

EEN PRAKTISCH (S)TIPJE:



eenvoudige methode voor de geslachtsbepaling van pasgeboren gepigmenteerde muizen

Inge G. Wolterink-Donselaar

Rudolf Magnus Instituut voor Neurowetenschappen, Universitair Medisch Centrum Utrecht

Afdeling Farmacologie en Anatomie

email i.g.wolterink@med.uu.nl

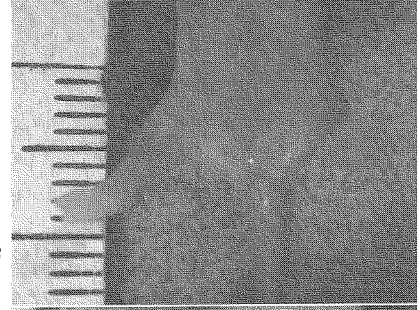
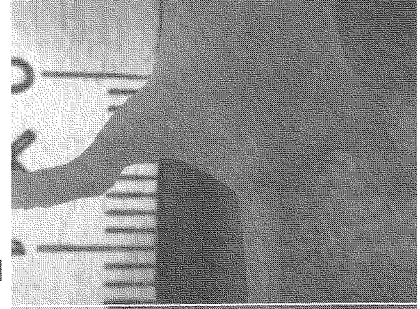
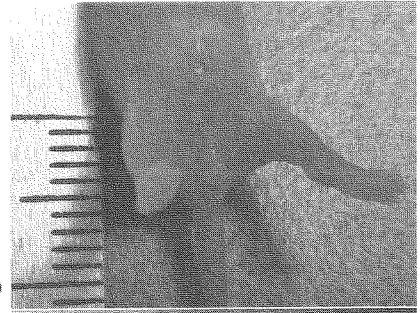
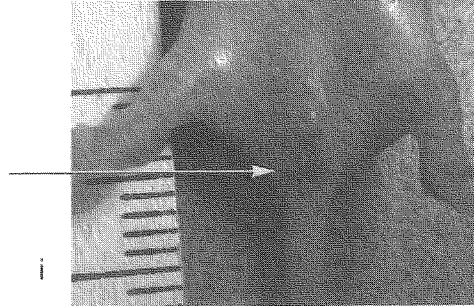
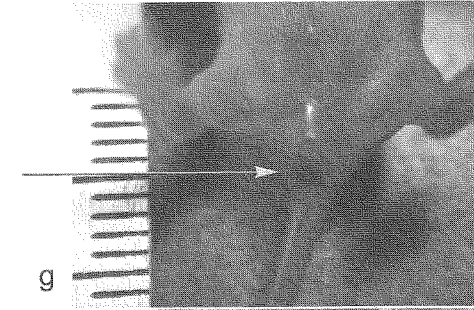
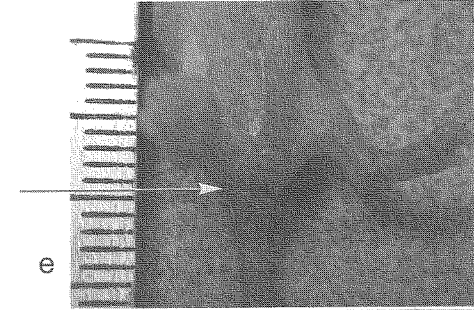
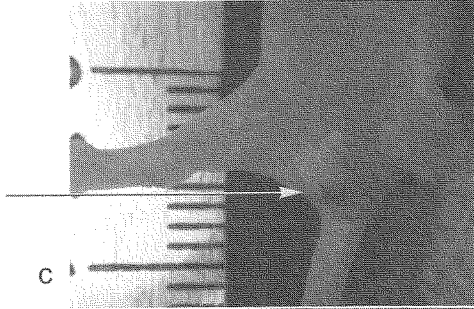
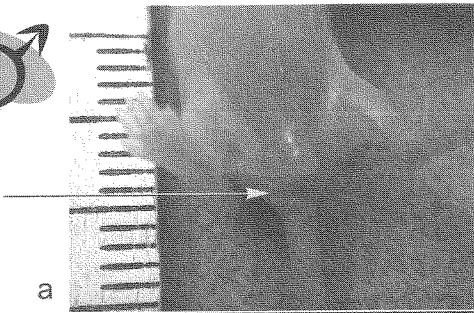
Voor genetische- en recombinant DNA studies in genetisch gemodificeerde muizen is een efficiënte fok vereist. De muis is in vergelijking met andere zoogdieren een gemakkelijk te fokken en te hanteren diersoort (1). De draagtijd van muizen is 19-21 dagen en de fokmoeders werpen gemiddeld 5-10 pups per nest. Voor genetische- en ontwikkelingsstudies wordt er in toenemende mate gebruik gemaakt van pasgeboren muizenpuppies.

