



Центр генетических ресурсов лабораторных животных
Федеральный исследовательский центр
Институт цитологии и генетики
Сибирское отделение
Российской Академии наук



Животные из природных популяций как новые модели для медико-биологических исследований

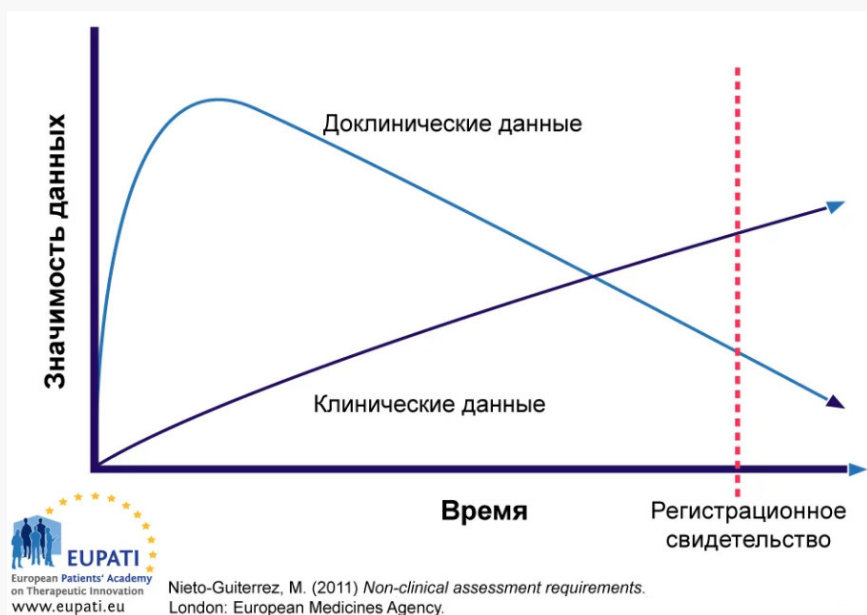
Завьялов Евгений Леонидович



Конференция GLP-PLANET, Санкт-Петербург, 31 июня - 1 июля 2022 года



- **Тестирование на животных остается жизненно важной частью современных доклинических испытаний во всем мире, несмотря на острую дискуссию об этике использования животных в биомедицинских тестах.**
- **Доклинические испытания новых фармацевтических препаратов невозможно без использования животных.**
- **Создание новых животных-моделей необходимо для оценки характера воздействия нового соединения на человека.**
- **В доклинических испытаниях используется широкий спектр животных-моделей, который постоянно расширяется.**

