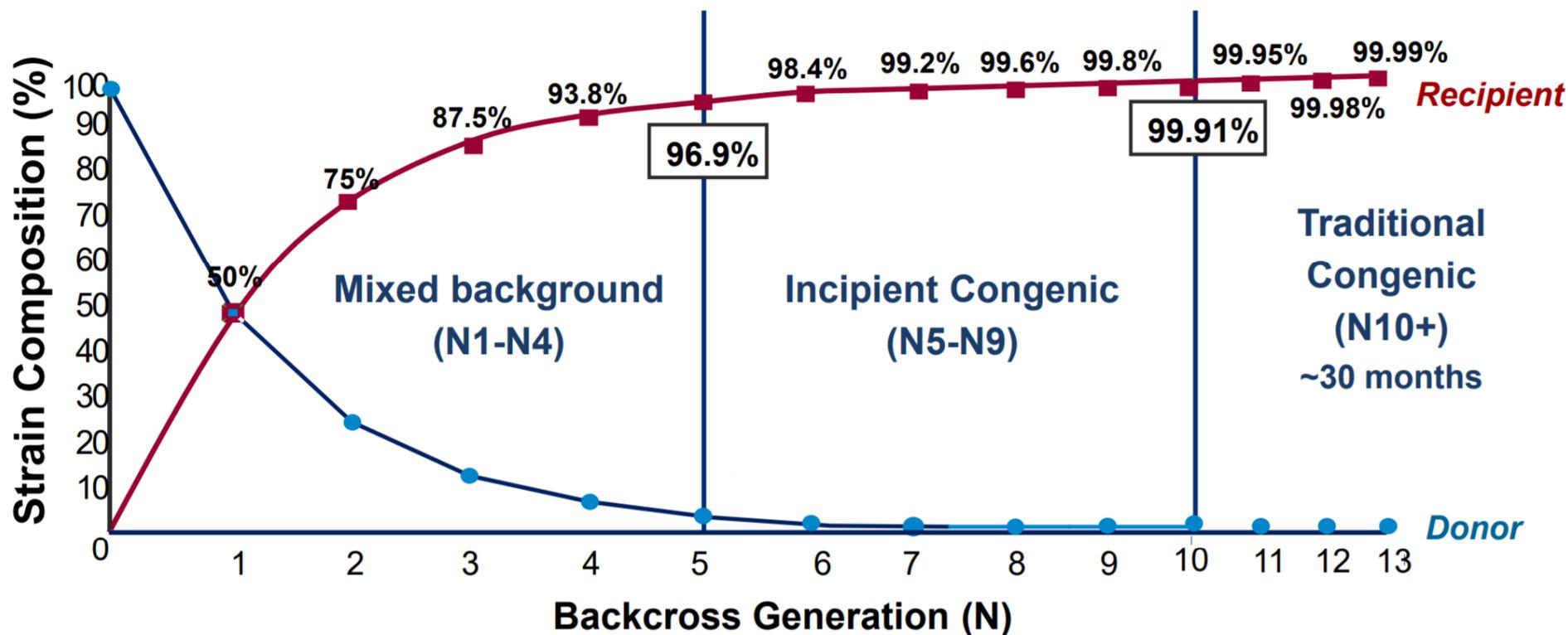
- ✓ Possiedono una regione genetica di un altro ceppo
- ✓ Derivati da "backcrossing" da un ceppo inbred parentale

Perché è importante? Ceppo di controllo?

L'uniformità genetica riduce la variabilità fenotipica

Il backcross per 10 generazioni dura circa due anni





B6;Cg-Gt(ROSA)26Sor^{tm9}(CAG-tdTomato)Hze/J (Stock # 007905)

B6.Cg-Gt(ROSA)26Sor^{tm9}(CAG-tdTomato)Hze/J (Stock # 007909)

Classificazione genetica dei roditori

- Ceppi Inbred
- Ceppi Outbred
- Ibridi
- **GEMM (Genetically Engineered Mutant Mice)**
 - Spontanei
 - Coisogenetici
 - Targeted Mutation (Knock-out, Knock-in)
 - **Transgenici**
- Collaborative Cross (CC)

Transgenics

C57BL/6-Tg(CAG-EGFP)¹Os^b/J

Background Strain

Trangenico

Promotore

Gene

Linea fondatrice

Codice laboratorio

Laboratorio di mantenimento

B6Brd;B6Dnk;B6N-Tyr^{c-Brd}Jph33^{tm1a(KOMP)}Wtsi/Mbp

Il ceppo misto è stato originato da: C57BL/6Brd-Tyr^{c-Brd},
C57BL/6Dnk, e C57BL/6N ed è mantenuto dal "Mouse
Biology program" UCD (Mbp)

Data Base

<http://www.jax.org/jax-mice-and-services/find-and-order-jax-mice>

Il database Mouse Genome Informatics (MGI) è una fonte affidabile di nomenclatura ufficiale per geni, alleli e ceppi di topo
(<http://www.informatics.jax.org/>)

Le regole del Comitato internazionale per la nomenclatura genetica standardizzata per topi
(<http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/gene.shtml>).

