

ИММУНОЛОГИЯ

ПРАКТИКУМ

КЛЕТОЧНЫЕ, МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

**Под редакцией
профессора Л.В. Ковальчука,
профессора Г.А. Игнатъевой,
профессора Л.В. Ганковской**

Министерство образования и науки РФ

Рекомендовано ГОУ ВПО «Московская медицинская академия имени И.М. Сеченова» в качестве учебного пособия для студентов учреждений высшего профессионального образования, обучающихся по специальностям
31.05.01 «Лечебное дело», 31.05.02 «Педиатрия»,
32.05.01 «Медико-профилактическое дело»,
30.05.01 «Медицинская биохимия», 30.05.02 «Медицинская биофизика»,
30.05.03 «Медицинская кибернетика»

Регистрационный номер рецензии 643 от 25 декабря 2009 г.
ФГУ «Федеральный институт развития образования»



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2014

ГЛАВА 1

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В ИММУНОЛОГИИ

1.1. ИНБРЕДНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

Для проведения фундаментальных исследований в иммунологии лучший объект — инбредные мыши. Инбредные животные — это животные, полученные путем инбридинга (in breed — выводить породу, разводить), т.е. последовательных близкородственных скрещиваний с целью получения гомозиготного и генетически идентичного потомства. Среди потомков для дальнейших скрещиваний сначала отбирают особей по признакам внешнего сходства, в последующих поколениях уже тестируют на совпадение групп крови и приживление кожных лоскутов. Через 20 поколений и более такой селекции получают мышей с весьма высокой степенью гомозиготности, обозначаемых как чистая линия, в пределах которой все животные генетически почти идентичны (например, как однояйцевые близнецы у человека).

Главная цель выведения чистых линий мышей и исследований на них — получение возможности многократного повторения экспериментов на генетически одинаковых организмах, т.е. обеспечение воспроизводимости результатов исследований в высоком смысле этого понятия, что полностью исключено при решении многих иммунологических задач с использованием беспородных животных. Подобные проблемы существуют при оценке результатов иммунных процессов у человека.

Мыши стали исключительными экспериментальными животными в иммунологии в силу ряда причин, главные из которых следующие:

- 1) короткий срок беременности (21 сут) и множественное потомство от каждой самки (5–8 детенышей в одни роды) позволяют весьма быстро вывести чистые линии, что важно по вышеназванным причинам;
- 2) себестоимость содержания мышей по сравнению с таковой других млекопитающих наименьшая;
- 3) структура и функция иммунной системы мыши и человека во многом сходны;

- 4) выведение чистых линий мышей показало, что, например, некоторые из них (несмотря на гомозиготность) весьма крепкие и здоровые, т.е. не всякий инбридинг приводит к вырождению.

Кроме того, путем целенаправленного отбора тех или иных свойств созданы многочисленные линии мышей с точно заданными характеристиками, и это позволяет выбирать особей, необходимых для достижения конкретных научных целей. Характеристики животных разных линий занесены в соответствующие документы; на них ориентируются питомники по разведению чистопородных мышей, имеющиеся во всех странах, где успешно занимаются проблемами экспериментальной иммунологии. Из наиболее прославленных питомников хотим упомянуть Джексонскую лабораторию (The Jackson Laboratory) в США. Ежегодно она поставляет в университеты, медицинские институты и научно-исследовательские лаборатории всего мира приблизительно 2 млн животных 2500 разных линий, стоксов и животных-моделей. Около 97% этих животных можно приобрести только в Джексонской лаборатории. В каждом питомнике разводимые и поддерживаемые линии мышей имеют паспорт, систематизированы в соответствующих базах данных и доступны для широкого применения. Известен гаплотип (H-2) мышей разных линий, их окрас, поведенческие характеристики, особенности функционирования иммунной системы и прочие свойства, необходимые не только для иммунологических исследований, но и исследований в других областях биологии и медицины (онкология, фармакология, экология и т.д.).

Мы приводим характеристику некоторых наиболее известных линий мышей, которые экспериментаторы выбирают с теми или иными определенными целями (табл. 1.1).