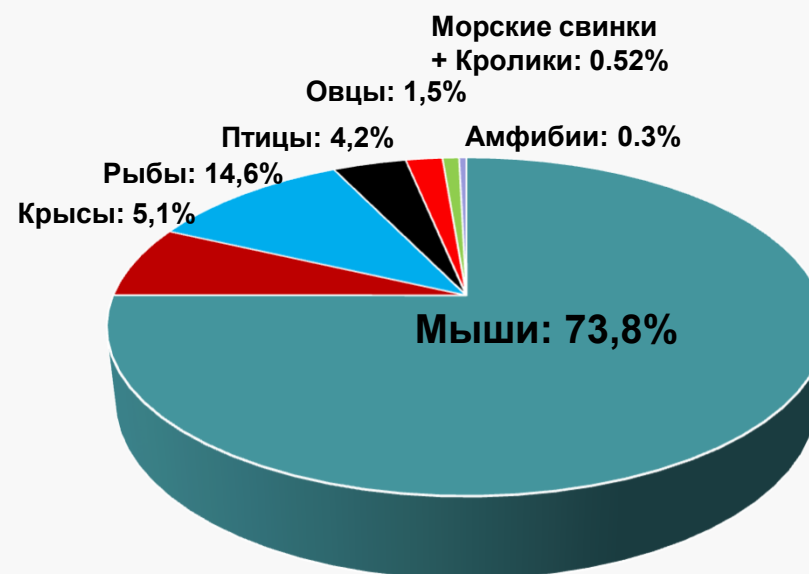
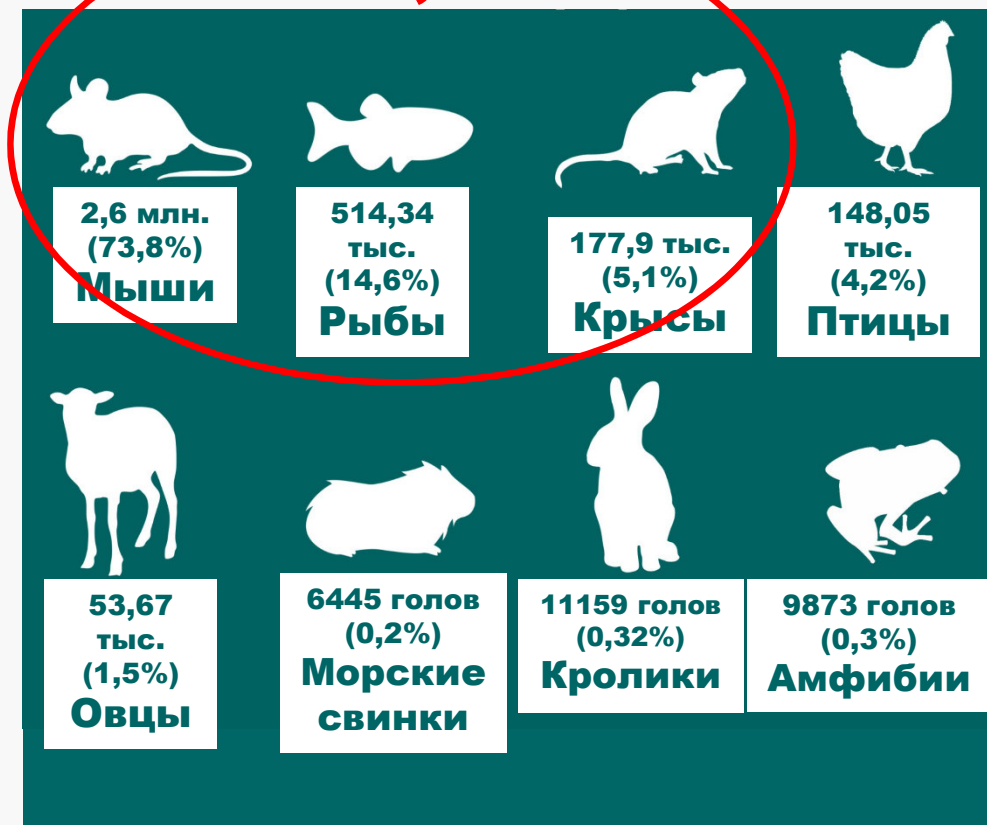


Животные, используемые в доклинических исследованиях



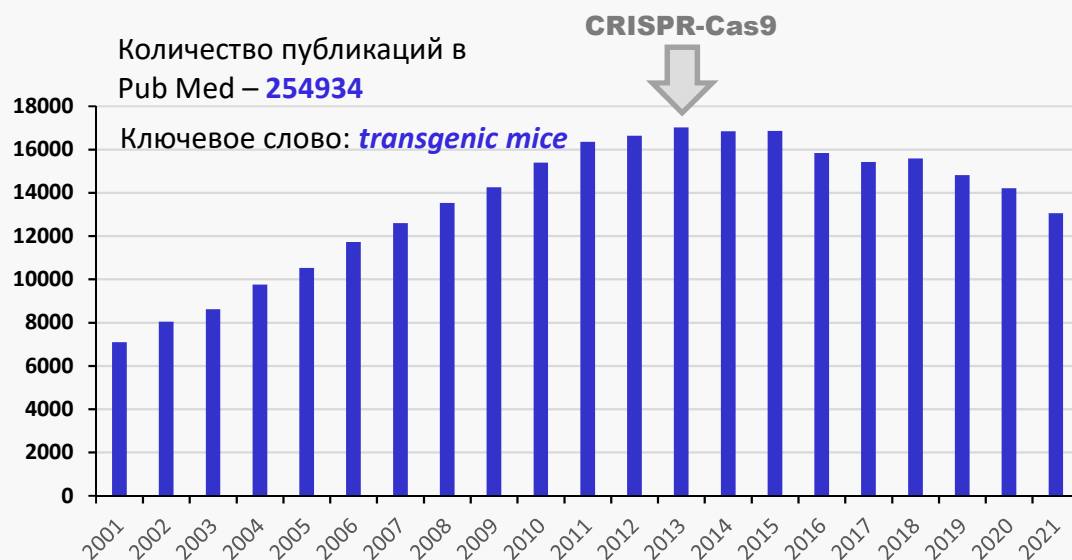
Использование разных видов животных исследователями Великобритании в 2021 г.

