

КОНТРОЛЬ ЧИСТОТЫ ЛИНИЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ДНК

М.В. ПИНЮГИНА¹ ✉, Е.Н. КОСОБОКОВА¹, В.С. КОСОРУКОВ¹, Ю.М. БУКРЕЕВ¹

¹ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

PURITY CONTROL OF LABORATORY ANIMAL LINES USING MICROSATELLITE DNA

M.V. PINYUGINA¹ ✉, E.N. KOSOBOKOVA¹, V.S. KOSORUKOV¹, YU.M. BUKREEV¹

¹Russian Oncological Scientific Center named after Nikolay Blokhin, Moscow, Russia

Введение

При проведении доклинических исследований безопасности и эффективности лекарственных средств наиболее востребованным видом лабораторных животных являются мыши *Mus musculus*. Для получения статистически достоверных и воспроизводимых результатов требуются не только чёткое соблюдение условий содержания и проведения опыта, но и стандартизованная модель, что обеспечивается использованием инбредных линий животных. С другой стороны, близкородственное скрещивание влечёт за собой возникновение спонтанных мутаций и перерождение линии. Подобные мутации не обязательно сопровождаются морфологическими или очевидными физиологическими изменениями. В таком случае единственным надёжным способом контроля чистоты линии является генетический. В SPF-лабораториях чаще всего для этих целей используют ДНК-маркеры, основанные на вариабельности микросателлитных участков ДНК.

Цель

Разработка метода генетического мониторинга лабораторных мышей на основе ДНК-маркеров.

Методы

В исследовании использовали лабораторных мышей линии BALB/cJLac и C57Bl/6y. Выделение геномной ДНК из ушной раковины животных проводили при помощи наборов Genomic DNA Purification Kit (Thermo scientific, Литва). В качестве ДНК-маркеров выбрали микросателлиты, как наиболее часто используемые маркеры для генотипирования лабораторных животных (крыс, мышей). Для проведения ПЦР подобрали линейку праймеров (микросателлитные ДНК): (GAG)6C, (CTC)6C, (CTC)6A, AG9-1, AG9-2. Результаты ПЦР оценивали посредством электрофореза в 1,5% агарозном геле. Для визуализации ДНК использовали краситель SYBR (Life technologies, США).

Результат

Сравнительный анализ использования разных праймеров из представленной линейки показал, что не все из них удобны для визуального анализа, ввиду получения большого количества амплификатов близкого размера, затрудняющих сравнение разных образцов. В таком случае прибегали к помощи программного обеспечения GeneTools (Syngene). Используемые маркеры позволяли достоверно различить 2 линии мышей,

Цитирование: Пинюгина М.В., Кособокова Е.Н., Косоруков В.С., Букреев Ю.М. Контроль чистоты линий лабораторных животных с использованием микросателлитных ДНК. *Russian Scientist*. 2017. т.1 №2:47-48

Citing: Pinyugina MV, Kosobokova EN, Kosorukov VS, Bukreev YuM. Purity control of laboratory animal lines using microsatellite DNA. *Russian Scientist*. 2017. v.1 №2: 47-48

✉ marina160366@mail.ru

Материал прошёл одностороннее слепое рецензирование.

The manuscript took a single-blind peer review.

что было подтверждено при «слепой» идентификации отдельных особей. С целью контроля результатов был получен заведомо ложный вариант посредством скрещивания животных разных линий, который позволил оценить ревалентность каждого из праймеров. Данные свидетельствуют о том, что при перекрёстном скрещивании каждая из линий вносит свой вклад в распределение аллелей в локусах. Это позволяет даже визуально оценить возможное «загрязнение» линии. По результатам работы была составлена таблица распределения аллелей в локусах, выявляемых при помощи ДНК маркирования, для каждой из использованных линий.

Выводы

Разработанная методика позволяет определить или подтвердить принадлежность конкретного экземпляра к той или иной линии с сохранением животного и возможностью его дальнейшего использования в эксперименте. Таким образом, данная методика пригодна для мониторинга чистоты линии лабораторных животных.