Deelproject aanvraag

Projectnummer: -219
Ontvangst: 01-03-2010

I Project

Onderzoek

- *Aanvrager*

Naam	
Organisatie/Eenheid	
Onderafdeling	
Adres	
Postcode	
Plaats	
Telefoon	
E-mail	
Vergunninghouder	: [1] RUG

- *Algemeen*

Titel basisproject	: Telomeerlengte en snelheid van telomeerverkorting als biomarkers van veroudering en fenotypische kwaliteit.
Aanvang basisproject	: 01-04-2010
Gewenste duur	: 4 jaar
Voorgaande (deel)project(en)	:
Geldstroom	: [1] 1e geldstroom
Subsidiegever	: n.v.t.

- *Eind- of medeverantwoordelijke*

- *Andere personen betrokken bij de handelingen aan proefdieren*

Naam	Functie

Deelproject

- *Algemeen*

Titel deelproject	: Erfelijkheid van telomeerlengte en telomeerverkortingssnelheid bij kauwen
Aanvang deelproject	: 01-04-2010
Gewenste duur	: 2 jaar

II Onderzoeksopzet

- *Behaalde resultaten*

In project 4071 vonden we grote variatie in telomeerlengte tussen individuen van vergelijkbare leeftijd, en over de oorzaken van deze variatie is weinig bekend. In principe zijn er twee mogelijke oorzaken: 1 variatie in initiele of aangeboren telomeerlengte, 2 variatie in de snelheid waarmee telomeren korter worden, onder invloed van fysiologische parameters zoals oxidatieve stress en groei. Beide mogelijkheden sluiten elkaar niet uit. Om het relatieve belang te onderzoeken kijken we in eerste instantie naar de erfelijkheid van zowel telomeerlengte als telomeerverkorting. Vanuit de literatuur is bekend dat telomeerlengte erfelijk is bij zoogdieren. Het is nog onbekend of de snelheid van telomeerverkorting ook erfelijk is.

- *Vraagstelling van het deelproject*

In welke mate zijn telomeerlengte en telomeerverkorting erfelijk? Is het residu in variatie welke niet verklaard wordt door erfelijkheid in relatie te brengen tot fysiologische parameters als: oxidatieve stress en groei? Hangt de erfelijkheid van telomeerlengte en telomeerverkorting af van de leeftijd?

- *Onderzoeksopzet*

In dit onderzoek wordt het additieve genetische effect op telomeerlengte en telomeerverkorting bepaald op basis van genetische overeenkomst tussen (1) halfsiblings, en (2) de initiele telomeer lengte van ouders met de initiele telomeerlengte van hun jongen. Het voordeel van de halfsibling analyse is dat bepaald kan worden of de erfelijke eigenschappen van telomeer -lengte en verkorting verlopen via de vader of via de moeder, doordat halfsiblings of een vader of een moeder delen. Een ander voordeel is dat gecontroleerd kan worden voor nest-effecten, doordat halfsiblings in verschillende nesten geboren en grootgebracht worden. In dit onderzoek verkrijgen we halfsiblings door ouderpartner wisselingen, veroorzaakt door sterfte van een van de beide ouders. De jaarlijkse overleving van de kauw bedraagt ca. 65%, hetgeen betekend dat per jaar ongeveer 35% van de jongen genetisch halfverwant zijn met jongen uit het vorig jaar.

Voor de vergelijking tussen de initiele telomeerlengte van ouders met de initiele telomeerlengte van hun jongen hebben we metingen van jongen nodig welke in latere jaren terugkeren als recruit. Het percentage jongen dat terugkeert als broedvogel bedraagt ca 10%.

- *Beschrijving van de uitvoering van de experimenten*

Dezelfde nesten met jongen zullen gebruikt worden als in [redacted]. Deze nesten bevinden zich in de gemeente Haren, inclusief het biologisch centrum. Op het biologisch centrum plaatsen we gemiddeld twee dagen voor het uitkomen van de eieren deze in een broedstoof, zodat exact kan worden vastgesteld welk jong uit welk ei is gekomen. Terwijl de eieren in de broedstoof worden uitgebroed zullen kwarteleieren in het nest worden gelegd, deze eieren worden zonder problemen geaccepteerd door de ouders en hebben geen effect op het gedrag van de dieren. In de andere kolonies waar geen broedstoof voorhanden is wordt de volgorde van uitkomst zo nauwkeurig mogelijk geschat door dagelijkse nestcontroles. Jongen worden direct na uitkomst gemerkt door het afknippen van een nagelpunt, waarbij een bloedmonster genomen wordt voor de bepaling van het geslacht. Het nagelknippen gebeurt bij verschillende nagels bij de jongen binnen een broedsel. Als gevolg van het nagelknippen blijft de nagel stomp tot een leeftijd van 20-30 dagen, waardoor wij jongen individueel kunnen blijven herkennen. Verder zijn er geen gevolgen zichtbaar.