Таблица 1.1. Линии инбредных мышей, наиболее часто применяемые в исследованиях (Кондратьева И.А., Ярилин А.А., 2004)

Линия (гаплотип)	Сокращенное название линии	Сублинии	Характеристика
A(H-2 ^a)	A	A/He, A/J	Высокий уровень спонтанных опухолей молочной железы в некоторых сублиниях

Продолжение табл. 1.1

Линия (гаплотип)	Сокращенное название линии	Сублинии	Характеристика
AKR (H-2 ^k)	AK	AKR/J, AKR/N	Высокий уровень лейкемии
BALB/c (H-2 ^d)	C	BALB/cj, BALB/c, AnN	Чувствительны к радиации
CBA (H-2 ^k)	CBA	CBA/J, CBA/H, CBA/N	CBA/J несет ген <i>rd</i> , вызывающий рети-нальную дегенера-цию; CBA/N несет ген <i>xid</i> , вызывающий имму-нодефицит, связан-ный с X-хромосомой
C3H (H-2 ^k)	C3	C3H/He, C3H/ HeJ, C3H/HeN	Имеется ген <i>rd</i> , вызы-вающий рети-нальную дегенерацию; многие сублинии имеют высокий индекс спонтанных опухолей молочной железы
C57BL/6 (H-2 ^b)	B8	C57BL/6J, C57BL/6By, C57BL/6N	Очень агрессивны, чувствительны к радиации
C57BL/10 (H-2 ^b)	B10	C57BL/10J, C57BL/10ScSn, C57BL/10N	Отличаются от B6 по крайней мере по двум локусам; часто используются как партнеры C57BL/6 для получения конгенных мышей
C57BR (H-2 ^k)	BR	C57BR/cdj	Высокий уровень спонтанных опухолей гипофиза и печени

Продолжение табл. 1.1

Линия (гаплотип)	Сокращенное название линии	Сублинии	Характеристика
C57L	L	C57L/J, C57L/N	Чувствительны к индукции экспери- ментального ауто- иммунного энцефа- лита, высок уровень спонтанных опухолей гипофиза
DBA/1 (H-2 ^d)	D/1	DBA/1J, DBA/1N	Очень активны
DBA/2 (H-2 ^d)	D/2	DBA/2J, DBA/2N	Очень активны; низ- кий уровень ответа на пневмококковый полисахарид типа II
NZB (H-2 ^d)	NZB	NZB/BINJ, NZB/N	Высокий уровень аутоиммунных забо- леваний гемолитиче- ской анемии и нефри- та; при скрещивании с NZW у F ₁ развива- ется аутоиммунное заболевание, схожее с системной красной волчанкой (СКВ)
NZW	NZW	NZW/N	У F ₁ , полученных при скрещивании с NZB, развивается аутоим- мунная СКВ
P	P	PJ	Высокий уровень лей- кемии

Окончание табл. 1.1

Линия (гаплотип)	Сокращенное название линии	Сублинии	Характеристика
SJL (H-2 ^s)	S	SJLJ	Очень агрессивны, часто дерутся до смер- ти, особенно самцы; чувствительны к раз- витию аутоиммунных болезней
SWR	SWR	SWR/J	Чувствительны к раз- витию аутоиммунных болезней

CBA/J (рис. 1.1, см. также цв. вклейку) и гибриды первого поколения (**CBA/J** × **C57Bl.6**)**F1** — серо-бурые здоровые выносливые мыши, которые хорошо переносят облучение в кроветворных летальных дозах, и по этой причине их часто используют в радиационных моделях.



Рис. 1.1. Мышь линии CBA/J

C57Bl/6 (рис. 1.2, см. также цв. вклейку) — черного цвета мыши, подвижные, агрессивного поведения.

Balb/c (рис. 1.3) — белые мыши с хрупким здоровьем. Однако это самая востребованная линия для гибридной биотехнологии, потому что линии миелом, на основе которых получают гибридомы, ведут свою «родословную» от перевивной линии лейкозных клеток МОРС-21, происходящей от мышей Balb/c. Гибридомы хорошо растут в брюшной полости живых сингенных мышей в виде асцитных опухолей.

Кроме собственно чистых линий мышей, генетики научились выводить так называемых **конгенных** мышей. Так называют линии, отличающиеся друг от друга небольшой областью генома (иногда одним геном).



Рис. 1.2. Мышь линии C57Bl/6



Рис. 1.3. Мышь линии Balb/c

В основе выведения конгенных линий мышей лежит генетический прием возвратного скрещивания — получение потомства в ряду поколений от скрещивания гетерозиготы (потомков гомозиготных родителей, генетически отличающихся между собой) с одним из исходных гомозиготных родителей. Смысл подобного скрещивания — внедрить комплекс H-2 донорской линии A в генотип основной линии B. На рисунке 1.4 представлены донорская маркирующая линия A и основная линия B. От скрещивания гомозиготных особей этих двух линий получают гибриды первого поколения F_1 , (a/b; генерация 1). При дальнейшем скрещивании гибридов F_1 с особями основной линии B получают потомство, состоящее как из гомозигот (b/b), так и гетерозигот (a/b) по комплексу H-2. В последующих скрещиваниях отбираются только гетерозиготные особи, имеющие признак «а» ($H-2^a$), который определяется по приживлению кожного трансплантата от маркирующей линии A и положительной серологической реакции клеток