

## Evaluación de factores de reproducción para detectar posible contaminación genética en cepas consanguíneas de ratones

Rosa De Jesús<sup>1\*</sup> & Elizabeth Torres<sup>2</sup>

Las cepas consanguíneas de ratón son usadas en la investigación biomédica por características tales como la homocigosis y la isogenicidad las cuales son el producto de apareamientos de hermanos con hermanas, procedentes de una pareja ancestral, por más de veinte generaciones consecutivas, estas características se mantienen durante mucho tiempo, mientras se mantengan los esquemas específicos en los sistemas de crías y el ambiente se mantenga estandarizado. La integridad del genoma de estas cepas puede verse alterada por problemas de contaminación genética, mutaciones y/o por la deriva genética. La contaminación genética es el problema más común de alteración del genoma en colonias de producción. La evaluación de algunos factores de la producción pueden ser usados como alerta de contaminación genética. Si después que éstos han sido evaluados, se sospecha que en la cepa existe alteración del genoma, es recomendable aplicar cualquier técnica específica de laboratorio. En el presente estudio fueron evaluados algunos de los parámetros de producción de las colonias de cepas de ratones consanguíneos producidas en Venezuela, tales como: condiciones de alojamiento, esquemas de reproducción, el parámetro zootécnico: número de crías por camada. Los resultados de esta evaluación condujeron a recomendar el análisis de marcadores moleculares como los microsatélites que son los más apropiados para este propósito.

**Palabras claves:** cepas de ratones consanguíneos, contaminación genética, parámetros reproductivos.

### INTRODUCCIÓN

El ratón es un biomodelo adecuado para la investigación biomédica por características como: su alta fertilidad, su capacidad de proliferación, el tamaño conveniente, su corto período de gestación, su mantenimiento económico, la susceptibilidad a ciertas enfermedades, la fácil producción bajo condiciones controladas y la tolerancia a la consanguinidad, entre otras (Festing, 1993; The Jackson Laboratory, 2003, Benavides & Guénet, 2003). Las cepas consanguíneas de ratón han sido base fundamental para el logro de grandes avances a nivel de las áreas de la biomedicina. Se considera una cepa consanguínea de acuerdo a las reglas adoptadas por el Comité sobre la Nomenclatura Genética Estandarizada para el Ratón en el año de 1978 (Green *et al.*, 1981; Lyon *et*

*al.*, 1996; Festing, 1982; 1993), aquella en la cual se han apareado hermanos con hermanas por veinte o más generaciones consecutivas y es derivada de una sola pareja reproductora ancestral, lo que conlleva a que éstas presenten un factor de consanguinidad de aproximadamente 98,7% ( $F=98,7\%$ ); este valor alcanza el 100% (todos los loci homocigotos) en aquellas cepas con más de 150 generaciones (Benavides & Guénet, 2004). El genoma de los ratones consanguíneos puede presentar alteraciones, debido a: la contaminación genética; la mutación espontánea y a la deriva genética (Nomura *et al.*, 1984; Silver, 1995; Bailey, 1982).

Para garantizar que una investigación realizada con ratones consanguíneos, presente resultados reproducibles y por tanto tenga validez científica, es necesario que éstos posean las características establecidas por el estándar internacional para la cepa referida. Es decir, si un investigador señala que su experiencia ha sido realizada con ratones *BALB/c*, éstos deben tener las características genéticas señaladas para esta cepa; la condición de contaminación genética que altera su patrimonio

<sup>1</sup> Laboratorio de Fisiología Animal. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida. Telf: 0274-2401307.

<sup>2</sup> Instituto de Estadística Aplicada y Computación (IEAC), de la Facultad de Ciencias Económicas y Sociales de la ULA).

