

ЛЕКЦІЯ № 5

Тема: Лінії лабораторних тварин для медико-біологічних досліджень

План:

1. Історія використання лабораторних тварин у біомедицині
2. Історія створення інбредних ліній лабораторних тварин
3. Номенклатура ліній та субліній лабораторних тварин

Сайт Джексоновської лабораторії: <https://www.jax.org/>

Лінійні тварини широко використовуються в експериментальній практиці, у багатьох галузях біології та медицини. Результати досліджень, виконаних на лінійних тварин, є порівнянними і можуть бути повторені в будь-який віддалений час та в будь-якому іншому науковому центрі.

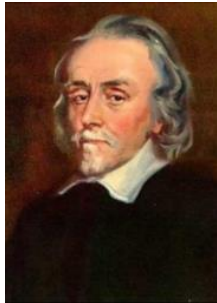
На них перевіряються відповідні реакції організму різні біологічні, фізичні і хімічні чинники, стресові відповіді залежно від генотипу тварини тощо.

1. Історія використання лабораторних тварин у біомедицині.

Завдання біомедицини – профілактика та лікування різних захворювань людини. Застосовувати мишей та щурів у наукових дослідженнях стали відносно недавно. Вони найзатребуваніші об'єкти для систематичних досліджень.

У XVII столітті з'явилися перші згадки про використання мишей та щурів у наукових цілях, і пов'язані вони з іменами Вільяма Гарвея та Джозефа Прістлі.

Англійський медик **Вільям Гарвей** (1578-1657) у 1628 відкрив явище кровообігу, а у 1651 довів, що все живе розвивається з яйця.



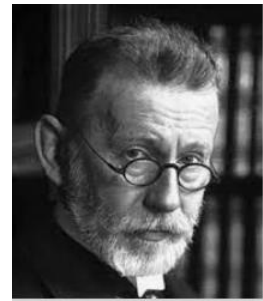
Англійський священик, дослідник природи, філософ і громадський діяч **Джозеф Прістлі** (1733-1804) у 1774-1778 р.р. відкрив кисень і вуглекислий газ, встановив виділення кисню рослинами.



У 1870-х Роберт Кох відкрив збудника сибірки. Йому вдалося культивувати збудника, вивчити його життєвий цикл та інфікувати їм піддослідних мишей.



На початку ХХ століття Пауль Ерліх проводив експерименти на тваринах в області онкології та довів перевивання пухлин у мишей та можливість провокування онкологічних захворювань похідними стрихніну, припустив наявність імунологічних реакцій у тварин після розсмоктування пухлин



Завдяки відносній дешевизні змісту, плідності та швидкому розмноженню, щури та миші набули високої популярності як модельні організми. Пацюків почали застосовувати в експериментах у 50-х роках ХІХ століття.

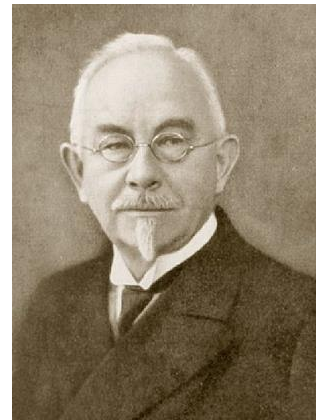
Довгий час одними із найпоширеніших експериментальних тварин були лабораторні щури. Це з будовою їх генетичного апарату – геном щурів має >90% подібності з геномом людини. Крім того, порівняно з мишею, щур більша тварина, що полегшує проведення різних операцій.

Перші досліди ставили на альбіносах сірого щура *Rattus norvegicus albinus* (званих також «білий щур») і будинкових мишах *Mus musculus*, безпородних, не виведених спеціально.

З розвитком науки підвищилися вимоги до підвищення точності та відтворюваності експериментів за рахунок зниження впливу генетичних відмінностей між особинами. Інакше кажучи, виникла потреба у однорідних експериментальних об'єктах, тобто. у виведенні лінійних щурів.

2. Історія створення інбредних ліній лабораторних тварин

Теоретичною основою створення ліній лабораторних тварин стало вчення Йогансена (W. Johannsen, 1903) про «чисті лінії», згідно з яким будь-яку популяцію можна розчленувати інбридингом на ряд ліній, що відрізняються фенотипічно. Основна відмінність лінійних тварин від нелінійних (неінбредних) полягає в тому, що вони гомозиготні та генетично однорідні.