Aiuto a nominare i tuoi nuovi ceppi di topo

I 7 MIGLIORI CONSIGLI PER COMPRENDERE LA NOMENCLATURA DEL MOUSE: <https://www.jax.org/news-and-insights/jax-blog/2013/august/top-seven-tips-for-understanding-mouse-nomenclature>

Guida rapida: [https://jackson.jax.org/rs/444-BUH-304/images/Guide Mouse Nomenclature.pdf](https://jackson.jax.org/rs/444-BUH-304/images/Guide_Mouse_Nomenclature.pdf)

Classificazione genetica dei roditori

- Ceppi Inbred
- Ceppi Outbred
- Ibridi
- **GEMM (Genetically Engineered Mutant Mice)**
 - Spontanei
 - Coisogenetici
 - Targeted Mutation (Knock-out, Knock-in)
 - Transgenici
- Collaborative Cross (CC)

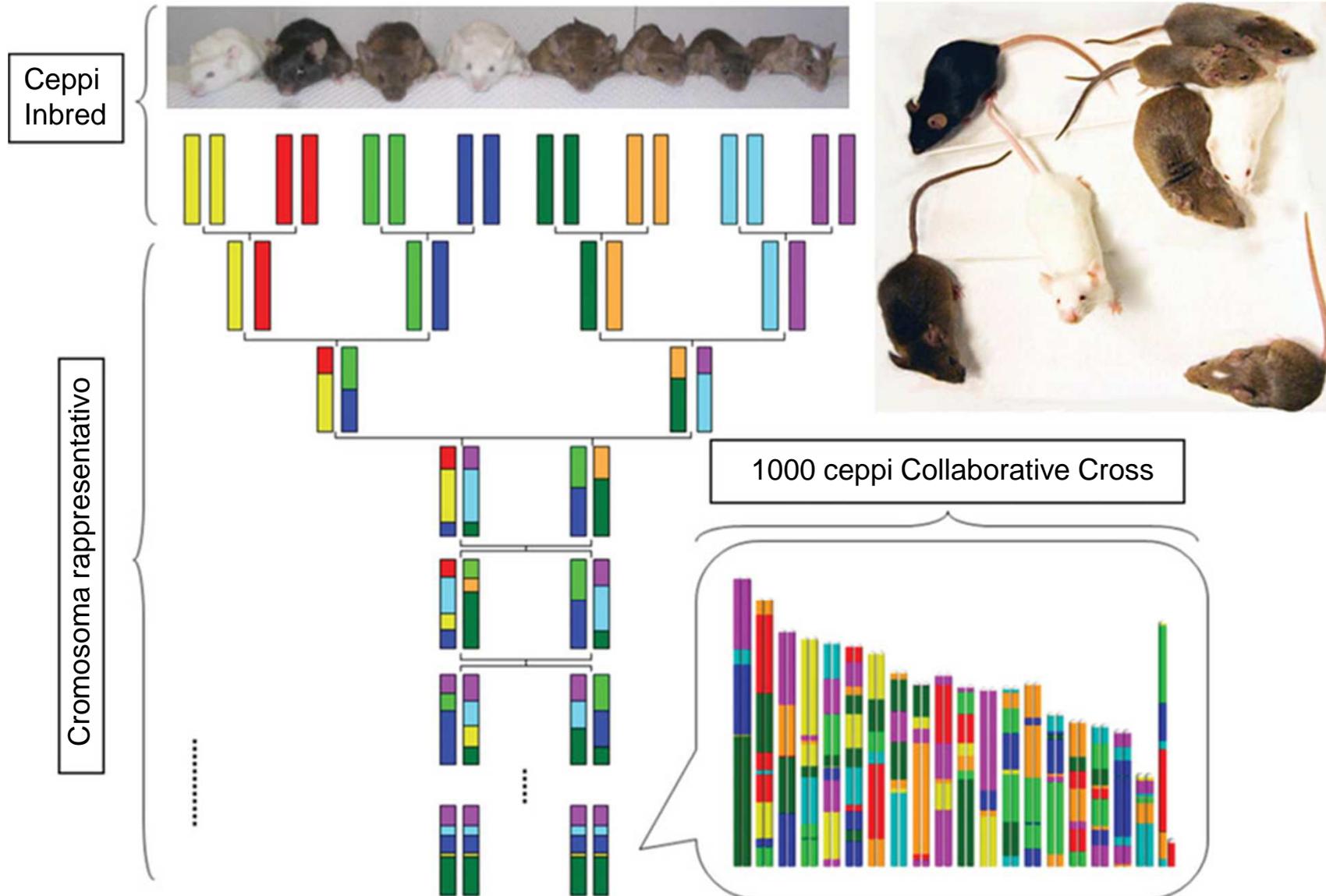
Collaborative Cross