\*Autor de correspondencia: rosadej@ula.ve

genético conducirá a resultados no reproducibles. Es indispensable, por tanto, que se mantengan programas de control de la calidad genética en los bioterios de producción. Éstos son conocidos como programas de control genético o monitorización genética; los cuales son un conjunto de técnicas que permite verificar si los animales mantienen las características genéticas originales de la cepa a la cual pertenecen a través del tiempo, o si han sufrido algún cambio debido a una contaminación genética. El fundamento de tales programas es el de analizar caracteres cualitativos o cuantitativos (enzimas, marcadores inmunológicos, marcadores de ADN) y compararlos con valores de referencia establecidos internacionalmente para la cepa consanguínea analizada. En todos los casos se trata de utilizar marcadores lo suficientemente polimórficos entre las cepas como para detectar apareamientos accidentales (Festing, 1990).

Diferentes marcadores han sido usados con este fin: bioquímicos (Bonhomme *et al.*, 1983; West *et al.*, 1985; Kahan *et al.*, 1987); inmunológicos (Festing & Totman, 1980); del color del pelaje, injertos de piel (Silvers & Gasser, 1973; Matthew *et al.*, 2000), de caracteres morfológicos y marcadores de ADN. Dentro de estos últimos los más utilizados en los controles de la calidad genética de las cepas consanguíneas son los microsatélites, aunque actualmente ya se ha desarrollado un panel de 28 SNP's (en inglés: single nucleotide polymorphisms) que están siendo usados en el control genético (Petkov *et al.*, 2004a,b), sin embargo éstos por su alto costo, son difíciles de establecer.

En los programas de control genético no deben olvidarse el análisis primario de las condiciones de la producción de las cepas y el de los parámetros reproductivos, los cuales deben ser parte del registro normal de las colonias de producción de ratones consanguíneos, los mismos aportan mucha información que en caso de diferir de los promedios establecidos para las diferentes cepas pueden alertar sobre alteraciones del genoma que pueden ser corroboradas con pruebas específicas de laboratorio, tales como, el análisis de marcadores moleculares (Festing, 1993; Silver, 1995; Benavides & Guénet, 2003). Dentro de los parámetros reproductivos los promedios de productividad o función reproductiva de las diferentes cepas son indicadores muy valiosos de la pureza genética de las cepas consanguíneas, ya que éstos son característicos de cada cepa (Silver, 1995;

Benavides & Guénet, 2003). Un importante factor de alerta de contaminación genética de la colonia será entonces la detección de camadas que difieran ampliamente del promedio calculado para cada cepa (Nomura *et al.*, 1984; Benavides & Guénet, 2003).

En Venezuela se producen cuatro cepas consanguíneas de ratones: *BALB/c*, *C57BL/6*, *DBA/2* y *C3H/He*. La cepa *BALB/c* se produce en cuatro bioterios, ésta es una de las cepas más usadas en la investigación del país; la cepa *C57BL/6* se produce en tres bioterios, ésta cepa es la segunda cepa consanguínea de ratón más utilizada en la investigación del país de acuerdo a información obtenida en la dirección electrónica: <http://www.asovac.org.ve>, de las reuniones científicas de la Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia (ASOVAC) en el período 2000-2004. Las cepas *DBA/2* y *C3H/He*, se producen un solo bioterio y de acuerdo a la consulta realizada en la dirección electrónica de la ASOVAC, no se encontraron reportadas éstas cepas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La población estudiada comprendió las colonias de fundación de las cepas consanguíneas de ratones *BALB/c*, *C57BL/6*, *DBA/2* y *C3H/He* producidas en cuatro bioterios diferentes del país.

En este estudio analizamos algunos de los factores que afectan la producción de las cepas consanguíneas, los cuales pueden alterar las características de homocigosis e isogenicidad. Entre estos factores tenemos: la procedencia de las cepas, la separación física de los ambientes en los cuales se producen las diferentes cepas consanguíneas dentro de los bioterios, el manejo de los diferentes esquemas de apareamiento, el tiempo de generaciones en cada Bioterio y el parámetro zootécnico: número de crías nacidas por camada. Los datos para éste análisis fueron recolectados en visitas realizadas a los diferentes bioterios. En el momento de la recolección de estos datos, se observó si existía la separación física de las áreas de producción y mantenimiento y la existencia de barreras físicas, entre los distintos núcleos de fundación existentes dentro de cada Bioterio. Se solicitó información acerca de los datos de procedencia de las cepas y los datos del número de generaciones que tenían las cepas dentro de cada Bioterio para el momento. Se recolectaron los datos correspondientes

