

Генетическое разнообразие экспериментальных мышей и крыс: история возникновения, способы получения и контроля

Е.А. Гайдай, биолог, ORCID 000-0002-5295-6384,

Д.С. Гайдай, биолог, ORCID 0000-0002-8773-5717

Институт доклинических исследований,

Россия, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмолловский, ул. Заводская, д. 3, корп. 245

E-mail: gajdaj.ea@doclinika.ru

Резюме. Обзор посвящен разнообразию линий лабораторных крыс и мышей, используемых в биомедицинских исследованиях. Лабораторные животные – незаменимые помощники ученых в решении таких основных задач современной биомедицины, как профилактика и лечение различных заболеваний. Наиболее востребованными объектами исследований являются грызуны: мыши и крысы. Появившаяся в XVII веке экспериментальная биология потребовала применения животных моделей. Именно к этому времени относятся первые упоминания об использовании мышей и крыс в научных целях. Благодаря относительной дешевизне содержания, плодовитости и быстрому размножению, крысы и мыши обрели высокую популярность в качестве модельных организмов. С развитием науки возникла необходимость в повышении точности и воспроизводимости экспериментов за счет снижения влияния генетических различий между особями, т.е. в выведении линейных животных. На сегодняшний день в мире существует около 1 тыс. линий крыс и более 10 тыс. линий мышей, включая не только аутбредные и инбредные, но также трансгенные и нокаутные линии. Выведенные линии лабораторных животных дали возможность проводить ряд недоступных прежде исследований. Наиболее часто в биомедицинских исследованиях используют широко распространенные линии крыс Wistar и SD и мышей Balb/C и CD-1.

Выбор линии должен осуществляться исследователем под определенные цели исследования и с учетом генетических особенностей используемых животных.

Крайне важно соблюдать чистоту линии для получения воспроизводимых результатов от исследования к исследованию. Для поддержания чистоты линии достаточно регулярно проводить мониторинг животных и строго соблюдать методику разведения. Для обеспечения качества лабораторных животных чрезвычайно важен генетический контроль. Если в процессе экспериментов произошло случайное скрещивание с животными другого генотипа, восстановить гомозиготность линии, сохранив исходный генотип, практически невозможно. Такие животные подлежат уничтожению.

Ключевые слова: биомедицинские исследования, линии лабораторных животных, крысы, мыши.

Для цитирования: Гайдай Е.А., Гайдай Д.С. Генетическое разнообразие экспериментальных мышей и крыс: история возникновения, способы получения и контроля. Лабораторные животные для научных исследований. 2019; 4. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-04-09>

Genetic variety of laboratory mice and rats: history of occurrence, methods of obtaining and control

E.A.Gajdaj, ORCID 000-0002-5295-6384,

D.S.Gajdaj, ORCID 0000-0002-8773-5717

Institute of pre-clinical studies

188663, Leningradskiy region, Vsevolozhskiy district, Kuzmolovskiy, Zavodskaya st., 3-245, Russia

E-mail: guschin.ya@doclinika.ru

Summary. The review is devoted to the diversity of laboratory rats and mice strains used in biomedical research.

Laboratory animals are indispensable assistants to scientists to solve the main tasks of modern biomedicine – the prevention and treatment of various diseases. The most popular objects for research are rodents: mice and rats. Experimental biology that appeared in the 17th century required the use of animal models. The first mention of the use of mice and rats for scientific purposes dates back to this time. Due to the relative cheapness of the content, fertility and rapid reproduction of rats and mice they have gained high popularity as model organisms. Development of science lead to necessary to increase the accuracy and reproducibility of experiments by reducing the influence of genetic differences between individuals, i.e. in breeding linear rats. Today in the world there are about a thousand lines of rats and more than ten thousand lines of mice, including not only outbred and inbred, but also transgenic and knockout lines. Breeding of laboratory animals' lines made it possible to conduct several previously inaccessible studies. The most common biomedical studies use the widespread lines of Wistar and SD rats and Balb/C and CD-1 mice.

The choice of line should be carried out by scientists for specific research purposes and taking into account the genetic characteristics of the animals used. It is imperative to keep the pure of lines to produce reproducible results from research

to research. To keep the pure of line it is sufficient to regularly monitor animals and strictly follow the breeding procedure.

