

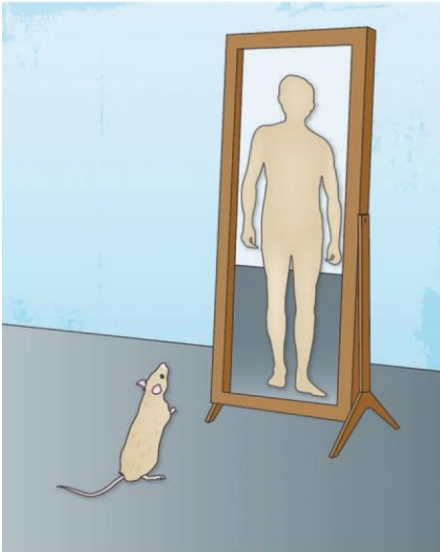
Виды колоний лабораторных грызунов в исследованиях *in vivo*

Аверина Ольга Александровна

д.х.н. Сергиев П.В.

Институт Функциональной Геномики МГУ
2020г.

Лабораторные грызуны



МЫШИ (*Mus musculus*)

КРЫСЫ (*Rattus*)

Морские свинки (*Cavia porcellus*)

«немодельные» грызуны:

Песчанки (*Meriones unguiculatus*);

Хомяки (*Phodopus* sp.)

Колючие мыши (*Acomys* sp.)

Оленьи мыши (*Peromyscus* sp.)

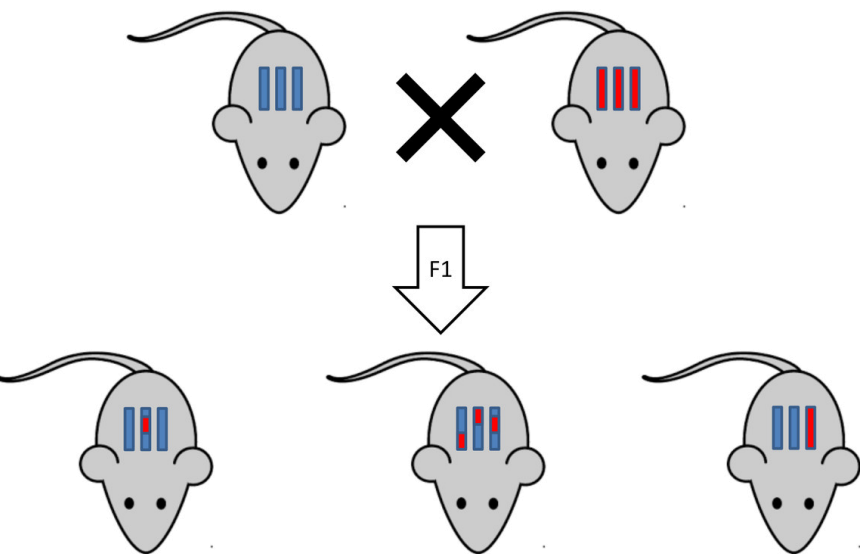
В течение многих лет лабораторная мышь остается квинтэссенцией выбора исследователей для изучения биологии и патологии человека

Критерии выбора:

- ✓ короткий жизненный цикл,
- ✓ период беременности,
- ✓ продолжительность жизни,
- ✓ высокая плодовитость,
- ✓ эффективность размножения,
- ✓ высокая степень сопоставления с человеком

Аутбредные линии

- разводят для максимального генетического разнообразия и гетерозиготности в популяции;
- в размножении намеренно предотвращают инбридинг;
- как правило, крупнее и лучше размножаются, чем инбредные мыши;
- им часто отдают предпочтение в токсикологических исследованиях, где цель состоит в оценке реакций во всей популяции гетерогенных индивидуумов.



Taconic Farms, Inc.

Место содержания стока

Tac:ICR

Hsd:NIH Swiss

Название стока

Harlan Sprague Dawley, Inc.

Аутбредные мыши



❑ **CD1-(ICR)**

- альбиносы
- **Модель для многоцелевого применения, оценки безопасности и эффективности, старения, хирургических операций, исследования ложной беременности.**

❑ **NMRI Mouse**

- альбиносы
- Иммунодефицитные, бестимусные
- **Многоцелевая модель, токсикологические исследования, индукция опухолевого роста, фармакология поведенческих исследований, физиология**

❑ **Athymic Nude Mouse**

- Без шерсти, белые
- Нет тимуса, неспособны продуцировать Т-клетки, иммунодефицитные
- **Используется при изучении опухолей, ксенотрансплантанных исследованиях**

❑ **SNO™ Mouse (SCID –тяжелый комбинированный иммунодефицит)**

- Без шерсти
- С тяжелым иммунодефицитом (нет Т- и В-клеток)
- **Используется при изучении иммунной системы, клеточной трансплантации**

Аутбредные крысы

❑ **Сток Wistar**

создан в институте Вистара (г. Филадельфия, США) в 1906 г.

- Белые, альбиносы
- Длинные уши,
- Длина хвоста почти всегда ниже, чем длина тела,
- Более активны относительно других стоков

Многоцелевая модель

- ✓ Исследование инфекционных заболеваний,
- ✓ оценка безопасности и эффективности,
- ✓ Гериаτρические исследования
- ✓ Хирургические модели

❑ **Sprague-Dawley (SD)**

создан из альбиносов Wistar в 1925 г. на фермах Sprague Dawley в г. Мэдисон (США).

- Белые, альбиносы
- Хвост равен или длиннее тела
- Спокойные, хорошо привыкают к рукам
- Обладает отличными репродуктивными качествами

Используется для создания контролируемой по времени беременности

- ✓ Оценка безопасности, эффективности,
- ✓ Гериаτρические исследования
- ✓ Изучение питания,
- ✓ Исследование полноты, вызванной модифицированной диетой,
- ✓ Онкологические исследования
- ✓ Хирургические модели



❑ **Long-Evans «капюшонная»**

разработана доктором Лонгом и Эвансом в 1915 г.

- Обычно белые с черным или иногда коричневым капюшоном
- Более устойчивы к респираторным заболеваниям, чем другие стоки альбиносов.

Предпочтительны для хирургических исследований при использовании ингаляционных анестетиков

- ✓ Часто используются в:
 - ✓ Неврологических,
 - ✓ Токсикологических,
 - ✓ Офтальмологических
- ✓ Исследованиях поведения
- ✓ Моделях ожирения.

Инбредные линии

- Созданы путем близкородственных братско - сестринских скрещиваний в течение как минимум 20 поколений, в которых можно проследить индивидуальные пары (допускается скрещивание матерей с сыновьями или отцов с дочерьми)
- 0,01% остаточной гетерозиготности (aa или AA)

C57BL/6J

The Jackson Laboratory

Mit	Massachusetts Institute of Technology
Leh	Hans Lehrach
Kyo	Kyoto University
Ztm	Central Animal Laboratory Medical School Hannover

C57BL/10J

Варианты аллелей на H9, Igh2 and Lv локусах

C57BL/10ScNJ

Спонтанная делеция гена *Tlr4*

C57BL/6NJ

Подлинная Института Национального Здоровья (NIH, USA). Имеет 5 SNPs отличий

Инбредные мыши

❑ **BALB/c** – мыши альбиносы

- Многоцелевая модель: *развитие гибридом, продукция моноклональных антител, исследование инфекционных заболеваний; играют важную роль в онкологических исследованиях*

❑ **C57Bl/6** – черные мыши

- Многоцелевая модель: *исследований метаболизма, ожирения, диабета, иммунологии, поведения и онкологии, исследование безопасности и эффективности, его геном был секвенирован.*

❑ **DBA/2** – светло-коричневый

- *Исследования безопасности и эффективности, иммунологические исследования, исследования аудиогенных приступов*

❑ **СВА** – агути

- *Нейросенсорные исследования, нейрохимия, поведенческие исследования, заболевания сердечно-сосудистой системы; изучение строения генома*



Инбредные крысы

☐ **SHR** спонтанно гипертензивные крысы (альбиносы)

Используются

- в исследованиях наследственной гипертензии и методов ее терапии
- в оценке эффективности и безопасности соответствующих лекарств

☐ **WKY** Wistar-Kyoto (альбиносы)

- выведены в 1971 из аутбредного стока крыс Wistar (в NIH, США)
- Нормотензивные животные, используются как контроль к крысам линии SHR



☐ **DA Dark Agouti** (агути)

- Используются для моделирования экспериментального аллергического энцефаломиелита; индуцированного ревматоидного артрита; онкологических заболеваний; в сердечнососудистых исследованиях; трансплантологии

☐ **Lewis** (альбиносы)

- разработана др.Льюисом из крыс стока Вистар в ранних 1950х.
- страдают от спонтанных патологий:
- развитие неоплазм, трансплантируемого лимфолейкоза,
- склероз клубочков почек
- склонность к предпочтению алкоголя
- Используется в трансплантологии, моделях диабета, исследованиях алкоголизма

ПОДЛИНИИ

Ветви инбредных линий, генетически отличные от родительской, образуются в условиях:

- Остаточная гетерозиготность или неполный инбридинг на момент отделения от родительской линии;
- Необнаруженные спонтанные мутации, закрепляющиеся в колонии (генетический дрейф);
- Необнаруженное (случайное) генетическое заражение;
- Преднамеренное ауткроссирование линий для конкретных экспериментальных целей;
- Отделение субколонии от родительской в общей сложности 20 или более поколений;
- Новое присвоение статуса здоровья субколонии.

Подлинии могут отличаться по физиологическим и поведенческим параметрам.

Различия в подлинниках могут особенно важны для иммунологических исследований

После того, как субколония определена как подлиния, ей присваивают лабораторный код, состоящий из 1-5 букв, идентифицирующий институт, лабораторию или исследователя, который создал и/или поддерживает конкретную линию животных. Коды лабораторий присваиваются Институтом исследований лабораторных животных (ILAR).

С момента возникновения линии **C57BL/6** в 1920-х годах было разработано по меньшей мере 16 различных подлиний

- ✓ C57BL/6N более склонны к увеличению веса и резистентности к инсулину, когда они содержатся на диетах с высоким содержанием жиров;
- ✓ Реакция страха у C57BL/6J и C57BL/6N различается;
- ✓ Влияние анестетиков на сердечную функцию у мышей C57BL/6J и C57BL/6N различается;
- ✓ Электросудорожные пороги различаются между подлиниями C57BL/6;

GENETIC VARIANT	SUBSTRAINS AFFECTED	PHENOTYPIC CONSEQUENCES
<i>Nnt</i> ^{C57BL/6J}	All C57BL/6J substrains (except C57BL/6JBomTac)	Impaired insulin secretion, redox abnormalities ^{1,2}
<i>Nlrp12</i> ^{C57BL/6J}	All C57BL/6J substrains	Impaired innate immune response ^{3,4}
<i>Snc</i> a deletion	C57BL/6JOlaHsd	Neurodevelopmental abnormalities ⁵
Y chromosome partial deletion	C57BL/6JBomTac	Sperm abnormalities and increased female:male ratio at birth ⁶
<i>Crb1</i> ^{rd8}	All C57BL/6N substrains	Mild retinal degeneration ⁷
<i>Cyfp2</i> ^{MIN}	All C57BL/6N substrains	Impaired responses to amphetamines ⁸
<i>Dock2</i> ^{m1Hsd}	C57BL/6NHsd	Abnormal B cell development and cytokine production ⁹

Ткани, клетки и опухоли происхождения C57BL/6J могут быть успешно привиты всем подлиниям

Сохранение маркерных признаков линии необходимо
подтверждать генетическим анализом

DNA markers

SNP

SSLPs

SSR

AFLP

RFLP; RAPD; VNTR; SFP;
DArT; RAD markers;
Multilocus fingerprints

Genetic Quality Control Program

Генотипирование КАЖДОГО нового производителя

Для **главных** 100 линий:

➤ каждые пол года – генотипирование 6 новых производителей

Для **других** линий:

➤ каждый год – генотипирование 4 производителей

The Jackson Laboratory Production Colonies

популяция-основатель

Популяция для распространения

Производственная популяция

...to investigators throughout the world

Genetic Stability Program

ГЕН-БАНК

1. Криоконсервация эмбрионов базовых популяций на 10-25 лет

2. КАЖДЫЕ 5 поколений обновление эмбрионов из ГЕН-банка

Поставщики лабораторных грызунов

The Jackson Laboratory

- ✓ основана Кларенсом Куком Литтлом, который произвел инбредную линию C57BL/6;
- ✓ содержит более 11 000 линий мышей;
- ✓ поддерживает интегрированный информационный ресурс мыши;
- ✓ предоставил 3,0 миллиона мышей более чем в 1900 учреждениях в 75 странах.

Charles River Laboratories

- ✓ предоставляет животных уже более 70 лет;
- ✓ это поставщик не только лаб. мышей и крыс, а также других моделей млекопитающих; предоставил большинство запасов CD-1 мышей и крыс, например, Long Evans и Wistar.

Taconic Biosciences

- ✓ предоставляет животных в течение 60 лет;
- ✓ в дополнение к обычным линиям, таким как C57BL, предлагает мышей LysMgfp/gfp, 129s6.Cg-Tg(APPSWE)2576Kha N20+ germ-free Swiss Webster mice

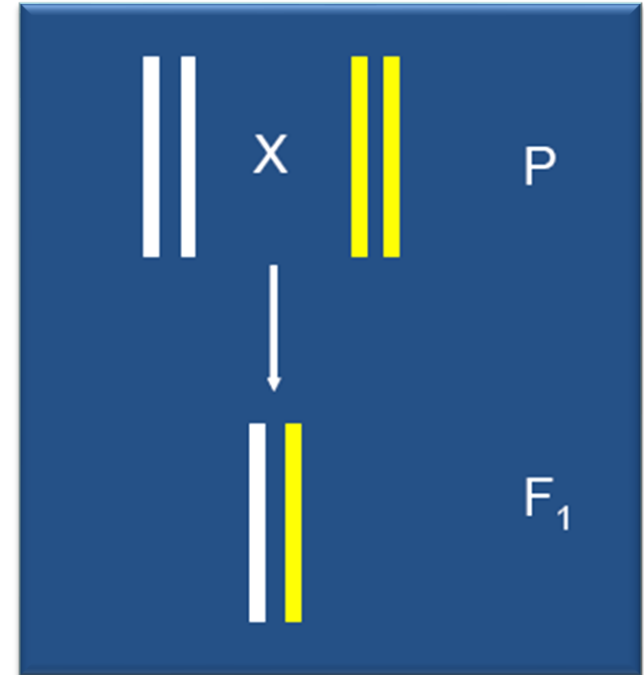
Harlan Laboratories

- ✓ исторически – заводчицкая ферма Sprague-Dawley (Madison, Wisconsin), где вывели одноименную линию крыс Sprague Dawley;
- ✓ Предоставляет мышей C57BL, Hsd nude, FVB, athymic nude Foxn1-nu mouse, SJL/J mice крыс Dark Agouti.