al número de crías nacidas por camada para cada cepa de los reportes que existían, en el momento de la visita, registrados en las diferentes tarjetas de registro ubicadas en cada caja de reproducción, ésta fue una muestra aleatoria tomada de esta forma debido a que existen bioterios que no mantienen registros de este parámetro zootécnico, a pesar de esto, los datos recolectados sirvieron para dar una visión del comportamiento de cada cepa en relación a este parámetro zootécnico, el cual es importante en el control genético de las cepas consanguíneas de ratón. En relación al parámetro reproductivo: número de crías nacidas por camada, se aplicó el análisis de la varianza para un diseño completamente aleatorizado, según el modelo:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}, \text{ donde } \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$$

donde :

$y_{ijk}$  : es la  $ij$  – ésima observación (es la variables respuesta o número de crías por camada)

$\mu$  : es la media general de todas las observaciones

$\tau_i$  : representa el efecto del factor A (Bioterios) para  $i = 1, 2, 3, 4$

$\varepsilon_{ij}$  : representa el error.

Se midieron las diferencias significativas en el número de crías por camada (variable respuesta), considerando a las cepas *BALB/c* producidas por los cuatro bioterios y a las cepas *C57BL/6* producidas por los tres bioterios, estudiados. Las hipótesis a probar son las siguientes:

1. Cepa *BALB/c*

$$H_0: \mu A = \mu B = \mu C = \mu D = \mu E$$

$$H_1: \mu A \neq \mu B \neq \mu C \neq \mu D \neq \mu E$$

2. Cepa *C57BL/6*

$$H_0: \mu A = \mu C = \mu D$$

$$H_1: \mu A \neq \mu C \neq \mu D$$

Se determinó la homogeneidad en los datos obtenidos en los diferentes bioterios, para lo que se realizó la prueba de Bartlett. También, se realizó el análisis a posteriori mediante la prueba de Turkey para observar las diferencias verdaderamente significativas entre las medias poblacionales de los bioterios que producen la cepa *BALB/c*. El análisis de varianza no fue realizado para los datos de las cepas *DBA/2* ni *C3H/He*, debido a que éstas sólo se producen en un bioterio.

Para observar la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los promedios del número de crías nacidas de las cuatro cepas de ratones consanguíneos analizadas con los promedios reportados por la base de datos de The Jackson Laboratory (2003), se aplicó el análisis de la distribución *t-Student*. Las hipótesis a probar fueron las siguientes:

Cepa *BALB/c*

$$1. H_0 = 5$$

$$2. H_1: \text{no todas son } \mu = 5$$

Cepa *C57BL/6*

$$1. H_0 = 6$$

$$2. H_1: \text{no todas son } \mu = 6$$

Cepa *DBA/2*

$$1. H_0 = 4$$

$$2. H_1: \text{no todas son } \mu = 4$$

Cepa *C3H/He*

$$1. H_0 = 5$$

$$2. H_1: \text{no todas son } \mu = 5$$

El procesamiento de la información fue realizado mediante el software estadístico Statistics Analysis System (SAS versión 8.2 bajo UNIX, instalado en el Centro Nacional de Cálculo Científico de la ULA (CecalcUla), ejecutado remotamente desde el Instituto de Estadística Aplicada y Computación (IEAC), de la Facultad de Ciencias Económicas y Sociales de la ULA). El análisis de los esquemas de producción de los sistemas de cría se realizó comparando el esquema propuesto por The Jackson Laboratory (2003), con el esquema que siguen para la producción de los ratones consanguíneos, cada uno de los bioterios analizados.

## RESULTADOS

Los datos sobre la producción relacionados al lugar de procedencia, las condiciones de alojamiento, el tiempo de permanencia de las cepas en los diferentes bioterios (tiempo de generaciones) y el número de crías por camada, se encuentran tabulados en la Tabla I.