An important method for ensuring the quality of laboratory animals is genetic control. If in the experiment there was an accidental crossbreeding with animals of a different genotype, it is almost impossible to restore the line's homozygosity preserving the original genotype. Those animals are subject to annihilation. **Key words:** preclinical studies, histology, staining methods, staining mechanism.

Key words: biomedical research, laboratory animal lines, rats, mice

For citation: Gajdaj E.A., Gajdaj D.S. Genetic variety of laboratory mice and rats: history of occurrence, methods of obtaining and control. *Laboratory Animals for Science*. 2019; 4. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-04-09>

Введение

Основные задачи современной биомедицины – профилактика и лечение различных заболеваний человека. Незаменимыми помощниками ученых в их решении являются лабораторные животные, в первую очередь грызуны. Применять мышей и крыс в научных исследованиях стали относительно недавно, но к настоящему моменту – они самые востребованные объекты для систематических исследований [13].

Появившаяся в XVII веке экспериментальная биология потребовала применения животных моделей. Именно к этому времени относятся первые упоминания об использовании мышей и крыс в научных целях, и связаны они с именами Уильяма Гарвея и Джозефа Пристли. В 1870-х Роберт Кох открыл возбудителя сибирской язвы. Ему удалось культивировать возбудителя, изучить его жизненный цикл и инфицировать им подопытных мышей [9]. В начале XX века Пауль Эрлих проводил эксперименты на животных в области онкологии и доказал перевиваемость опухолей у мышей и возможность провоцирования онкологических заболеваний производными стрихнина, предположил наличие иммунологических реакций у животных после рассасывания опухолей [5]. Крыс начали применять в экспериментах в 50-х годах XIX века [13]. Благодаря относительной дешевизне содержания, плодовитости и быстрому размножению, крысы и мыши обрели высокую популярность в качестве модельных организмов.

Долгое время одними из самых распространенных экспериментальных животных были лабораторные крысы. Это связано со строением их генетического аппарата – геном крыс имеет >90% сходства с геномом человека [11]. Кроме того, по сравнению с мышью, крыса более крупное животное, что облегчает проведение различных операций.

Первые опыты ставили на альбиносах серой крысы *Rattus norvegicus albinus* (называемых также «белая крыса») и домашних мышах *Mus musculus*, беспородных, не выведенных специально.

С развитием науки повысились требования к повышению точности и воспроизводимости экспериментов за счет снижения влияния генетических различий между особями. Другими словами, возникла необходимость в однородных экспериментальных объектах, т.е. в выведении линейных крыс.

Впервые разведение лабораторных крыс было выполнено для нейробиологических исследований в Чикаго. В 1906 г. сток таких крыс поступил в институт Вистар в Филадельфии, где Х. Кинг и Г. Доналдсоном были получены 2 линии крыс: 1-я чистая (инбредная) линия крыс – King Albino (которая затем была переименована в линию PA) и коммерческий аутбредный сток [1] крыс (впоследствии называемая Wistar), который дал начало многим аутбредным и инбредным линиям крыс [12, 14, 15].

В 1909 г. К. Кук Литл из Гарвардского университета вывел мышью со светло-коричневой окраской шерсти, несущих рецессивные гены dd, bb и aa. За последующие 5 лет, через более чем 20 поколений, путем братско-сестринского спаривания и последующей селекции была получена первая инбредная линия, известная как DBA и существующая по сей день [6].

В 1913 г. А. Багг создал инбредную линию белых мышей Bagg Albino C, которая с 1932 г. широко известна под названием BALB/c. И уже в 1920 г. Дж. Стронг скрещиванием мышей Bagg albino C с мышами линии DBA получил новые высококорковые линии, названные им А, С, СВА, СЗН, СЗНА и т.д.

Начиная с 1921 г. на основе длительного инбридинга однопородных черных мышей из колонии Ласроп было выведено несколько новых линий: C57Bl (black), C57Br (brown), C57L (leaden) и C58, характеризующихся низкой частотой возникновения рака молочных желез или полным его отсутствием и склонностью к лейкозам. А на основе мышей линии А была получена другая высоколейкозная линия, первоначально обозначенная как АК, а позднее – АКР. В 1968 г. Эрвин Пантелорис вывел линию безволосых мышей, ли-

Таблица 1
Примеры использования аутбредных линий мышей и крыс [6, 17, 19]

Примеры использования	Линии
Мыши	
Заболевания кожи, иммунодефицитные состояния	SCID, J:NU
Старение	CD-1
Алкогольная абстиненция, судороги	Mmjax:WSP1
Токсикология, онкология, вакцины	CD-1
Крысы	
Токсикология, фармакология, онкология	SD, Wistar

шенных тимуса, получивших название «nude» (голые), или «бестимусных». Они отличаются полным отсутствием клеточных факторов иммунитета (в их крови содержится лишь около 3% Т-лимфоцитов, тогда как у обычных мышей этот показатель достигает 85%) [2].

