

ТЕХНОЛОГИЯ СОЗДАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ МЫШЕЙ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО КОЛИЧЕСТВА МЫШЕЙ В КОЛОНИИ

Е. И. ЛЕОНОВА¹ ✉, О.А. АВЕРИНА², Р.Р. ГАЙНЕТДИНОВ¹

¹ Институт трансляционной биомедицины СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия

² ИЦ ВЭК ООО «НИИ Митоинженерии МГУ», Москва, Россия

TECHNOLOGY OF PRODUCING GENETICALLY MODIFIED MICE: DETERMINATION OF THE OPTIMAL NUMBER OF MICE IN THE COLONY

E.I. LEONOVA¹ ✉, O.A. AVERINA², R.R. GAINETDINOV¹

¹ Institute of Translational Biomedicine Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

² Research Center by Vivarium Experimental Complex "Mitoengineering Research Institute of the Moscow State University", Moscow, Russia

Введение

Одна из приоритетных задач в биомедицине – создание экспериментальных животных моделей для изучения заболеваний человека. Благодаря открытию новой технологии редактирования генома эукариотических организмов CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) – Cas9 (CRISPR-associated nuclease 9) появилась уникальная возможность нокаутить ген у животного уже в первом поколении [1]. Для создания нокаутных мышей с высокой эффективностью необходимо одновременно получить определённое количество оплодотворённых яйцеклеток экспериментальной линии от самок-доноров и псевдобеременных реципиентов для трансплантации яйцеклеток после введения генетической конструкции.

Цель

Целью данной работы является определение оптимального количества мышей в колонии для получения генетически модифицированной линии.

Материалы и методы

Для получения оплодотворённых яйцеклеток использовались самцы и самки мышей 3-х линий: C57Bl/6, NOD/SCID и гибриды первого поколения (F1), полученные в результате скрещивания самок CBA и самцов C57Bl/6 (F1 C57Bl/6/CBA). Для гарантированного получения оплодотворённых клеток самки в возрасте 4-5 недель подвергались дополнительной гормональной стимуляции: внутрибрюшинные инъекции гонадотропина сыворотки жеребых кобыл и через сутки хориогонического гонадотропина человека, но не позднее, чем за 10 часов до ссаживания с самцами. Далее каждую самку подсаживали к самцу этой же линии [2]. Для получения эффекта псевдобеременности у реципиентов самок CD1 и F1 ссаживали с вазэктомированными самцами CD1 и F1. На следующее утро после спаривания самок-доноров и реципиентов отбирали в эксперимент по наличию копулятивных пробок (подтверждение факта спаривания с самцом).

Цитирование: Леонова Е.И., Аверина О.А., Гайнетдинов Р.Р. Технология создания генетически модифицированных мышей: определение оптимального количества мышей в колонии. *Russian Scientist*. 2017. т.1 №2: 34-35

Citing: Leonova EI, Averina OA, Gainetdinov RR. Technology of producing genetically modified mice: determination of the optimal number of mice in the colony. *Russian Scientist*. 2017. v.1 №2: 34-35

✉ 1102.elena@gmail.com

Материал прошёл одностороннее слепое рецензирование.

The manuscript took a single-blind peer review.

Результаты

В результате исследования было выяснено, что при правильном питании частота использования самца определяется его происхождением. Так, чтобы получить максимальное количество забеременевших самок, необходимо использовать самцов F1 C57Bl/6/CBA через 2-3 дня, C57Bl/6 – 1 раз в семь дней, а NOD/SCID – не реже, чем 1 раз в 15 дней, поэтому для последних более эффективно проводить оплодотворение *in vitro* [3].

Заключение

Для создания генетически модифицированных мышей необходимо иметь как минимум 30 вазэктомированных самцов CD1 или F1 C57Bl/6/CBA, к каждому из которых подсаживать по 3

самки, для получения псевдобеременных. Для получения оплодотворённых яйцеклеток при условии подсадки не более 10 самок, количество самцов будет зависеть от линии: F1 C57Bl/6/CBA – 20, C57Bl/6 – как минимум 30. NOD/SCID – 50, но, чтобы не содержать такую большую колонию, для последних достаточно иметь 20 самцов и проводить оплодотворение *in vitro*.

Использованная литература:

1. Williams A., Henao-Mejia J., Flavell R.A., Cold Spring Harb. Protoc. (2016)
2. Kumar T.R., Larson M., Wang H., McDermott J., Bronshteyn I., Mol. Endocrinol., Humana Press, Totowa, NJ, (2009).
3. Li F., Cowley D.O., Banner D., Holle E., Zhang L., Su L., Sci. Rep. 4 (2014).