И многие другие: *Resources Centre, Janvier Laboratories, NOD-SCID, Envigo, Japan Shimizu Laboratory Supplies, SLC.* Такие компании, как *GenOway*, также могут производить трансгенных животных на заказ. **IMSR - Международный ресурс мышинных линий** 13

ГИБРИДЫ F1

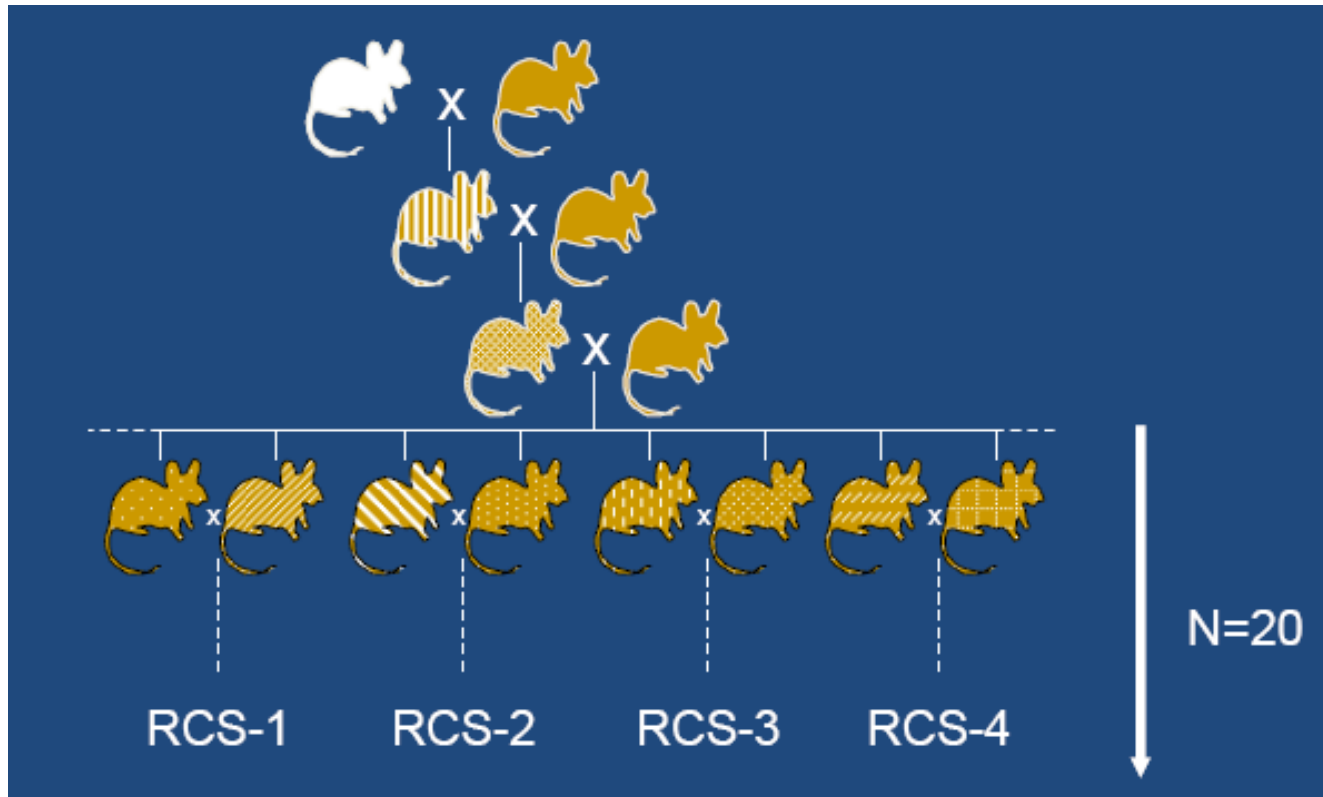
- **F1 потомство двух инбредных линий** – межлинейное скрещивание в одинаковом направлении, генетически идентичные, обладают эффектом «гибридной силы».
- **Реципрокные гибриды** появляются в результате реципрокных скрещиваний — гибридизация, включающая переменную пола родителей, связанных с каждым генотипом.



D2B6F1	DBA/2 мать X C57BL6/J отец. Полное F1 обозначение (DBA/2N x C57BL/6J)F1
B6D2F1	Потомство от реципрокного скрещивания: C57BL6/J мать X DBA/2 отец. Полное F1 обозначение (C57BL/6J x DBA/2N)F1

РЕКОМБИНАНТНЫЕ ИНБРЕДНЫЕ ЛИНИИ

- ❖ Теоретически содержат в равных пропорциях генетический материал из двух инбредных линий. Разводятся скрещиванием животных двух инбредных линий, более, чем в 20F братско - сестринским скрещиванием.



РЕКОМБИНАНТНЫЕ КОНГЕННЫЕ ЛИНИИ

- ❖ Возвратный перевод на одну из родительских линий

КОНГЕННЫЕ ЛИНИИ

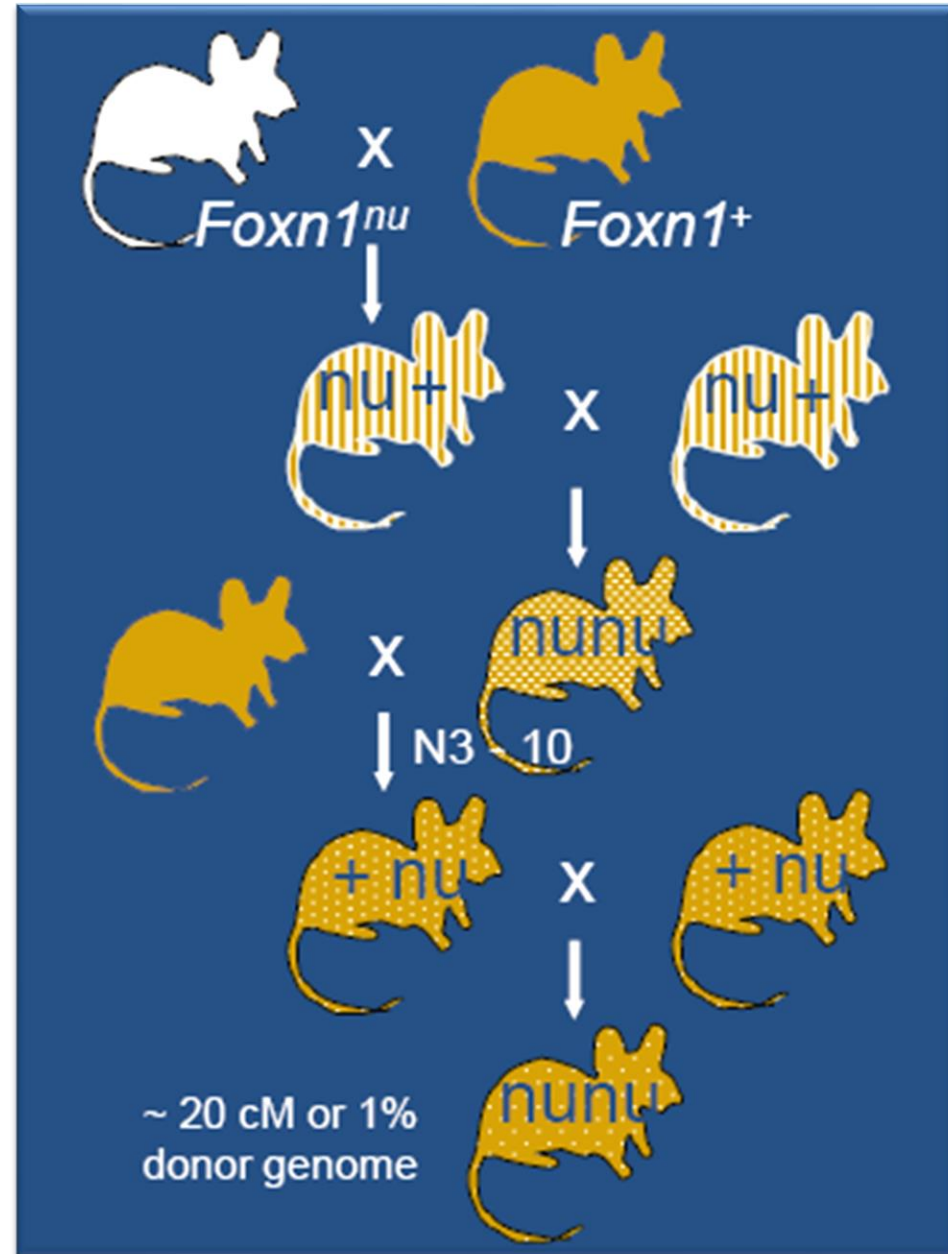
- ✓ возвратный перевод на одну из родительских линий с отбором маркера донорской линии;
- ✓ 10 возвратных скрещиваний с родительской линией

реципиент донор донорская аллель

↓ ↓ ↓

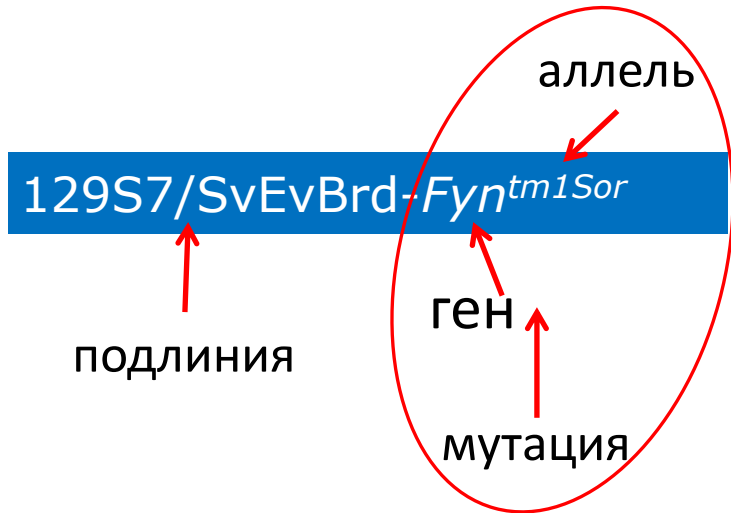
B6.NU- *Foxn1^{nu}*

*Генетическое сходство с линией C57BL/6 за исключением мутантной аллели *Foxn1^{nu}* линии NU*



КОИЗОГЕННЫЕ ЛИНИИ

Различаются спонтанными и направленными мутациями в отдельном локусе. Разведение и поддержание на той же инбредной подлинине, из которой берется стволовая клетка.



Направленная мутация в эмбриональной стволовой клетке мыши из той же подлинине

В некоторых случаях мутации могут поддерживаться только **гетерозиготами**. Название линии не отражает схему разведения

C57BL/6J-*Aqp2*^{cph}

Гомозиготы летальны. Линия поддерживается скрещиванием гетерозигот *Aqp2*^{cph}/+ x *Aqp2*^{cph}/+.

Мутантные животные. Спонтанные мутации

- Чаще всего из животных дикого типа
- несут случайные генетические нарушения, возникающие спонтанно
- одно или более генетических изменений в своей ДНК

❑ **Крысы RNU, голые крысы**

- ✓ Созданы в 1979–1980 путем скрещивания крыс из 8 инбредных линий
- ✓ Аутбредные
- ✓ Окрас белый, черный, черно-белый
- ✓ Рецессивная аутосомная мутация, нет шерсти и тимуса
- ✓ Гетерозиготные особи иммунокомпетентны, гомозиготные особи иммунодефицитны
- ✓ Атимические голые крысы имеют дефицит Т-клеток и обладают снижением клеточных популяций в зависимых от тимуса областях периферических лимфоидных органов.
- ✓ **Используется в исследованиях опухолей, иммунологических исследованиях, исследованиях ксенотрансплантатов.**



Понимание того, какую линию выбрать, является критическим аспектом любого исследовательского проекта *in vivo*.

- Высокий уровень генетической изменчивости **аутбредных линий** снижает силу и увеличивает вариабельность ответа на воздействие, но экспериментальные результаты могут быть более применимы к естественным или человеческим популяциям.
- **Инбредные линии** обеспечивают большую мощность и требуют меньшего количества животных на эксперимент за счет ограничения «генетического шума».
- Минимизация количества животных, в соответствии с принципом сокращения в **3Rs** (Russell and Burch 1959), является одной из причин использования инбредных линий, а не аутбредных колоний.

- Инбридинговая депрессия** приводит к
- плохой плодовитости (*у инбредов от 3 до 9 особей на помет, у аутбредов (CD1) – 12*);
 - меньше по размеру (*средний вес 70дневных самцов: инбредные - 25,4 г, аутбредные - 34,7 г*);
 - аномальные реакции на стресс / тревогу, агрессию (*инбреды FVB*);
 - нестабильное социальное поведения (*хуже спариваются, плохое материнское поведение*);
 - сбитый эстральный цикл.

Было показано:

аутбредные линии не являются, на самом деле, обязательно более фенотипически изменчивы, чем инбредные штаммы в тех же экспериментах.

трансгенная мышь

Трансгенные мыши - это модели мышей, геном которых был изменен с целью изучения функций генов. В Charles River мы помогаем сотням глобальных клиентов, поставляя готовых к изучению трансгенных мышей для удовлетворения их исследовательских потребностей. Наша приверженность научному совершенству означает, что мы работаем над обеспечением сроков реализации проекта, конфиденциальности, эксклюзивности интеллектуальной собственности, разведения в соответствии со стандартами VAF Plus® (SOPF) и безопасной доставки животных.

[СПРОСИТЕ ЭКСПЕРТА →](#)



[🏠 > Продукты И Услуги > Исследовательские Модели И Услуги > Генно-Инженерные Животные И Услуги > Создание Трансгенной Модели Мыши И Крысы > трансгенная мышь](#)

← Создание Трансгенной Модели Мыши И Крысы

[Мыши и крысы CRISPR](#)

[Модели Мышей RNAi](#)

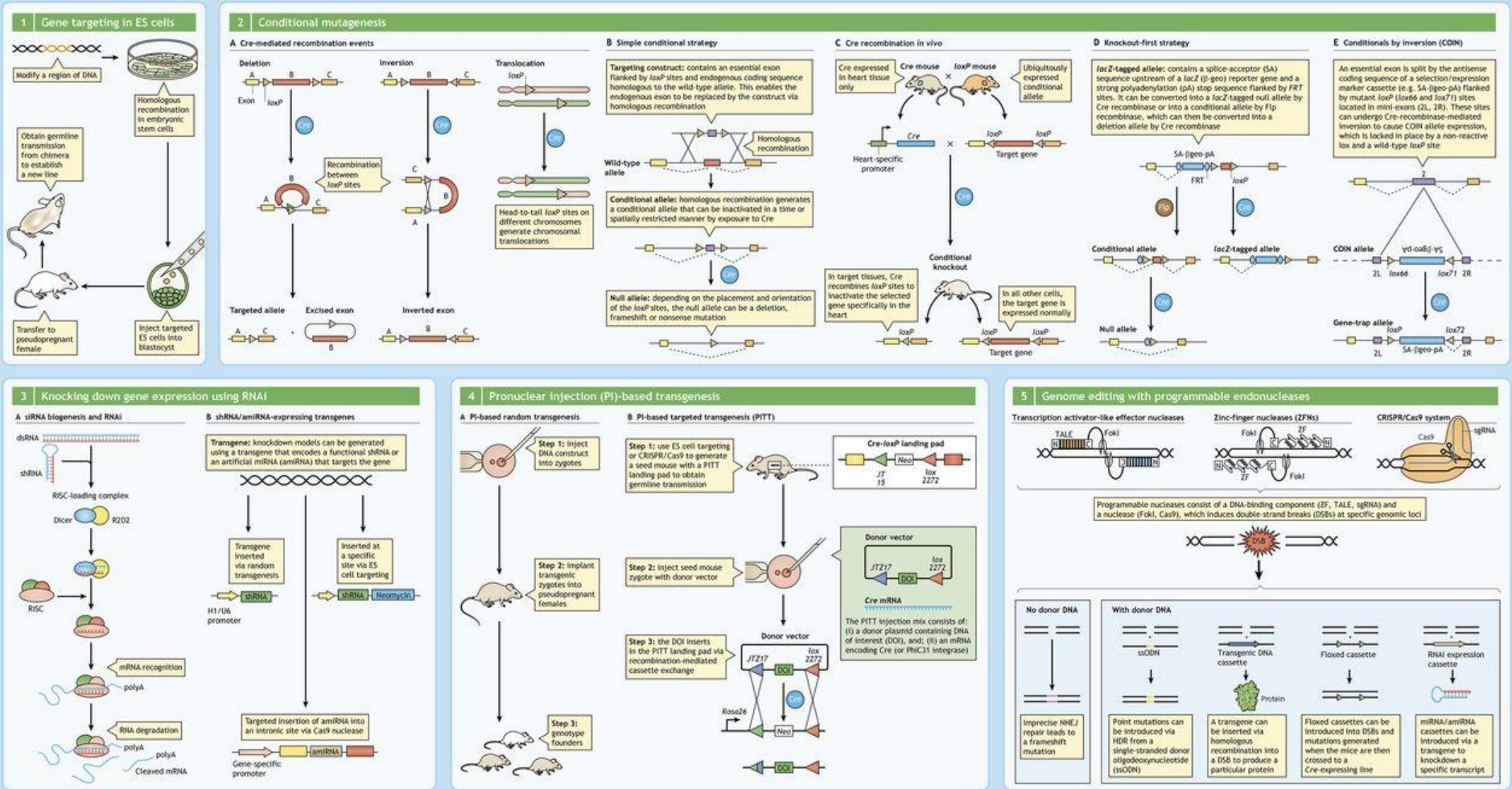
[Мутагенез ES-клеток у мышей](#)

[Стучащие Мыши](#)

Создание И Поддержка Индивидуальных Моделей Трансгенных Мышей

Эффективное исследование зависит от нахождения наиболее подходящей модели для вашего приложения. Когда ваш проект требует технологии случайного трансгенеза ДНК, наши ученые предлагают комплексное решение для генерации, обслуживания и анализа ваших трансгенных моделей мышей.

