



RESEARCH MODELS

Cómo refrescar sus líneas de ratones mutantes o transgénicos

Autor:
Peter Kelmenson,
experto en información técnica,
The Jackson Laboratory

El mantenimiento de las colonias de ratones para investigación requiere mucha coordinación. Es necesario evaluar constantemente el rendimiento reproductor, ajustar el tamaño de las colonias para adaptarse a la producción necesaria, genotipar los ratones, y, además de todo esto, planificar y llevar a cabo los experimentos. Con todas estas tareas, es fácil que la deriva genética no se encuentre entre las preocupaciones prioritarias. No obstante, en líneas de ratones mutantes o transgénicos procedentes de colonias consanguíneas, la gestión de la deriva genética debe ser una prioridad.

¿Por qué hay que refrescar los modelos de ratones?

En cualquier colonia de ratones surgirán mutaciones espontáneas continuamente, y, de forma aleatoria,

algunas se transmitirán y se convertirán en homocigóticas en todos los ratones. Si alguna de estas mutaciones altera el fenotipo de la línea, surgirán problemas que pueden afectar a la investigación de forma importante. Las colonias de ratones más pequeñas se verán más afectadas por la deriva genética que las colonias grandes (Gráfico 1).

Existen múltiples ejemplos de cómo los cambios genéticos pueden llevar a cambios fenotípicos en modelos de ratones mutantes y transgénicos. El modo de minimizar el impacto de la deriva genética en líneas de ratones mutantes y transgénicos es refrescar el patrimonio genético de sus líneas cada 5-10 generaciones mediante retrocruzamiento con la línea consanguínea control.

Gráfico 1

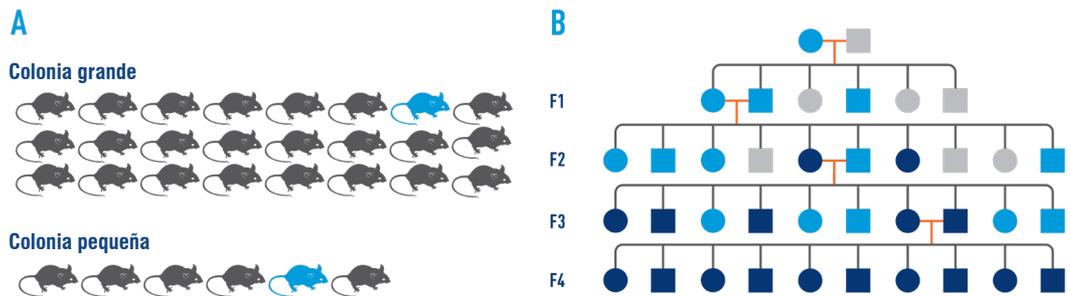


Gráfico 1. El riesgo de propagar una mutación espontánea es mayor en colonias pequeñas que en colonias grandes. A) La probabilidad de emplear un ratón con una mutación determinada (azul claro) como reproductor es mayor en las colonias pequeñas que en las colonias grandes. B) En cada ronda de cría existe una probabilidad del 25 % de que una nueva mutación se fije en la población. Por ejemplo, según las leyes de Mendel la generación F1 estará formada por un 50 % de individuos con fenotipo salvaje o *wildtype* (gris) y un 50 % de individuos heterocigóticos para dicha mutación (azul claro). Si por casualidad se usan dos individuos heterocigóticos como reproductores, la generación F2 estará compuesta de un 25 % de individuos *wildtype*, un 50 % de heterocigóticos y un 25 % de homocigóticos (azul oscuro). Esto puede continuar hasta que la mutación se fije y toda la colonia sea homocigótica para la mutación (F3, F4). No obstante, el genoma puede derivar en cualquier dirección en función de los genotipos de los ratones utilizados para la cría: la probabilidad de que la mutación se fije es igual que la probabilidad de que desaparezca en toda la colonia.

EVERY STEP OF THE WAY

8 pasos para refrescar el patrimonio genético de sus colonias (Gráfico 2)

A continuación se detallan los pasos para refrescar líneas de ratones mutantes y transgénicos. Para el ejemplo se usa la línea C57BL/6J, pero esto puede aplicarse a cualquier línea consanguínea.

1. Cruce hembras de su línea mutante o transgénica con machos de C57BL/6J.
2. La progenie macho que surja de ese cruce tendrá un cromosoma Y «refrescado».
3. Cruce los machos que contienen su mutación o transgén con hembras C57BL/6J.
4. La progenie macho de este segundo retrocruzamiento tendrá un cromosoma X, un cromosoma Y y un genoma mitocondrial «refrescados».
5. Cruce los machos surgidos del segundo retrocruzamiento que contengan su mutación o transgén con hembras C57BL/6J.
6. Cruce los machos y hembras surgidos de este retrocruzamiento entre sí, para obtener homocigotos (en caso de que los necesite).
7. Realice cría endogámica para mantener/expandir la colonia refrescada.
8. Vaya introduciendo gradualmente ratones refrescados en la colonia existente a medida que retira reproductores más antiguos (véase el Gráfico 2).

Si en su colonia solo se ha hecho cría endogámica durante cinco generaciones desde que se creó/se obtuvo originariamente la línea, dos retrocruzamientos deberían ser suficientes (y puede saltarse el paso nº 5), pero si en su colonia hay 10 o más generaciones de cría endogámica, entonces lo mejor es realizar tres retrocruzamientos. Al refrescar el patrimonio genético de sus líneas de forma regular, las mantendrá tan similares a su línea control como sea posible, asegurando así la reproducibilidad y la validez de sus estudios.

La deriva genética es inevitable y afectará al fenotipo de toda colonia de ratones vivos si no se realiza el mantenimiento adecuado. Aunque no puede eliminarse completamente, la deriva genética puede minimizarse. The Jackson Laboratory ha puesto en marcha un Programa de Estabilidad Genética (*Genetic Stability Program*, GSP) para limitar la deriva genética acumulativa en sus líneas de ratones más utilizadas, como C57BL/6J, gracias a la reconstrucción de los *stocks* originales a partir de embriones con pedigrí criopreservados cada cinco generaciones. Si las líneas que está usted refrescando son líneas del GSP, su animal será igual de similar genéticamente hoy que dentro de 5 o 10 años.

Ratones JAX™ criados por Charles River en Europa y en Japón

The Jackson Laboratory y Charles River tienen un acuerdo cooperativo para proporcionar suministros locales de ratones JAX™ a investigadores biomédicos de Europa, Japón, Korea y Taiwán. Gracias al cumplimiento riguroso de los protocolos de cría y de las directrices de control de calidad de The Jackson Laboratory, Charles River cría ratones JAX™ en Europa y en Japón con una calidad genética equivalente a los de The Jackson Laboratory. Para más información, consulte www.criver.com/jaxmice.

Charles River es el criador y distribuidor oficial exclusivo y autorizado de líneas de ratones JAX™ en los siguientes países: Albania, Austria, Bélgica, Bosnia-Herzegovina, Bulgaria, Croacia, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Grecia, Alemania, Hungría, Irlanda, Italia, Luxemburgo, Macedonia, Montenegro, Países Bajos, Noruega, Polonia, Portugal, Serbia, Eslovenia, España, Suecia, Suiza, Reino Unido.

Gráfico 2