В настоящий момент в мире существует около 1 тыс. линий крыс и более 10 тыс. линий мышей, включая не только аутбредные и инбредные, но также трансгенные и нокаутные линии [10].

Способы получения различных линий лабораторных животных

Выведенные линии лабораторных животных позволили проводить ряд недоступных прежде исследований. Для решения конкретных задач было выведено большое количество линий и сублиний мышей и крыс. Так, например, были получены крысы со спонтанной гипертензией (линия SHR), крысы-эпилептики, отличающиеся повышенной возбудимостью нервной системы и слабой активностью тормозных нейронов, несколько линий мышей, у которых развивается ожирение и/или диабет (линии NZO, PBB, KK, AY) и т.п.

Существует несколько путей получения определенных линий лабораторных животных. Ниже рассмотрим их подробнее.

1. **Аутбридинг.** 1-й способ – наиболее простой, повсеместно используемый в селекции. Аутбридинг – метод разведения животных посредством скрещивания неродственных организмов, в том числе и принадлежащих к разным линиям/породам и даже видам. Потомков такого типа скрещивания называют гибридами, они превосходят по ряду признаков обе родительские формы – это явление носит название гибридной мощности или гетерозиса. Основным следствием аутбридинга является скрытие рецессивных признаков за счет перехода их в гетерозиготное состояние. В том случае, когда рецессивные признаки нежелательны, потомки 1-й генерации (гибриды F1) от не-

родственных животных обычно внешне лишены их, однако при дальнейшем разведении эти признаки могут появиться. С другой стороны, при аутбридинге появляется возможность образования новых, зачастую неожиданных комбинаций генов, которые могут вызвать как лучшие, так и худшие сочетания признаков. В этом случае также нельзя предсказать возможность передачи этих сочетаний по наследству. Эти особенности аутбредных линий следует учитывать при проведении экспериментов и для воспроизводимости результатов использовать животных-гибридов только 1-го поколения (F1); примеры использования аутбредных мышей и крыс приводятся в табл. 1.

Использование аутбредных линий животных позволяет максимально унифицировать научные исследования, поскольку для проведения большинства биомедицинских и доклинических исследований может быть использована одна и та же линия. Исключение в данном вопросе составляют иммунодефицитные мыши.

2. **Инбридинг.** Исследования с использованием аутбредных линий продолжались вплоть до 1930-х годов, когда стало понятно, что данные линии животных не универсальны для всех экспериментов, так как при постановке опыта с использованием биологической тест-системы важно, чтобы животные были генетически однородными. В связи с этим ученые прибегают к инбридингу – близкородственному скрещиванию. Инбредные животные гомозиготны и генетически однородны, что обеспечивает получение полноценных воспроизводимых результатов и возможность их повторения в любой лаборатории. Генетическая однородность позволяет расходовать меньшее число животных для получения доказательных результатов. В инбредных линиях генетическая однородность, или гомозиготность, животных сохраняется постоянным спариванием родных братьев и сестер в племенном ядре линии. Племенное ядро линии представляет собой группу животных одной линии, размножаемую в соотношении 1:1 родных братьев и сестер. Каждый ин-

Таблица 2

Примеры использования инбредных линий мышей и крыс [6, 17–19]