Создания мышей с отредактированным геномом

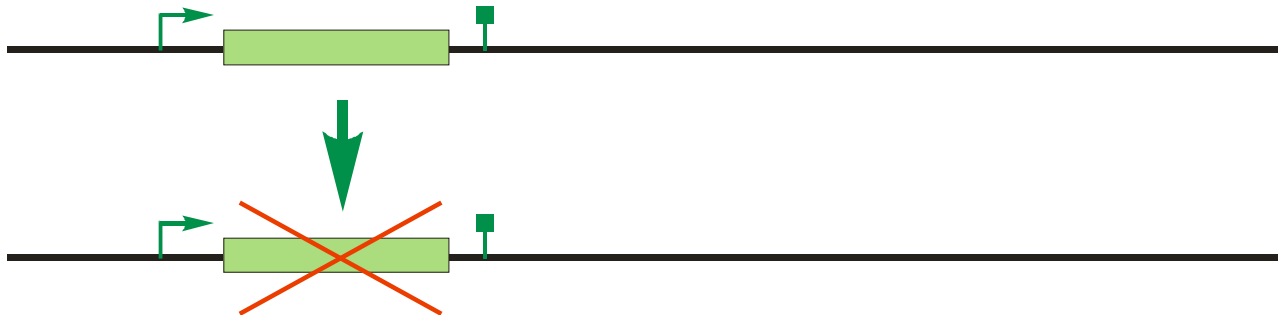


Что значит трансгенных?

Кноск-in: вставка гена а случайное место генома



Кноск-out: инактивация гена



редактирование гена



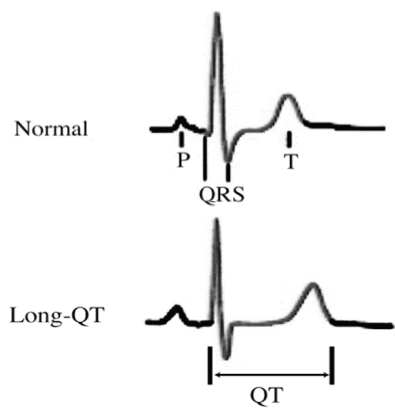
High energy digestion efficiency and altered lipid metabolism contribute to obesity in **BFMI mice**. Meyer CW 2009



Модели для изучения болезней человека

LQT3 syndrome

Cardiac sodium channelopathy associated with **SCN5A mutations**: electrophysiological, molecular and genetic aspects. Carol Ann Remme 2013



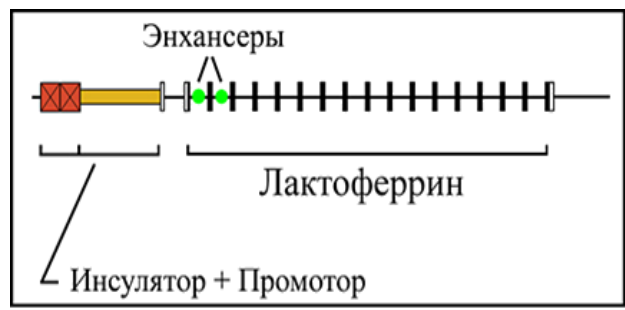
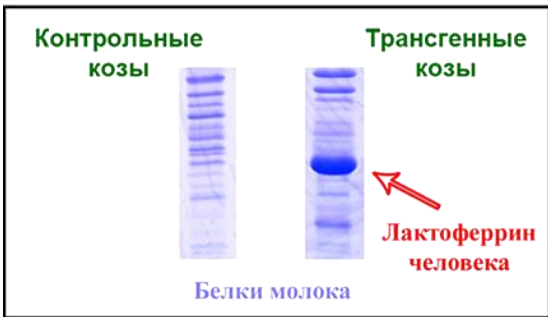
Источники ксенотрансплантатов, пищи и др.

Применение трансгенных животных

Фундаментальные исследования
Принципов функционирования геномов и отдельных генов

Источники для производства фармацевтических белков

Трансгенные козы - продуценты лактоферрина

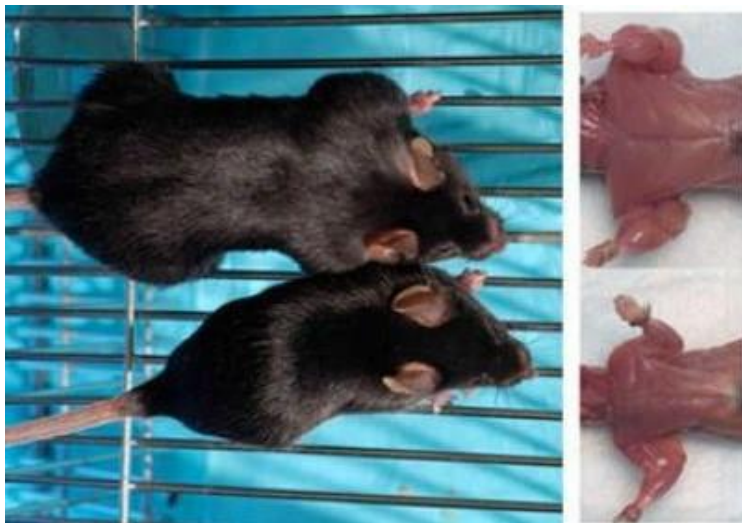


Трансгенные мыши, примеры

Нокаут по гену лептину
Модель ожирения, вследствие
отсутствия насыщения



Нокаут по гену миостатин
as a Key Factor Linking Muscle Mass and Skeletal



Aging Ku80 Нокаут

Клетки с дефицитом уровня p53.



Нокаут по гену FOXP1
Безтимусные мыши - нарушение
системы распознавания Свой-Чужой



Используется для подсадки
чужеродных клеток (человека)
для изучения их особенностей

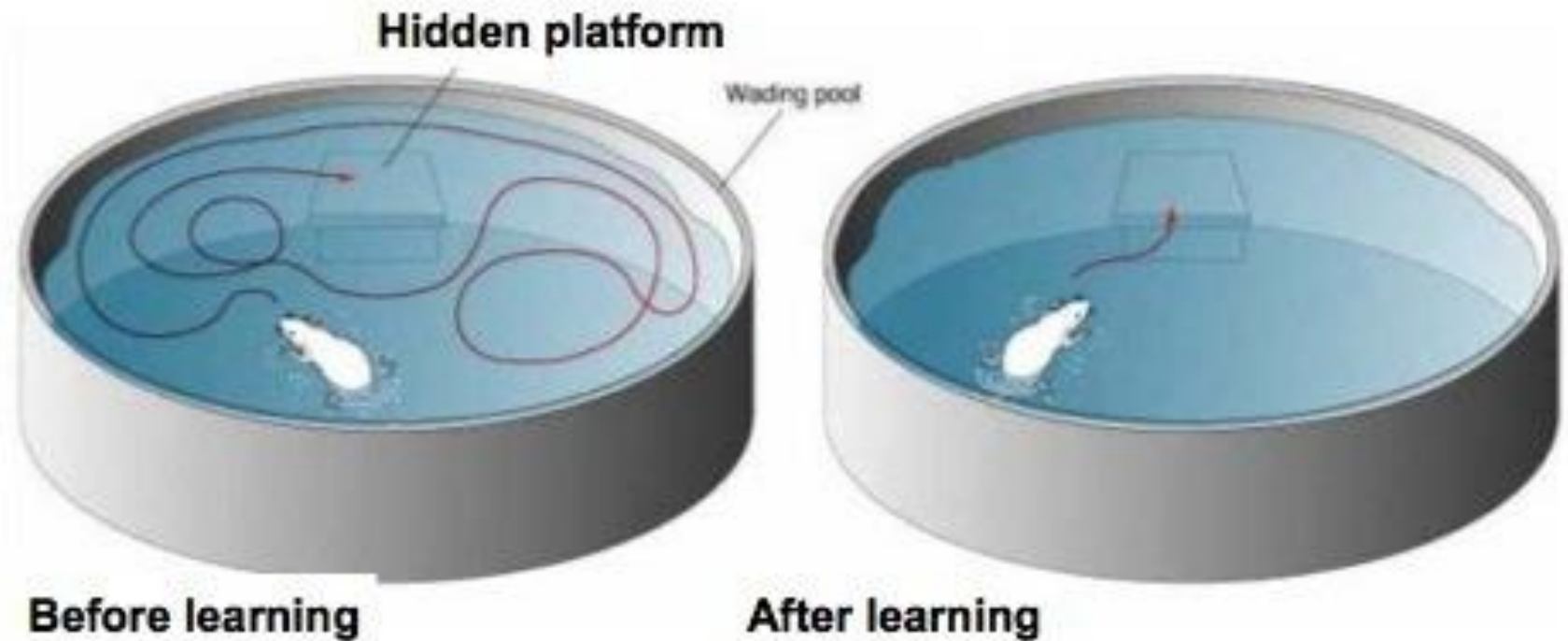


Трансгенные мыши, примеры

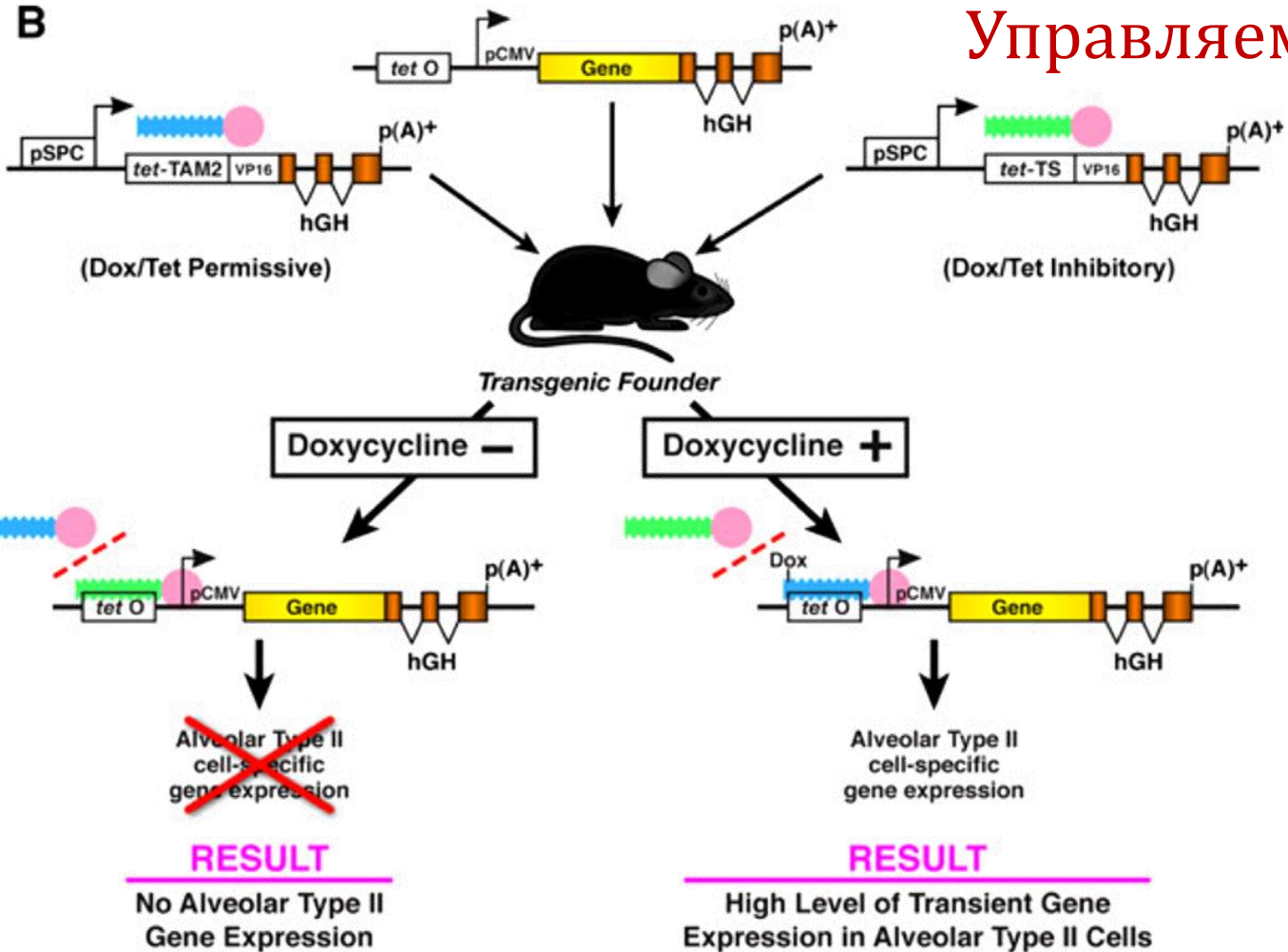
Ген **NMDAR1** необходим для пространственной памяти

