

Δημιουργία Διαγονιδιακών Ζώων

Μαραζιώτη Αντωνία

Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας

Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου





Περιεχόμενα

- ◆ Ορισμός και χρησιμότητα διαγωνιστικών ζώων
- ◆ Δημιουργία διαγωνιστικών ζώων
- ◆ Ονοματολογία διαγωνιστικών ζώων

Ορισμός Διαγονιδιακών Ζώων

♦ Διαγονιδιακά ζώα

- Οργανισμός που το γονιδίωμα του
 - έχει τροποποιηθεί με την εισαγωγή «ξένου DNA»
 - Το ξένο γενετικό υλικό μεταβιβάζεται στη συνέχεια στους απογόνους



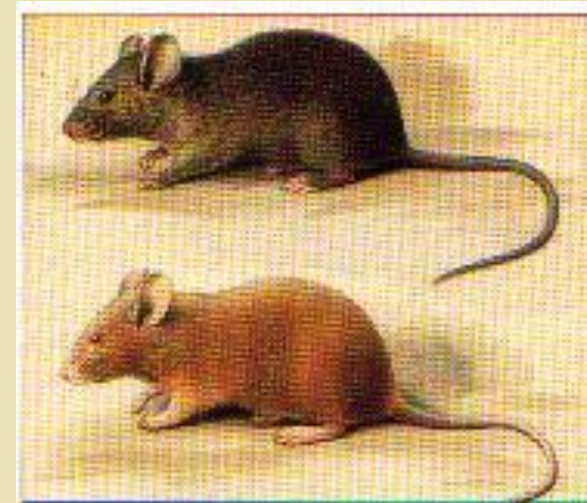
- Έκφραση ενός εξωγενούς γονιδίου
- Υπερέκφραση ενός ενδογενούς γονιδίου

Χρησιμότητα Διαγονιδιακών Ζώων

♦ Διαγονιδιακοί μύες

– Χρησιμοποιούνται ως ζωικά πρότυπα για τη μελέτη:

- Της ρύθμισης γονιδίων που σχετίζονται με την ανάπτυξη των ιστών
- Της λειτουργίας συγκεκριμένων γονιδίων που σχετίζονται με την ανάπτυξη διαφόρων ασθενειών
- Της ρύθμισης ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων
- Της επίδρασης χημικών και βιολογικών ουσιών στη θεραπεία νόσων



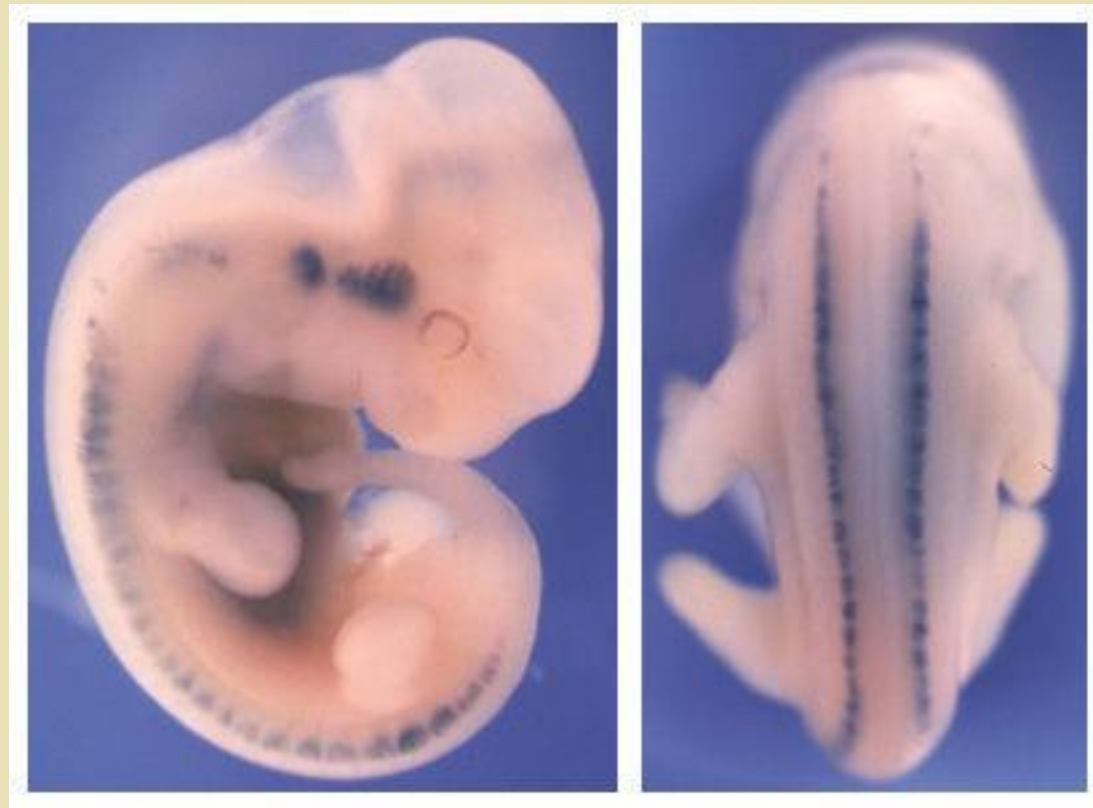


Χρησιμότητα Διαγονιδιακών Ζώων

- ♦ Μελέτη της επίδρασης της υπερέκφρασης ενδογενών ή ξένων γονιδίων σε συγκεκριμένο χρόνο και σημείο στον οργανισμό
- ♦ Χαρακτηρισμός της ικανότητας ενός υποκινητή να κατευθύνει ιστοειδική έκφραση ενός γονιδίου
 - Π.χ. ένας υποκινητής μπορεί να συνδεθεί με ένα γονίδιο αναφοράς όπως το GFP

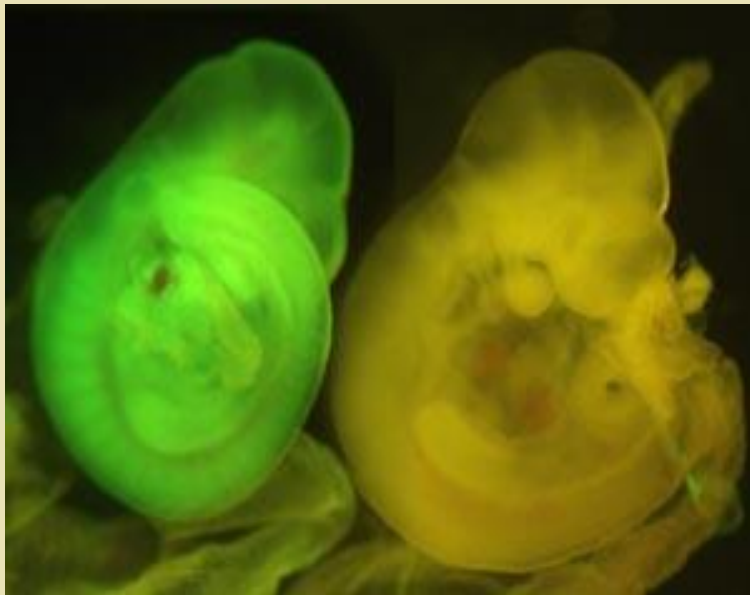
Brinster's growth hormone mouse



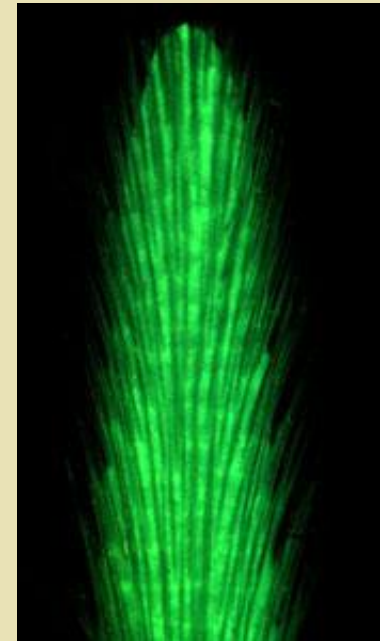


Διαγονιδιακά έμβρυα ποντικού όπου ο υποκινητής για ένα γονίδιο που εκφράζεται στα νευρικά προγονικά κύτταρα οδηγεί την έκφραση του γονιδίου αναφοράς της β-γαλακτοσιδάσης. Οι νευρωνικές δομές που εκφράζουν το γονίδιο αναφοράς φαίνονται με μπλε σκούρο χρώμα.

GFP διαγονιδιακά ποντίκια



9.5 day embryos -
GFP and wt



Tail tip



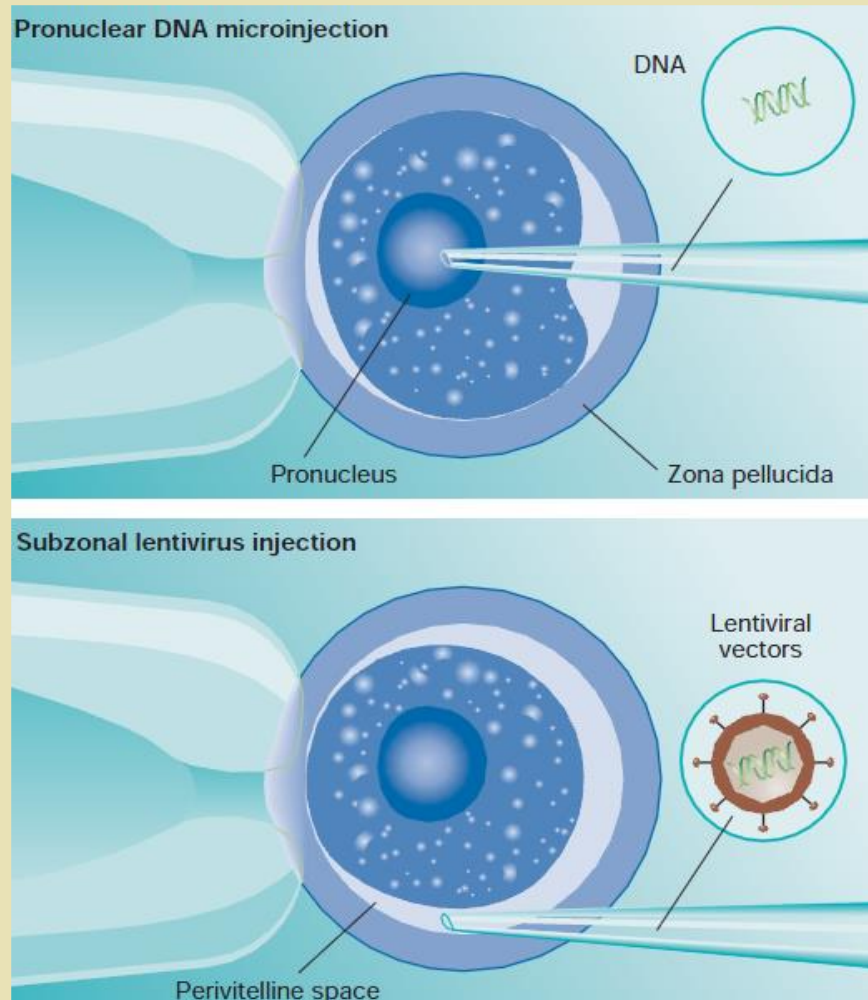
Διαδικασία Δημιουργίας Διαγωνιδιακών Ζώων

- Δύσκολη και Πολύπλοκη
- Χρονοβόρα και με υψηλό κόστος

♦ 2 ΜΕΘΟΔΟΙ

- Μικροένεση σε προπυρήνα ωαρίου
- Ιικοί φορείς για την μεταφορά των επιθυμητών γονιδίων

Μέθοδοι Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων





Διαδικασία Δημιουργίας Διαγωνιδιακών Ζώων

♦ Τα Βήματα:

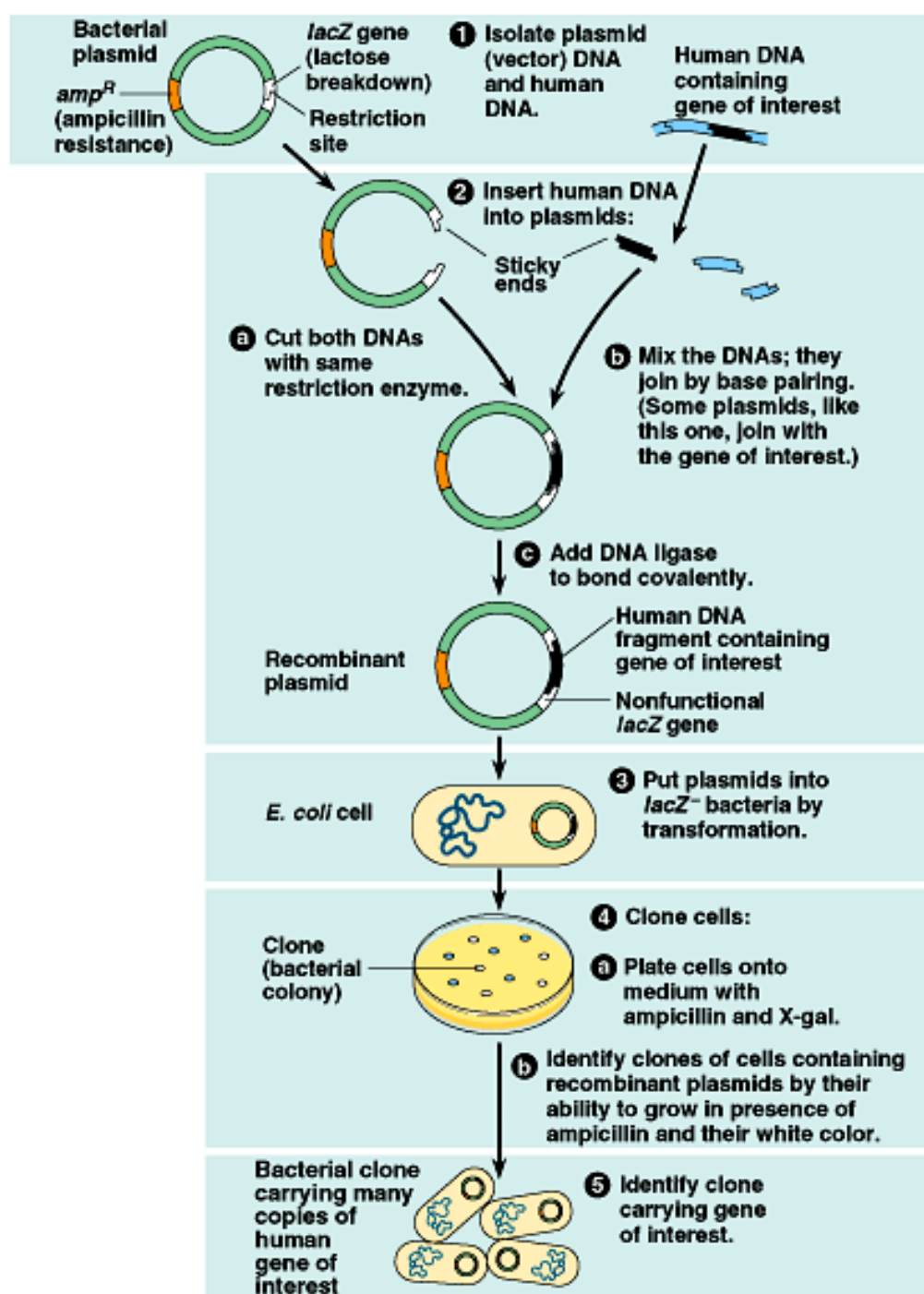
- Προετοιμασία του διαγωνιδίου που θα ενεθεί στον προπυρήνα του γονιμοποιημένου ωαρίου
- Προετοιμασία των ποντικών
- Προετοιμασία των υλικών και των εργαλείων
- Προετοιμασία του συστήματος ανίχνευσης



Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

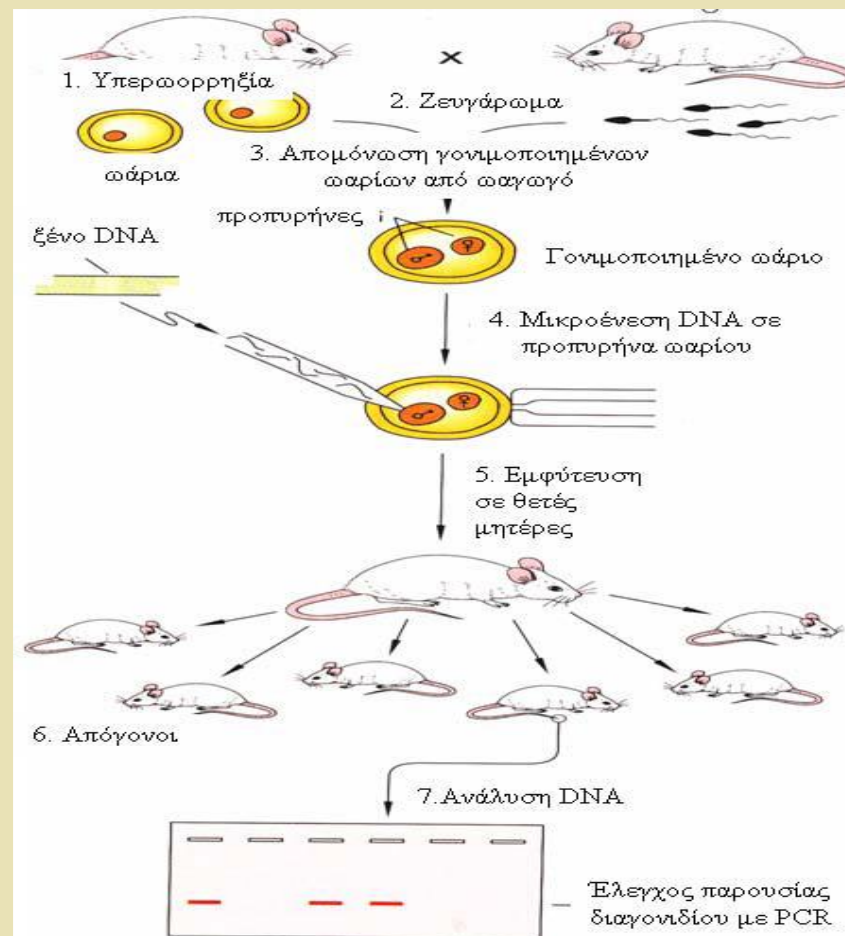
♦ Προετοιμασία του διαγονιδίου που θα ενεθεί στον προπυρήνα του γονιμοποιημένου ωαρίου

- Το μήκος του DNA που θα εισαχθεί δεν είναι περιορισμένο
 - Το ιδανικό μήκος είναι 2-20 Kb
- Ενίσχυση του DNA κομματιού με τη χρήση της PCR
- Κλωνοποίηση σε πλασμίδιο, μεταφορά σε βακτήρια
- Προσεκτικός καθαρισμός του DNA κομματιού
(όχι υπολλείμματα αιθανόλης, φαινόλης, διαφόρων ενζύμων κλπ)
- Μορφή του DNA
Γραμμικά μόρια ενσωματώνονται πιο αποτελεσματικά από κυκλικά μόρια (~ 5x)
- Συγκέντρωση του DNA
 - Πολύ υψηλή συγκέντρωση γίνεται τοξική για το ζυγωτό
 - Συγκέντρωση DNA : 1-3 $\mu\text{g/ml}$



Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

◆ Προετοιμασία ποντικού





Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

♦ Προετοιμασία ποντικού

- Θηλυκό ποντίκι με υπερδιέγερση ωοθηκών για απομόνωση γονιμοποιημένων ωαρίων
 - Η ανάπτυξη των ωοθυλακίων διεγείρεται με χορήγηση ορού γοναδοτροπίνης
 - Η ωορηξία διεγείρεται με τη χορήγηση χοριακής γοναδοτροπίνης
 - Ηλικία : 4-8 εβδομάδων
 - Ζευγάρωμα με γόνιμο αρσενικό ποντίκι

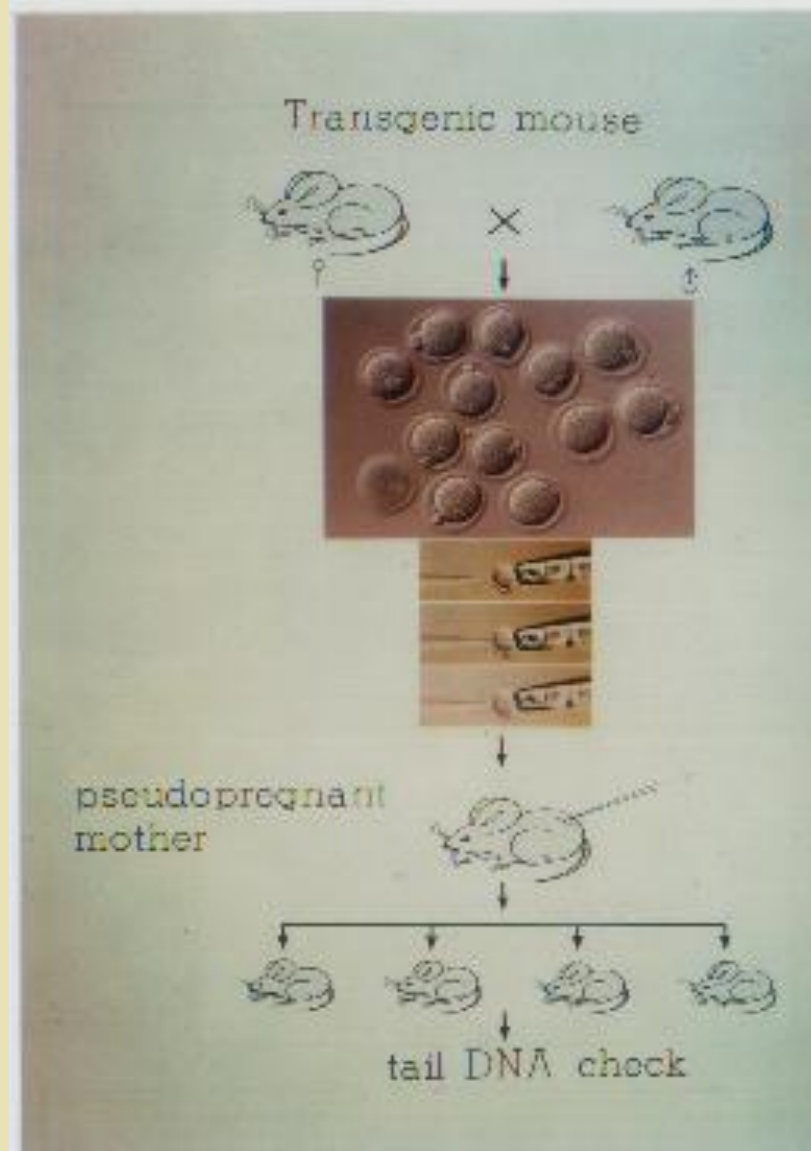
Διαδικασία Δημιουργίας Διαγωνιδιακών Ζώων

♦ Προετοιμασία ποντικού

– Γόνιμο αρσενικό ποντίκι

- Ζευγάρωμα με το υπερδιεγερμένο θηλυκό ποντίκι
- Ηλικία: 6-8 εβδομάδων
- Καλή απόδοση αναπαραγωγής

Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων



Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

☀ Απομόνωση και συλλογή γονιμοποιημένων ωαρίων

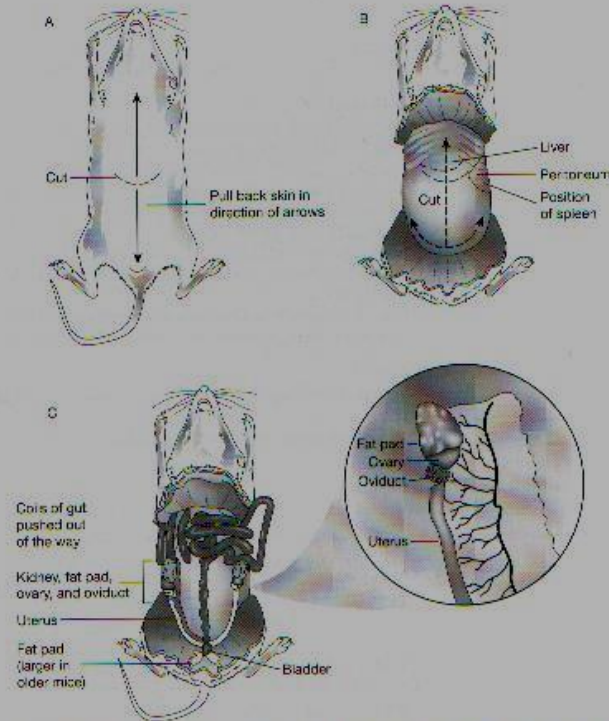


FIGURE 4.4. Dissection of reproductive organs of a female mouse. (A) The position of the small lateral incision in the skin is indicated by the dashed line. The skin is then pulled back in the direction of the solid arrows. (B) The body wall (peritoneum) is cut in the direction of the dashed arrows. (C) The alimentary tract displaced to reveal reproductive organs in the floor of the body cavity.

