



Forschungsinstitut  
für Nutztierbiologie

# Biologische Alterung in Dummerstorfer Mauslinien: ein Versuchsdesign zur Analyse des Einflusses von selektiver Züchtung

Dörte Wittenburg & Pål Westermarck

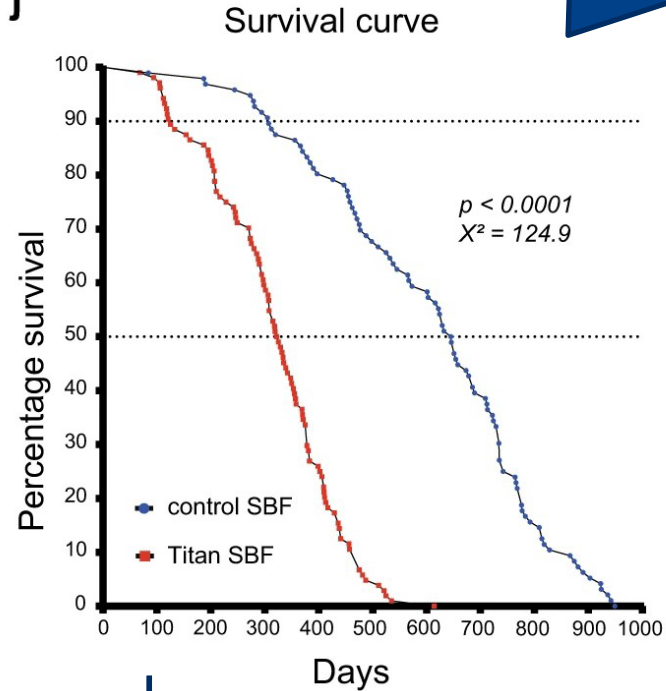
# Hintergrund

a



control  $\xrightarrow{180 \text{ Generations}}$  Titan

j



divergente Überlebensdauer

Altern die Titan-Mäuse  
schneller?  
Und ab wann?

# Biologisches Altern

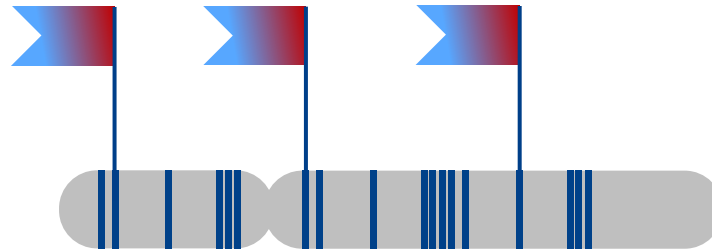


- Methylierung der DNA



methyliert  $\begin{cases} \rightarrow \text{ja} \\ \rightarrow \text{nein} \end{cases}$

- Prozent methylierter Einlesungen  $x$  in  $[0,1]$



Chromosom mit CpG Sites

- Regression des chronologischen Alters auf Methylierung% (“Methylierungsuhr”  $\rightarrow$  biologisches Alter)

# Versuchsdesign

## Zweifaktorielle ANOVA (allgemein)

$$y_{t,i,k} = \alpha_i + \beta_t + \gamma_{i,t} + \varepsilon_{i,t,k}$$

- Linie  $\alpha_i$  ( $i = 1,2$ )
- Alter  $\beta_t$  ( $t = 1,...,8$ )
- Replikat  $k = 1,...,6$
- Güte  $\geq 80$  % unter der Annahme, dass  $\eta^2 = 0,14$  (Effektstärke 0,4)

| Lebenswoche<br>(Altersklasse) | FZTDU<br>Kontrolle                | DU6<br>Titan                      |
|-------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 6<br>( $t = 1$ )              | $y_{1,1,1}$<br>...<br>$y_{1,1,6}$ | $y_{1,2,1}$<br>...<br>$y_{1,2,6}$ |
| 12<br>( $t = 2$ )             | $y_{2,1,1}$<br>...<br>$y_{2,1,6}$ | $y_{2,2,1}$<br>...<br>$y_{2,2,6}$ |
| 18                            |                                   |                                   |
| 24                            |                                   |                                   |
| 30                            |                                   |                                   |
| 36                            |                                   |                                   |
| 42                            |                                   |                                   |
| 48<br>( $t = 8$ )             | $y_{8,1,1}$<br>...<br>$y_{8,1,6}$ | $y_{8,2,1}$<br>...<br>$y_{8,2,6}$ |



# Was wird gemessen?



- Leberproben → DNA-Extraktion → Reduced representation bisulfite sequencing (RRBS)  
→ **DNA-Methylierungsdaten** von ca.  $L = 1,8$  M CpG Sites pro Maus
- Prozent methylierter Einlesungen  $x$  in  $[0, 1]$
- Standards für Qualitätskontrolle und Filterung
- Imputierung von Fehlwerten
- $L = 554.633$  CpG Sites
- $n = 2 \times 8 \times 6$  Mäuse