En ésta se puede observar que sólo el bioterio B y el bioterio D mantienen cepas de procedencia de bioterios nacionales, pero éstos últimos adquirieron las

cepas en laboratorios internacionales reconocidos los cuales ofrecen certificados de calidad de los animales. Presenta también la tabla que las cepas producidas en el bioterio A, una de las cepas *BALB/c* producidas en el bioterio B y las cepas que se producen en el bioterio D se encuentran en vía de consanguinidad y el resto de las cepas que se producen en el país tienen más de veinte generaciones, indicando que éstas pueden considerarse consanguíneas de acuerdo a la definición de las mismas. Por otro lado, se puede observar en la tabla que solamente el bioterio B mantiene alojadas las cepas en condiciones que garantizan que no exista contaminación genética, pues se mantienen en aisladores.

En el análisis del número de crías nacidas por camada, se determinó la homogeneidad de los datos usando la Prueba de homogeneidad de Bartlett el resultado se presenta en la Tabla II, observándose que no existen diferencias significativas estadísticamente, lo cual permite que los datos puedan ser procesados mediante un análisis de varianza.

El ANOVA se realizó con la finalidad de detectar diferencias significativas en el número de crías entre los bioterios. La Tabla III muestra los resultados de los análisis de varianza de una sola vía para los datos de las cepas *BALB/c* y *C57BL/6*.

Los datos de la cepa *BALB/c* presentaron diferencias significativas ( $\alpha = 0,05$ ) para el número de crías nacidas por camada, en los efectos principales, es decir en relación al bioterio en el cual se produce; lo cual podría evidenciar que existen diferencias significativas en el número de crías nacidas por bioterio. Debido a esto fue preciso realizar un análisis "a posteriori" con la finalidad de determinar cual bioterio produce la diferencia. El procedimiento usado fue el de comparaciones múltiples de Turkey (Wayne, 1997). A fin de averiguar si el número de crías de los bioterios se ajustan a los estándares internacionales (Tabla I), se utilizó la *t-Student*, para cada bioterio según el estándar. Los resultados del procesamiento de la información mediante este test se presentan en la Tabla IV.

En ésta se observan diferencias significativas para la cepa *BALB/c* producida en el Bioterio B (cepa producida en el bioterio B de procedencia internacional), para el Bioterio D (cepa producida en el Bioterio C) y para el Bioterio E. Para la cepa *C57BL/6* se observan diferencias significativas para los Bioterios A y C. En relación a las cepas *DBA/2* y *C3H/He* ambas presentan diferencias significativas.

Posteriormente, analizamos los esquemas de producción, la finalidad fue comparar la estructura

**Tabla I. Datos sobre: Procedencia de las cepas consanguíneas, Tiempo de generaciones, Promedio de Número de crías nacidas por camada y Condiciones de alojamiento.**

| Bioterios | Cepas   | Procedencia                 | Tiempo de Generaciones (generaciones) | Promedio de Número de crías nacidas/camada | Promedio característico de Número de crías nacidas/camada | Condiciones de alojamiento |
|-----------|---------|-----------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------|
| A         | BALB/c  | CENPALAB                    | 18                                    | 5,53                                       | 5                                                         | Aislador                   |
|           | C57BL/6 | CENPALAB                    | 18                                    | 4,58                                       | 6                                                         | Aislador                   |
| B         | BALB/c  | Laboratorio Taconic         | 20                                    | 6,27                                       | 5                                                         | Cubículo                   |
|           | BALB/c  | Bioterio A                  | 1                                     | 5,11                                       | 5                                                         | Cubículo                   |
| C         | BALB/c  | Laboratorios Charles Rivers | 43                                    | 3,35                                       | 5                                                         | Cubículo                   |
|           | C57BL/6 | Laboratorios Charles Rivers | 45                                    | 4,87                                       | 6                                                         | Cubículo                   |
|           | DBA/2   | Laboratorios Charles Rivers | 39                                    | 7,34                                       | 4                                                         | Cubículo                   |
|           | C3H/He  | Laboratorios Charles Rivers | 28                                    | 6,8                                        | 5                                                         | Cubículo                   |
| D         | BALB/c  | Bioterio C                  | 28                                    | 3,78                                       | 5                                                         | Cubículo                   |
|           | C57BL/6 | Bioterio C                  | 18                                    | 5,29                                       | 6                                                         | Cubículo                   |