93,5%

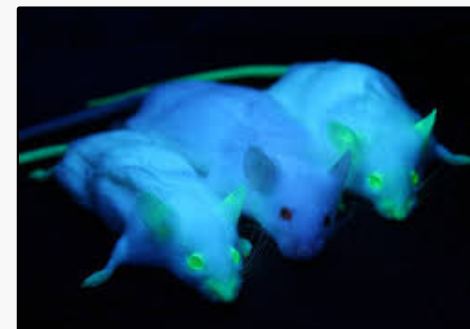


- Грызуны широко используются в биомедицинских исследованиях на протяжении многих десятилетий. Крысы исторически пользовались популярностью во многих областях биомедицинских исследований из-за их генетического сходства с людьми и даже из-за их интеллекта.

- В последние годы произошел значительный сдвиг в сторону использования мышей вместо крыс, что было связано с растущим набором генетических инструментов для мышей (CRISPR-Cas9). В нейробиологии использование моделей мышей выросло с 20% в 1970-1980 годах до 50% сегодня.



Трансгенные мыши несут зеленый флуоресцентный белок, который светится зеленым при голубом свете.



Ingrid Moen et al., *BMC Cancer*, 12/21 (2012), 1-10.

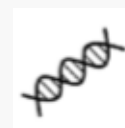


Распределение в использовании живых животных в Великобритании. 2018 г.

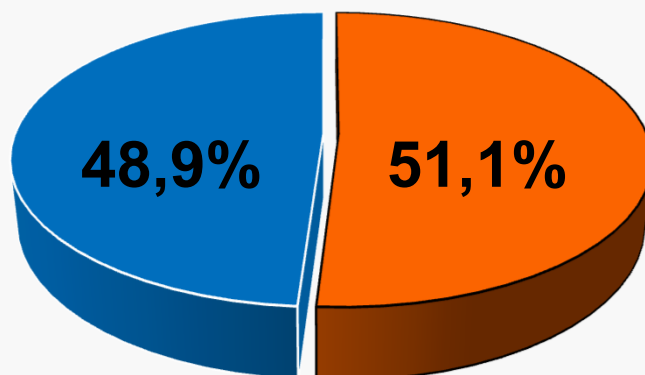


Эксперименты и исследования

(Фундаментальные и фармакологические исследования, хирурги, обучение и т.д.)