Перші інбредні лінії виведені в США.

Вперше розведення лабораторних щурів було виконано для нейрологічних досліджень у Чикаго. У 1906 р. стік таких щурів поступив до інституту Вістар у Філадельфії, де Х. Кінг та Г. Доналдсоном були отримані 2 лінії щурів: 1-а чиста (інбредна) лінія щурів – *King Albino* (яка потім була перейменована на лінію РА) та комерційний аутбредний стік щурів (згодом названа *Wistar*), який дав початок багатьом аутбредним та інбредним лініям щурів.

До початку 30-х р.р. в біології та медицині в експерименті використовувалися виключно білі лабораторні миші *Mus musculus*. Їх називали «безпорідними або нелінійними», а по закордонній термінології аутбредними мишами.

Формування генетики як науки на початку 20 століття показало непридатність безпорідних мишей для ряду досліджень, і сприяло створенню інбредної лінії тварин як нової моделі в біологічному експерименті.

У межах інбредної лінії гомозиготні особини генетично однорідні, подібно однойцевим близнюкам. При відсутності гальмівних чинників 100%-ва гомозиготність досягається після проведення братсько-сестринського схрещування в перебігу 20 поколінь.

Перші лінії мишей призначалися для дослідження канцерогенезу. Вони походили від невеликої кількості стоків колоній лабораторних мишей Північної Америки і Європи, білих мишей Багга, колонії мишей Ласроп.

Першим цю роботу в 1907 році розпочав **К. Кук Літл** з Гарвардського університету, який вивчав успадкування забарвлення шерсті. У 1909 голу він отримав пару мишей з послаблено-коричневим забарвленням шерсті, що несли рецесивні гени *aa*, *bb*, *dd* і які лягли в основу назви лінії **dba**.

Протягом наступних 5 років більш ніж 20 поколінь цих мишей Літл розводив братсько-сестринським схрещуванням із селекцією на виживаємість і наявністю пухлин молочних залоз. Таким чином, була отримана перша високоракова інбредна лінія мишей, яка з 1950 року позначалася як **DBA**.



Пізніше центром цієї роботи стала заснована Літлом Джексоновська лабораторія.

У 1913 р. **А. Багг** створив інбредну лінію білих мишей *Bagg Albino C*, яка з 1932 широко відома під назвою **BALB/c**.



І вже в 1920 р. Дж. Стронг схрещуванням мишей *Bagg albino* з мишами лінії *DBA* отримав нові високоракові лінії, названі ним *A*, *C*, *CBA*, *C3H*, *C3HA* і т.д.



CBA



C3HA

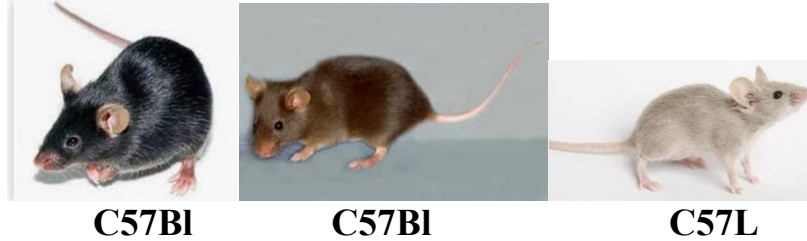


C3H



A

Починаючи з 1921 р. на основі тривалого інбридингу однопомітних чорних мишей з колонії Ласроп було виведено кілька нових ліній: C57Bl (black), C57Br (brown), C57L (leaden) і C58, що характеризуються низькою частотою виникнення раку молочних залоз або повною його відсутністю схильністю до лейкозів.



C57Bl

C57Br

C57L

На основі мишей лінії A була отримана інша високолікозна лінія, спочатку позначена як АК, а пізніше - **AKR**.



У 1968 р. Ервін Пантелорис вивів лінію безволосих мишей, позбавлених тимусу, що отримали назву "nude" (голі), або «бестимусних». Вони відрізняються повною відсутністю клітинних факторів імунітету (в їхній крові міститься лише близько 3% Т-лімфоцитів, тоді як у звичайних мишей цей показник досягає 85%).



