

## MODELIZACIÓN DE LA VARIABILIDAD MUTACIONAL SEGÚN LA EDAD DE LOS PROGENITORES EN RATONES C57BL/6J

Castillo<sup>1</sup>, M., Medrano<sup>2</sup>, J. F. y Casellas<sup>1</sup>, J.

<sup>1</sup>Dep. Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra. joaquim.casellas@uab.cat. <sup>2</sup>Dep. of Animal Science, University of California, Davis, California, 95616-8521, EUA.

### INTRODUCCIÓN

Las mutaciones se presentan frecuentemente en mamíferos y son de gran interés, bien sea porque poseen un valor intrínseco evolutivo que se fundamenta en la variabilidad genética que producen, o bien porque pueden representar una amenaza por sus posibles efectos deletéreos. Las nuevas mutaciones se originan aleatoriamente, pueden aparecer en cualquier parte del genoma, y se heredaran influyendo en el fenotipo de las generaciones sucesivas. Partiendo de esta premisa, podemos inferir que la variabilidad genética en cualquier población de animales deriva en parte de la contribución de múltiples mutaciones que van apareciendo de generación en generación. Si bien la importancia de la variabilidad producida por las mutaciones ha sido sugerida por varios investigadores en las últimas décadas (Hill, 1982a,b; Caballero et al., 1991; Keightley, 1998; Casellas y Medrano, 2008), existen pocas estimaciones de la varianza mutacional en mamíferos, y la influencia que ejercen ciertos factores como la edad de los progenitores sobre la variabilidad mutacional es muy poco conocida.

La presente investigación se fundamenta en la modelización de la varianza mutacional de origen paterno y materno sobre el peso a las tres semanas de edad en ratones C57BL/6J; adaptando los procedimientos desarrollados por Wray (1990) sobre la base de los modelos BLUP de evaluación genética (Henderson, 1973), se pretende no solamente estimar la magnitud de la varianza mutacional sino también como evoluciona esta a medida que envejecen los progenitores.

### MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se realizó utilizando como fuente de datos una cepa consanguínea C57BL/6J, que fue mantenida en la Universidad de California (Davis, California, EUA) durante 46 generaciones no solapadas, entre octubre de 1988 y mayo de 2005. Esta línea fue fundada a partir de dos machos y seis hembras procedentes de *The Jackson Laboratory* (Bar Harbor, Maine, EUA). Se produjeron de 2 a 5 generaciones por año y cada generación involucraba entre 2 y 28 machos, y entre 6 y 49 hembras, produciendo un promedio de 21,6 camadas; el número de camadas por generación era muy variable en función de la necesidad de ratones para experimentación. Para obtener cada nueva generación, se seleccionaron machos y hembras al azar de unas pocas camadas de la generación anterior, favoreciendo los apareamientos entre hermanos completos. Todos los ratones fueron alimentados con pienso Purina 5008 (Ralston Purina Company, St. Louis, Missouri, EUA; 23,5% de proteína, 6,5% de grasa, 3,3 kcal/g) y el agua se ofreció *ad libitum*. Los animales fueron alojados en jaulas de policarbonato en condiciones controladas de temperatura (21° ± 2°), humedad (40-70%), e iluminación (14 horas de luz y 10 horas de oscuridad), y se manejaron de acuerdo con las directrices de la *American Association for Accreditation of Laboratory Animal Care* (<http://www.aaalac.gov>). En todas las generaciones se registraron padre y madre, fecha de apareamiento, fecha de nacimiento y número de crías al nacer (vivos y muertos). Los ratones se pesaron al destete (3 semanas de edad) y fueron marcados individualmente mediante muescas en las orejas. Una vez editados los datos se analizaron los pesos al destete de 12.644 ratones (10,48 ± 0,02 g) con una genealogía compuesta por 13.024 animales.

Los análisis se realizaron bajo el siguiente modelo,

$$y = Xb + Z_1p + Z_2a + Z_2m_p + Z_2m_m + e$$

donde  $y$  era el vector de fenotipos influidos por efectos sistemáticos ( $b$ ), ambientales permanentes de la camada ( $p$ ), genéticos aditivos ( $a$ ), y mutacionales de origen paterno ( $m_p$ ) y materno ( $m_m$ ),  $e$  era el vector de residuos, y  $X$ ,  $Z_1$  y  $Z_2$  eran las matrices de incidencias respectivas. Desde un punto de vista Bayesiano, se asumió que los datos seguían una distribución normal multivariante,