Примеры использования	Линии
<i>Мыши</i>	
Предпочтение спирта (10%)	C57BL, C57BR/cd
Агрессия/борьба	SJL, NZW
Аудиогенные судороги	DBA/2
Аутоиммунная анемия	NZB
Амилоидоз	YBR, SJL
Расщепление нёба	CL, A
Синдром Чедиака–Хигаши	SB
Гипертония и/или пороки сердца	BALB/c, DBA/1, DBA/2
Гиперпролинемия и пролинурия	PRO
Ожирение и/или диабет	NZO, PBB, KK, AY
Остеоартропатия коленных суставов	STR/1
Полидипсия	SWR, SWV
Устойчивость к миксовирусным инфекциям	A2G
Опухоли: лейкемия; аденома гипофиза; карцинома щитовидной железы; опухоль молочной железы; трансплантируемые гепатомы; интерстициально-клеточных опухолей семенников	F344/N, F344/N, F344/N, F344/N, AUG/LacSto F344/N
Полное отсутствие спонтанных опухолей	X/Gf
Расстройство питания	A2G
<i>Крысы</i>	
Аллергический энцефалит/энцефаломиелит	AUG/LacSto, LEW
Аутоиммунный тиреоидит	WAG/GSto
Микрофтальмия, анофтальмия	MSUBL/lcgn
Опухоли: лейкемия; аденома гипофиза; карцинома щитовидной железы; опухоль молочной железы; трансплантируемые гепатомы; интерстициально-клеточных опухолей семенников	cF344/N, F344/N, F344/N, F344/N, AUG/LacSto F344/N
Низкая частота опухолей при продолжительности жизни 700–950 дней	BDI

инбредный штамм – это уникальное сочетание генетического материала, порождающее уникальный фенотип. Многие такие фенотипные черты полезны в исследованиях, некоторые позволяют вывести «модели» болезней, прочие дают полезные физиологические, анатомические или поведенческие характеристики (примеры приведены в табл. 2). Эти особенности представляют одну из самых полезных инбредных черт [6].

В отличие от аутбредных линий грызунов, у инбредных наблюдается спецификация в зависимости от задач эксперимента и практически для каждой моделируемой патологии выведена своя

линия крыс или мышей. Наибольшее количество инбредных линий создано на мышах, в то время как инбредных линий крыс в разы меньше.

3. Трансгенные животные. Трансгенные формы несут сегмент чужой ДНК, который введен в геном путем гомологичной рекомбинации, вставкой инфекционным агентом — ретровирусным вектором или негомологичной вставкой (микроинъекцией в пронуклеус).

4. Нокаутные животные. Секвенирование генома мыши в 2002 г. расширило возможности исследователей. Манипуляции с генами позволяют получить «нокаутных» животных. На моделях

трансгенных и “нокаутных” животных было показано, что развитие опухоли может быть результатом мутации в генах, играющих ключевую роль в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток [7]. Нокаутные формы получают микроинъекцией генетически измененных эмбриональных стволовых клеток в бластоцисту хозяина. Разрушение, замещение или удвоение гена в стволовых клетках производят путем гомологичной рекомбинации между экзогенной ДНК и эндогенным геном (например, блокированием работы целевого гена встройкой гена резистентности к неомицину) [6].

5. Коизогенные животные. Коизогенными (или конгенными) называют генетически идентичные линии, различающиеся только по одному локусу. Истинная коизогенность возможна только в случае единичной мутации в инбредной линии. Изогенное состояние достигается путем введения гена одной линии на генетическую основу другой линии. Конгенные линии, которые отличаются друг от друга по локусу тканевой совместимости и, следовательно, взаимно резистентны к трансплантату ткани друг друга, называются конгенно-резистентными линиями (КР), а пара таких линий – КР-парой [6].

6. Рандомбредные животные. Неинбредные, нелинейные животные закрытых колоний размножаются по определенной, в большинстве случаев – ротационной системе, обеспечивающей рандомизацию скрещиваний. Каждая такая колония характеризуется определенными частотами генов и генотипов, животные гетерозиготны по неопределенному числу генов, и поэтому сама колония и каждая выборка из нее генетически гетерогенны. Животные этой категории фенотипически менее однородны, чем гибриды. Необходимым условием сохранения биологических особенностей нелинейных животных и воспроизводимости результатов экспериментов является поддержание гетерозиготности при сохранении стабильности генетической структуры колонии.

7. Стандартные животные. Животные из закрытых колоний, размножаемые по ротационной системе на протяжении не менее 4 поколений при потере гетерозиготности менее 1% на поколение, принято считать стандартными.

Номенклатура линий и сублиний лабораторных животных

В названии линий животных, существующих давно, нет общих правил для названия. Часто название линии появлялось в ходе работы по выведе-

дению линии, оно могло складываться из символов мутантных генов (DBA-dba, HRS, GLF), обозначения масти животного и индивидуального номера (C57BL), сокращенного обозначения места выведения (NZB- и NZW-новозеландские черные и белые) и т.п.

