

# ПОЛУЧЕНИЕ ХИМЕРНЫХ МЫШЕЙ ПУТЁМ ИНЪЕКЦИИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В БЛАСТОЦИСТУ НА БАЗЕ ЦЕНТРА ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ИЦиГ СО РАН

Г.В. КОНЦЕВАЯ<sup>1</sup>✉, Н.А. ФЕОФАНОВА<sup>1</sup>, А.Г. МЕНЗОРОВ<sup>1</sup>, И.Е. ПРИСТЯЖНЮК<sup>1</sup>, А.В. СМИРНОВ<sup>1</sup>, Н.Р. БАТТУЛИН<sup>1</sup>, Л.А. ГЕРЛИНСКАЯ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

## PRODUCTION OF CHIMERIC MICE BY INJECTION OF EMBRYONIC STEM CELLS TO BLASTOCYST ON THE BASIS OF THE CENTER OF GENETIC RESOURCES OF LABORATORY ANIMALS OF ICG OF THE SB RAS

G.V. KONTSEVAYA<sup>1</sup> ✉, N.A. FEOFANOVA<sup>1</sup>, A.G. MENZOROV<sup>1</sup>, I.E. PRISTYAZHNYUK<sup>1</sup>, A.V. SMIRNOV<sup>1</sup>, N.R. BATTULIN<sup>1</sup>, L.A. GERLINSKAYA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

### Введение

Несмотря на всё более широкое применение метода микроинъекции систем редактирования генома в зиготу, получение трансгенных мышей с помощью инъекции эмбриональных стволовых (ЭС) клеток в бластоцисту мыши всё ещё остается крайне востребовано при внесении сложных модификаций в геном. Помимо линий модифицированных ЭС клеток для получения химерных мышей необходимо технологическое обеспечение для проведения инъекций ЭС клеток в бластоцисты, пересадку бластоцист реципиентным самкам и другие вспомогательные операции. В связи с этим на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН была создана технологическая база, позволяющая реализовать методику получения трансгенных линий мышей.

### Цель работы

Отработка технологии получения химерных

мышей с вкладом эмбриональных стволовых клеток в формирование гамет путём инъекции эмбриональных стволовых клеток в бластоцисту мыши на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН.

### Методы

Для проведения эксперимента по созданию химерных мышей мы использовали линию стволовых клеток DGES1 (нормальный кариотип  $2n=40$ , XY, генотип 129S2/SvPasCrl), созданную в лаборатории генетики развития ИЦиГ СО РАН. Для микроинъекции в бластоцисты использовали клетки на 34-м пассаже. Бластоцисты получали от суперовулированных самок B6D2F1, покрытых самцами C57BL/6J, через 3 дня после обнаружения пробки. Клетки ресуспендировали и вводили по 12-15 шт. в бластоцель с помощью инвертированного микроскопа Axio Observer (Carl Zeiss, Германия), оснащённого системой микроманипуляторов и микроинъекторов (Narishige, Япония) и

Цитирование: Концевая Г.В. и др. Получение химерных мышей путём инъекции эмбриональных стволовых клеток в бластоцисту на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН. *Russian Scientist*. 2017. т.1. №2: 26-27.

Citing: Kontsevaya GV et al. Production of chimeric mice by injection of embryonic stem cells to blastocyst on the basis of the center of genetic resources of laboratory animals of ICG of the SB RAS. *Russian Scientist*. 2017. v.1 №2: 26-27.

✉ g-kon@ngs.ru

Материал прошёл одностороннее слепое рецензирование.

The manuscript took a single-blind peer review.

охлаждающим столиком (+6 °С), соединённым с водяной помпой. После проведения микроинъекций бластоцисты трансплантировали в матку псевдобеременных самок CD-1 (2,5 дня беременности). Все животные, использованные в эксперименте, были SPF-статуса.

### Результаты

В ходе эксперимента ЭС клетки были введены в 136 бластоцист генотипа B6D2F1. Бластоцисты были подсажены 10 псевдобеременным самкам CD-1, у которых суммарно родилось 66 мышат. Среди этих потомков 15 оказались химерами, 4 из них с химеризмом выше 80 %. Все родившиеся

химеры фенотипически были самцами и не имели отклонений в развитии. 10 из 15 химерных животных были фертильны. Анализ аллелей микросателлитов потомков химерных самцов показал вклад эмбриональных стволовых клеток DGES1 в формирование гамет.

### Выводы

Имеющаяся технологическая база, а также использование линии ЭС клеток DGES1 в сочетании со специфическими генотипами реципиентных бластоцист и приёмных матерей привело к эффективному получению фертильных химерных мышей.