$$p(y|b,p,a,m_p,m_m,\sigma_e^2) = NMV(Xb + Z_1p + Z_2a + Z_2m_p + Z_2m_m, I\sigma_e^2)$$

donde  $\sigma_e^2$  correspondía a la varianza residual del carácter. También se asumieron distribuciones normales multivariantes para los efectos ambientales permanentes y genéticos aditivos,

$$p(\mathbf{p}|\sigma_p^2)=NMV(\mathbf{0},\mathbf{I}\sigma_p^2) \quad p(\mathbf{a}|\mathbf{A},\sigma_a^2)=NMV(\mathbf{0},\mathbf{A}\sigma_a^2),$$

siendo  $\sigma_p^2$  la varianza ambiental permanente,  $\sigma_a^2$  la varianza genética aditiva, y  $\mathbf{A}$  la matriz de parentescos aditivos. En cuanto a los efectos mutacionales, se partió del procedimiento descrito por Wray (1990) para computar las matrices parciales de parentescos mutacionales condicionadas a cada individuo "i" de la genealogía ( $\mathbf{M}_i$ ), siendo  $\mathbf{m}_p = \mathbf{m}_{p,1} + \mathbf{m}_{p,2} + \dots + \mathbf{m}_{p,13024}$  la suma de los efectos mutacionales paternos condicionados a las nuevas mutaciones acaecidas en cada individuo. Así pues, la distribución a priori para  $\mathbf{m}_{p,i}$  (y también para  $\mathbf{m}_{m,i}$ ) se asumió normal multivariante,

$$p(\mathbf{m}_{p,i}|\mathbf{M}_i,\sigma_{mp}^2,\lambda_p)=NMV(\mathbf{0},\mathbf{0.5M}_i\sigma_p^2[1+\epsilon_{p,i}\lambda_p]),$$

con la salvedad de jerarquizar la varianza mutacional paterna ( $\sigma_{mp}^2$ ), incluyendo en el modelo la edad del padre en el momento de concebir al individuo  $i$  ( $\epsilon_{p,i}$ ), así como el coeficiente de regresión lineal correspondiente sobre dicho parámetro ( $\lambda_p$ ); para los demás parámetros del modelo se asumieron distribuciones a priori planas. El análisis se realizó mediante procedimientos de cadenas de Markov de Monte Carlo, realizando un total de 500,000 iteraciones después de descartar las primeras 10,000 como *burn-in*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tal como se detalla en la Tabla 1, la variabilidad genética en esta línea de ratones consanguíneos resultó relativamente alta, tanto en lo referente a la varianza genética aditiva presente ya en la generación de fundadores ( $\sigma_a^2$ ), como en el caso de la variabilidad originada *de novo* a partir de mutaciones. Mientras que  $\sigma_a^2$  explica aproximadamente el 9% de la variabilidad total, la varianza mutacional tanto paterna como materna presenta valores mucho más bajos, aunque su intervalo de credibilidad descarta claramente el cero; de hecho, los resultados sugirieron que la varianza mutacional paterna podía ser ligeramente superior a la materna, aunque sus intervalos de credibilidad se solapaban claramente. Al considerar la posibilidad de que estas varianzas mutacionales puedan evolucionar con la edad de los progenitores, el análisis reportó un comportamiento claramente antagónico entre los dos sexos. Mientras la varianza mutacional de origen paterno aumentaba linealmente con la edad del padre (Figura 1), la varianza mutacional materna no evidenció ningún tipo de evolución relacionada con la edad de la madre. Esto sugeriría que se podría estar dando una acumulación de nuevas mutaciones en las células germinales de los machos a lo largo de su vida reproductiva, tal como se ha sugerido en otras especies como la humana dentro del ámbito de la base genética del autismo (Callaway, 2012), mientras que en hembras el impacto de las nuevas mutaciones sería independiente de la edad.

Estos resultados evidencian la importancia de las nuevas mutaciones incluso en líneas de animales de laboratorio consideradas isogénicas, permitiendo un mejor conocimiento de la arquitectura genética de los mamíferos, así como caracterizando detalladamente el comportamiento diferencial del patrón mutacional en función del sexo de cada progenitor implicado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Callaway, E. 2012. Nature 488:439
- Casellas, J., Medrano, J.F. 2008. Genetics 179:2147-2155
- Caballero, A., Toro, M.A., López-Fanjul, C. 1991. Genetics 127:89-102
- Henderson, C.R. 1973. Proc. Anim. Breed. Genet. Symp. In Honor of Dr. Jay L Lush. ASAS-ADSA, Champaign, IL, EUA, 10-41
- Hill, W.G. 1982a. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79:142-145
- Hill, W.G., 1982b. Genet. Res. 40:255-278
- Keightley, P.D. 1998. Genetics 148:1931-1939
- Wray, N. R., 1990. Biomet. 46: 177-186.