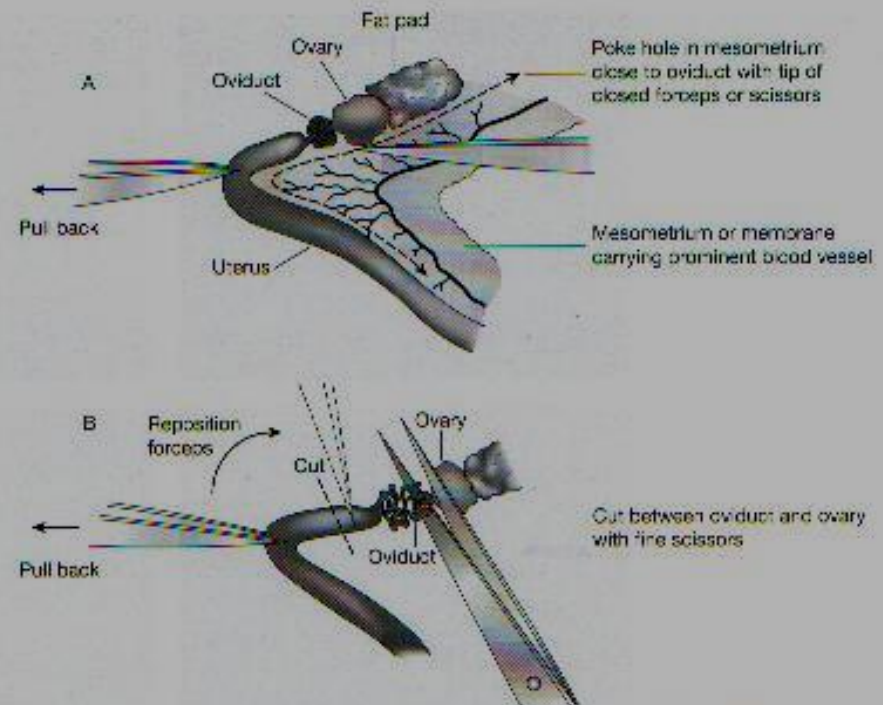
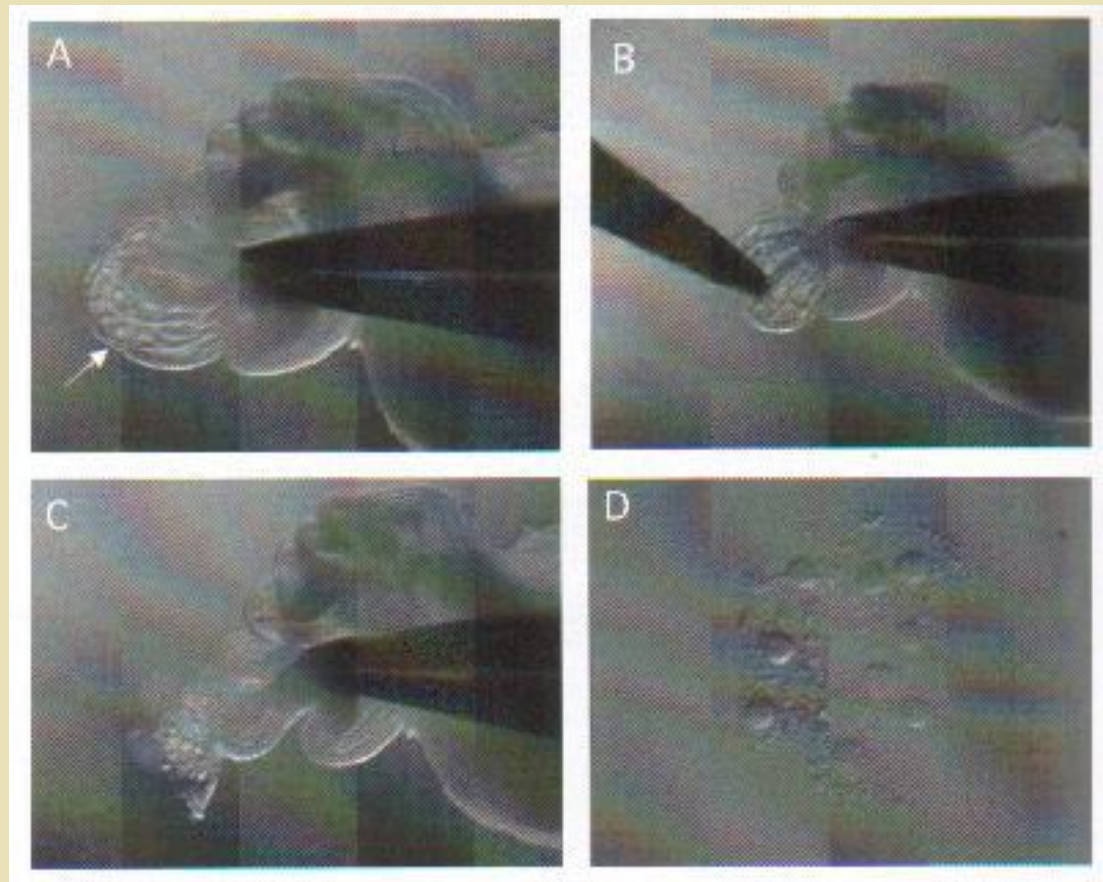


FIGURE 4.5. Dissection of the oviduct. (A) The ovary, oviduct, and end of the uterus are separated from the mesometrium with the closed tips of a pair of fine forceps. (B) A cut is made between the oviduct and the ovary. After repositioning the forceps, a second cut separates the oviduct from the uterus.

Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

- ☀ Απομόνωση και συλλογή γονιμοποιημένων ωαρίων



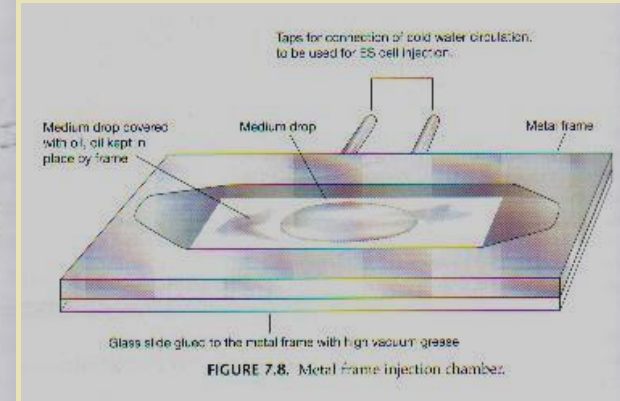
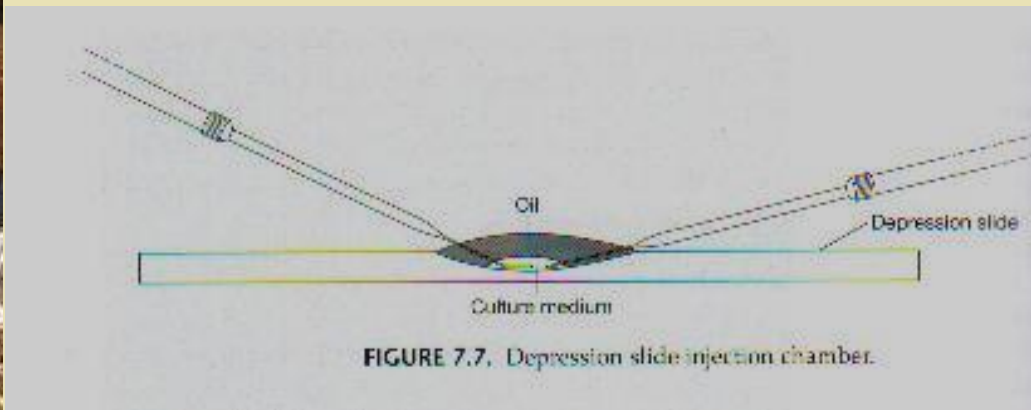
Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

- ☀ Απομόνωση και συλλογή γονιμοποιημένων ωαρίων



Ένεση των Γονιμοποιημένων Ωαρίων

- ♦ Τα γονιμοποιημένα ωάρια συλλέγονται την 0.5 εμβρυϊκή μέρα



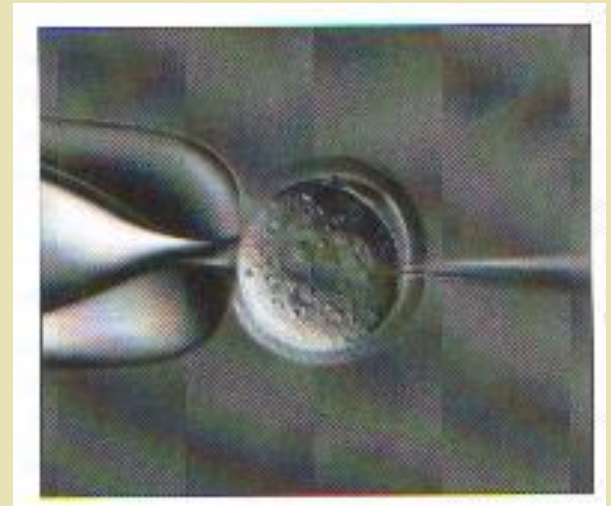
Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

- ♦ Μικροένεση του διαγονιδίου στο προπυρήνα του γονιμοποιημένου ωαρίου



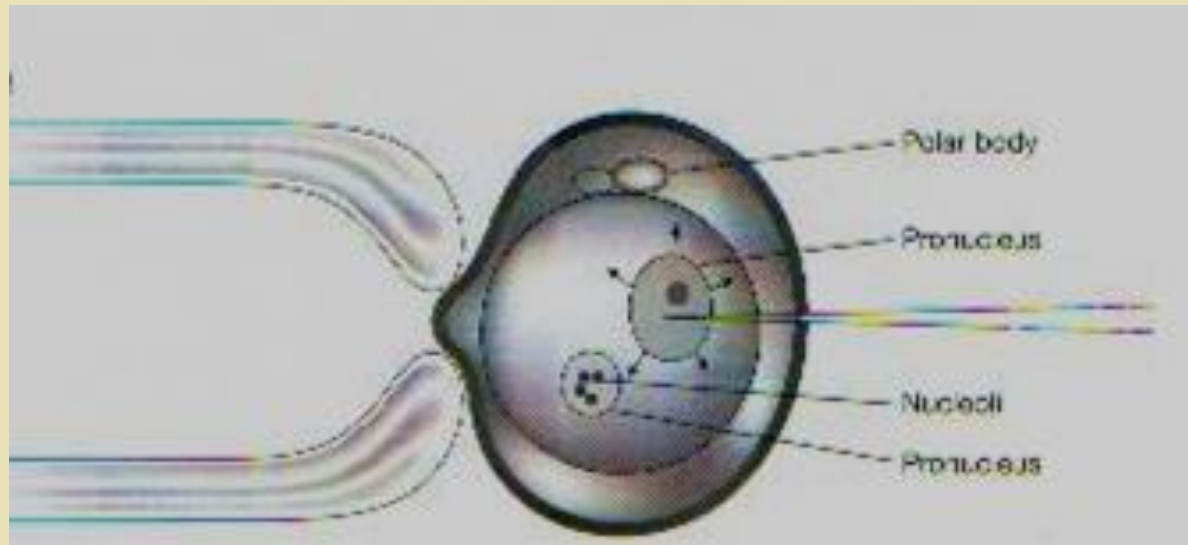
Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

- ♦ Μικροένεση του διαγονιδίου στο προπυρήνα του γονιμοποιημένου ωαρίου



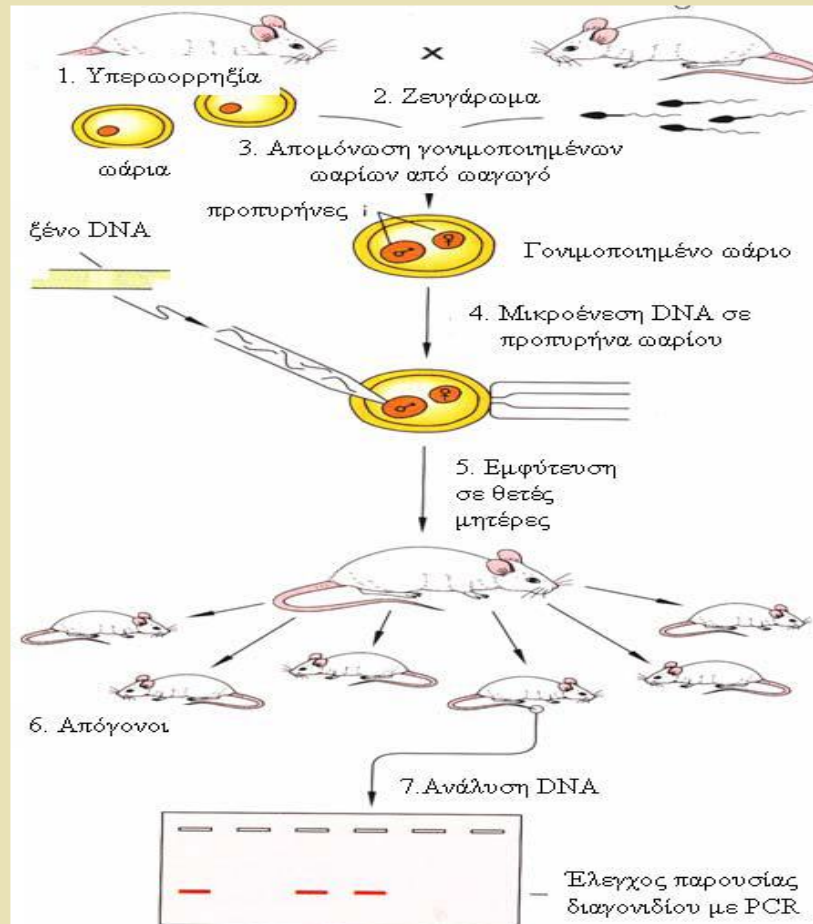
Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

- ♦ Το DNA συνήθως ενίεται στον **αρσενικό προπυρήνα**



Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

◆ Προετοιμασία ποντικού





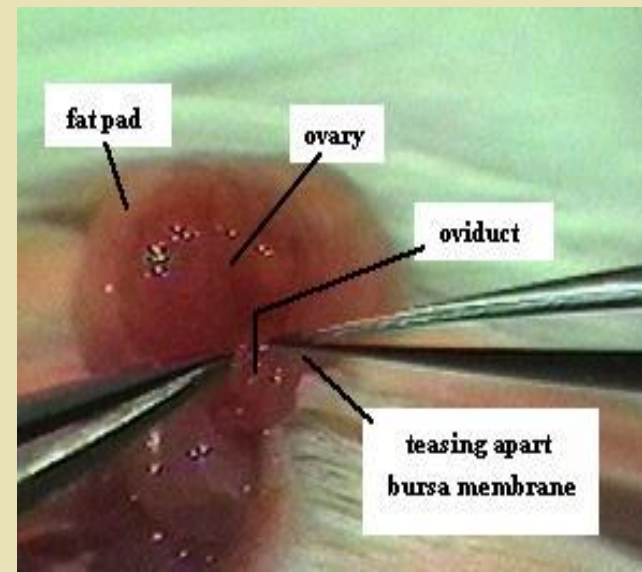
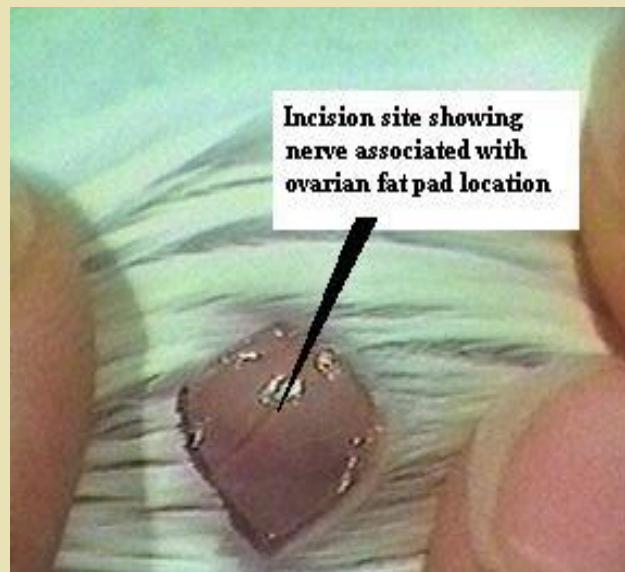
Διαδικασία Δημιουργίας Διαγωνιδιακών Ζώων