Tabla II. Prueba de homogeneidad de Bartlett.

| Cepa    | Fuente   | Grados de libertad (Df) | $\chi^2$ | P      |
|---------|----------|-------------------------|----------|--------|
| BALB/c  | Bioterio | 4                       | 6.8207   | 0.1457 |
| C57BL/6 | Bioterio | 2                       | 9.0513   | 0.1080 |

del esquema de los sistemas de producción planteado internacionalmente para estas cepas, el cual minimiza las probabilidades de contaminación genética, con la estructura de los esquemas que siguen los diferentes bioterios nacionales, de no cumplirse éste cualquier estudio de control genético posterior no tendría validez, debido a que si una producción de cepas consanguíneas de ratones no está estructurada como se ha planteado, difícilmente los ratones producidos podrán tener la pureza genética característica de la cepa referida. Cuando se desarrolla y mantiene una colonia de cepas de ratones consanguíneos se debe seguir una producción estructurada en un núcleo de fundación, un núcleo pedigrí de expansión y un núcleo de producción.

Dentro de la estructura establecida para el núcleo de fundación, generalmente, éste está formado por varias parejas reproductoras (apareadas en forma monogámica) las cuales forman líneas separadas; éstas parejas proceden de una sola pareja reproductora (pareja ancestral). Al comparar los esquemas de producción de los cuatro bioterios estudiados, solamente el Bioterio B es algo diferente, debido a que, hasta el momento de la toma de datos, el esquema que se seguía para la producción de los ratones de las cepas consanguíneas mantenía diez unidades contentivas de varias parejas, las cuales pudiesen ser consideradas como líneas, sin embargo, para realizar el reemplazo de las parejas reproductoras con las

crías del tercer o cuarto parto, se intercambiaban los animales entre líneas (unidades). El resto de los bioterios siguen esquemas para la producción de los ratones similares a los planteados internacionalmente, lo que garantiza un buen manejo de la producción.

## DISCUSIÓN

El análisis de los factores de producción realizado fundamenta y justifica un estudio de control genético a nivel de técnicas de laboratorio. Las cepas consanguíneas de ratones que se producen en el país proceden de laboratorios en los cuales certifican la calidad genética de los mismos, mantienen los esquemas de los sistemas de producción en la forma como es planteada internacionalmente en la producción de estas cepas; otro dato de interés es que las cepas que se producen en el país deben tener un porcentaje de consanguinidad aproximado a  $F=98,7\%$ , pues, en su mayoría cuentan con las veinte generaciones de apareamientos sucesivos entre hermanos, tal como lo especifica la definición de estas cepas; a pesar de esto, se puede sospechar de alguna contaminación genética debido a que cuando se analiza el parámetro número de crías nacidas por camada mediante la prueba *t-Student* se puede observar que existen diferencias significativas estadísticamente con respecto al estándar internacional del número de crías nacidas por camada en las cepas producidas en el país.

Tabla III. Análisis de varianza para las cepas BALB/c y C57BL/6.

|         | Fuente de variación | Suma de Cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados Medios | F     | P        |
|---------|---------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------|----------|
| BALB/c  | Bioterio            | 301,9255          | 4                  | 75,4814          | 17,16 | <.0001 * |
|         | Error               | 923,9069          | 210                | 4,399            |       |          |
|         | Total correcto      | 1225,8325         | 214                |                  |       |          |
| C57BL/6 | Bioterio            | 10,08602          | 2                  | 5,043            | 1,37  | 0,259    |
|         | Error               | 331,6129          | 90                 | 3,684            |       |          |
|         | Total correcto      | 341,6129          | 92                 |                  |       |          |

P: calculado con  $\alpha = 0,05$ ; \*: La diferencia es altamente significativa.