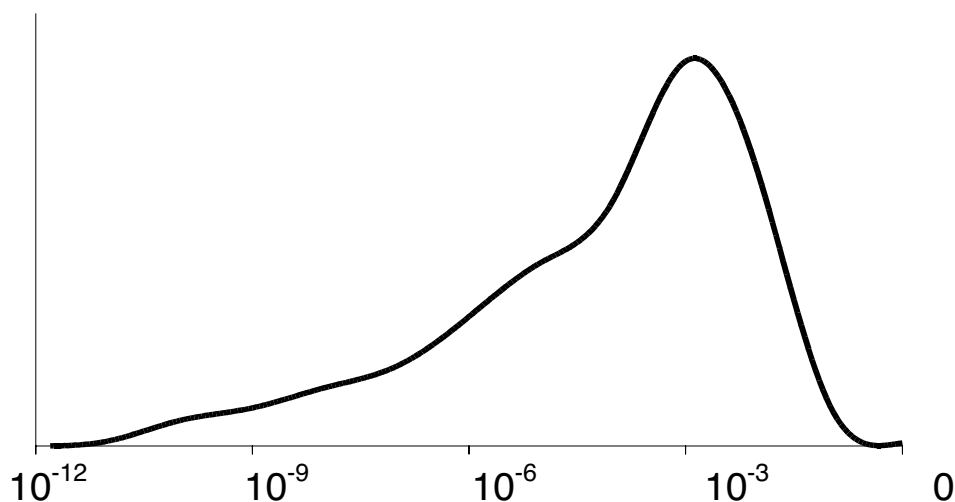
**Agradecimientos:** A Vince De Vera por el cuidado de los animales y la recopilación de la información tanto genealógica como fenotípica. Este trabajo se engloba dentro de la tesis doctoral de M. Castillo, financiada a través del Programa de Becas, Autorizaciones y Sabáticos de la Universidad de Los Andes (Mérida, Venezuela). La posición de investigación de J. Casellas se vincula al programa Ramón y Cajal (RYC-2009-04049).

**Tabla 1.** Caracterización de los componentes de varianza y parámetros relacionados correspondientes al análisis del peso a las tres semanas en ratones C57BL/6J.

Parámetro <sup>a</sup>	Media	Percentiles (2,5% a 97,5%)
$\sigma_a^2$	0,411	0,192 a 0,583
$\sigma_p^2$	1,513	0,879 a 2,115
$\sigma_e^2$	2,089	1,731 a 2,257
$\sigma_{mp}^2$	0,113	0,069 a 0,163
$\lambda_p$	0,001	$10^{-5}$ a 0,051
$\sigma_{mm}^2$	0,052	0,020 a 0,097
$\lambda_m$	0,000	— <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Varianzas genética aditiva ( $\sigma_a^2$ ), ambiental permanente ( $\sigma_p^2$ ), residual ( $\sigma_e^2$ ), y mutacional paterna ( $\sigma_{mp}^2$ ) y materna ( $\sigma_{mm}^2$ ), además de los coeficientes de regresión sobre la edad del padre ( $\lambda_p$ ) y la madre ( $\lambda_m$ ) en el momento de la concepción de cada individuo.

<sup>b</sup>Los muestreos para  $\lambda_m$  confluyeron a cero



**Figura 1.** Distribución marginal posterior para el efecto de la edad (días) sobre el componente de varianza mutacional paterna.

#### ACCOUNTING FOR MUTATIONAL VARIABILITY IN C57BL/6J MICE ON THE BASIS OF PARENT'S AGE

**ABSTRACT:** New mutations are a very relevant component of polygenic variability. Nevertheless, the biological phenomena that originate new mutational variants are poorly understood, particularly in regard to the impacts that factors like a parent's age may have. This research focuses on the analysis of weaning weight in 12,644 C57BL/6J mice from 46 non-overlapping generations. The analytical model used included systematic, permanent environmental and genetic sources of variation, and accounted for independent mutational contributions from each parent. This parameterization allowed us to clearly characterize different mutational patterns associated with the sex of the parent. Whereas the variability of the mutational load from male parents increased with age, mutational variance originating in female parents remained constant along the female's reproductive lifespan.

**Keywords:** C57BL6J mice, age-related mutation, polygenic variability, weaning weight