Создание трансгенных животных



60% Мыши



17% Рыбы



9% Крысы



87% Мыши

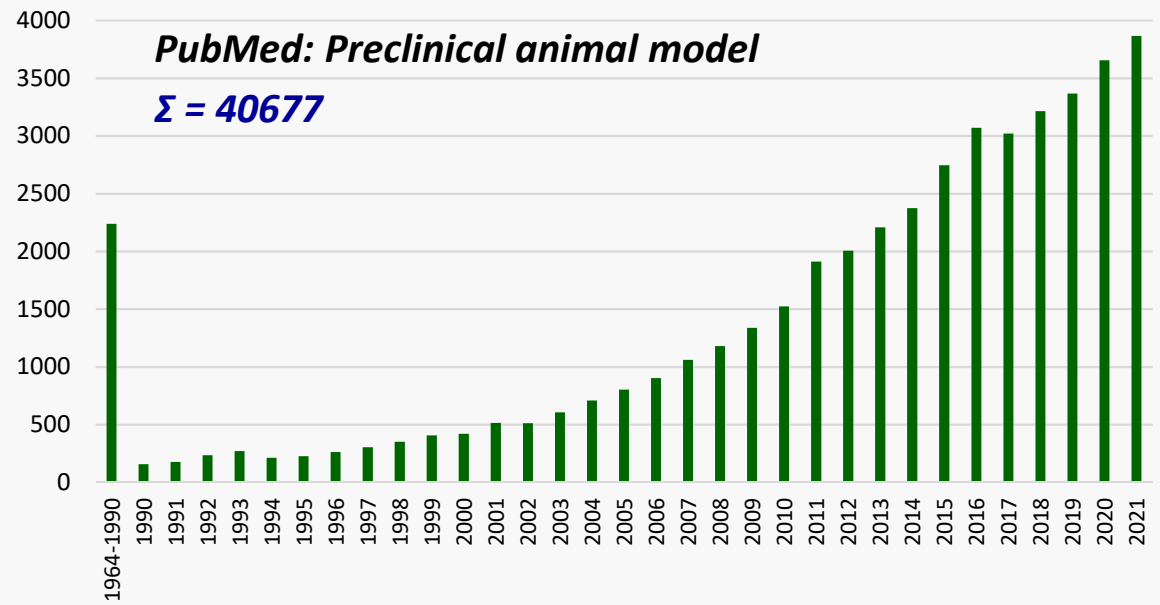
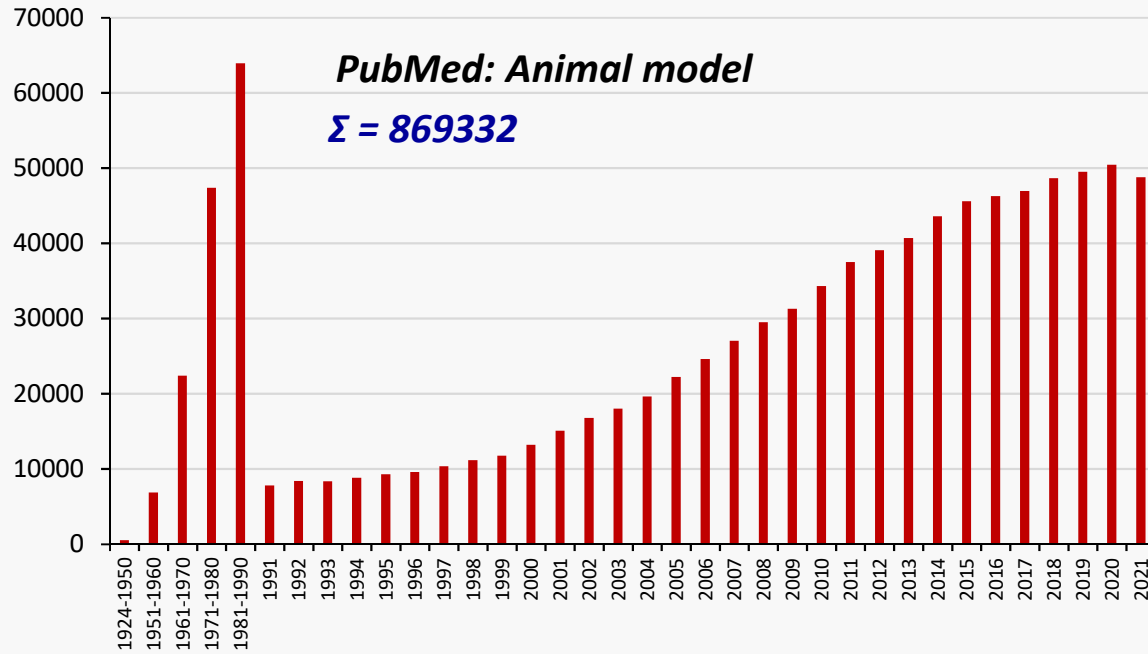


13% Рыбы



0,4% Крысы

CRISPR – новый удобный инструмент инженерии генома, позволяющий быстро и относительно недорого получать требуемые модели для разработки новых лекарственных препаратов.