<https://www.youtube.com/watch?v=YJXLZlxi46M>

Водный лабиринт Морриса



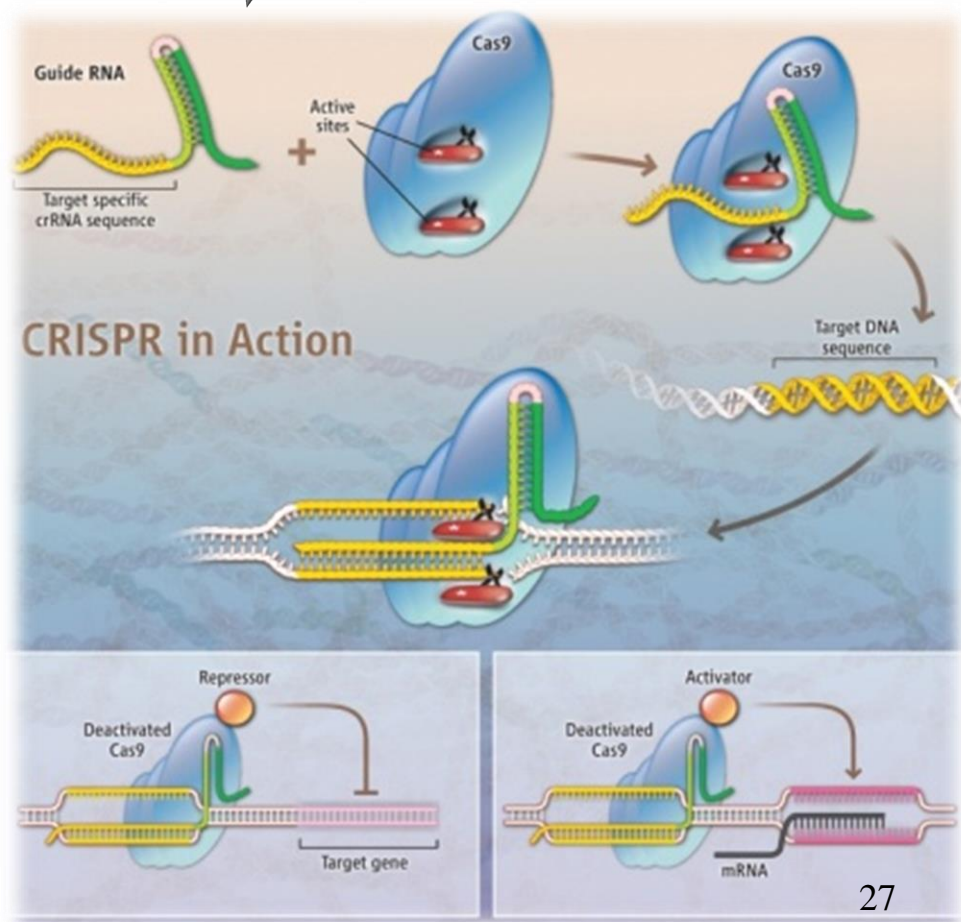
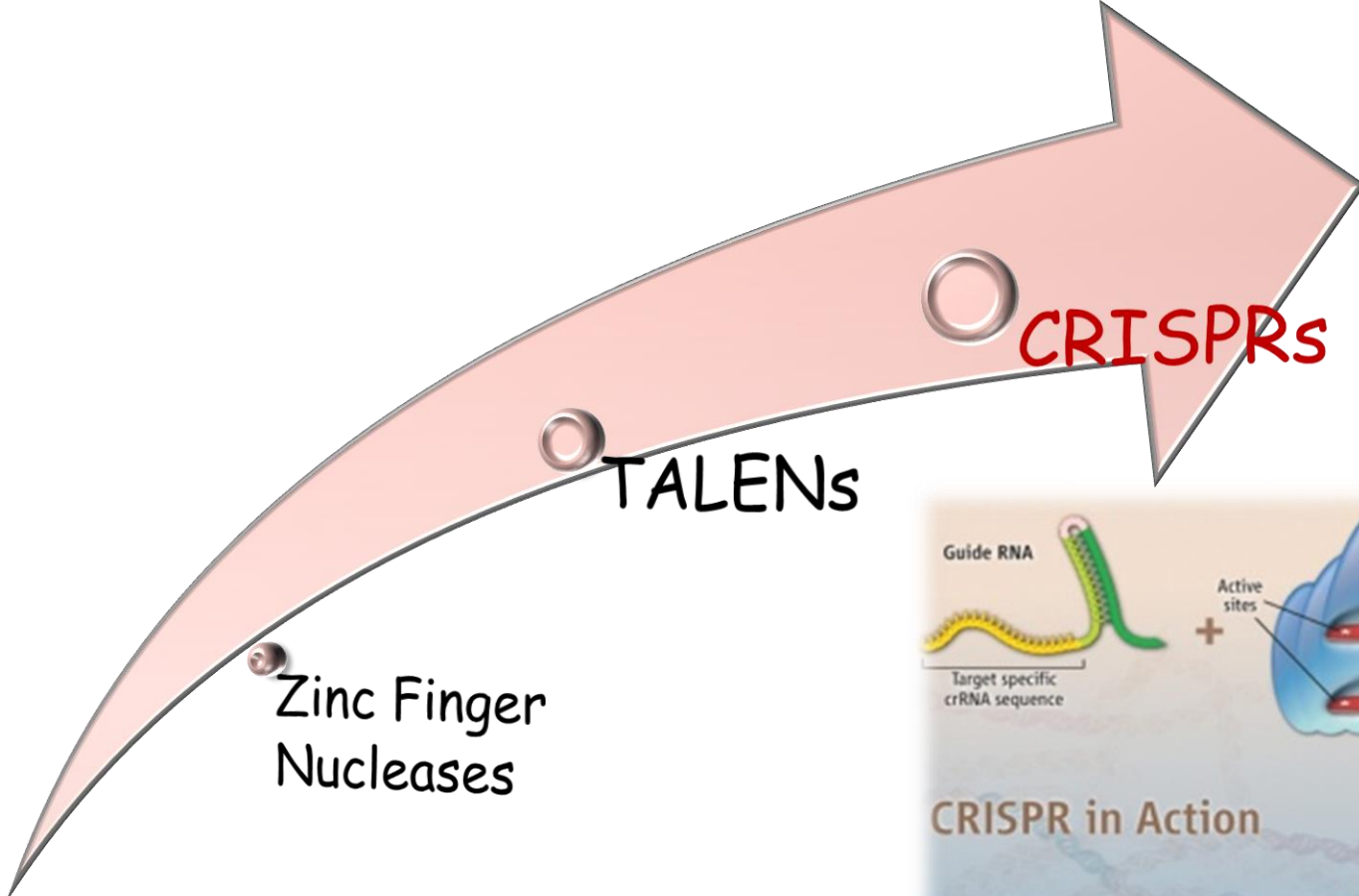
Управляемые трансгены



Doxycycline-Induced Expression of Transgenic Human Tumor Necrosis Factor α in Adult Mice Results in Psoriasis-like Arthritis. 2013

Eugen Retser



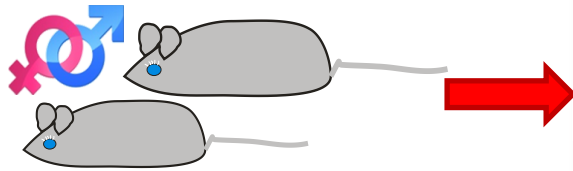


МЕТОДИКА СОЗДАНИЯ НОКАУТНЫХ МЫШЕЙ

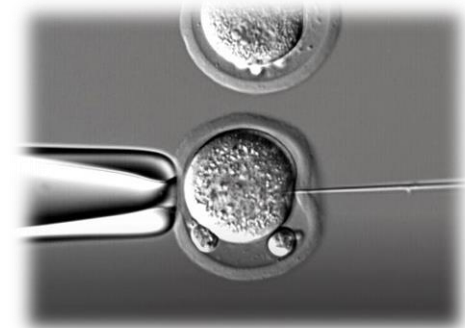
1. ГОРМОНАЛЬНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ САМОК: 1 день в/б инъекция антисыворотка ингибина & гонадотропин сыворотк жеребых кобыл, через 48ч инъекция хорионического гонадотропина человека



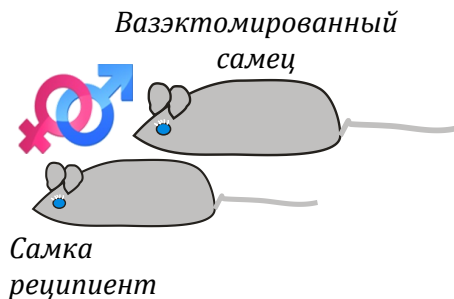
2. ОТБОР САМОК-ДОНОРОВ ЗИГОТ



3. МИКРОИНЪЕКЦИИ КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ CRSIPR/CAS9

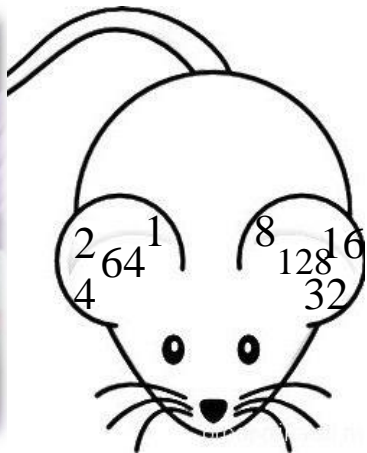


4. ПОДСАКА ЭМБРИОНОВ СУРРОГАТНЫМ МАТЕРИЯМ



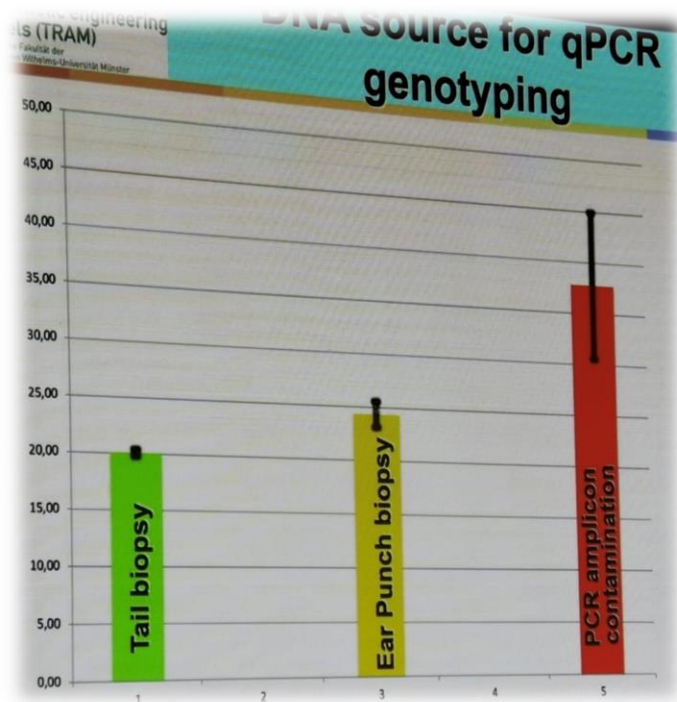
РАЗВЕДЕНИЕ И СОДЕРЖАНИЕ НОКАУТНЫХ МЫШЕЙ

1. ДЛЯ УСПЕШНОГО РОЖДЕНИЯ ТРАНСГЕННЫХ МЫШАТ необходимо обогащение среды – семечки, корм для беременных и лакирующих самок, домик-укрытие и материал для строения гнезда.



2. МАРКИРОВКА И ОТБОР ОБРАЗЦОВ НА ГЕНОТИПИРОВАНИЕ из уха или хвоста через 10 дней после рождения

3. РАЗДЕЛЕНИЕ ПОМЕТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ Через 21 день после рождения (завершение периода лактации)




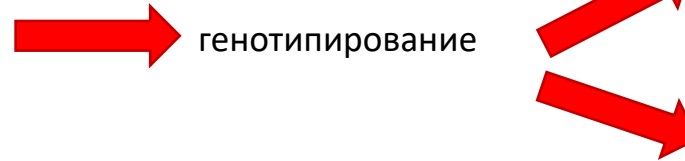
Bonaparte D, et al. FELASA guidelines for the refinement of methods for genotyping genetically-modified rodents. *Lab Anim.* 2013 Jul;47(3):134-45. doi:10.1177/0023677212473918.

РАЗВЕДЕНИЕ И СОДЕРЖАНИЕ НОКАУТНЫХ МЫШЕЙ

4. ОБРАТНОЕ
СКРЕЩИВАНИЕ И ВЫВОД
НА ОДНУ ИЗ ИНБРЕДНЫХ
РОДИТЕЛЬСКИХ ЛИНИЙ
(C57BL/6)



5. СКРЕЩИВАНИЕ
ГЕТЕРОЗИГОТ 



ПОЛУЧЕНИЕ
ГОМОЗИГОТНОГО
ПОКОЛЕНИЯ



6. ПРОВЕДЕНИЕ
ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО
ВЫЯВЛЕНИЮ ВЛИЯНИЯ
НОКАУТИРОВАНИЯ
ИССЛЕДУЕМОГО ГЕНА



ПОЛУЧЕНИЕ
СООТВЕТСТВУЮЩИХ
МЫШЕЙ ДИКОГО
ТИПА

Влияние генетического бэкграунда *например:*

C57BL/6J

- ❖ db/db
- ❖ ob/ob
 - ✓ Тучность
 - ✓ сахарный транзиторный диабет

C57BL/6J

- ❖ Th1 – иммунная реакция

BALB/c

- ❖ Th2 – иммунная реакция

C57BLKS/J

- ❖ db/db
- ❖ ob/ob
 - ✓ Тучность
 - ✓ сахарный клинический диабет

Криоконсервация

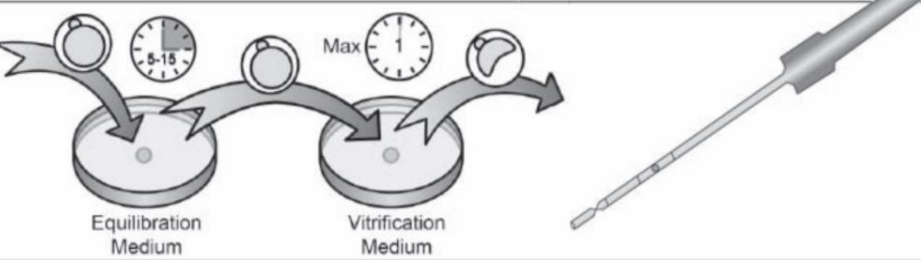
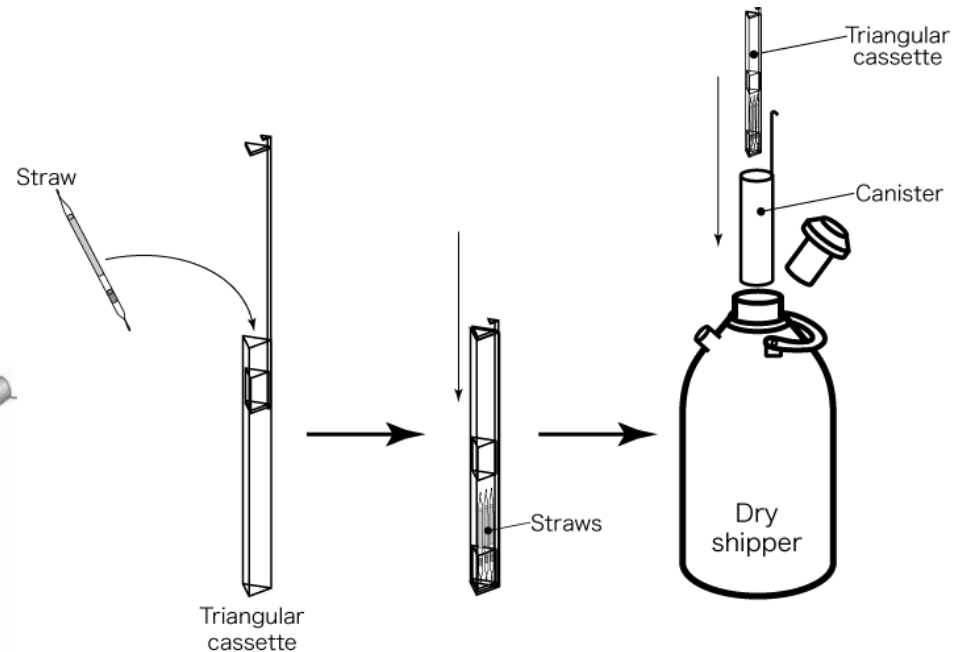
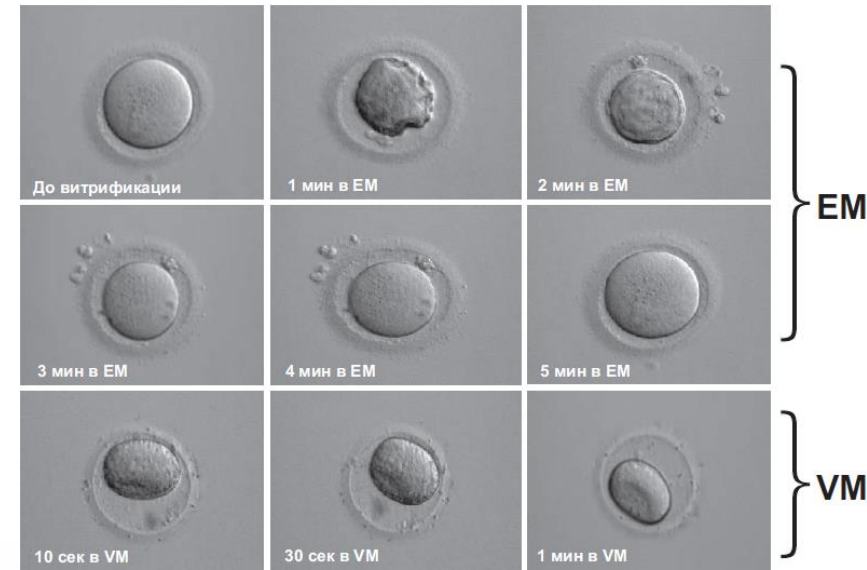
Замораживание и хранение материала в жидком азоте