Линии, происходящие от общих предков, но разделенные при передаче в другую лабораторию на 8–19 поколений братско-сестринского инбридинга (т.е. пока животные еще сохраняют некоторую гетерозиготность) и поддерживаемые отдельно в течение последующих поколений, принято считать сублиниями. Сублинии также образуются при передаче племенного материала готовой инбредной линии в другие лаборатории. В этом случае в результате мутаций при длительном отдельном размножении групп животных одной линии накапливаются генетические различия между ветвями исходной линии, приводящие к биологическим отличиям.

Так, существующие в мировой коллекции, 5 сублиний мышей C57BL отличаются друг от друга и от исходной линии целым рядом биологических особенностей, причем для них характерна тканевая несовместимость. Поэтому не менее важно соблюдение правил написания сублиний. Сублинию обозначают также латинскими буквами через косую черту после написания основной линии. Символы сублиний чаще образуются из сокращения фамилии исследователя или названия лаборатории, где сублиния поддерживается. Первая буква этого обозначения – прописная, последующие – строчные. Например, символ CBA/Ca обозначает сублинию Картера (Carter) линии CBA. Линии: CC57BR/Mv, CC57W/Mv – выведены Н.Н. Медведевым (Mv). Если новая сублиния образовалась путем передачи какой-либо сублинии из одной лаборатории в другую, то старый символ сохраняется и к нему добавляется новый. Например, CBA/CaLac обозначает сублинию Картера, поддерживаемую в английском Центре лабораторных животных (Lac). Для названий стандартных неинбредных колоний, используют буквенные символы с уточнением названия или места его воспроизводства (например, название колонии мышей Lac:A2G, где Lac — источник животного, A2G — название, символ стока). Число или строчная буква также могут быть использованы как символы сублиний. Например, обозначение инбредной линии, несущей мутантный ген, состоит из символа исходной линии, символа сублиний, следующего за ним дефиса и символа гена, набираемого курсивом. Например, BALB/cY-wal означает, что сублиния имеет рецессивную мутацию (waved alopecia) [8].

Использование различных линий крыс и мышей в биомедицинских исследованиях

Наиболее часто при проведении биомедицинских исследований используют широко распространенные линии крыс Wistar и SD и мышей Balb/C и CD-1.

Выбор линии должен осуществляться исследователем под определенные цели и с учетом генетических особенностей используемых линий.

В эксперименте следует применять аутбредные линии животных строго только первого поколения (F1). Так, например, при изучении зависимости массы тела от возраста было показано, что для половины линий крыс (самцов и самок) рост массы тела, указанный в источниках из исследовательских работ и из питомников не совпадает (статистически значимо или в виде отчетливых тенденций), причем расхождение может начинаться или с некоторого момента (свойственно для линий Wistar Hannover, Sprague Dawley), или практически сразу после рождения животного (свойственно для линий Lewis, LongEvans) [4]. Обнаруженный феномен имеет значение для выбора объекта исследования. Отличия в возрасте при одной и той же массе животных в эксперименте и в питомниках могут приводить к ошибкам. То же самое касается биохимических и других показателей.

Методы/способы оценки и поддержания чистоты линии лабораторных животных

Для поддержания чистоты линии достаточно регулярно проводить мониторинг животных и строго соблюдать методику разведения. Весь персонал, работающий с инбредными штаммами, должен быть хорошо подготовлен, т.е. быть высококвалифицированным.

Первые признаки нарушения чистоты линии можно отследить по 2 параметрам: плодовитость и поведение. Резкие изменения могут быть вызваны влиянием генетики или окружающей среды, в любом случае при наличии изменений требуется выяснение их причин.

Плодовитость необходимо регулярно отслеживать при воспроизведении животных для наиболее эффективного управления колонией. Внезапный рост плодовитости линейных животных может быть вызван гибридной мощностью, что не свойственно для инбредных животных.

Необходимо тщательно изучать поведение животных. Большинство линий обладает спокойным темпераментом, в то время как гибриды F1 бывают более активными и нервными. Изменения в темпераменте животных должны стать поводом для тщательного исследования с применением различных методов оценки чистоты линии, например трансплантации кожи.