# Modell der Methylierungsuhr: Auswahl relevanter CpG Sites



- Lineares Modell für logarithmiertes chronologisches Alter (zentrierte Daten)

$$y_{t,1,k} = \sum_{l=1}^L x_{t,1,k,l} b_l + \varepsilon_{t,1,k,l}$$

- Elastic Net in Trainingsdaten

$$\hat{b} = \operatorname{argmin}_b \left\{ \|y - Xb\|_2^2 + \frac{1}{2} \|b\|_2^2 + \frac{1}{2} \|b\|_1 \right\}$$

→ selektierte CpG Sites mit  $b_l \neq 0$

- Vorhersage des **biologischen Alters** in Testdaten

$$\hat{y}_{t,2,k} = \sum_{l=1}^L x_{t,2,k,l} \hat{b}_l$$

# Workflow



Verschiedenen Szenarien für Split in Trainings- und Testdaten

1. Training FZTDU & Test DU6
2. Training DU6 & Test FZTDU
3. Training 50:50 DU6:FZTDU & Test 50:50 DU6:FZTDU in jeder Altersgruppe



Gemeinsame, selektierte CpG Sites in allen Szenarien („Grundticken“ der Methylierungsuhr)



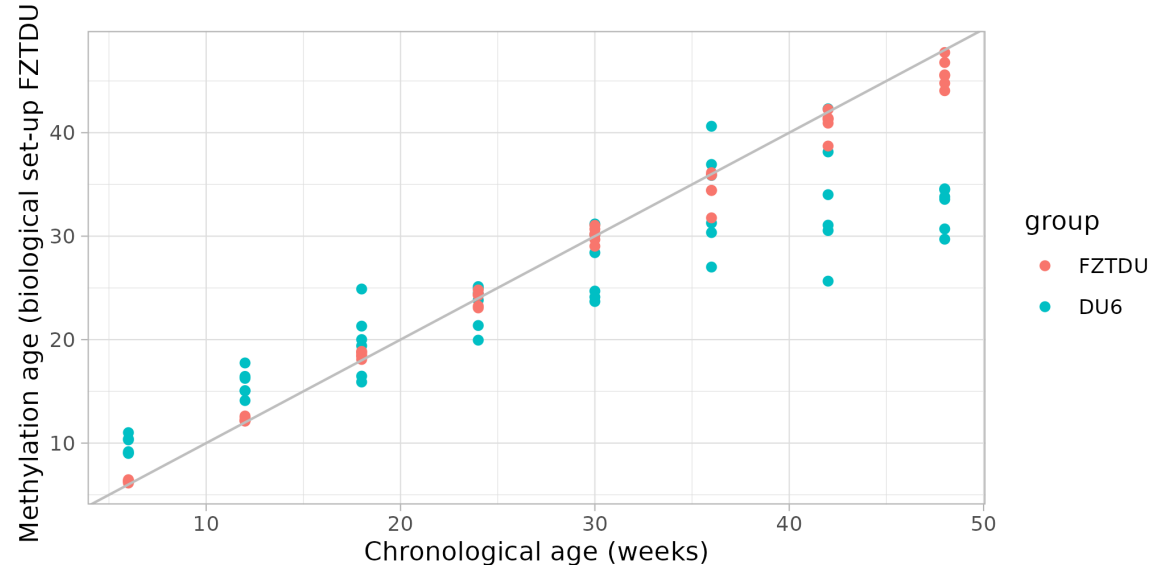
ANOVA an einzelnen CpG Sites

# Methylierungsuhr: Ergebnisse



## Beispiel

- Trainingsdaten: FZTDU
- Testdaten: DU6



- Biologisches Alter in DU6 <18 Wochen erhöht

Über alle Szenarien: keine divergente Geschwindigkeit des Alterns offensichtlich

- 12 gemeinsame CpG Sites über alle Szenarien: Methylierung% an einzelnen CpG Sites
- 11 CpG Sites mit sinkendem Methylierung% über die Zeit
- im Mittel liegt Methylierung% von DU6 über FZTDU



signifikant (korrigierter P-Wert)  
12x Alter ( $p < 10^{-15}$ )  
6x Linie ( $p < 0,09$ )

# Zusammenfassung und Ausblick



- Hoher Methylierung%  $\neq$  hohes biologisches Alter
- bei DU6 höhere Grundmethylierung (1 Woche)
- DU6 und FZTDU altern unterschiedlich, aber mit ähnlicher Geschwindigkeit
- Beispiel Huhn
  - Korrelation zwischen Entzündungswerten und biologischem Alter
- FBN: robuste Kühe
  - Funktionelle Langlebigkeit (FL) = lange Tiergesundheit?
  - Parametern des Immunsystems einbeziehen
  - Beginnt divergente Alterung (FL+ vs. FL-) schon als Kalb?



Forschungsinstitut für Nutztierbiologie  
Wilhelm-Stahl-Allee 2  
18196 Dummerstorf

[www.fbn-dummerstorf.de](http://www.fbn-dummerstorf.de)