♦ Προετοιμασία ποντικού

- Ψευδοέγκυο θηλυκό ποντίκι
 - Ηλικία :6-8 εβδομάδων
 - Ζευγάρωμα με στείρο αρσενικό ποντίκι ή χορήγηση προγεστερόνης
 - Παρατήρηση ζελατινώδους υγρού στο θηλυκό ποντίκι
 - Δέχεται τα γονιμοποιημένα ωάρια με τα διαγονίδια
- Στείρο αρσενικό ποντίκι
 - Έχει υποστεί εκτομή σπερματικού πόρου
 - Ζευγάρωμα με το θηλυκό ποντίκι
 - Ηλικία: μεγαλύτερο από 8 εβδομάδες

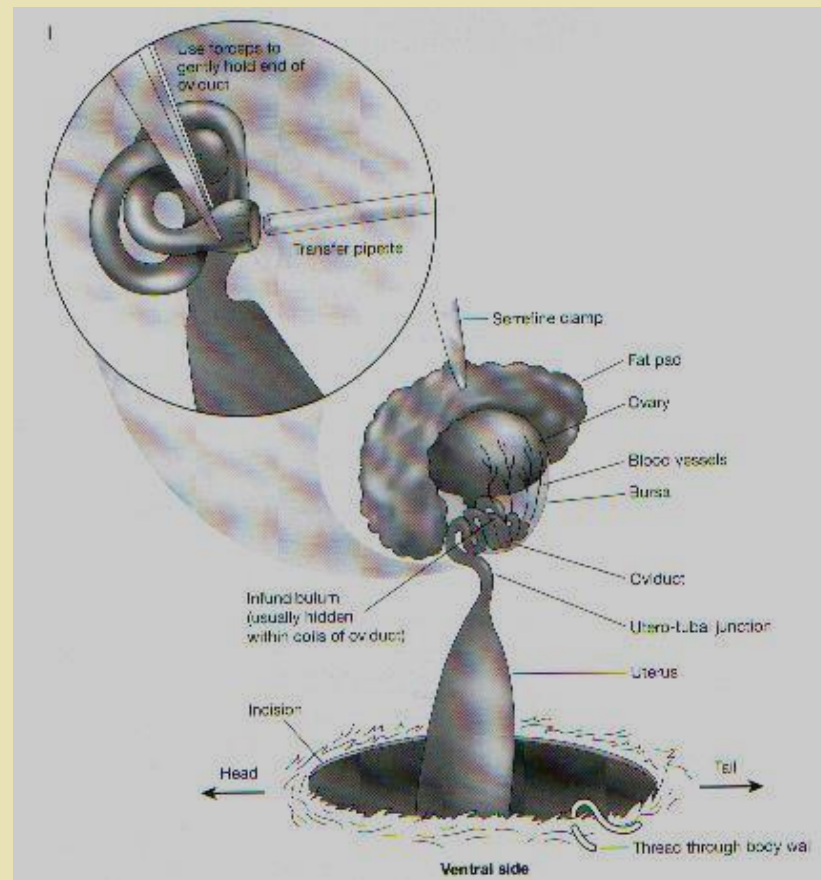
Εμφύτευση γονιμοποιημένου ωαρίου

- ◆ Τα γονιμοποιημένα ωάρια μεταφέρονται την ίδια μέρα ή την επόμενη (στάδιο 2-κυττάρων) στη σάλπιγγα ενός ψευδοέγκυου θηλυκού ποντικιού



Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

- ◆ Μεταφορά των γονιμοποιημένων ωαρίων που περιέχουν το διαγονίδιο στη σάλπιγγα ψευδοέγκυου θηλυκού ποντικού



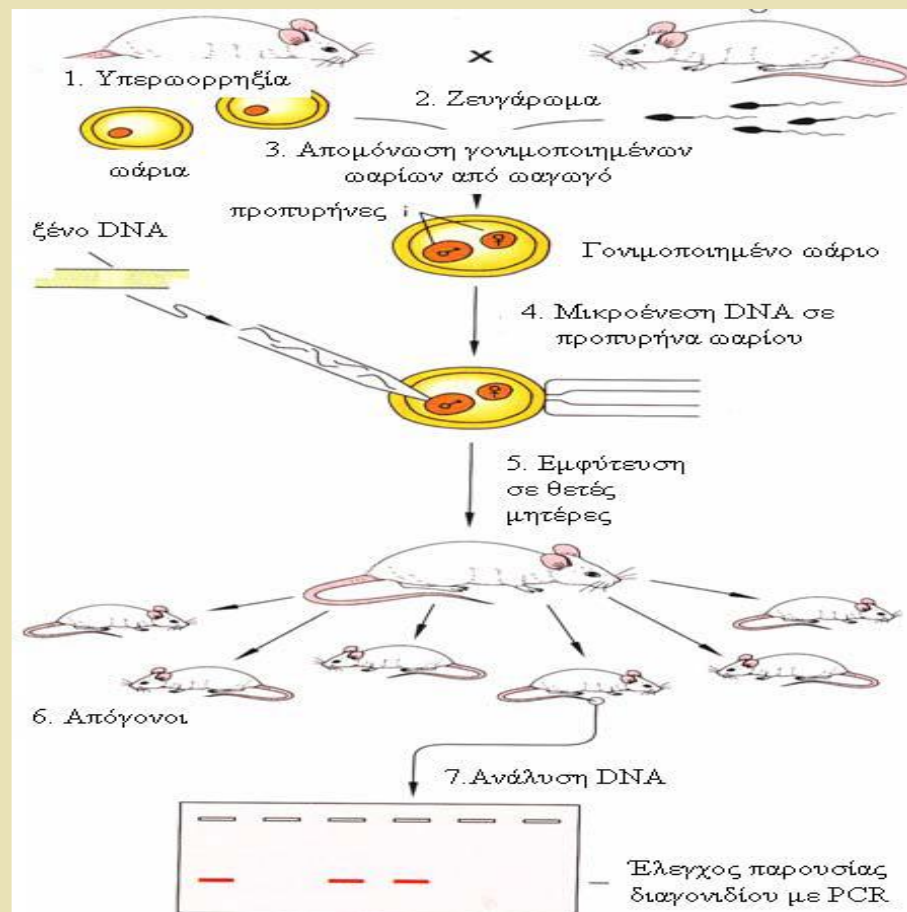
Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

- ◆ Διατήρηση των “υποψήφιων” διαγονιδιακών ποντικών



Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

- ♦ Ανίχνευση του διαγονιδίου στους απογόνους



Διαδικασία Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

♦ Προετοιμασία υλικών και εργαλείων

- Σύριγγες
- Ορός γοναδοτροπίνης (PMSG)
- Ανθρώπινη Χοριακή Γοναδοτροπίνη (HCG)
- Επωαστικός θάλαμος (37°C, υγρασία 95% και 5% CO₂)
- Χειρουργικό σετ εργαλείων
- 70% Αιθανόλη
- Στερεομικροσκόπιο με μικροχειριστή
- 35 mm petri dish
- Γυάλινες πιπέτες για την μικροένεση
- Συσκευή ανίχνευσης διαγονιδίου (PCR, Southern blot)





<https://www.cyagen.com/us/en/community/technical-bulletin/transgenic-mice-generation.html>

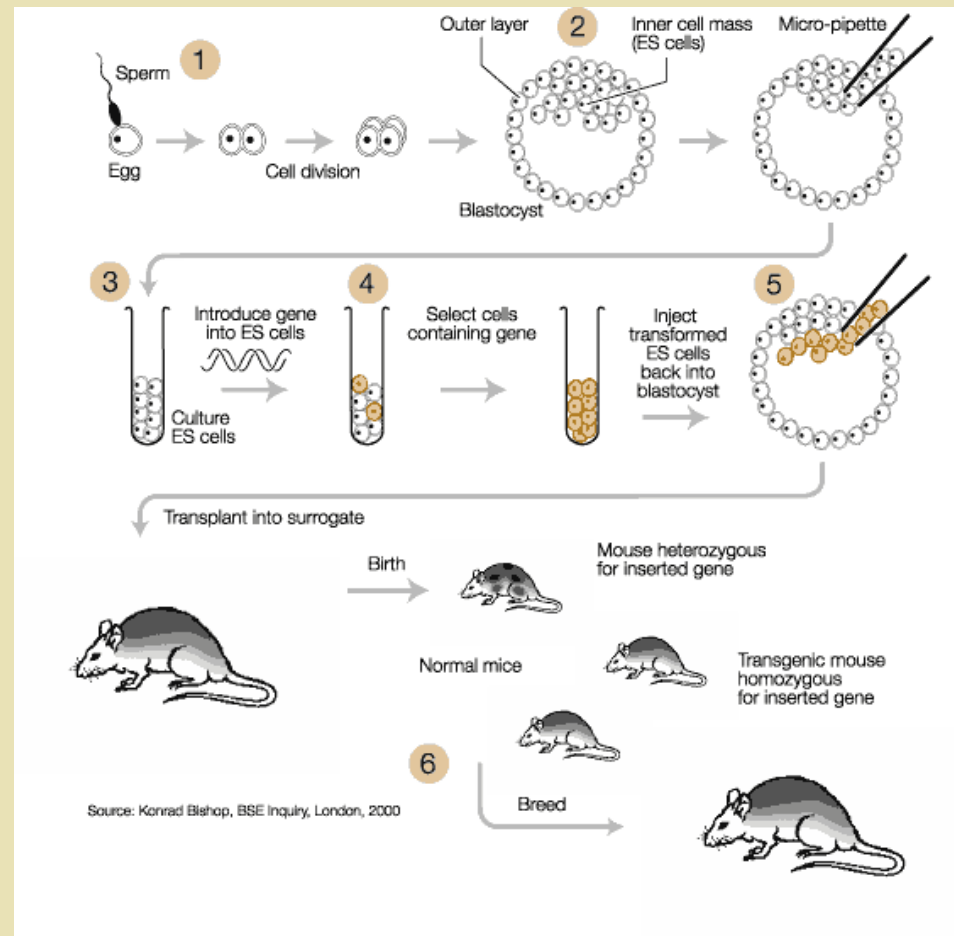


Διαγονιδιακά Ζώα

- ◆ **Knockouts:** Μια ειδική κατηγορία διαγονιδιακών ζώων
 - Ποντίκια όπου έχουν αντικατάσταση του φυσιολογικού γονιδίου με μεταλλαγμένο ή απενεργοποίηση τμήματος ή όλου του γονιδίου
 - Το τροποποιημένο DNA τοποθετείται σε εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα, όπου ανασυνδυάζεται με το υπάρχον γονίδιο στο χρωμόσωμα
 - **Ομόλογος ανασυνδυασμός**
 - Τα τροποποιημένα ES κύτταρα εισάγονται στο φυσιολογικό έμβρυο και το έμβρυο εμφυτεύεται στη μητέρα

Μέθοδοι Δημιουργίας Διαγονιδιακών Ζώων

Διαμόλυνση εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων και ένεσή τους στη βλαστοκύστη





Διαγωνιδιακά Ζώα

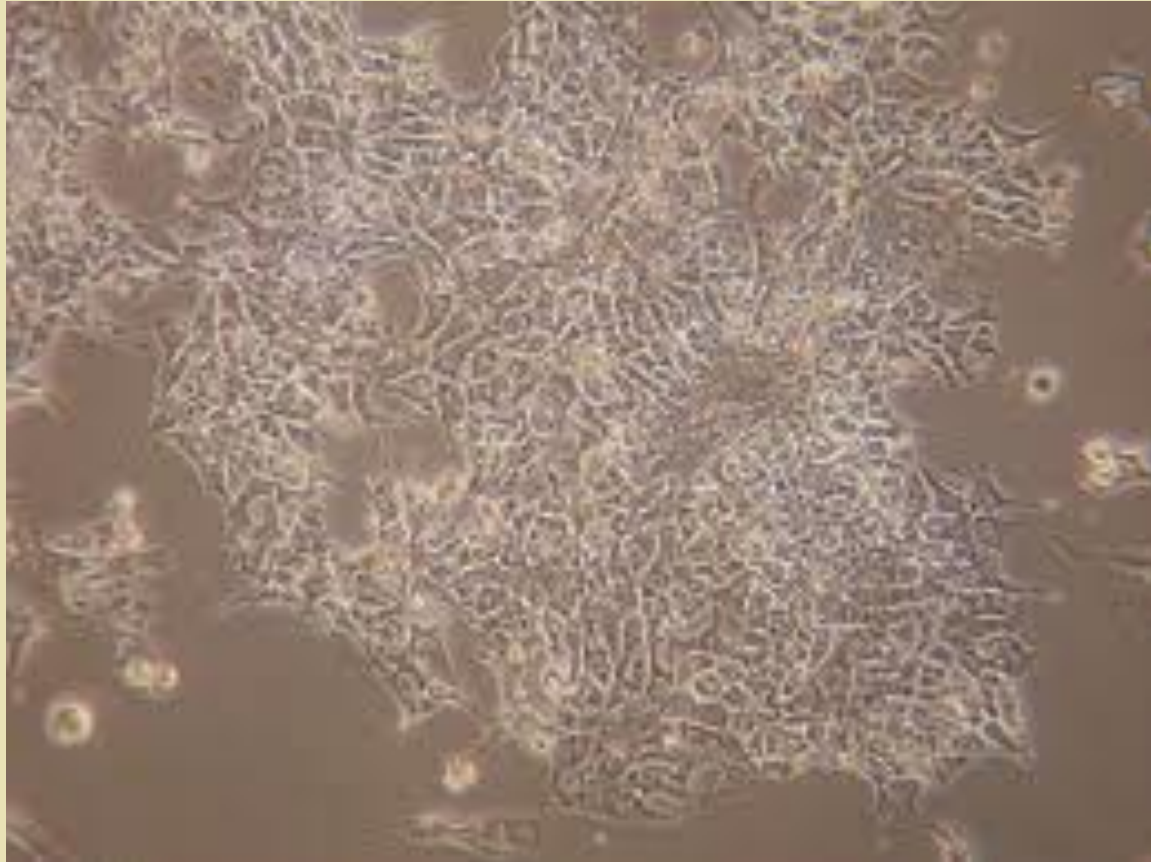
- ◆ **Knockouts:** Μια ειδική κατηγορία διαγωνιδιακών ζώων
 - Ο απόγονος είναι **χίμαιρα** – κάποια κύτταρα είναι φυσιολογικά και κάποια είναι knockouts
 - Χρειάζονται 2 γενιές αναπαραγωγής για την παραγωγή ενός ολοκληρωμένου knockout



Εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα

- ◆ Απομονώνονται από την εσωτερική κυτταρική μάζα στο στάδιο της βλαστοκύστης
- ◆ Αναπτύσσονται σε καλλιέργεια και διατηρούν πλήρως της ικανότητά τους να παράγουν όλα τα κύτταρα του ώριμου ζώου, περιλαμβάνοντας τους γαμέτες

ΕΣ κύτταρα σε καλλιέργεια

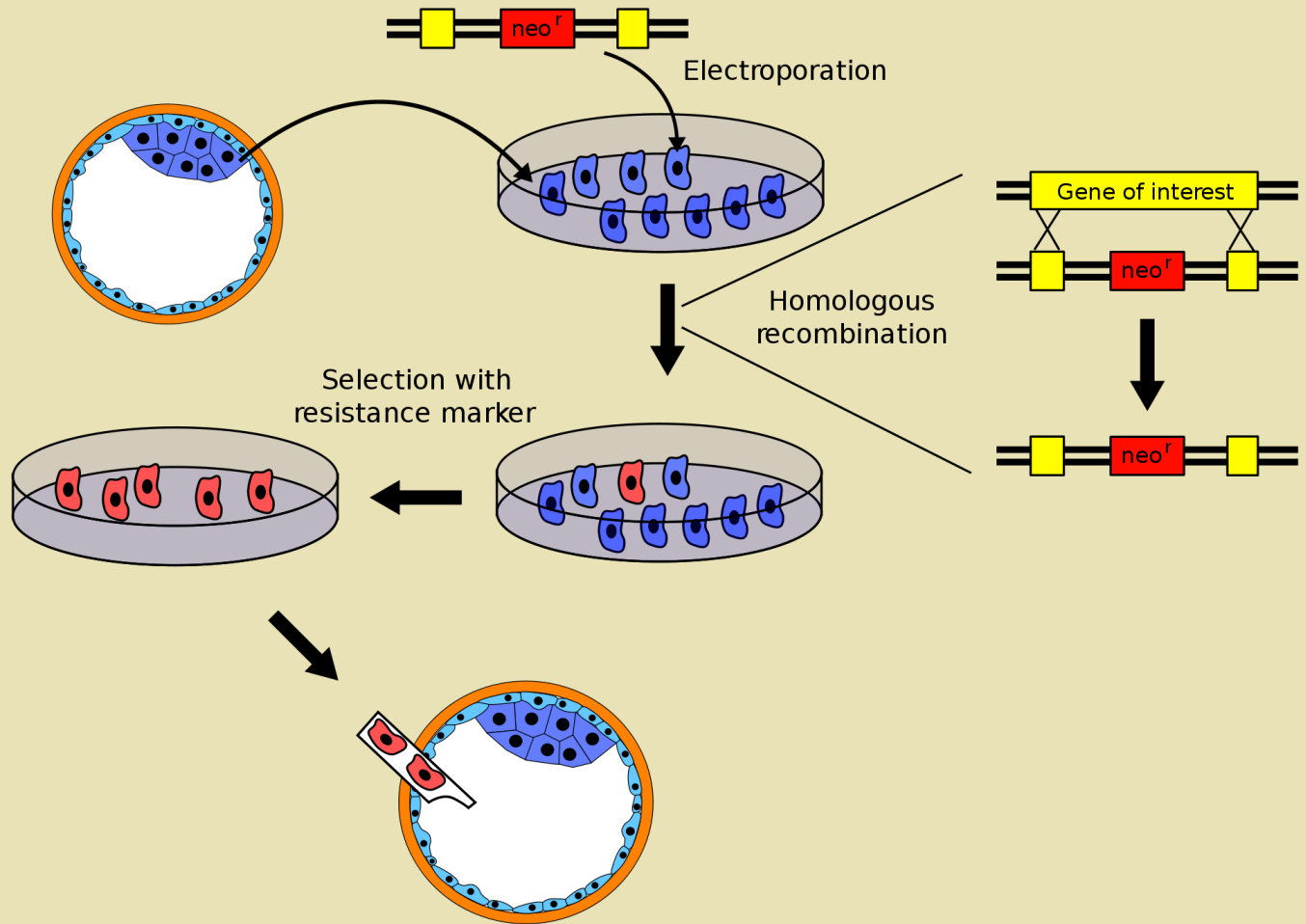




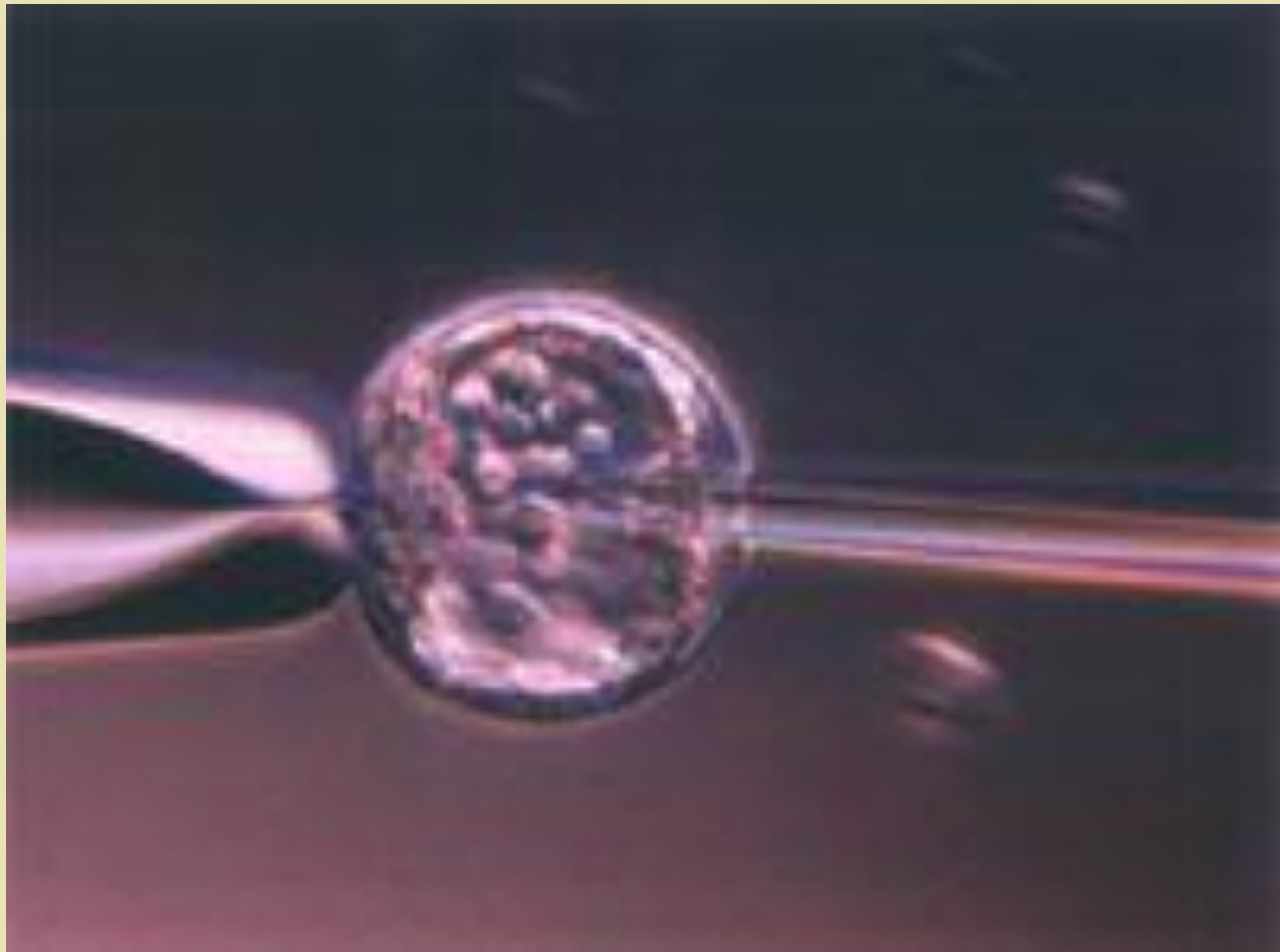
Μετασχηματισμός των ES κυττάρων

- ◆ Εισαγωγή του πλασμιδίου στα ES κύτταρα με τη μέθοδο του ηλεκτροπαλμού
- ◆ Πλασμίδιο στο διάλυμα κινείται προς το εσωτερικό των ES κυττάρων
- ◆ Τα κύτταρα που επιβιώνουν μετά από επίδραση συγκεκριμένου αντιβιοτικού έχουν ενσωματώσει το τροποποιημένο γονίδιο

Διαγονιδιακά Ζώα



Μικροένεση των μετασχηματισμένων ES κυττάρων στις βλαστοκύστες

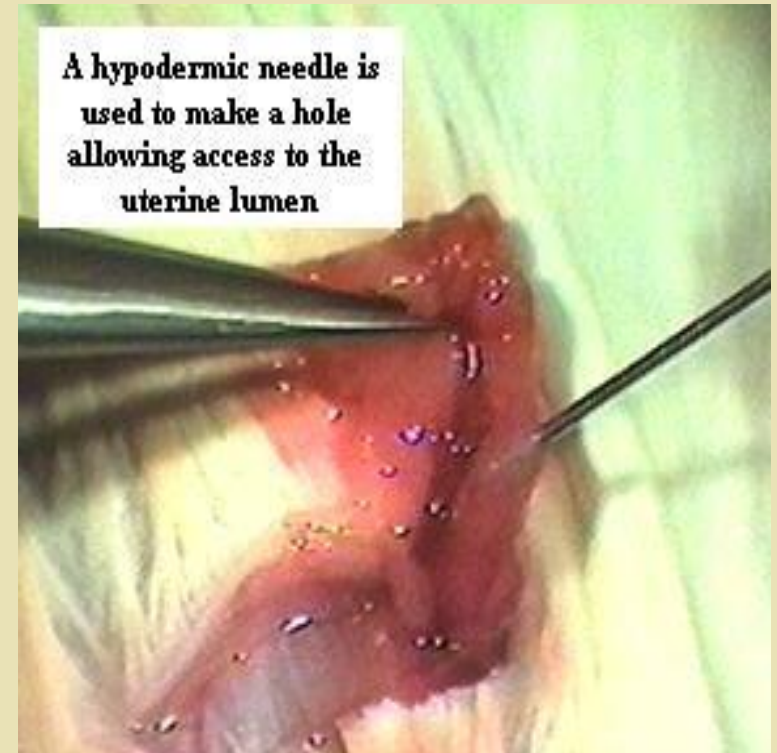
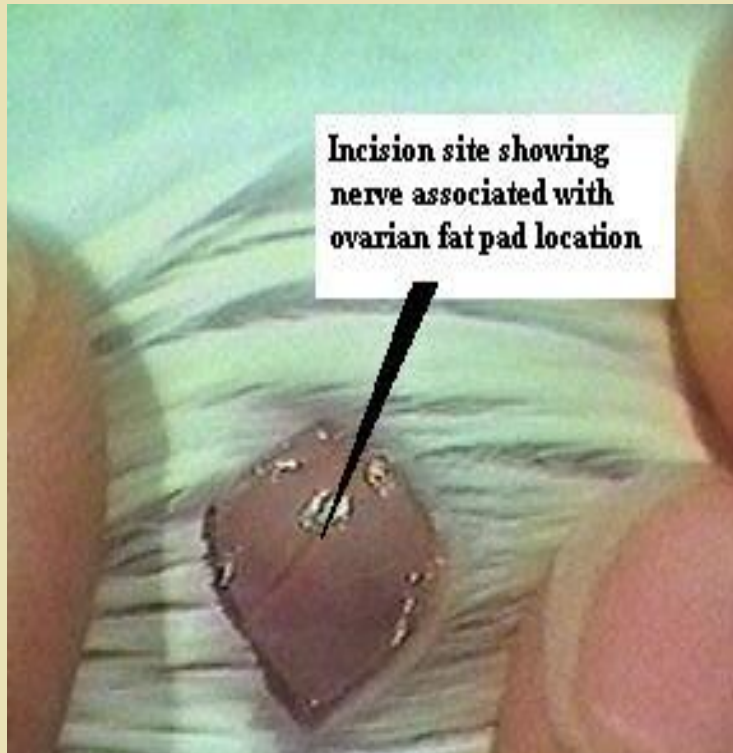