методика **Origio** – это самый современный подход к криоконсервации. Данная технология заключается в эквilibрировании оплодотворенных яйцеклеток

- ✓ Эмбрионы
- ✓ Сперма

- *замещении внутриклеточной воды на криопротектор*)

https://fertility.coopersurgical.com/wp-content/uploads/ru_Brochure-Vitrification.pdf



Дополнительная информация

Guidelines for Nomenclature of Mouse and Rat Strains

October 2013

International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice

Chairperson: Dr. Janan T. Eppig

(e-mail: janan.eppig@jax.org)

Rat Genome and Nomenclature Committee

Chairperson: Dr. Mary Shimoyama

(e-mail: shimoyama@mcw.edu)

<http://www.informatics.jax.org/>

Guidelines for the production and nomenclature of transgenic rodents

2007

FELASA Working Group, Rüllicke T,
Montagutelli X, Pintado B, Thon R, Hedrich
HJ. Lab Anim. 2007 Jul;41(3):301-11. DOI:
10.1258/002367707781282758

<https://felasa.eu/working-groups/guidelines/id/22>

НОМЕНКЛАТУРА ГЕНОВ, АЛЛЕЛЕЙ И МУТАЦИЙ

Правила номенклатуры по генетике мышей

Dunn, Gruneberg, and Snell (1940)

International Committee for Standardized Genetic Nomenclature in Mice (1963, 1973, 1981, 1989, 1996).

Правила номенклатуры по генетике крыс

Committee on Rat Nomenclature in 1992

Унификация правил в 2003г,

International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice and the Rat Genome and Nomenclature Committee

Руководства по номенклатуре: MGD , RGD *web sites*.

<http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/gene.shtml>

Руководства по номенклатуре грызунов

- Dunn, Gruneberg, and Snell (1940)
- International Committee for Standardized Genetic Nomenclature in Mice (1963, 1973, 1981, 1989, 1996).
- Committee on Rat Nomenclature in 1992
- Унификация правил в 2003г: International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice and the Rat Genome and Nomenclature Committee
- ILAR, National Research Council, 2101 Constitution Avenue, Washington, D.C. 20418, U.S.A. Telephone: (202) 334-2590, Fax: (202) 334-1687;
- Registry of Inbred Strains, Dr. Michael F.W. Festing, IRC for Human Toxicology, Leicester University, University Road, Leicester LE2 7RH, UK;
- Rat News Letter, 2542 Harlo Dr., Allison Park, Pittsburgh, PA 15101, U.S.A., Telephone: (412) 487-4289;
- Transgenic Animal Database, TABD Coordinator, Oak Ridge National Laboratory, PO Box 2008, MS 6050, Oak Ridge, TN 37831-6050, USA, Telephone: (615) 574-7776, Fax: (615) 574-9888;
- The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME 04609, U.S.A., Telephone: (207) 288-3371, Fax: (207) 288-8982.
- The Mouse Genome Database (MGD) (<http://www.informatics.jax.org>)
- For the rat, RGD (<http://rgd.mcw.edu>) assisted by the International Rat Genome and Nomenclature Committee (RGNC).

1. The Laboratory Mouse. Rodent Users Wetlab. Administered by Laboratory Animals Centre National University of Singapore, July 2007 Ed.
2. The laboratory Rat. Sharp, Patric E. and Marie C. La Regina, 1998 by CRC Press LLC.
3. Mouse biomedology. Marcel I. Perret-Gentil, DVM, MS. University Veterinarian & Director. Laboratory Animal Resources Center. The University of Texas at San Antonio.
4. Guideline 22: April 2012. Guidelines for the housing of mice in scientific institutions. Animal Welfare Unit, NSW Department of Primary Industries, Locked Bag 21, Orange NSW 2800.
http://www.animaethics.org.au/__data/assets/pdf_file/0004/249898/Guideline-22-mouse-housing.pdf
5. Lee, H. B. and Blaufox, M. D. Blood volume in the rat. J Nucl Med. 26:72-76 (1985).
6. Harderian Glands and Their Development in Laboratory Rats and Mice. Kazuhiko Shirama, Masami Hokano. 1992, pp 25-51 .
7. Приложение А к Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) ETS N 123
8. ILAR, National Research Council, 2101 Constitution Avenue, Washington, D.C. 20418, U.S.A. Telephone: (202) 334-2590, Fax: (202) 334-1687;
9. PALM Institute, N29 W4 2-1-215 Sapporo 001, Japan. Telephone: 81-11-746-3988, Fax: 81-11-746-6722;
10. Registry of Inbred Strains, Dr. Michael F.W. Festing, IRC for Human Toxicology, Leicester University, University Road, Leicester LE2 7RH, UK;
11. Rat News Letter, 2542 Harlo Dr., Allison Park, Pittsburgh, PA 15101, U.S.A., Telephone: (412) 487-4289;
12. Transgenic Animal Database, TABD Coordinator, Oak Ridge National Laboratory, PO Box 2008, MS 6050, Oak Ridge, TN 37831-6050, USA, Telephone: (615) 574-7776, Fax: (615) 574-9888;
13. The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME 04609, U.S.A., Telephone: (207) 288-3371, Fax: (207) 288-8982.
14. Анатомио-физиологическая характеристика пищеварительного тракта у человека и лабораторных животных. Макарова М.Н., Рыбакова А.В., Гущин Я.А., Шедькло В.В., Мужикян А.А., Макаров В.Г. Международный вестник ветеринарии, №1, 2016

ССЫЛКИ

Ссылки на Электронные ресурсы

- <http://www.ratbehavior.org/RatVision.htm>
- <http://www.informatics.jax.org/cookbook/>
- <http://www.jax.org/>
- <http://www.niehs.nih.gov/>
- <https://www.aalaslearninglibrary.org/demo/course2.asp?strKeyID=ADE50963-4675-4993-BCFA-15073EA52624-0&Library=10&Track=11&Series=17&Course=261&Lesson=2503>

Сохранение маркерных признаков линии необходимо
подтверждать генетическим анализом

DNA markers

SNP

SSLPs

SSR

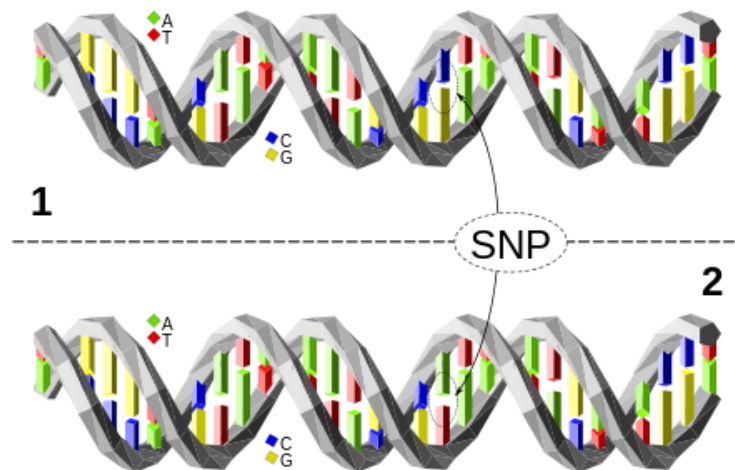
AFLP

RFLP; RAPD; VNTR; SFP;
DArT; RAD markers;
Multilocus fingerprints

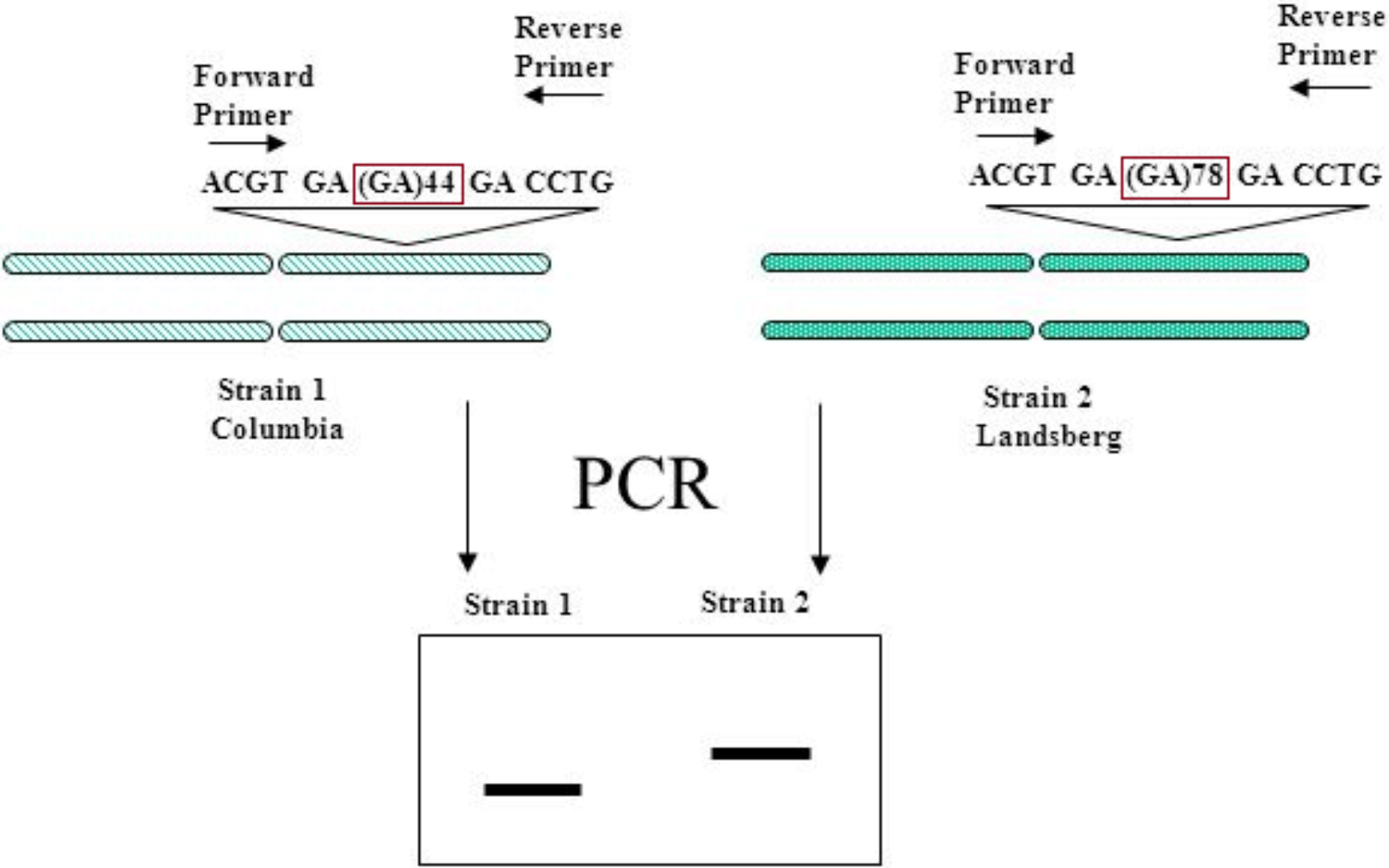
SNP Single-nucleotide polymorphism

Table 1 Polymorphic SNPs described in this work

Polymorphic SNPs	Chromosome and position [#] associated to gene ⁵	C57BL/6JArc (Australia)	C57BL/6J (Jackson)	C57BL/6J (Charles River)	C57BL/6JRccHsd (Harlan)	C57BL/6JOlaHsd (Harlan)	C57BL/6JBomTac (Taconic)	B6(Cg)-Tyr ^{f-2j} /J ("B6 albino"/ Jackson)	C57BL/6NCrl (Charles River)	C57BL/6NHsd (Harlan)	ES cells JM8.N4	C57BL/6NTac (Taconic)
rs13477019	3 : 23723842 <i>Naaladl2</i>	T	T	T	A	A	A	A	A	A	A	A
CEL-14_116404928 (rs31233932)	14 : 124508019 <i>Fgf14</i>	C	C	C	C	C	C	C	T	T	T	T
rs13480759	10 : 108815683 -	C	C	C	C	C	C	C	T	T	T	T
CEL-10_58149652 (rs29359333)	10 : 57864252 <i>Lims1</i>	G	G	G	G	G	G	G	A	A	A	A
rs13483055	17 : 60459368 -	T	T	T	C	C	C	T	C	C	C	C
rs13481734	13 : 27129019 -	A	A	A	G	G	G	G	G	G	G	G
rs13480122	9 : 30964211 <i>Anln2</i>	T	T	T	T	T	T	T	C	C	C	C