In parte ideato e sviluppato dal professor JAX Gary Churchill, l'approccio Collaborative Cross consisterà in un migliaio di linee di topo ricombinanti inbred - prodotti da un allevamento a otto vie che coinvolge otto ceppi JAX[®] geneticamente diversi:

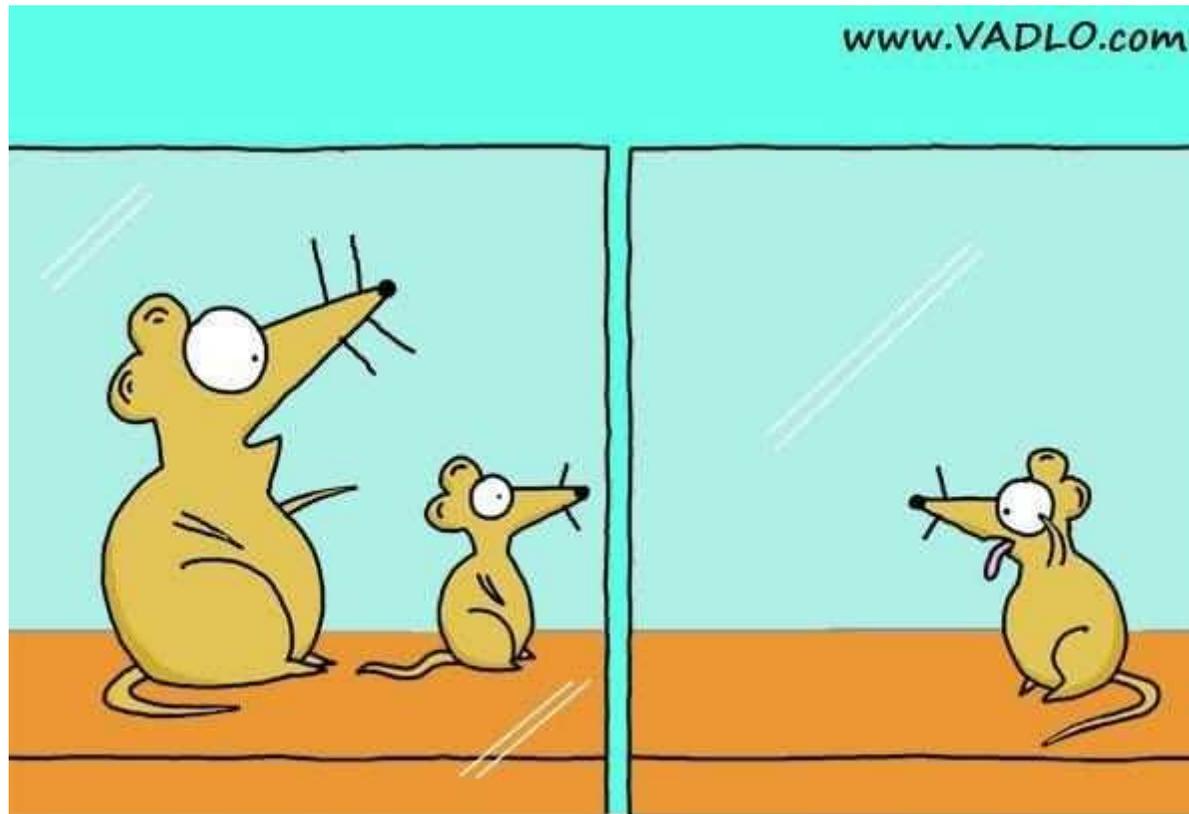
| | |
|-------------|-----------|
| A/J | NZO/HiLtJ |
| C57BL/6J | CAST/EiJ |
| 129S1/SvImJ | PWK/PhJ |
| NOD/ShiLtJ | WSB/EiJ |

I genomi autosomici di ciascuna linea avranno uguali contributi da ciascun ceppo fondatore per lo studio del Quantitative Trait Locus (QTL) ovvero il fenotipo attribuito ad effetti poligenetici che si trovano spesso su cromosomi diversi

Collaborative Cross



Grazie per l'attenzione!!



“Don't play with him, he is Wild Type.”