Зараз у світі існує близько 1 тис. ліній щурів і більше 10 тис. ліній мишей, включаючи не тільки аутбредні та інбредні, але також трансгенні та нокаутні лінії.

Джерела виведення нових інбредних ліній мишей:

- 1) Спонтанні мутації, що виникли в тій чи іншій інбредній лінії або колонії нелінійних тварин.

Наприклад, інбредних лінія 129 / Re- + *dy* несе мутантний ген *dystrophia muscularis (dy)* (м'язова дистрофія), HRS - ген *hairless (hr)* (без шерсті).

- 2) В результаті селекції серед нелінійних або гібридних мишей на певну ознаку з подальшим братсько-сестринським інбридингом.

Наприклад, на базі аутбредних стоків були отримані дуже цінні інбредні лінії зі спонтанною аутоімунною хворобою: *NZB* і *NZW*.

3. Номенклатура ліній та субліній лабораторних тварин

У назві ліній тварин, які існують давно, немає загальних правил для назви. Часто назва лінії з'являлася в ході роботи з виведення лінії, вона могла складатися із символів

мутантних генів (DBA-dba, HRS, GLF), позначення масті тваринного та індивідуального номера (C57BL), скороченого позначення місця виведення (NZB- та NZW- новозеландські чорні) та білі) тощо.

За рекомендацією Міжнародного комітету зі стандартизації генетичної номенклатури **назви ліній пишуться великими латинськими літерами**. У назві лінії закладено її походження або деталь якоїсь особливості тварин даної лінії.

Лінії, що походять від спільних предків, але розділені при передачі в іншу лабораторію на 8-19 поколінь братсько-сестринського інбридингу (тобто поки тварини ще зберігають деяку гетерозиготність) і підтримуються окремо протягом наступних поколінь, прийнято вважати **сублініями**. Сублінії також утворюються при передачі племінного матеріалу готової інбредної лінії іншій лабораторії. В цьому випадку в результаті мутацій при тривалому роздільному розмноженні груп тварин однієї лінії накопичуються генетичні різниці між гілками вихідної лінії, що призводять до біологічних відмінностей.

Так, існуючі у світовій колекції, 5 субліній мишей **C57BL** відрізняються один від одного і від вихідної лінії цілим рядом біологічних особливостей, причому для них характерна тканинна несумісність. Тому не менш важливим є дотримання правил написання субліній.

Сублінію позначають також латинськими літерами через косу межу після написання основної лінії. Символи субліній найчастіше утворюються зі скорочення прізвища дослідника чи назви лабораторії, де сублінія підтримується. Перша літера цього позначення - велика, наступні - малі. Наприклад, символ CBA/Ca означає сублінію Картера (Carter) лінії CBA. Лінії: CC57BR/Mv, CC57W/Mv – виведені Н.М. Медведєвим (Mv). Якщо нова сублінія утворилася шляхом передачі будь-якої сублінії з однієї лабораторії до іншої, то старий символ зберігається і до нього додається новий. Наприклад, CBA/Calac означає сублінію Картера, що підтримується в англійському Центрі лабораторних тварин (Lac).

Число або літера також можуть бути використані як символи субліній. Наприклад, позначення інбредної лінії, що несе мутантний ген, складається з символу вихідної лінії, символу субліній, дефіса, що йде за ним, і символу гена, що набирається курсивом. Наприклад, BALB/cY-wal означає, що сублінія має рецесивну мутацію (waved alopecia)

При позначенні конгенної лінії, що несе мутантний ген, його символ вводять у позначення лінії (C57BL/6-C означає лінію C57BL/6, гомозиготну геном альбінізму «с»). Якщо ген підтримується в гетерозиготному стані, нормальний алель є знаком + (C57BL/6- + W означає лінію C57BL/6, гетерозиготну за геном домінантної плямистості «W»). Коли конгенна лінія отримана шляхом повторних схрещувань зі стандартною лінією, число схрещувань додається до основного символу; напр., C57BL/6-+ W(N8) показує, що ген W введений вісьмома схрещуваннями. Інбредний вік ліній визначається кількістю поколінь інбридингу та позначається цифрами: BALB/c (F 96).