Не вызывает сомнения факт, что генетическое заражение нарушает чистоту линии и приводит к искажению результатов экспериментов. Нарушение чистоты линии возможно в результате отдельных мутаций, а также случайного участия в процессе разведения производителя из другой линии. Опасность генетической контаминации особенно велика, когда в одном помещении содержатся несколько линий с одинаковой окраской шерсти [1, 6]. Генетический контроль не может предотвратить нарушения чистоты линий, однако он очень важен для обеспечения качества лабораторных животных. Генетический контроль в зависимости от количества исследуемых маркеров может быть разделен на следующие 3 категории:

1. Характеризация линии. Данная процедура проводится для подтверждения генотипа инбредных линий и для создания генотипа новых линий путем проверки большого числа локусов – маркеров [6]. В соответствии с биологическими функциями маркеры делятся на 6 групп: биохимические, морфологические, иммуногенетические, молекулярные генетические, фармакогенетические и цитогенетические. Наиболее подходящие с точки зрения точности, простоты исполнения, эффективности и экономичности – маркеры биохимической и иммуногенетической групп, поскольку количество локусов в них известно лучше, чем в других маркерах, и их обнаружение проще в осуществлении.

2. Мониторинг I. Проводится с целью периодического подтверждения генетического профиля линии, воспроизводимой в питомнике.

3. Мониторинг II. Проводится для подтверждения частных подгрупп, которые могут быть охарактеризованы минимальным набором маркеров, позволяющих выделять данную группу животных в обособленную линию. Так, например, 5 наиболее часто встречающихся инбредных линий (AKR, C3H/He, DBA/2, BALB/c и C57BL/6) можно распознать, используя 4 биохимических маркера (Hbb, Car-2, Gpi-1, Idh-1).

После внедрения каждая линия должна проходить характеризацию с целью подтверждения генотипа. Затем, если линия соответствует линии ожидаемым характеристикам, она с определенной периодичностью подвергается Мониторингу I.

Через несколько лет повторяют процедуру характеристики. По необходимости проводят Мониторинг II.

Помимо исследования маркеров есть иные способы проверить чистоту линии лабораторных животных.

1. *Реципрокная изотрансплантация кожи* позволяет контролировать гомозиготность по большому количеству генов, поскольку тканевая совместимость – полигенный признак. Этот прием позволяет выявить очень слабые генетические различия между животными одной линии, обусловленные остаточной гетерозиготностью или спонтанными мутациями. Метод технически достаточно прост и не требует больших материальных затрат. Мышей и крыс для контроля отбирают в возрасте 25–30 дней. Трансплантация осуществляется на 2-, 3-месячных мышах и 3-, 3,5-месячных крысах, но не раньше 6-недельного возраста [6].

2. *Массовый SNV* (single nucleotide variant, единичные нуклеотидные варианты) анализ позволяет дифференцировать особей и линии. Он заключается в поиске отличий в последовательности ДНК размером в один нуклеотид (А, Т, G или С) в геноме. Однако данный метод недостаточно хорошо охарактеризован, часто возникают сложности разделения и ошибки секвенирования [1].

3. *Полногеномное или полноэкзомное секвенирование* позволяет сравнивать между собой геномы отдельных особей. Но в настоящее время данный метод является дорогостоящим, в связи с чем применение его в рутинных исследованиях нецелесообразно [1].

4. *Использование микросателлитов* в качестве ДНК-маркеров – самый популярный на сегодняшний день метод генетического мониторинга.

Микросателлиты – это короткие tandemные повторы, состоящие из 2–6 пар нуклеотидов. Они характеризуются стабильным наследованием, в связи с чем они чрезвычайно консервативны от одной генерации к другой; уникальностью для индивидуума; полной идентичностью для всех клеток одного и того же индивидуума; высокой степенью полиморфности среди разных линий. Таким образом, микросателлитные последовательности широко применяются для персональной идентификации, в популяционной генетике и для построения филогенетических связей в систематике [3, 16].

Существует несколько путей анализа микросателлитов. Все они основаны на использовании ме-

тода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами, комплементарными либо непосредственно микросателлитным последовательностям, либо участкам между ними. Кроме того, становится популярным метод мультиплексной ПЦР. В этом случае используется более 1 пары олигонуклеотидных праймеров. При этом контроль осуществляется сразу по нескольким ДНК-маркерам [3]. Преимуществом данного метода является то, что оценку чистоты линии можно проводить на любом этапе доклинического исследования или до него в кратчайшие сроки [1].