Εμφύτευση των βλαστοκύστεων

- ◆ Οι βλαστοκύστες επωάζονται για λίγες ώρες
- ◆ Μεταφέρονται στη μήτρα των ψευδοέγκυων θηλυκών την 2.5 εμβρυϊκή μέρα
- ◆ Το ανώτερο το 1/3 των μεταφερόμενων βλαστοκύστεων θα αναπτυχθεί σε υγιή ποντίκια

Εμφύτευση των βλαστοκύστεων





Εμφύτευση των βλαστοκύστεων

♦ Χιμαιρικό ποντίκι

- Συνήθως τα ES κύτταρα προέρχονται από ποντίκια ανοικτού χρώματος (ανοικτό καφέ ή λευκό τρίχωμα).
- Τα ES κύτταρα εμφυτεύονται σε βλαστοκύστη από ποντίκι μαύρου χρώματος.
- Όσο περισσότερο τα ES κύτταρα συμβάλλουν στο γονιδίωμα του ζώου τόσο πιο ανοικτό θα είναι το χρώμα του.
- Το χιμαιρικό ποντίκι συνήθως εμφανίζει συνδυασμό των δύο χρωμάτων

Απόγονοι



Μαύρο ποντίκι-όχι εμφανή
συμβολή των ES κυττάρων

Χιμαιρικό ποντίκι- Έντονη
συμβολή των ES κυττάρων

Χιμαιρικό ποντίκι- Ασθενής
συμβολή των ES κυττάρων

Χιμαιρικό Ποντίκι





Εξέταση απογόνων

- ◆ Απομόνωση DNA από ένα μικρό κομμάτι της ουράς ή του αυτιού του ζώου και εξέταση της παρουσίας του επιθυμητού γονιδίου
- ◆ 10-20% των απογόνων θα το έχουν και θα είναι ετερόζυγοι για το συγκεκριμένο γονίδιο



Αναπαραγωγή των χιμαιρικών ποντικών

- ♦ Τα ετερόζυγα **αρσενικά** ζευγαρώνουν με διαφορετικές θηλυκές για να δώσουν πολλούς απογόνους ετερόζυγους, όπου στη συνέχεια θα διασταυρωθούν μεταξύ τους για να δώσουν ομόζυγα knockout ποντίκια
- ♦ Αν το αρσενικό ποντίκι μετά από 6 γέννες δεν καταφέρει να μεταφέρει το γονίδιο στους απογόνους η διαδικασία έχει αποτύχει



Διαγονιδιακά Ζώα

- ♦ Διαγονιδιακά ζώα → ένεση σε προπυρήνα γονιμοποιημένου ωαρίου
- ♦ Knockout ζώα → Διαμόλυνση εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων και ένεσή τους στη βλαστοκύστη
- ♦ Τα διαγονιδιακά ζώα λειτουργούν ως μοντέλα :
 - ♦ Μελέτη της λειτουργίας γονιδίων
Πολλές ανθρώπινες ασθένειες μπορούν να αναπαραχθούν με την εισαγωγή της ίδιας μετάλλαξης στο ποντίκι.
 - ♦ Τεστ φαρμάκων
Επίδραση διαφόρων βιολογικών και χημικών ουσιών στην θεραπεία διαφόρων Νόσων

♦ **Γενετική απαλοιφή στο knockout ποντίκι**



- Εξέταση φαινοτύπου του ποντικιού

**Φυσιολογικός
φαινότυπος**

Η λειτουργία του
στοχευμένου γονιδίου είναι
μη σημαντική ή περιττή

**Φαινοτυπική
διαφορά**

Η λειτουργία του
στοχευμένου γονιδίου
αποκαλύπτεται

Θνησιγόνο

Το στοχευμένο γονίδιο
είναι σημαντικό για
την επιβίωση και την
ανάπτυξη



Υπο προϋποθέσεις γονιδιακή απαλοιφή

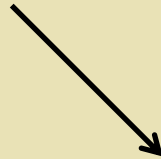


Υπο προϋποθέσεις γονιδιακή απαλοιφή

➤ **Ιστοειδικός** και/ή **χρονικός** έλεγχος της γονιδιακής απαλοιφής



❖ **Ιστοειδικός**
υποκινητής που ελέγχει την
έκφραση του διαγονιδίου



❖ **Χρονικά επαγόμενος**
υποκινητής που ελέγχει την
έκφραση του διαγονιδίου

Διαφορετικά μοντέλα υπό προϋποθέσεων γονιδιακής απαλοιφής:

- ❖ **Cre-loxP**
- ❖ **Tet-on/Tet-off**

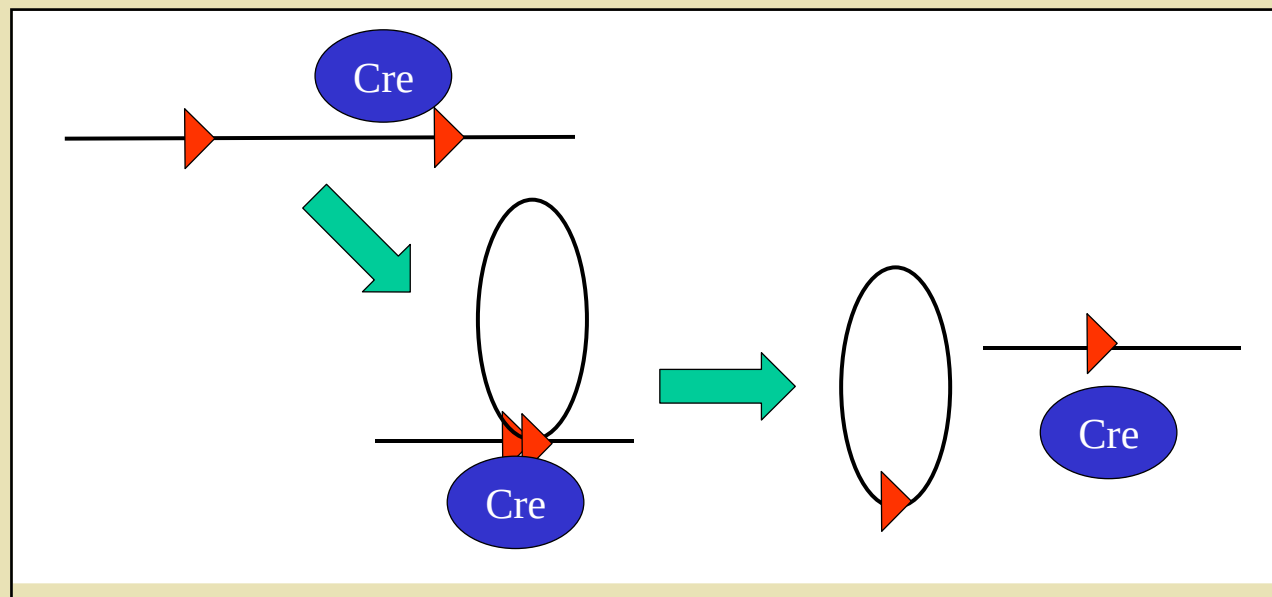
Cre/loxP Σύστημα

Cre recombinase

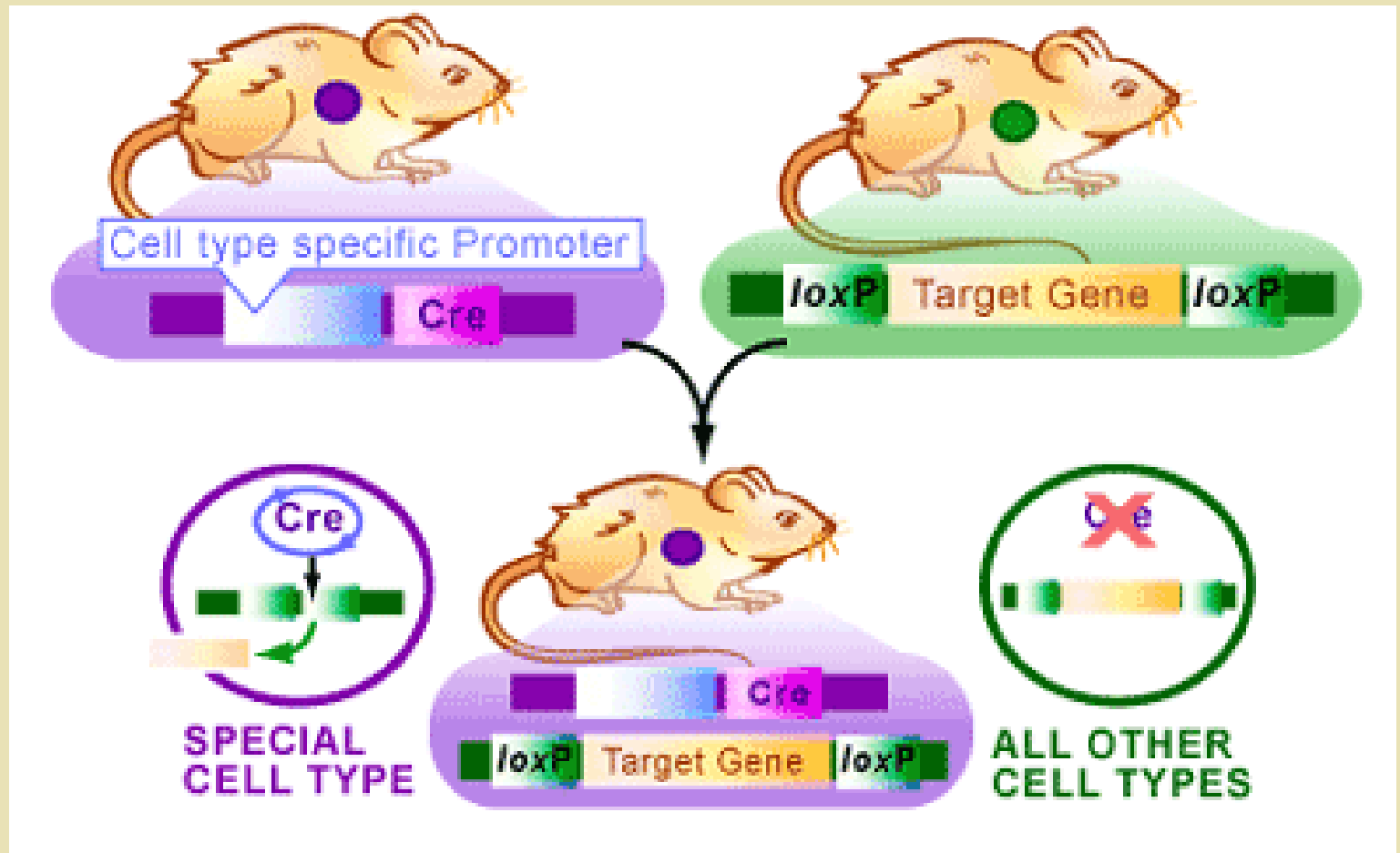
❖ Πραγματοποιεί ιστοειδικό ανασυνδυασμό μεταξύ 2 loxP περιοχών

LoxP - DNA sequence

❖ Δύο 34bp αλληλουχίες που δρουν ως μαγνήτες της Cre recombinase για να ανασυνδυάσει το τμήμα του DNA που βρίσκεται μεταξύ τους



Cre/loxP Σύστημα



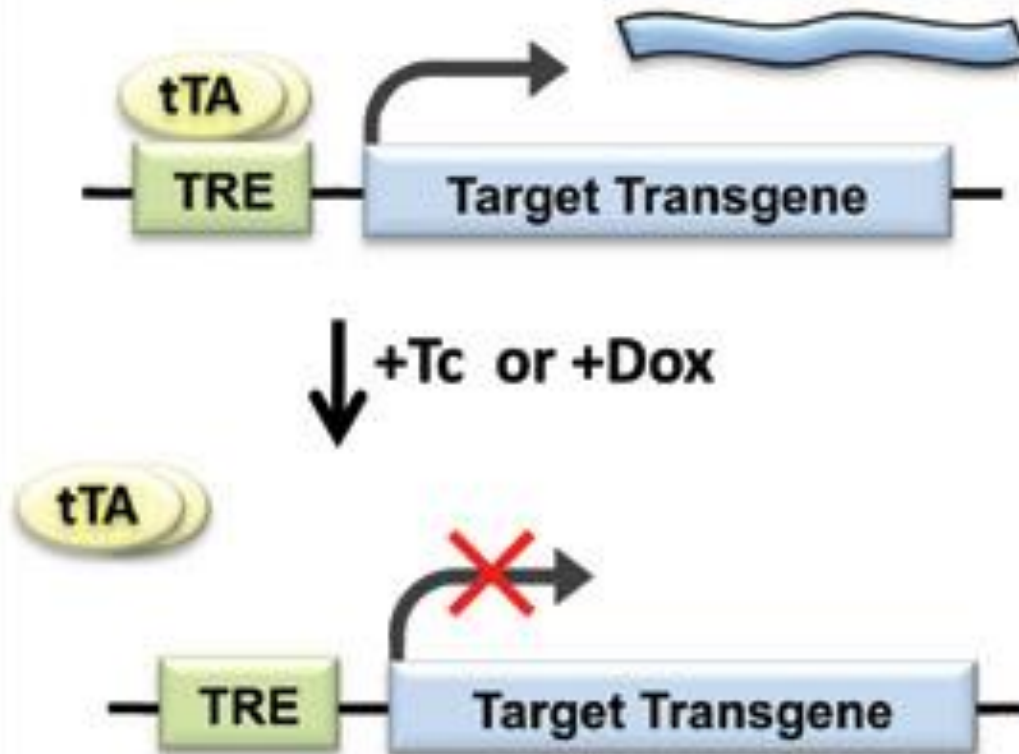


Tet-on/Tet-off Σύστημα

- ◆ Στο **Tet-off σύστημα** μια ελεγχόμενη από τετρακυκλίνη πρωτεΐνη ενεργοποίησης **tTA** ρυθμίζει την έκφραση του στοχευμένου γονιδίου μέσω ενός **TRE** υποκινητή
- ◆ Απουσία Tc, *tTA* δεσμεύεται στο TRE και ενεργοποιεί το συγκεκριμένο γονίδιο
- ◆ Παρουσία Tc, *tTA* δεν δεσμεύεται στο TRE και η έκφραση του γονιδίου παραμένει *ανενεργή*