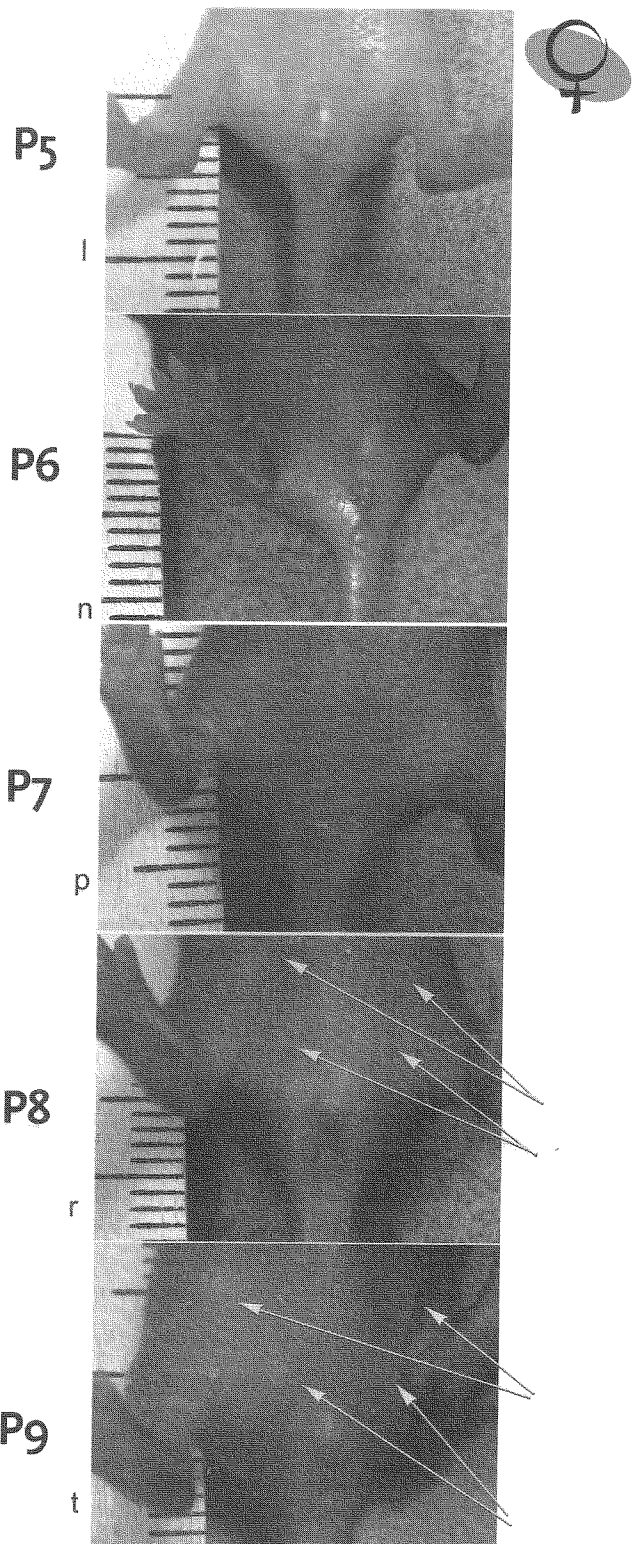
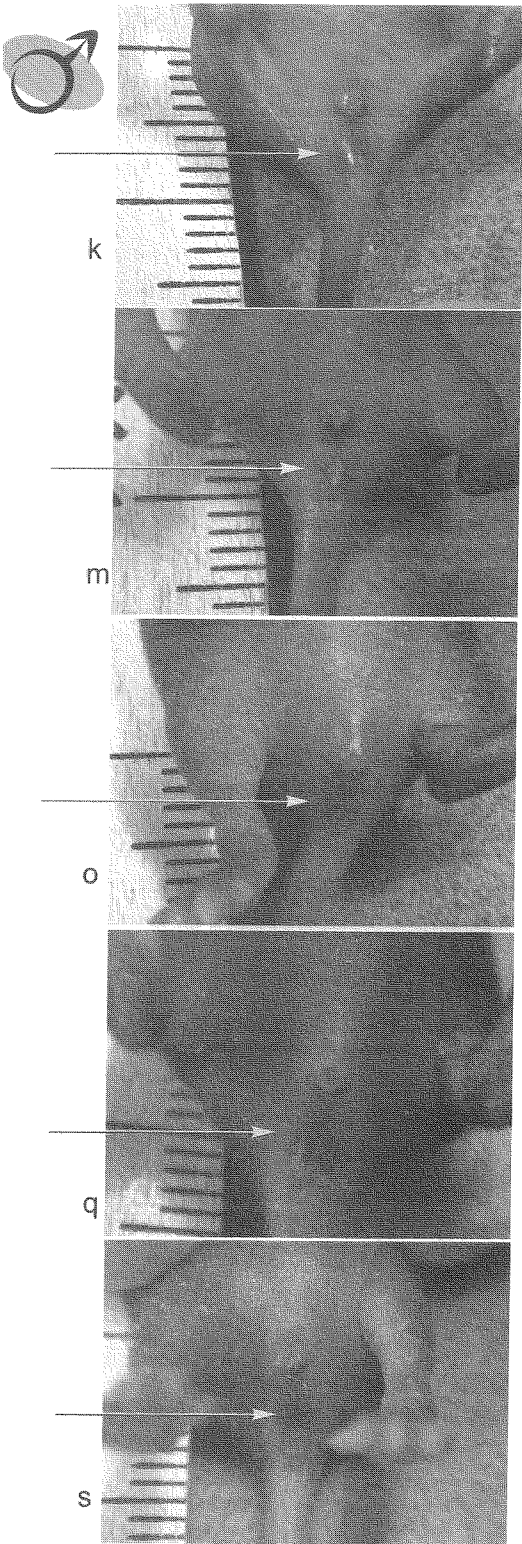
Voor veel onderzoek is het belangrijk om al in een vroeg stadium het geslacht van de pups te kunnen bepalen. Meestal wordt het geslacht van de pups vastgesteld op basis van het verschil in anogenitale afstand. Maar de eerste levensdagen na de geboorte is het geslacht vaak moeilijk te bepalen omdat het verschil in anogenitale afstand tussen mannelijke en vrouwelijke pups nog klein is. Er is dus duidelijk een behoefte aan een andere methode voor vroege geslachtsbepaling bij muizen.