Lichaamsgroei wordt bepaald door de kuikens elke 5 dagen te wegen en meten. Telomeerlengte wordt gemeten in rode bloedcellen van 5-daags oude kuikens en 30-daags oude kuikens. De afname in telomeerlengte tussen dag 5 en dag 30 bedraagt gemiddeld 261 basenparen. Van zowel de telomeerlengte op dag 5, op dag 30 en de telomeerlengte verkorting zal de erfelijkheid worden bepaald. Tevens wordt onderzocht of de overgebleven variatie welke niet door genetische verwantschap verklaard kan worden in relatie te brengen is met oxidatieve stress en lichaamsgroei. Voor de oxidatieve stress metingen worden bloedmonsters genomen wanneer de kuikens 20 dagen oud zijn (0.5ml. een kuiken weegt dan ca 200 gram).

- *Ongerief voor dieren*

Handeling	Ongerief
bloedmonsters afnemen	[1] gering
Kauwen worden gevangen in hun nestkast. Van alle individuen worden bloedmonsters genomen met behulp van capillairs uit de Vena brachialis. Van de adulten wordt eenmalig .5 ml genomen (een Kauw weegt 200 - 250 g). Van de jongen wordt eenmalig een bloedmonster genomen van .5 ml (op 20 dagen oud, een jong weegt dan 200 g) en tweemalig een monster van 50ul (op 5 en 30 dagen oud, een jong op dag 5 weegt 50 g). Hierbij blijven we binnen de norm van 8 ml/kg lichaamsgewicht / 14 dagen. Tevens worden lichaamsmaten genomen, en wordt de vogel gewogen.	
Wegen en meten van de jongen	[1] gering
Jongen uit het nest halen om te wegen en meten levert milde stres voor de jongen en ouders. Er zijn ons geen nadelige effecten bekend op de ontwikkeling van de jongen, en na terugplaatsing in het desbetreffende nest hervatten de ouders snel weer hun natuurlijke gedrag.	

Totaal ongerief deelproject

[1] gering

Toelichting

Er zal geringe mate van stress optreden doordat kuikens van vrijlevende de vogels niet gewend zijn te worden gehanteerd door mensen. Bij bloedafname wordt de Vene brachialis (die goed zichtbaar vlak onder de huid ligt) slechts even aangeprikt. Na het terugplaatsen van de jongen in het desbetreffende nest hervatten de ouders snel weer hun natuurlijke gedrag.

Verfijning van uitvoering

n.v.t.

- *Dieren: soort(en) en aantal(len) voor de periode van dit deelproject*

Diersoort	Stam	Inteelt	Aantal
And. Vogels kauw Corvus monedula	n.v.t.	Geen inteelt	420

Motivering aantal dieren

De minimale effectgrootte die we aan willen kunnen tonen heeft een R-kwadraat van 20%. Volgens Russ Lenth's power calculator is dan een steekproefgrootte benodigd van n=36 nesten (nest bepaald hier de steekproefgrootte doordat de vergelijking van jongen tussen nesten is). Halfsiblings worden verkregen doordat 1 van de ouderpartners overlijdt en de overlevende ouder met een nieuwe partner opvolgende jaar terugkomt. Dit gebeurt met een frequentie van ca. 35%, de jaarlijkse overleving bedraagt 65%. Om het beoogde aantal nesten van n=36 te halen voor de halfsibling vergelijking hebben we dus per jaar 36*(1-0.35)= 60 nesten nodig. Gemiddeld zijn er 3.5 kuikens per nest, wat neerkomt op 210 jongen per jaar.

Van deze 210 jongen verwachten we dat ca 10% recruteerd in de populatie in opvolgende jaren. Omdat we niet van te vooren weten welke jongen terug zullen keren als recruut is het van belang om van alle jongen in jaar 1 en 2 de telomeerlengte te bepalen. Naar verwachting levert dit een totale steekproefgrootte op van 42 ouder-jong koppels, hetgeen voldoende zou zijn om een effectgrootte van R-kwadraat=20% aan te kunnen tonen.

Vermindering van aantallen

n.v.t.

III Proefdierkundige gegevens

- *Dieren: herkomst en huisvesting*

Herkomst van dieren

[5] gevangen in de vrije natuur, vervolgens weer vrijgelaten

Toelichting herkomst van dieren

in dit experiment worden de kuikens van vrijlevende kauwen gebruikt die in vrijheid blijven tijdens en na de proef.

Dieren uit ander onderzoek

Dieren in dit onderzoek zijn deels dezelfde vogels als gebruikt in het deelproject

Afwijkende huisvesting

vrijlevend

Locatie van de experimenten

[9] Elders nl.

Elders

gemeente haren incl. buitenterrein biologisch centrum

- *Anesthesie en pijnbestrijding*

Anesthesie

[1] wordt niet toegepast (geen aanleiding)

Welke of waarom niet

n.v.t.

Pijnbestrijding (per- en) postoperatief

[1] wordt niet toegepast (geen aanleiding)

Zo ja: Welke

Diersoort	Medicament	Dosering (mg/kg)	Route	Interval (uur)

Eventuele andere pijnbestrijding

n.v.t.

Toedieningsschema: frequentie en periode

n.v.t.

- *Einde experiment*

Toestand dier na proef

[3] na einde proef in leven laten

Indicaties humane eindpunten

n.v.t.

Wijze van termineren

n.v.t.

IV Biotechnologie

Type	Nummer en specificatie