Tet-off Σύστημα

A) Tet-Off

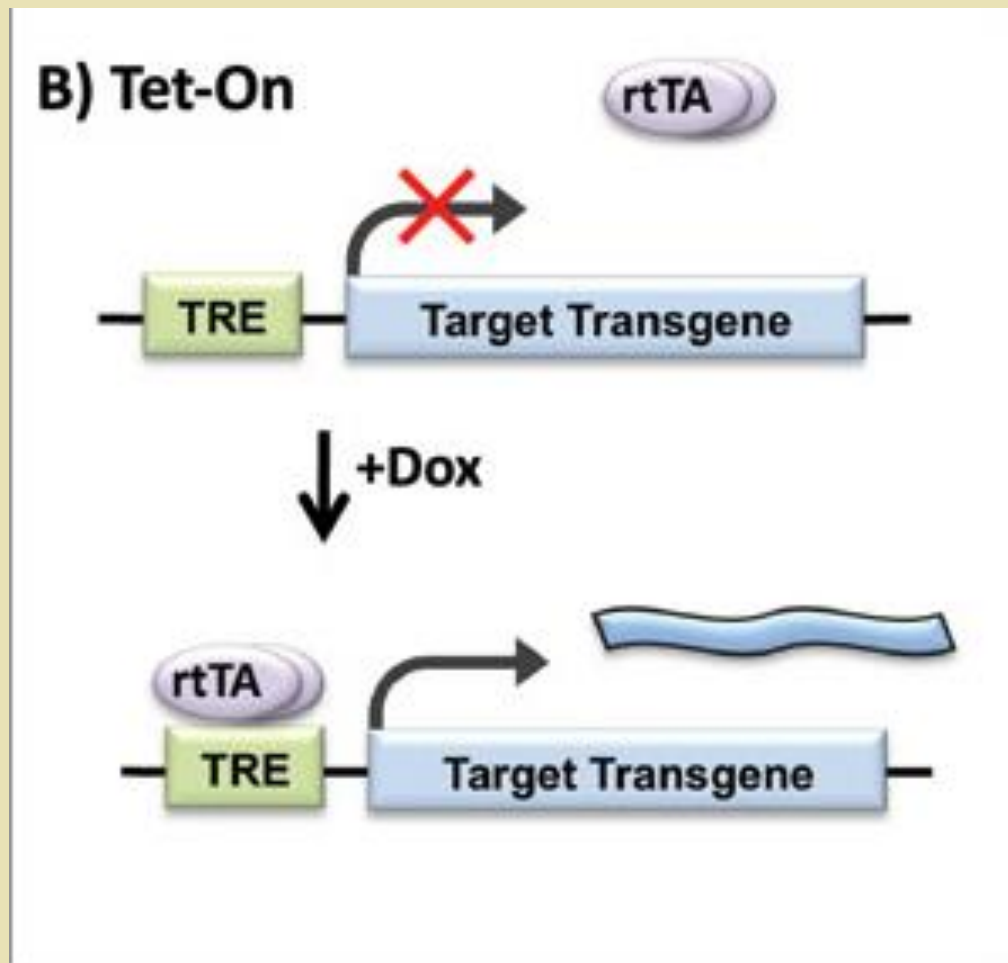




Tet-on/Tet-off Σύστημα

- ◆ Στο **Tet-on σύστημα** μια ελεγχόμενη από τετρακυκλίνη πρωτεΐνη αντίστροφης ενεργοποίησης **rtTA** ρυθμίζει την έκφραση του στοχευμένου γονιδίου μέσω ενός **TRE** υποκινητή
- ◆ Παρουσία Tc, *rtTA* δεσμεύεται στο TRE και *ενεργοποιεί* το συγκεκριμένο γονίδιο
- ◆ Απουσία Tc, *rtTA* δεν δεσμεύεται στο TRE και η έκφραση του γονιδίου παραμένει *ανενεργή*

Tet-on Σύστημα



Ρύθμιση Τετρακυκλίνης

Όχι Doxycycline

Doxycycline

tTA

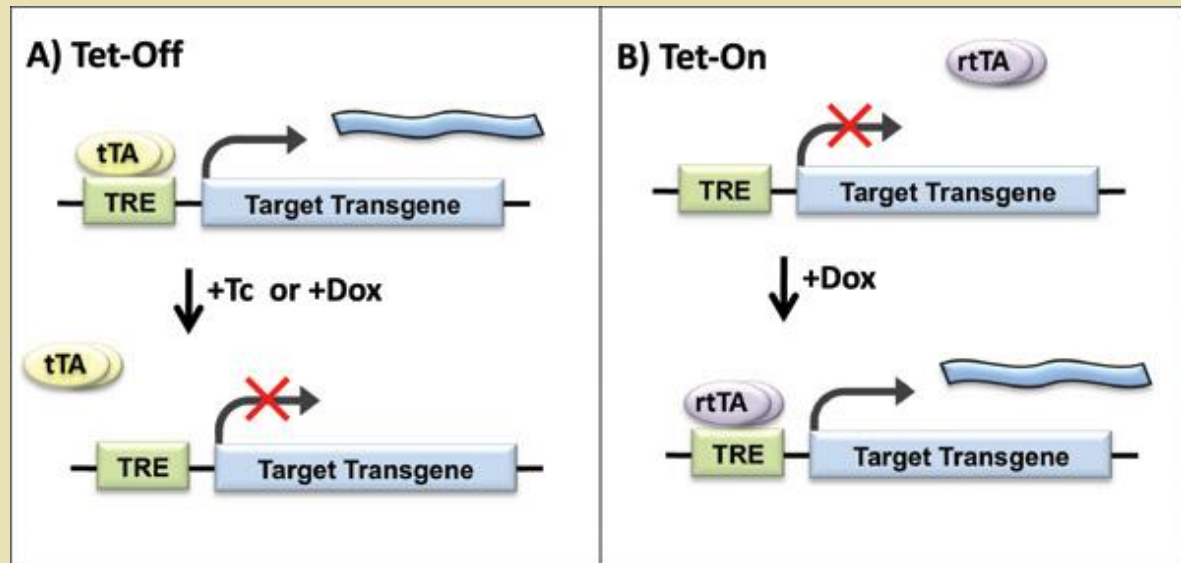
εκφράζεται

δεν εκφράζεται

rtTA

δεν εκφράζεται

εκφράζεται



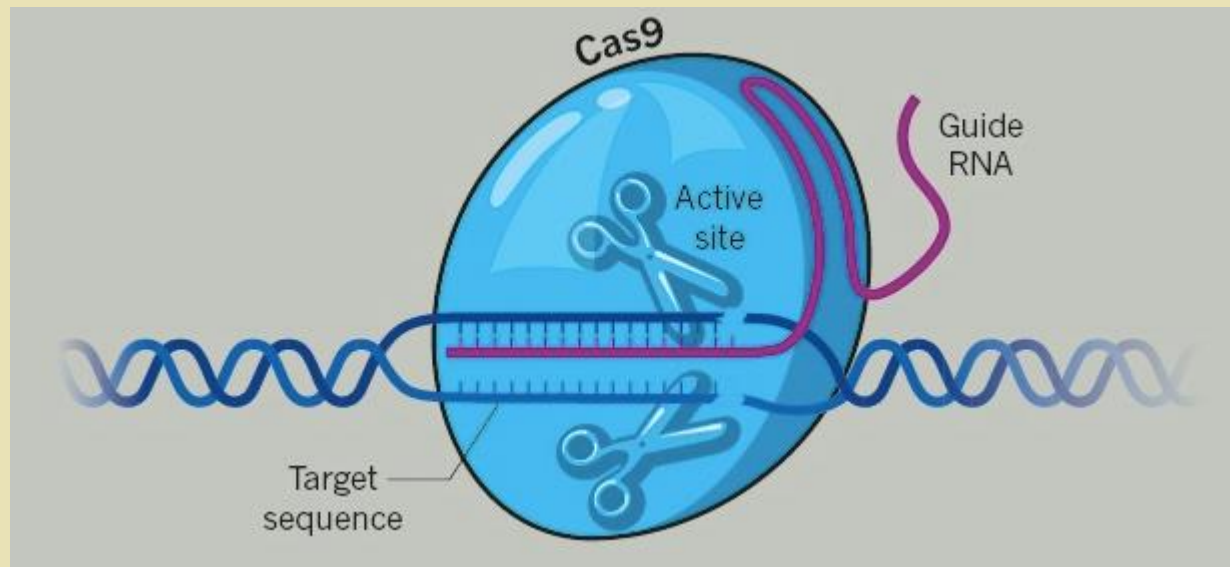
Συνοψίζοντας

Αυξημένος έλεγχος πάνω στη γονιδιακή τροποποίηση

- ◆ Διαγονιδιακό ποντίκι
- ◆ Knock-out ποντίκι
- ◆ Υπο προϋποθέσεις διαγονιδιακό ποντίκι
- ◆ Επαγόμενο διαγονιδιακό ποντίκι
- ◆ Τυχαία γενομική ενσωμάτωση διαγονιδίου
- ◆ Ενσωμάτωση του διαγονιδίου σε συγκεκριμένη θέση στο γονιδίωμα
- ◆ Ιστοειδική ή χρονικά συγκεκριμένη έκφραση του διαγονιδίου
- ◆ Ιστοειδική και χρονικά συγκεκριμένη έκφραση του διαγονιδίου

CRISPR-Cas9 – A New Era in Gene Editing

- ❖ It is faster, cheaper and more accurate than previous techniques of editing DNA and has a wide range of potential applications.



The basic components of CRISPR-Cas9 – a **guide RNA** designed against a specific sequence of DNA will direct **Cas9** to that stretch of DNA. Cas9 will then act as “molecular scissors” to cut up the DNA sequence and silence the gene.



CRISPR-mediated gene editing: Faster Timeline, Lower Cost, More Flexibility

	Conventional Gene Targeting	CRISPR-based Gene Knockout	CRISPR-based Gene Knock in
Timeline	40 weeks	6 weeks	8 weeks
Cost – Model Creation	\$15,000	\$3,000	\$7,000
Cost - Breeding to GLT/NEO Excision	\$20,000	\$4,000	\$4,000
Flexibility	129	any strain	any strain
	C57BL/6		
Cost – Strain Change	\$13,000	\$0,0	\$0.0

The Jackson Laboratory

Leading The Search For Tomorrow's Cures



JAX[®] Mice: *The Gold Standard for Biomedical Research*

- Over 3,200 mouse models and growing
- Most well-characterized strains available
- Over 2.1 million mice shipped annually to 16,000 investigators in 60 countries
- Referenced ~100 new publications each week
- Unsurpassed animal health and genetic quality
- Over 75-years experience in mouse breeding and research



What's in a Name?



B6.129P2-*Apoa1*^{tm1Unc}/J

C57BL/6-Tg(APOA1)1Rub/J

Unique identifiers for....

Background strains

Relevant gene/allele

Technology used

Lab founder line

Research group

Lab maintaining color

Mouse Nomenclature Basics

Mouse Gene - *Italics*, first letter capitalized

Adenomatosis polyposis coli = *Apc*

Leptin receptor = *Lepr*

Mouse Allele - *Italics*, superscripted

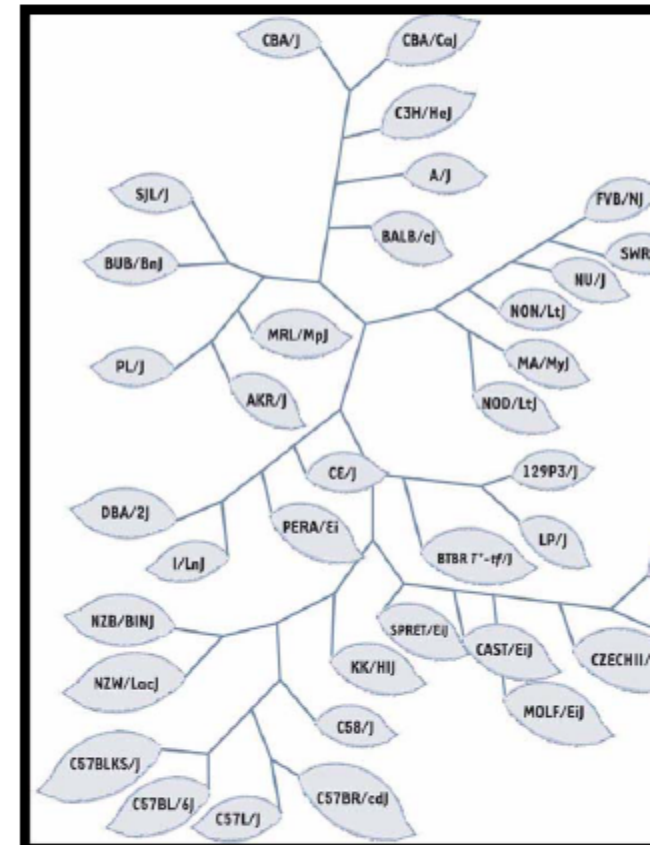
First letter capitalized if dominant - *Apc*^{Min}

First letter lower case if recessive - *Lepr*^{db}

Inbred Strains

- Strain maintained by sibling (sister x brother) mating for 20 or more consecutive generations
- Most genetically and phenotypically uniform mouse resource
- Well Characterized
- Unique phenotypes
- Widely used as models of human disease

Inbred lineage diagram based on by Petkov PM, et al.,
Genomics, Volume 83, Issue 5, May 2004, Pages 902-911



Inbred Nomenclature Based on Phenotype

NU Nude

DW Dwarf



Nomenclature Based On Origin & Coat Color

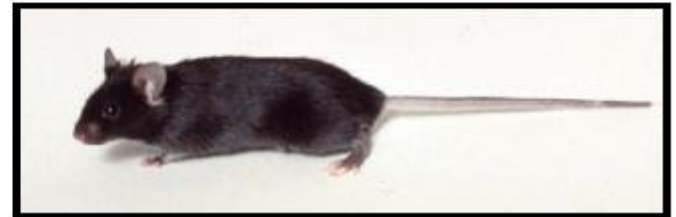
Miss Abbie Lathrop's "pet shop" stock



C.C. Little (1921) mating of female 57



C57BL (Black)



C57BR (Brown)



C57L (Leaden)



Substrain Nomenclature

Substrains: Branch of an inbred strain known or suspected to be genetically different from the parent colony.