**Aclaratoria:** En el estudio realizado solo se analizan cuatro bioterios, sin embargo, como el bioterio B mantiene en producción dos cepas BALB/c de diferente procedencia, cuando se realiza el análisis de los datos de esta cepa se hace mención de cinco bioterios (A, B, C, D y E), con la finalidad de hacer un mejor manejo del programa usado, esta observación es sólo para el análisis de la cepa referida; de manera que, cuando se hace referencia en la Tabla IV, a los bioterios B y C se habla del mismo bioterio B (B - cepa de procedencia internacional y C - cepa de procedencia nacional), refiriéndose a cada una de las cepas que en éste se producen; cuando se hace mención de D se refiere al bioterio C y cuando se hace mención a E se refiere al bioterio D, igualmente es válida esta aclaratoria para los datos presentados en los anexos E y G.

**Tabla IV. Análisis t-Student para las cepas BALB/c, C57BL/6, DBA/2 y C3H/He.**

| Cepa    | Bioteri | Número de muestras | —    | Desviación estándar (ST Dev) | Error estándar (Std error) | t      | Grados de Libertad | P        |
|---------|---------|--------------------|------|------------------------------|----------------------------|--------|--------------------|----------|
| BALB/c  | A       | 43                 | 5.91 | 2.02                         | 0.31                       | 2.92   | 42                 | 0.0053   |
|         | B       | 43                 | 6.81 | 2.52                         | 0.38                       | 4.72   | 42                 | <.0001 * |
|         | C       | 43                 | 5.67 | 2.21                         | 0.34                       | 2.000  | 42                 | 0.0520   |
|         | D       | 43                 | 3.58 | 1.74                         | 0.26                       | -5.361 | 42                 | <.0001 * |
|         | E       | 43                 | 4.16 | 1.91                         | 0.29                       | -2.868 | 42                 | 0.0064 * |
| C57BL/6 | A       | 31                 | 4.48 | 1.93                         | 0.35                       | -4.374 | 42                 | 0.0001 * |
|         | C       | 31                 | 4.87 | 1.34                         | 0.24                       | -4.708 | 42                 | <.0001 * |
|         | D       | 31                 | 5.29 | 2.36                         | 0.42                       | -1.678 | 42                 | 0.1038   |
| DBA/2   | C       | 19                 | 7.32 | 2.11                         | 0.48                       | 6.851  | 42                 | <.0001*  |
| C3H/He  | C       | 20                 | 6.80 | 0.62                         | 0.14                       | 13.077 | 42                 | <.0001*  |

P: calculado con  $\alpha = 0,05$ ; \*: La diferencia es altamente significativa

El parámetro zootécnico número de crías nacidas por camada está determinado genéticamente y cualquier alteración del mismo puede conllevar a sospechar de una contaminación genética (Nomura *et al.*, 1984; Silver, 19995; Benavides y Guénet, 2003). Este resultado puede ser reforzado cuando se observan las condiciones de alojamiento en las cuales se encuentran las cepas en la mayoría de los bioterios, los cuales no presentan barreras efectivas de separación entre las diferentes cepas que se producen en éstos, lo que aumenta la probabilidad de sospechar la presencia de contaminación de éstas cepas.

Ante esta situación se recomienda la planificación y ejecución de un control genético (Control tipo II) para garantizar que no existe contaminación genética de las cepas y que las diferencias estadísticamente observadas son producto probablemente de mutaciones o problemas nutricionales. Éste control genético está dado por el estudio de marcadores moleculares polimórficos, entre los cuales se pueden usar los microsatélites los cuales son considerados una herramienta valiosa para tal propósito.

### Evaluation of reproductive parameters for genetic contamination in mouse strains inbred.

#### SUMMARY

Inbred strains of mice are used in biomedical research because characteristics such as homozygosis

and isogenicity which result from mated brother and sister, descendants of an original pair for more than twenty consecutive generations. The genome integrity of these strains can be altered by genetic contamination, mutations and genetic drift. Genetic contamination is the most common problem affecting the genome of the animals of production colonies. The evaluation of some production factors can be used as warning of genetic contamination. If, after these production factors have been evaluated, it seems that there is genome alteration in the strain, it is advisable to apply any specific laboratory technique. In the present study some of the production parameters of the colonies of inbred strains of mice bred in Venezuela were evaluated; these are: conditions of the animals quarters, reproductive zootechnic parameters; number of offspring per litter. Results of this evaluation led to recommending the analysis of some molecular markers as microsatellites that are the most appropriate technique for this purpose.