Если в процессе экспериментов произошло случайное скрещивание с животными другого генотипа, восстановить гомозиготность линии, сохранив исходный генотип, практически невозможно. Такие животные подлежат уничтожению.

Заключение

Несмотря на кажущуюся простоту использования лабораторных грызунов, следует учитывать их генетические и физиологические особенности при постановке экспериментов, поскольку от выбора вида и линии зависит не только конечный результат, но и его воспроизводимость. Генетическая составляющая популяции имеет сложное строение и для сохранения чистоты линий и подтверждения их генетического статуса повсеместно используется генетический мониторинг популяций и линий экспериментальных животных. Генетический мониторинг может включать в себя как дорогостоящее полногеномное секвенирование или характеристику по значительному списку специфических маркеров, так и менее затратные методы оценки, включающие в себя реципрокную изотрансплантацию кожи или ПЦР анализ. Наиболее распространенный метод – использование микросателлитов в качестве ДНК-маркеров, их преимуществом является то, что оценку чистоты линии можно проводить в кратчайшие сроки на любом этапе доклинического исследования.

Список литературы

1. Букреев Ю. М., Кособокова Е. Н., Кардашова С. С., Пинюгина М. В., Косоруков В. С. Мониторинг чистоты линий лабораторных мышей с использованием ДНК-маркеров. *Российский биотерапевтический журнал*. 2017; 3: Т.16.
2. Гудратов Н.О. Линейные мыши: достоинства и недостатки. *БИОМЕДИЦИНА*. 2004; 4: 40–2.

[1] Термин «сток» (англ. – stock) означает закрытые колонии (популяции) лабораторных животных, размножаемых любым способом, кроме инбридинга.

3. Календарь Р. Н., Глазко В. И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение. Физиология и биохимия культурных растений. 2002. Vol. 34 (4): 141–56.

4. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Зубенкова Э.С., Вайнсон А.А., Бирюков А.П., Самойлов А.С. Зависимость массы тела от возраста для беспородных белых и восьми линий лабораторных крыс: синтетические исследования данных из экспериментальных работ и питомников в аспекте связи с радиочувствительностью. Некоторые характеристики вида «крыса». Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2018. Т.63; 2: 15–7. DOI: 10.12737/article_5ac6190e95da25.42157674

5. Куриленко Т.С., Литвинов А.В. «Магическая пуля» Пауля Эрлиха. клин. микробиол. антимикроб. химиотер. 2015. Т. 17; 4: 291–6.

6. Основы биомоделирования. Н.Н. Каркищенко. М.: Изд-во ВПК, 2005: 608.

7. Попова Н. А. Модели экспериментальной онкологии. Соросовский образовательный журнал. 2000. Т. 6; 8: 33–8.

8. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачев. М.: Профиль, 2010: 358 с.

9. Синовац М.С. Сибирская язва: история изучения и современные проблемы. Казахстанский фармацевтический вестник. 2001.

10. Abbott A., Harbor B. Geneticists prepare for deluge of mutant mice. Nature. 2004; 432: 541 p.

11. Gibbs R.A., Weinstock G.M., Metzker M.L., Muzny D.M., Sodergren E.J., Scherer S. et al. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. Nature. 2004; Vol. 428: 493–521.

12. Guide to the Care and Use of Experimental Animals. 1993. Vol.1, 2nd Edition: 201 p.

13. Kuramoto T., Nakanishi S., Ochiai M., Nakagama H., Voigt B., Serikawa T. Origins of albino and hooded rats: implications from molecular genetic analysis across modern laboratory rat strains. PLoS ONE. 2012; Vol.7 (8). DOI: 10.1371/journal.pone.0043059.

14. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. Int. J. Prev. Med. 2013; Vol. 4 (6): 624–30.

15. The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals, Eighth Edition. Ed. by R. Hubrecht, & J. Kirkwood. University of Groningen. 2010: 311–26.

16. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) – anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics. 1994; Vol. 20 (2): 176–83. DOI: 10.1006/geno.1994.1151.

17. Электронный ресурс: <http://animals.biores.cytogen.ru>

18. Электронный ресурс: http://www.ipac.ac.ru/docs/ckp/Micelines_2017.pdf

19. Электронный ресурс: <https://www.jax.org/>