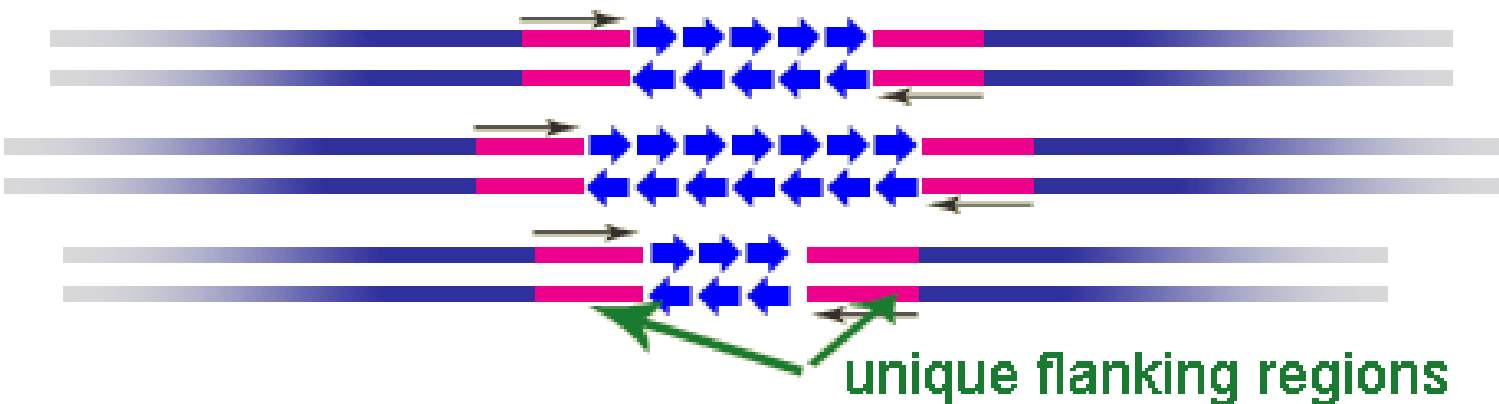


SSLPs Simple Sequence Length Polymorphisms

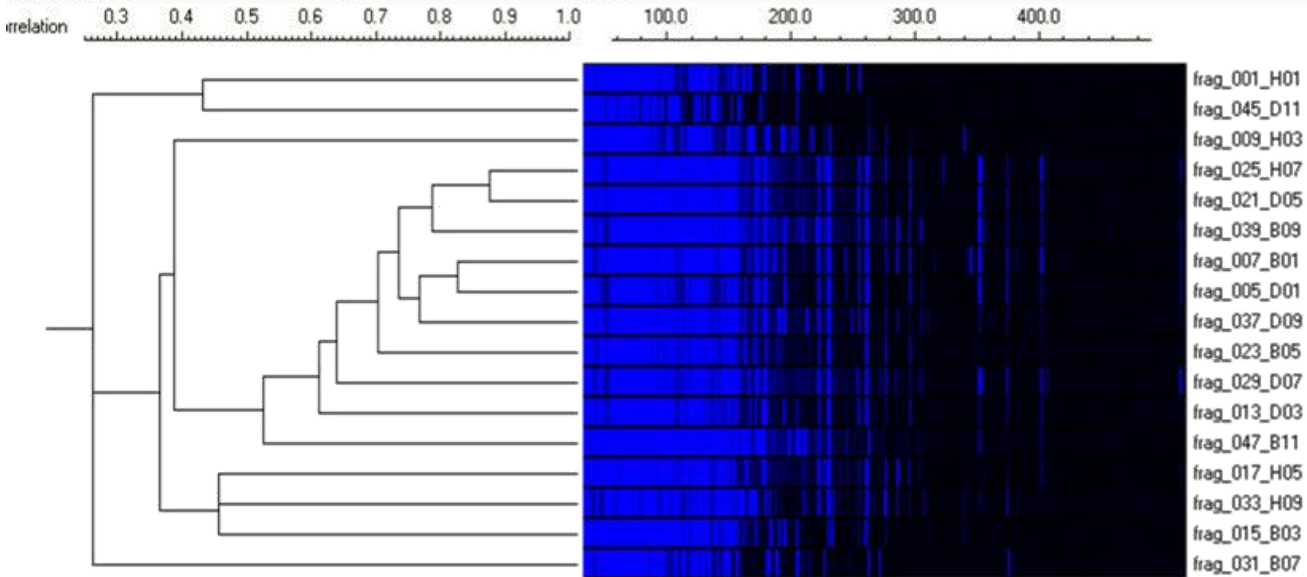
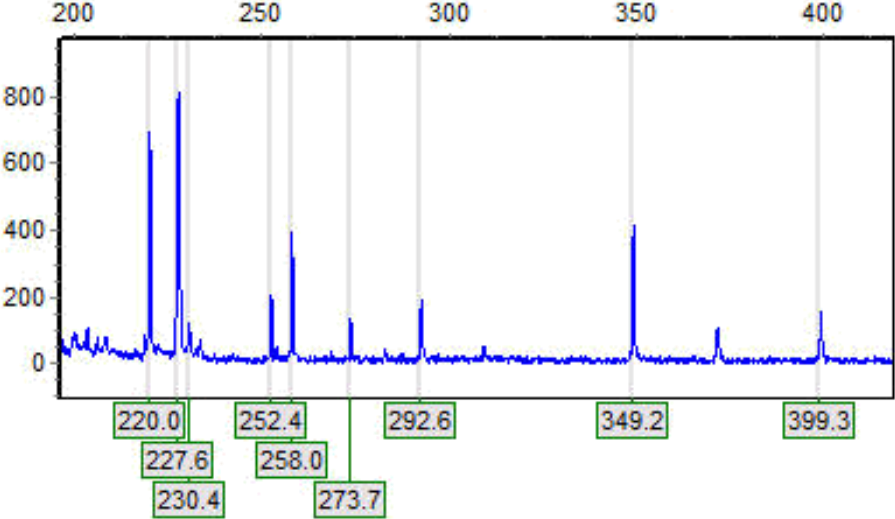


SSR Microsatellite polymorphism

The number of SSRs is highly variable among individuals



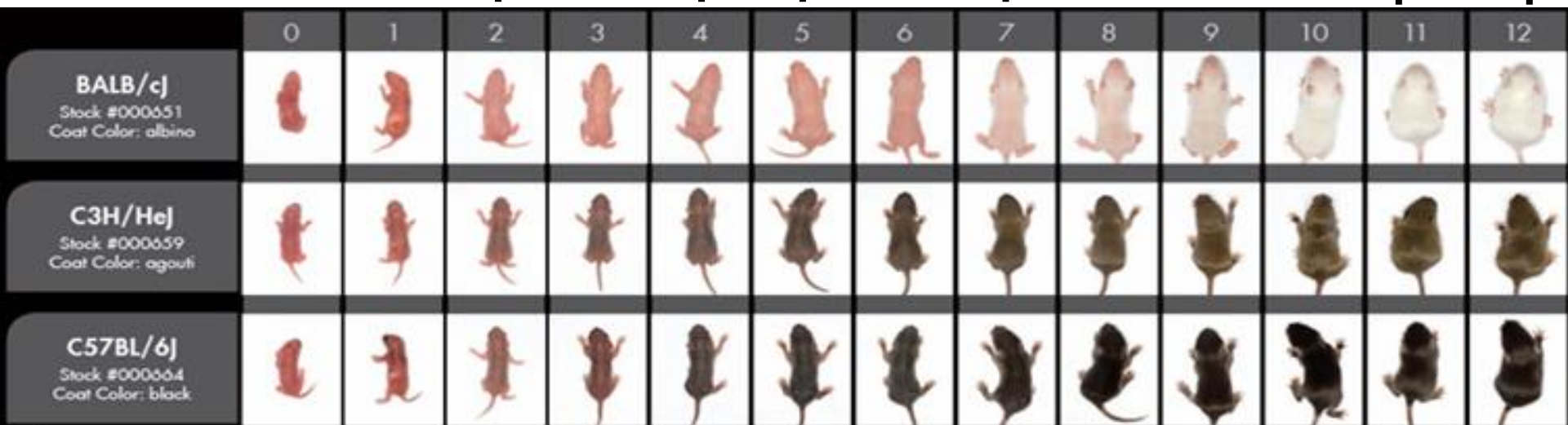
AFLP Amplified fragment length polymorphism



Аденогенез матки -
развиваются маточной железы

Проявление
волосяного покрова

Открытие глаз



Раскрытие ушной
раковины

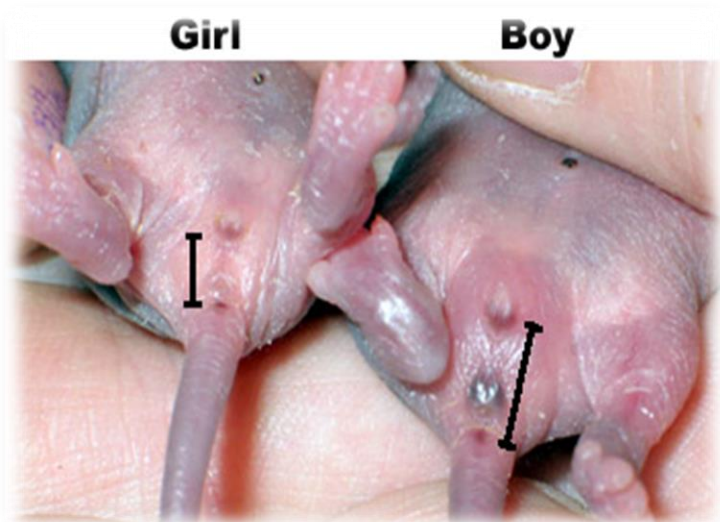
Определение половой принадлежности

- ✓ Грызуны могут втягивать яички в полость тела → очевидное их отсутствие не означает, что перед вами – самка!
- ✓ Аногенитальное расстояние практически в 2 раза больше у самцов, чем у самок.
- ✓ У самцов крупнее внешние половые органы

Крысы



Мыши



Стадии эстрального цикла

Проэструс (~ 12 ч)

- ✓ ядерные эпителиальные клетки
- ✓ лейкоциты
- ✓ случайные ороговевшие клетки

Эструс (~ 12 ч)

- ✓ 25% ядерных клеток
- ✓ 75% ороговевшие клетки
- ✓ Ороговевшие клетки будут преобладать как течка прогрессирует

Метеструс (~ 21 ч)

- ✓ большое количество лейкоцитов и ороговевших клетках
- ✓ продукты распада клеток
- ✓ большой, плоский ядерные (тротуар) клетки

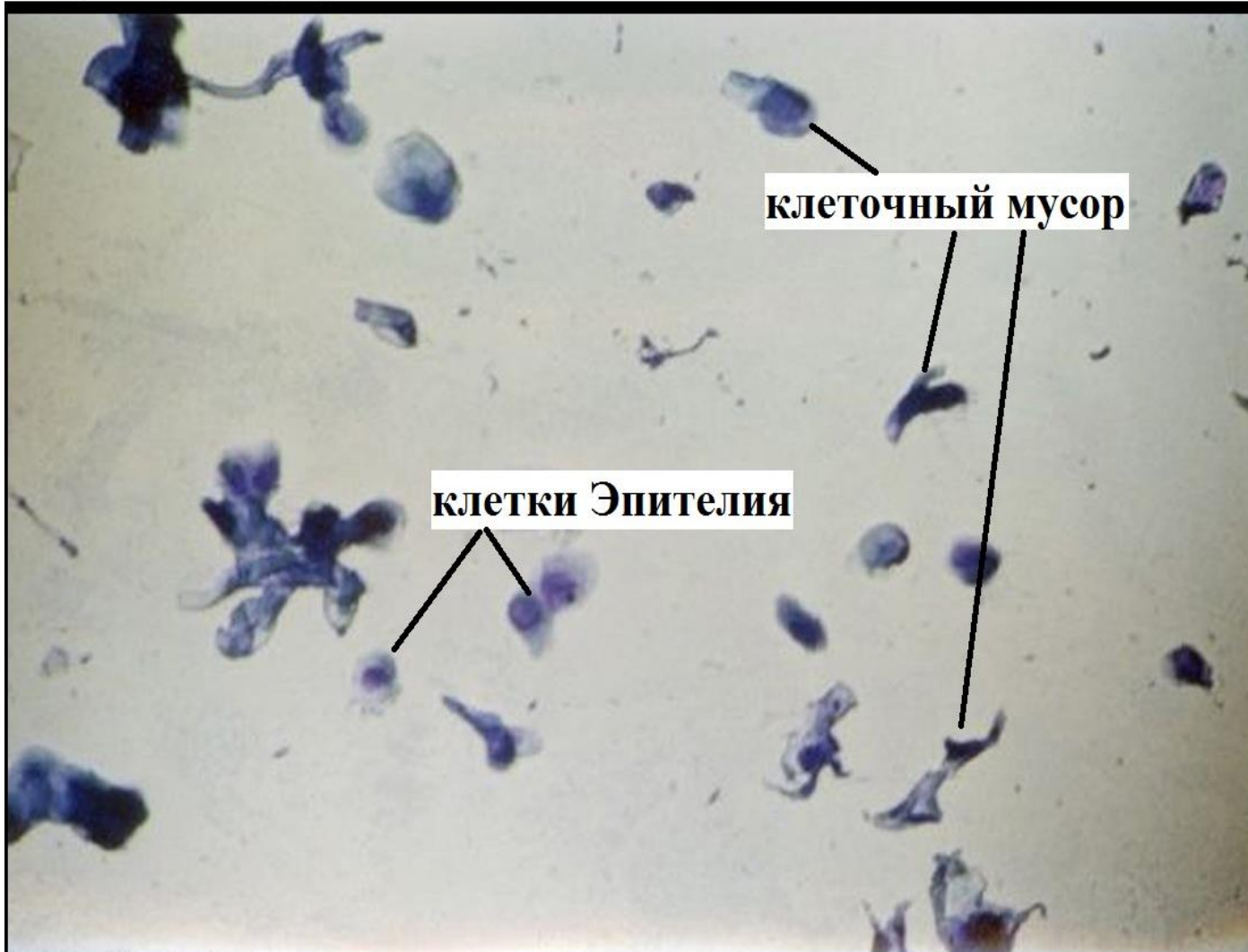
Диэструс (~ 57 ч)

- ✓ состоит в основном из лейкоцитов

Стадия раннего Проэструса

На этом этапе эстрального цикла на вагинальном мазке:

- ☒ мазок значительно «чище» - меньше клеточного мусора
- ☒ меньше слизи.
- ☒ эпителиальные клетки более четкой округлой или овальной формы с крупным ядром
- ☒ крайне редкое присутствие лейкоцитов



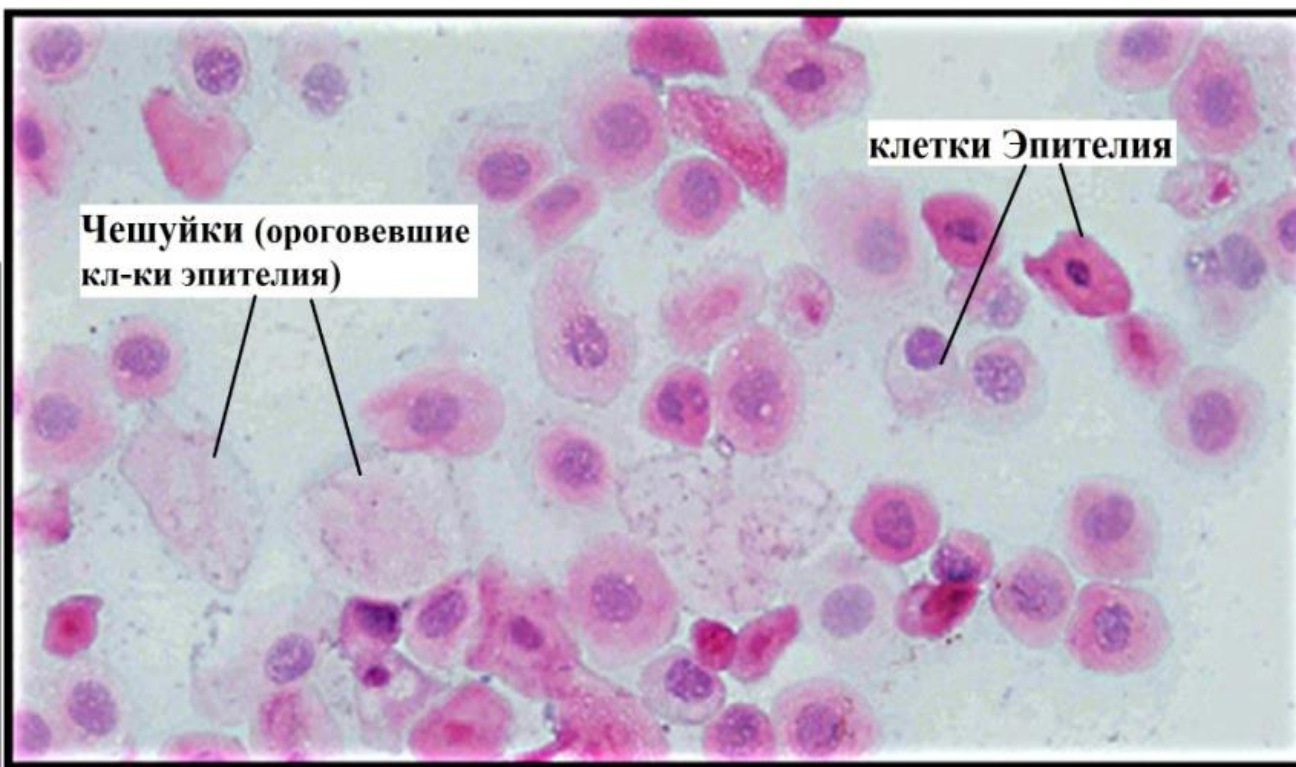
Стадия Проэструса

Proestrus

фиксируется во второй половине дня

На этом этапе эстрального цикла на вагинальном мазке:

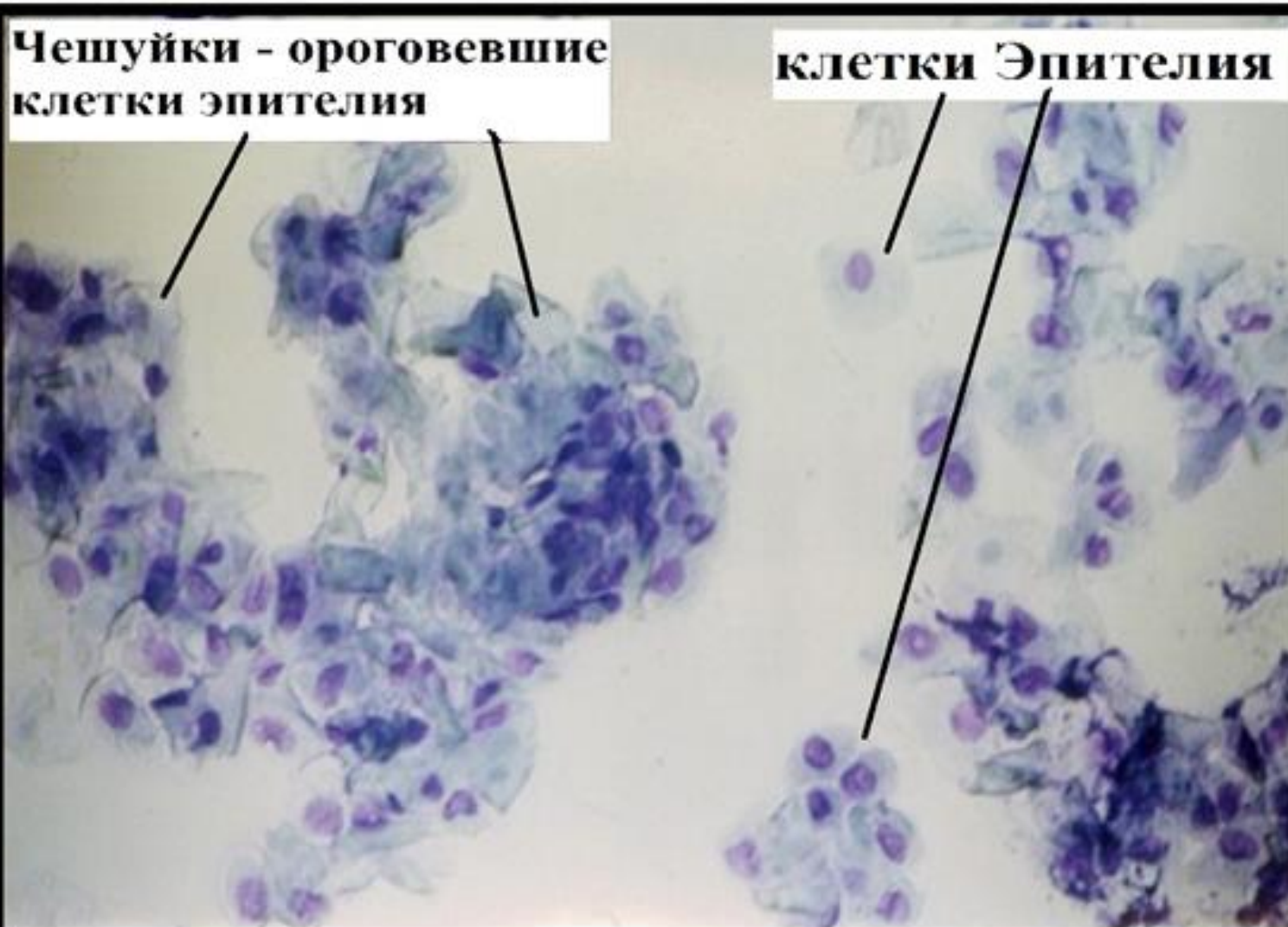
- ☒ мазок «чистый»
- ☒ слизи нет
- ☒ эпителиальные клетки более четкой округлой или овальной формы с крупным ядром
- ☒ крайне редкое присутствие лейкоцитов и 'чешуик' - ороговевших клеток эпителия



Переходная стадия от Проэструса к Эструсу

На этом этапе эстрального цикла на вагинальном мазке:

- ☒ мазок четкий, без клеточного мусора и слизи
- ☒ наличие клеток эпителия
- ☒ начинается процесс ороговения клеток эпителия – клетки имеют менее четкую форму

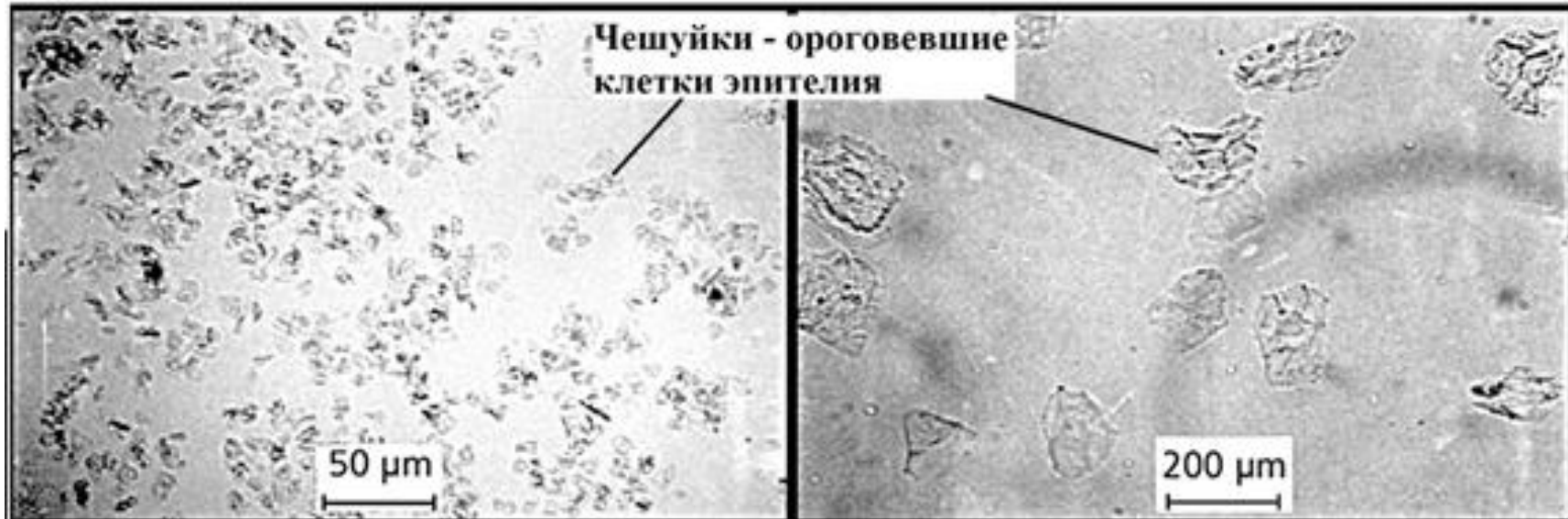


Стадия Эструса

фиксируется утром

На этом этапе эстрального цикла на вагинальном мазке:

- ☒ мазок состоит из ороговевших эпителиальных клеток, которые образуют группы
- ☒ к концу этой стадии они образуют крупные и хлопья-чешуйки.



Переходная стадия от Эструса к Метэструсу

На этом этапе эстрального цикла на вагинальном мазке:

- ☒ присутствуют ороговевшие клетки и хлопья-чешуйки
- ☒ появляются лейкоциты

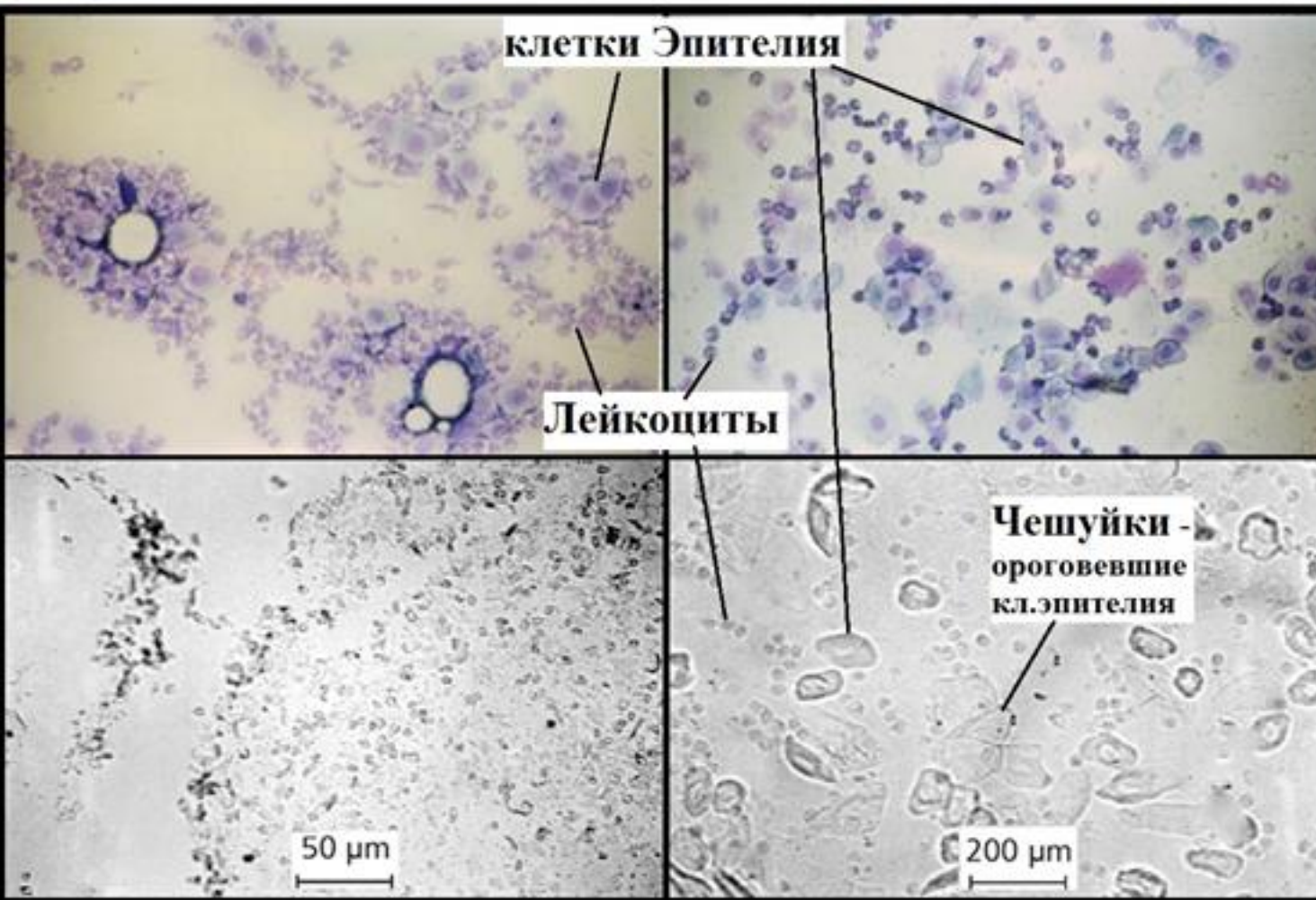
фиксируется вечером



Стадия Метэструса

На этом этапе эстрального цикла на вагинальном мазке:

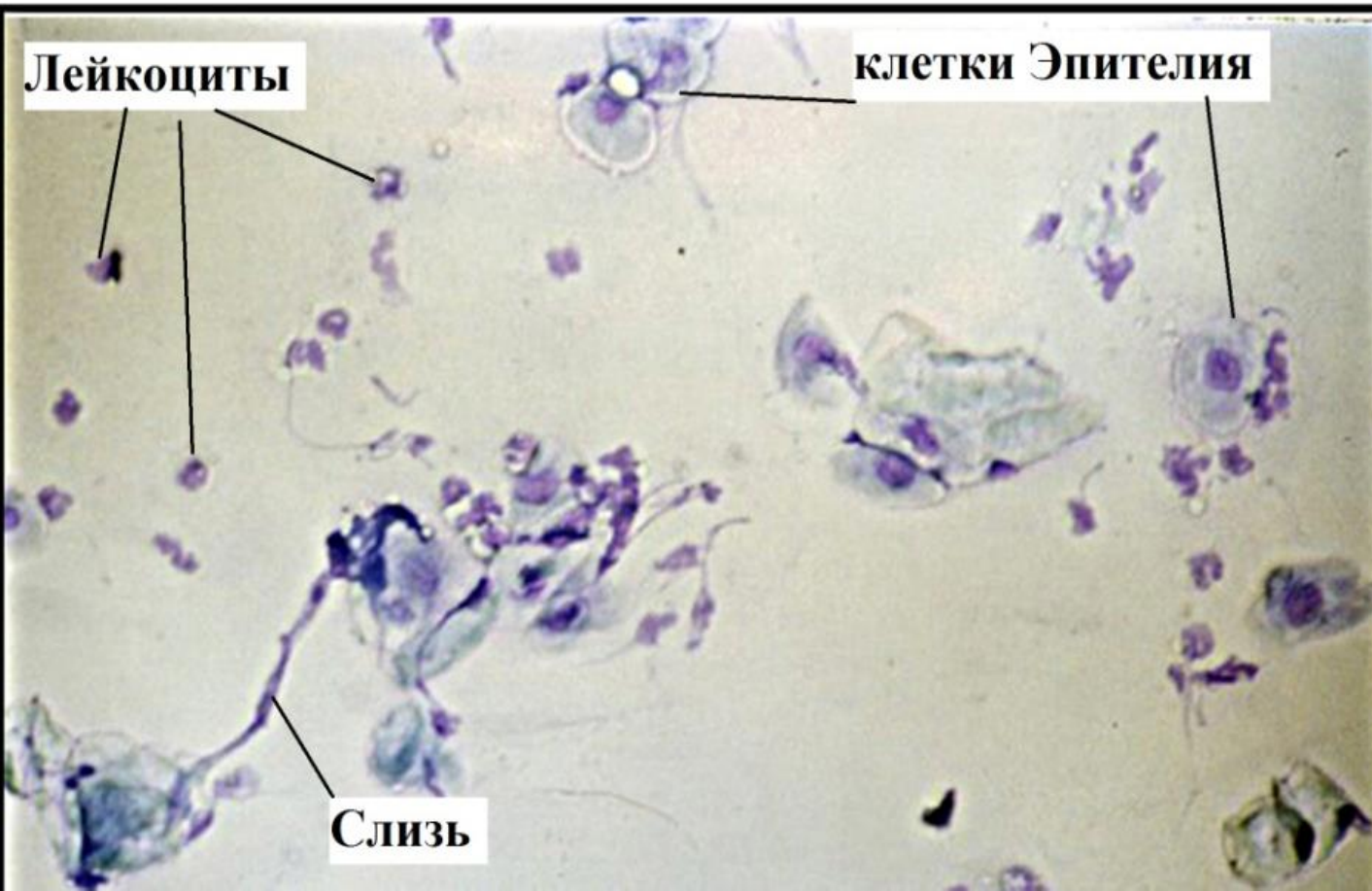
- ☒ лейкоциты формируют основную часть клеточного материала
- ☒ присутствуют клетки эпителия и в меньшей степени ороговевшие клетки или хлопья-чешуйки



Переходная стадия от Метэструса к Диэструсу

На этом этапе эстрального цикла на вагинальном мазке:

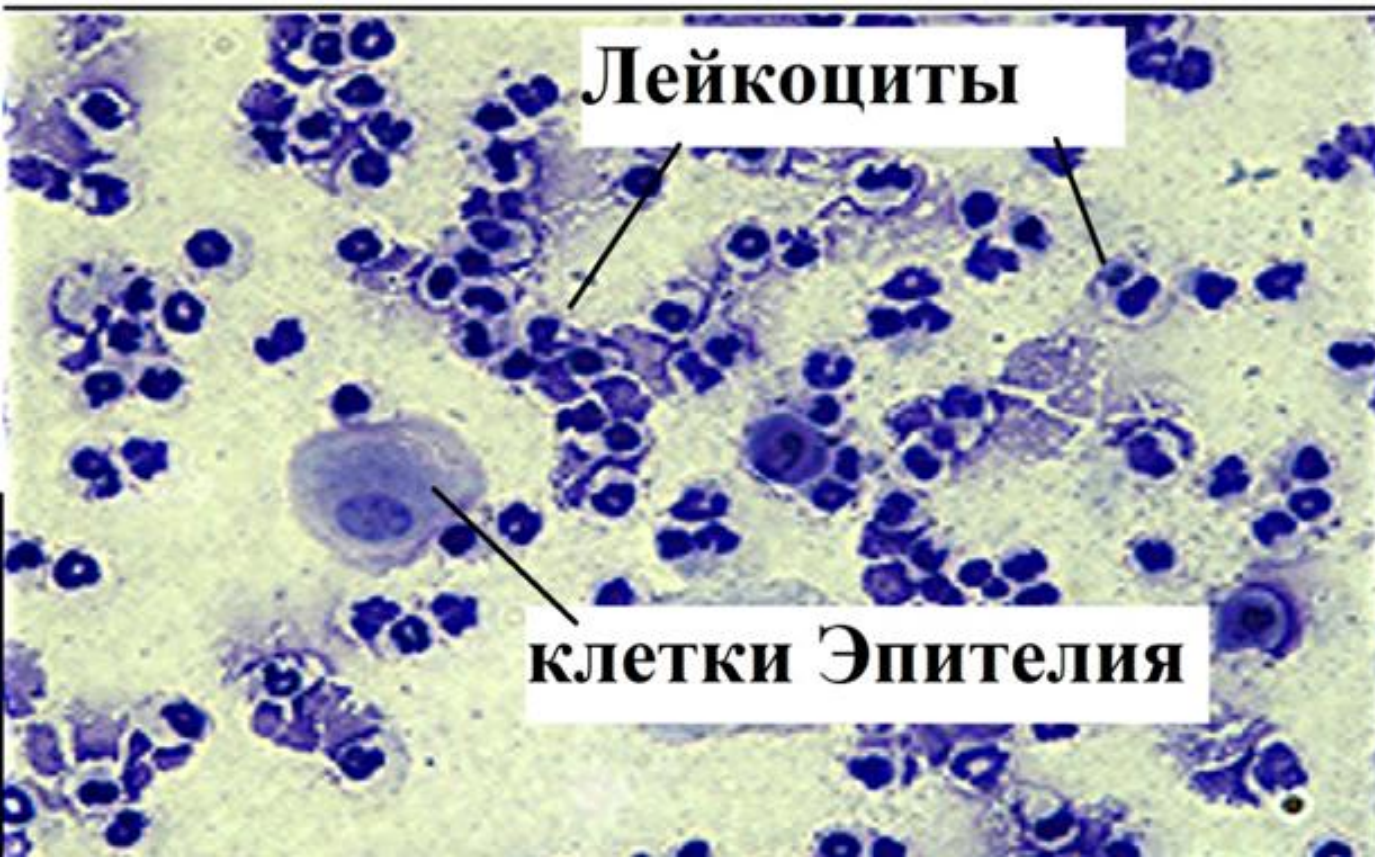
- ☒ снижение количества клеточного материала
- ☒ появление слизи. Часто в тонких нитей.



Стадия Диэструса

На этом этапе эстрального цикла на вагинальном мазке:

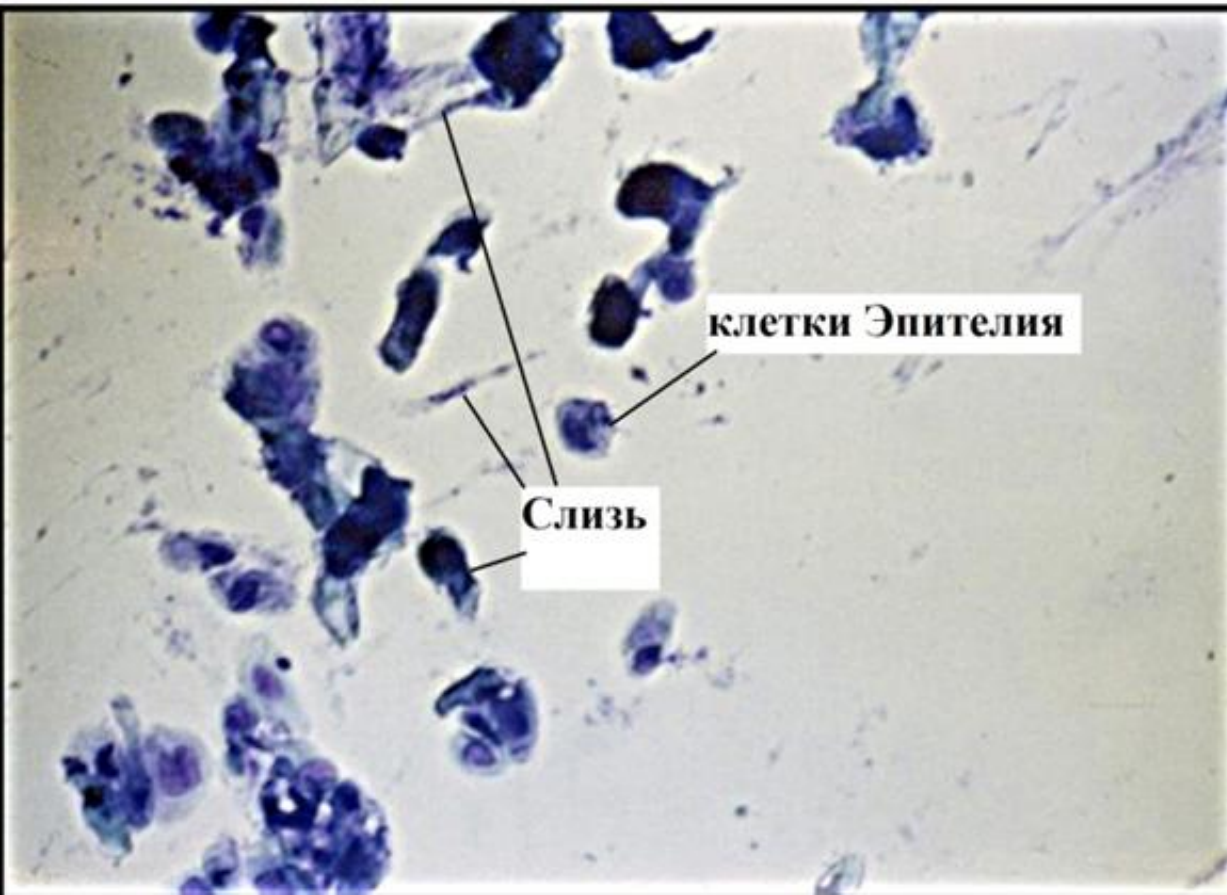
- ☒ мало клеточного материала
- ☒ наличие слизи
- ☒ наличие клеточного мусора – продукты распада клеток
- ☒ мелкие округлые безъядерные клетки лейкоциты
- ☒ редко встречающиеся ядерные клетки эпителия



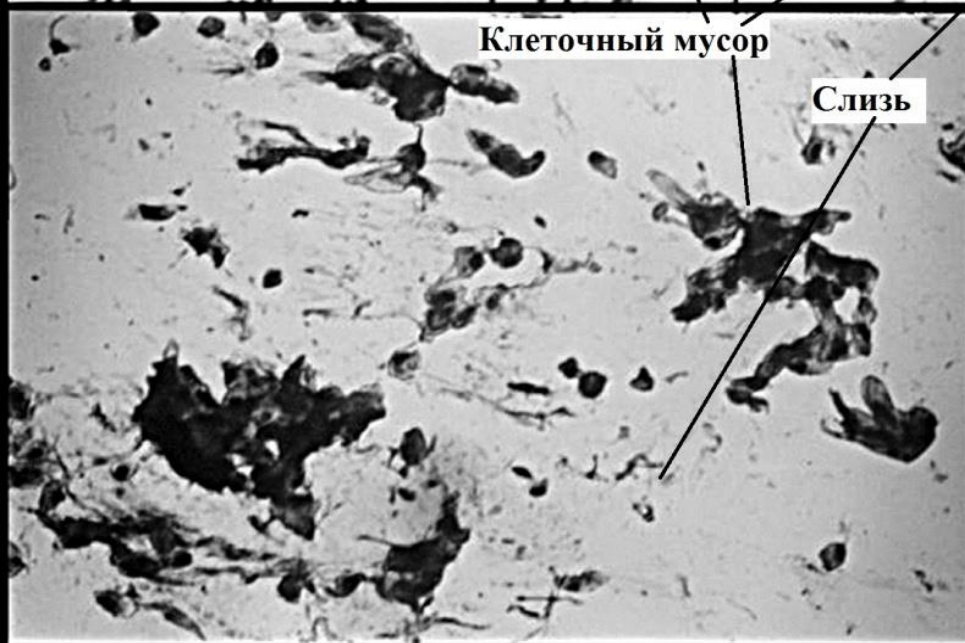
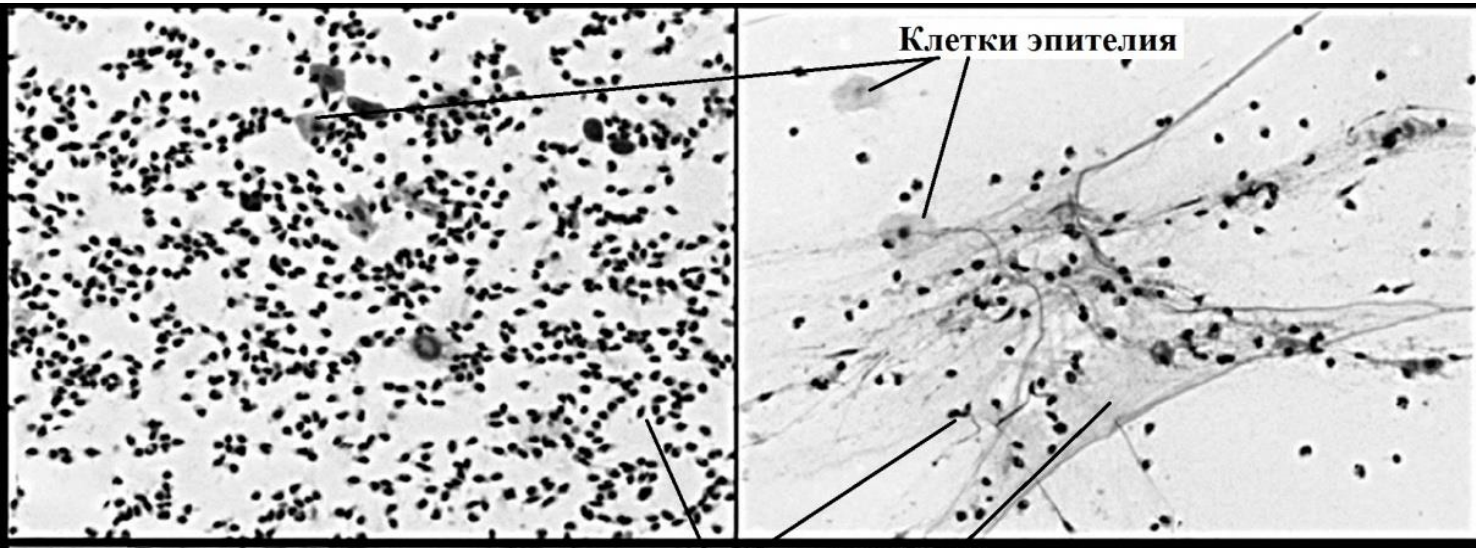
Переходная стадия от Диэструса к Проэструсу

На этом этапе эстрального цикла на вагинальном мазке:

- ☒ значительно больше слизи (чем в Diestrus), встречается в виде толстых нитей или дисков
- ☒ преобладают круглые, овальные, неопределенной формы клетки эпителия
- ☒ лейкоциты встречаются редко



Стадия Анэструса



Anestrus

На этом этапе эстрального цикла на вагинальном мазке:

- ☒ клеточный состав мазка на данном этапе напоминает стадию перехода от Диэструса в Проэструс
- значительно больше слизи (чем в Diestrus), встречается в виде толстых нитей или дисков
- преобладают круглые, овальные, неопределенной или сморщенной формы клетки эпителия
- лейкоциты встречаются редко
- ☒ большое количество слизи
- ☒ много клеточного мусора

Системы разведения

- Система пар:
 - *Моногамные (1 самец, 1 самка)*
 - *Полигамные = гаремная система (1 самец, 2-6 самок).*
- Большинство самок будет спариваться на 3-и сутки после введения в группу самца
- Продолжительность беременности 19-21 день

Снижение времени между пометами в случае, когда самцов оставляют с самками после рождения детенышей, и они оплодотворяют их во время первой овуляции

Эффект Уиттена:
синхронизация эстрального цикла у самок крыс и мышей после введения в группу самца –
наблюдается после длительного содержания самок в однополой группе

Особенности размножения

Наступление половозрелости:

- 65-110 дней у крыс
- 28-49 у мышей

Репродуктивный возраст мыши – до годовалого возраста

- ✓ Различается у разных линий/стоков
- ✓ Зависит от состава корма, внешних факторов.
- ✓ Лабораторные грызуны могут

размножаться круглый год

Эстральный цикл у самок

- длится 4-5 дней,
- ✓ чувствителен к свету: овуляция (стадия эструса) у мышей наступает через 3-5 часов после наступления темноты,
- ✓ при непрерывном освещении самки могут войти в постоянную стадию эструса, что может привести к поликистозу яичников!

***В питомнике/виварии
необходимо соблюдения
цикла смены дня и ночи
(12/12)!***

Влияние феромонов мышей на размножение

Эффект Брюса:

- беременность не наступает, если к самке в течение суток после спаривания в клетку помещают незнакомого самца
 - феромоны незнакомого самца предотвращают имплантацию эмбрионов
- через 4-5 дней такие самки возвращаются в эструс
- самцы, кастрированные до наступления половозрелости такой эффект не вызывают

- ✓ *наблюдается у 30% самок мышей*
- ✓ *не наблюдается у крыс.*

Эффект Ли Бута:

- при содержании самок в группах (*более 4х самок*) без спаривания наблюдается большое число ложных беременностей
 - влияние женских феромонов
- при содержании в больших группах (*более 30 особей*) – самки могут войти в анэструс

Датирование беременности

У МЫШЕЙ → по наличию
копуляционной пробки

У КРЫС → по наличию
сперматозоидов во
влагалищном мазке

- ✓ образуется во влагалище
самки после
оплодотворения из
коагулировавшего семени
и продуктов желез
половых путей

ПОТОМСТВО

Размер помета:

- **10-13 у мышей**
- **6-12 у крыс**
- ✓ Роды длится около 90 минут.
- ✓ Первый помет обычно меньше, чем последующие.
- ✓ Самок грызунов нельзя беспокоить в течение 2х недель после родов. У самок крыс может наблюдаться каннибализм!
- ✓ Внутри гаремных систем самки часто объединяют пометы одного возраста, и ухаживают за ними совместно.

- ✓ Если самка успешно кормит детенышей, в их желудке можно видеть «молочное пятно».
- ✓ Продолжительность лактации— **21 день**
- ✓ После этого детенышей можно рассаживать переводить на самостоятельное питание