Considered a substrain when....

- 1) Maintained separately from the parent colony for more than 20 generations
- 2) Genetic differences from the parent colony are discovered

Nnt deficient

C57BL/6J

Parent strain

Substrain Line #

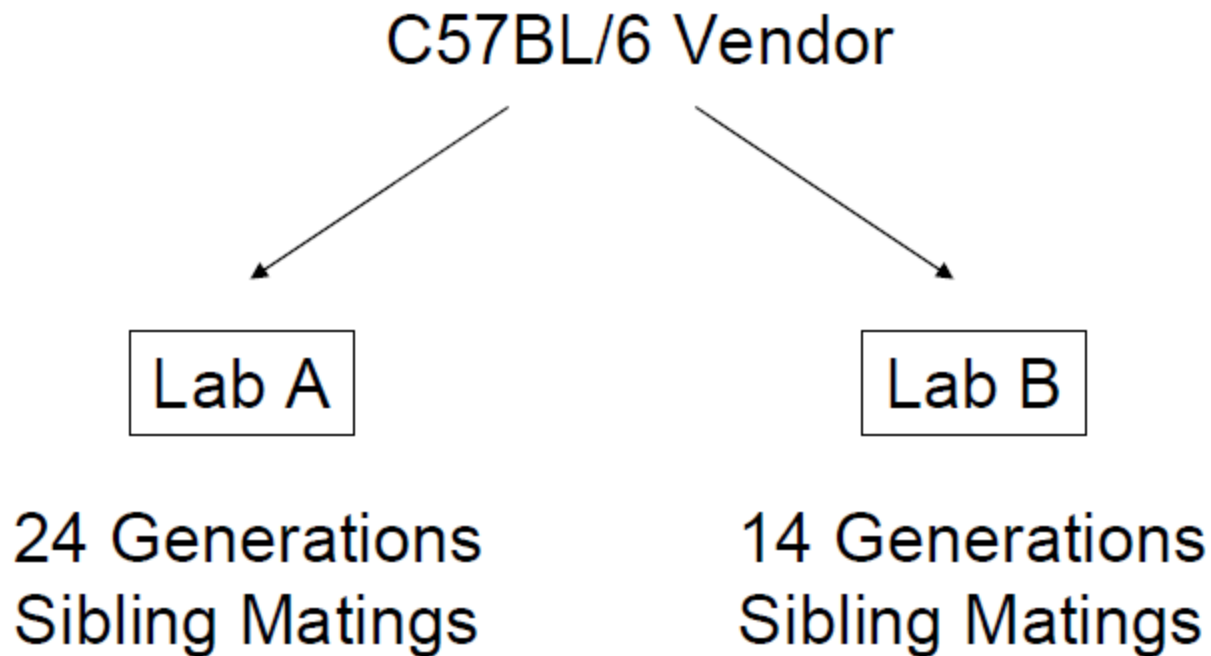
Lab Maintaining Strain

Wild-type Nnt

C57BL/6J*Ei*J



Substrain Development



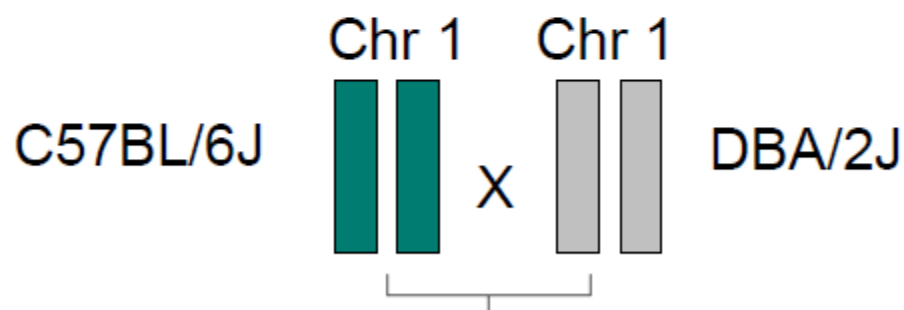
38 Generations apart!

Mouse Strain Nomenclature

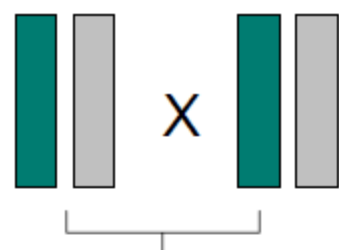
Standard Abbreviations

- 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

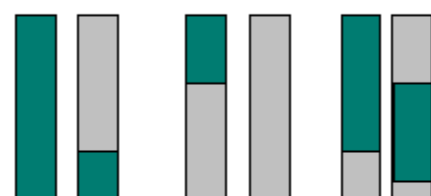
Hybrids -F1 and F2



Hybrid Vigor!
Tissue transplant hosts
from parent strains



F1 -uniform genotype/phenotype



F2 –random distribution of alleles,
excellent control for mutant strains
on a mixed background

Chr 1 from three F2 siblings

Hybrid Nomenclature

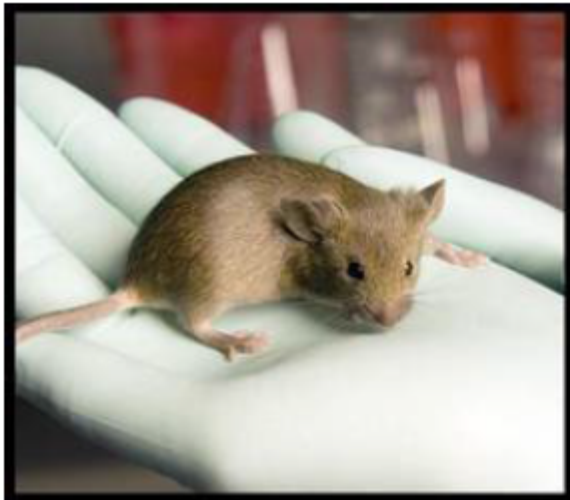
C57BL/6J x DBA/2J



B6D2F1/J x B6D2F1/J



B6D2F2/J



GEMM™ Strains

★ Evaluate single gene function(s) in normal & diseased pathways

Spontaneous Mutation

Random, altered gene function

Targeted Mutation (**tm**) (“Knockout”)

Targeted DNA construct, loss-of-function

Transgenic (**Tg**)

(Randomly) inserted DNA construct, “overexpression”

Congenic – Mutation or transgene placed on a pure inbred background



Nomenclature for Targeted Mutations (“Knockouts”)

B6;129P2-*tm1Hor*/J



Background (mixed)

Targeted gene

Targeted mutation

Line number

Lab registration code

Lab maintaining strain

129 Nomenclature at <http://jaxmice.jax.org/info/bulletin/bulletin01.html>

Nomenclature for Targeted Mutations (“Knockouts”)

Recipient strain

Donor strain

B6;129P2-*tm1Hor*/J

Backcross to C57BL/6J five+ generations

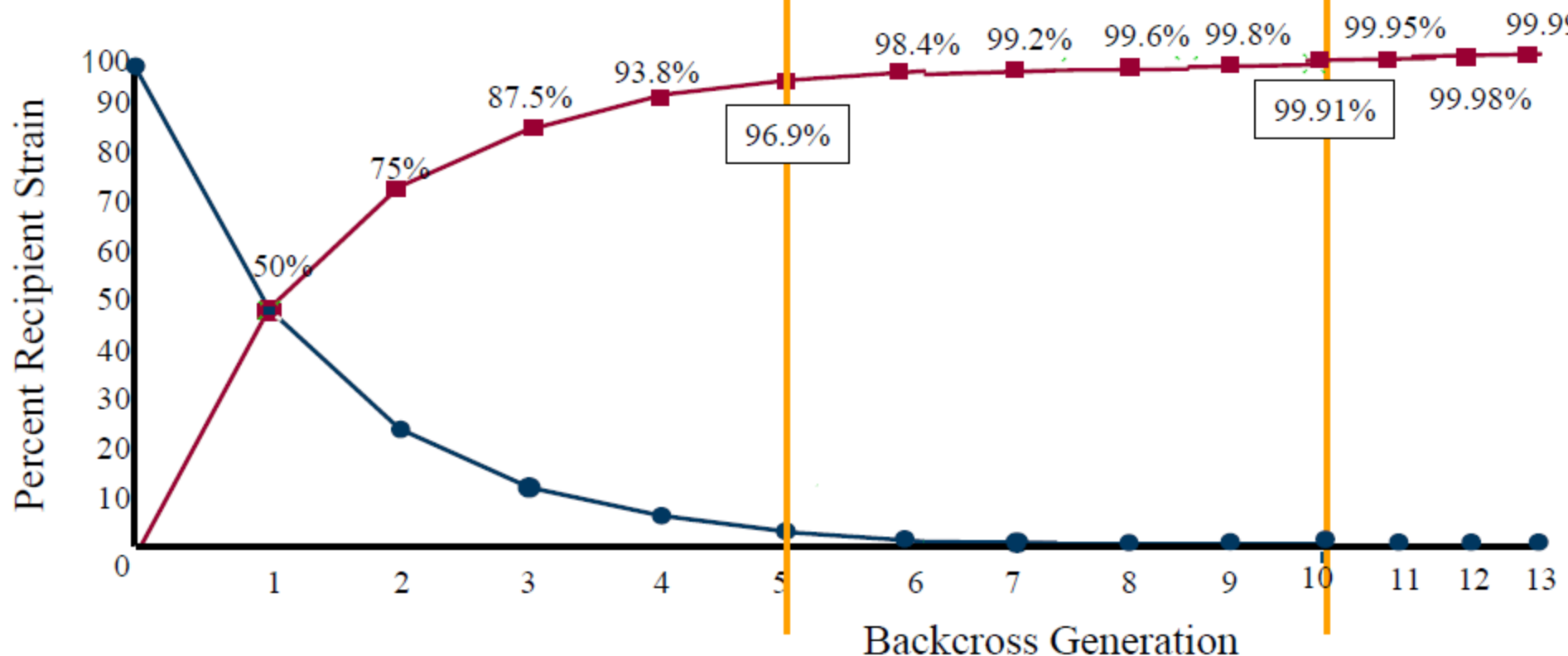
B6.129P2-*tm1Hor*/J

Backcrossing

Mixed background
(N1-N4)

Incipient Congenic
(N5-N9)

Congenic
(N10+)



Nomenclature for Transgenics

C57BL/6-Tg(ACTB-EGFP)131Osb/J

Background Strain

Transgenic

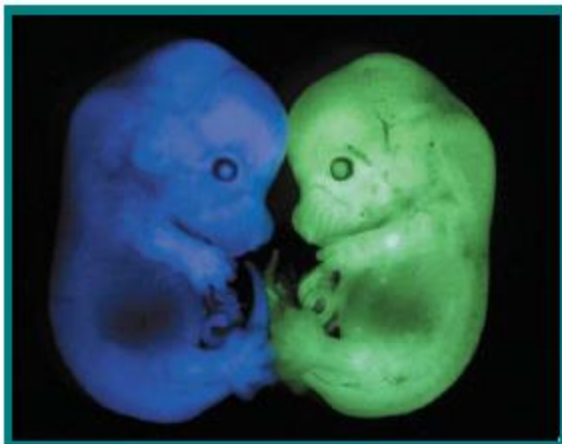
Promoter

Gene expressed

Founder line number

Lab registration code

Lab Maintaining Strain



Nomenclature for Transgenics

B6.Cg-Tg(BCL2)22Wehi/J

Background Strain

Transgenic

Gene expressed

Founder line number

Lab registration code

Lab Maintaining Strain

Original: STOCK Tg(BCL2)22Wehi

Take me home.....

- Know your nomenclature
- Use complete nomenclature in your publications
- Research your strain background
- Consider analyzing mutations on multiple backgrounds
- Consider that genetic drift can alter phenotype
- Adhere to strict colony management practices
- Replace breeders from trusted vendor regularly!



The Jackson Laboratory

Nomenclature experts:

nomen@informatics.jax.org

Need help?

micetech@jax.org