**Key words.** Mouse strains inbred, genetic contamination, reproductive parameters

#### REFERENCIAS

- AsoVAC (2004). Base de datos – Resúmenes de trabajos presentados en la L Convención. Disponible: <http://www.asovac.org.ve> [Consulta: 2004, Febrero 20].
- Bailey D. W. (1982). How pure and inbred strains of mice? *Immunology Today*. **3**: 210-214.

- Benavides F. & Guénet J-L.(2003). *Manual de genética de roedores de laboratorio. Principios básicos y aplicaciones*. Universidad de Alcalá. Laboratory Animals Ltd. SECAL.
- Bonhomme F., Catalan J., Britton-Davidian J., Chapman V., Moriwaki K., Nevo E. & Thaler L. (1983). Biochemical Diversity and Evolution in the Genus Mus. *Biochemical Genetics*. **22**: 275-303.
- Festing M. F. W. (1982). Genetic contamination of laboratory animal colonies: an increasingly serious problem. *ILAR News*. **25**: 6-10
- Festing M. F. W. (1990). Introduction to genetic monitoring. *Scand. J. Lab. An. Sc.* **17**: 119-125.
- Festing M. F. W. (1993). Genetic quality control in laboratory rodents. *Aging Clin. Exp. Res.* **5**: 309-315.
- Festing M. F. W. & Totman P. (1980). Polyvalent strain-specific alloantisera as tools for routine genetic quality control of inbred and congenic strains of rats and mice. *Lab. Anim.***14**: 173-177.
- Green M. C., Beechey C. V., Davisson E. P., Evans E. P., Lane P. W., Lyon M. F., Roderick T. H., Searle A. G., Shreffler D. C., Staats J., Taylor B. A. & Womack J. E. (1981). *Genetic Variants and Strains of Laboratory Mouse*. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart NY.Ch 1.
- Kahan B., Auerbach R., Alter B. J. & Bach F. H. (1987). Histocompatibility and isoenzyme difference in commercial supplied BALB/c mice. *Science*. **217**: 379-81
- Lyon M. C., Rastan S. & Brown S. (1996). *Genetic Variants and Strains of the Laboratory Mouse*. Oxford University Press. NY.
- Matthew W., Trambley J., Ha Jongwon, Adams A., Durham M., Rees P., Cowan S., Pearson T. & Larsen Ch. (2000). Genetic Characterization of Strain Differences in the Ability to Mediate CD40/CD28-Independent Rejection of Skin Allografts. *The Journal of Immunology*. **164**: 68-50.
- Nomura T., Esaki K. & Tomita T. (1984). *Manual for Genetic Monitoring in inbred mice*. ICLAS. University of Tokyo Press.
- Petkov P. M., Ding Y., Cassell M. A., Zhang W., Wagner G., Sargent E. E., Asquith S., Crew V., Johnson K. A., Robinson P., Scott V. E. & Wiles M. E. (2004a). An Efficient SNP System for Mouse Genome Scanning and Elucidating strain Relationships. *Genome Research*. **14**: 1806-1811.
- Petkov P. M., Cassell M. A., Sargent E. E., Donnelly C. J., Robinson P., Crew V., Asquit S., Harr R. V. & Wiles M. V. (2004b). Development of a SNP genotyping panel for genetic monitoring of the laboratory mouse. *Genomic*. **83**: 902-911.
- Silver L. M. (1995). *Mouse Genetics. Concepts and Applications*. New York: Oxford University Press.
- Silvers W. & Gasser D. (1973). The Genetic divergence of sublines as assessed by Histocompatibility Testing. *Genetics*. **75**: 671-677.
- The Jackson Laboratory. (2003) *Jax Mice*. [Catálogo]. Bar HARBOR, Maine. USA.
- West J., Lyon M., & Peters J. (1985). Genetic differences between substrains of the inbred mouse strain 101 and designation of a new strain 102. *Genet. Res.* **46**: 349-352

Recibido el 28/11/2005  
Aceptado el 05/10/2006