Bij vrouwelijke muizen zijn vanaf de achtste à tiende dag na de geboorte de tepels al goed te zien (Afb. 1, rechts). Dit is niet het geval bij de mannelijke muizen. Bij de mannetjes heeft 18-28 dagen na de geboorte de penis zich volledig ontwikkeld. De anogenitale afstand kan bij een pasgeboren pupje beter zichtbaar worden gemaakt door de onderrug van het pupje licht naar achteren te buigen waardoor de genitale regio wordt opgerekt. Ook helpt het bij de geslachtsbepaling om de puppies naast elkaar te houden en te vergelijken, mits beide geslachten in het nest aanwezig zijn.

Voor de geslachtsbepaling van speenlingen (ca. drie weken oude muizen) en volwassen muizen wordt er meestal gekeken naar de afstand tussen de externe genitaliën en de anus, welke bij de mannelijke muizen over het algemeen zo'n 50% groter is dan bij de vrouwelijke muizen. Bij volwassen mannetjes is het scrotum (en de testes, mits ingedaald) goed zichtbaar.

Al met al blijft het moeilijk het geslacht van pasgeboren muizenpuppies vast te stellen en is ervaring nodig voor een betrouwbare vroege geslachtsbepaling.





Afbeelding 1:
Verschil in anogenitale pigmentatie bij pasgeboren mannelijke en vrouwelijke muizen vanaf postnatale dag 0 (Po) tot en met

dag 9 (P9). Bij de mannelijke muizen is het pigmentstipje al vanaf Po te zien op het scrotum (a). Bij de vrouwelijke muizen zijn vanaf dag 8 (P8) de tepels als stipjes goed zichtbaar (r).

Praktische (s)tip

Een tweede kenmerk waarop het geslacht van een muizenpup kan worden gebaseerd is de aanwezigheid van een pigmentvlekje op het scrotum van mannelijke gepigmenteerde muizen (Afb. 1, links). Als praktische (s)tip is het de moeite waard dit vlekje verder te belichten.

Op de geboortedag (dag 0 = P0) van de mannelijke muizenpuppies zijn er, onder een bepaalde lichtinval, in het scrotum al duidelijk bruine pigmentcellen zichtbaar (Afb. 1a). Deze pigmentatievlek wordt intenser naarmate de puppies ouder worden. Op dag 1 na de geboorte is de pigmentvlek goed zichtbaar (Afb. 1c). Een pigmentvlek in de anogenitale streek is bij pasgeborene vrouwelijke gepigmenteerde muizen afwezig (Afb. 1d).

Een paar voorbeelden van muizenstammen waarbij pasgeborene mannelijke puppies een donkere pigmentvlek op het scrotum laten zien zijn:

C57BL/6J, C57BL/6J-Chr 1^A t/m 19^A/NaJ (behalve de C57BL/6J-Chr 7^A/NaJ-stam), CSSX en CSSY die alle zwart zijn en de C57BL/6J-Chr 4^A/NaJ-stam die bruin is. De witte A/J-stam en de witte C57BL/6J-Chr 7^A/NaJ-stam vertonen geen pigmentvlek (Tabel 1).

Bij licht gepigmenteerde muizenstammen hebben de pasgeborene mannelijke muizen niet altijd een cluster van gepigmenteerde cellen, bijvoorbeeld bij de DBA/2J-muizenstam.

De niet-gepigmenteerde pasgeborene mannelijke muizen hebben simpelweg geen pigment en dus geen pigmentvlek op het scrotum. Het geslacht van pasgeborene niet-gepigmenteerde muizenstammen kan dan ook alleen worden bepaald op basis van het verschil in afstand tussen de externe genitaliën en de anus.

Het pigmentvlekje is bijzonder handig en tijdsbesparend bij de geslachtsbepaling, bij het fokken van de muizen en bij het plannen van experimenten.

De ervaring binnen de Afdeling Farmacologie en Anatomie in het Rudolf Magnus Instituut voor Neurowetenschappen is, dat geslachtsbepaling op grond van het pigmentvlekje vanaf de geboorte tot aan de speenleeftijd voor 100% betrouwbaarheid is.

Mocht deze pigmentatie ook op het scrotum van andere diersoorten voorkomen, dan zou ik hier graag over worden ingelicht.

Dankwoord

Jenny Meerding (H10-stagiaire), Jan Doorn (fotografie) en dr P.N.E. de Graan (groepsleider) worden hartelijk bedankt voor hun bijdrage aan dit artikel.

Tabel 1: aanwezigheid van een pigmentvlek bij verschillende muizenstammen.

stam	haarkleur	pigmentvlek
A/J	wit	nee
C57BL/6J-Chr 7 ^A /NaJ	wit	nee
129X1/SvJ	wit	nee
C57BL/6J-Tyr ^{c-2J} /J	wit	nee
DBA/2J	dilute brown	nee
129S6/SvEvTac@Bom	agouti	ja
C57BL/6J-Chr 4 ^A /NaJ	bruin/grijs	ja
C57BL/6J	zwart	ja
C57BL/6J-Chr 1 ^A t/m 3 ^A /NaJ	zwart	ja
C57BL/6J-Chr 5 ^A +6 ^A /NaJ	zwart	ja
C57BL/6J-Chr 8 ^A t/m 19 ^A /NaJ	zwart	ja
C57BL/6J-Chr X ^A /NaJ	zwart	ja
C57BL/6J-Chr Y ^A /NaJ	zwart	ja

Literatuur

- 1 Silver LM, (1995). *Mouse Genetics*. Oxford University Press, Engeland