Нематода
Caenorhabditis elegans

В науке более 40 лет

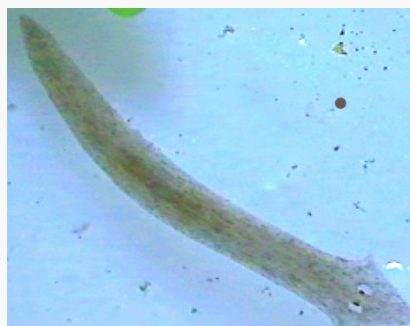
Беспозвоночные все более активно используются как модели для биоиспытаний.

Например, *C. elegans* и *D. melanogaster* используются, в том числе, в качестве моделей скрининга для разработки новых лекарственных препаратов.



Дрозофила
Drosophila melanogaster

В науке более 100 лет



Планария

Уникальная способность к регенерации



Тиходки

Эти крошечные (1,5 – 2 мм) существа выживают в Антарктиде и даже в ледяных глубинах бескрайнего космоса

Преимущества: низкая стоимость, генетическая совместимость, высокопроизводительный скрининг и совместимые условия культивирования, звено между моделями *in vitro* и доклиническими моделями позвоночных животных.

Недостатки: расхождения для белкового профиля между беспозвоночными и человеком.

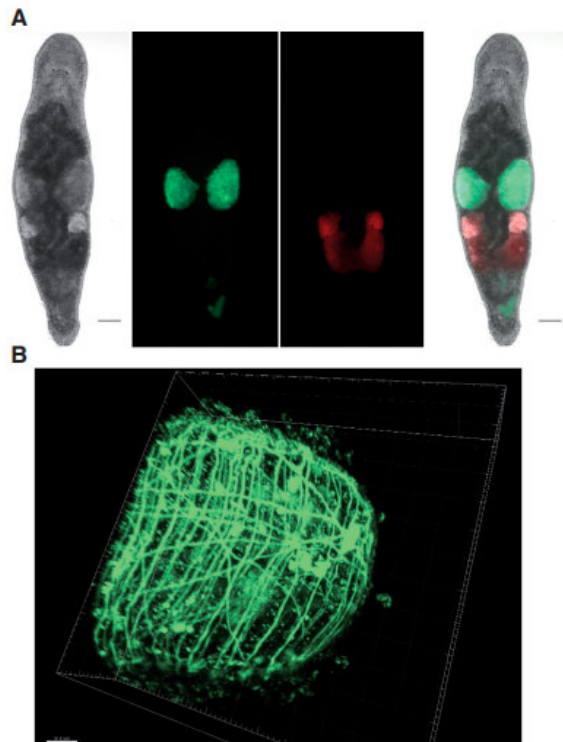


Fig. 3. Examples of tissue-specific transgenes in *M. lignano*. **(A)** Transgenic *M. lignano* animal from line NL24 (Wudarski et al., 2017), where ELAV promoter drives the expression of mNeonGreen in the testes, and spermatozoa located in the vas deferens and seminal vesicle (shown in green), and CABP7 promoter drives the expression of mScarlet in ovaries and developing eggs (shown in red). **(B)** 3D visualization of confocal Z-stack image of the tail of a transgenic worm from line NL9 (Wudarski et al., 2017) expressing GFP under the muscle specific MYH promoter.

BMC Part of Springer Nature

EvoDevo

REVIEW

Open Access

The free-living flatworm *Macrostomum lignano*

Jakub Wudarski¹, Bernhard Egger², Steven A. Ramm³, Lukas Schärer⁴, Peter Ladurner², Kira S. Zadesenets⁵, Nikolay B. Rubtsov⁵, Stijn Mouton¹ and Eugene Berezikov^{1,5*}

Wudarski et al. *EvoDevo* (2020) 11:5
<https://doi.org/10.1186/s13227-020-00150-1>

***Macrostomum lignano* – плоские черви гермафродиты, с прозрачным телом размером 1,5-2 мм. Представители литоральной песчаной мейофауны Адриатического моря. Живут до 2 лет.**

Модельный организм для различных исследовательских вопросов, связанных с регенерацией и биологией стволовых клеток, старением, репарацией и т.д.

***M. lignano* в настоящее время является единственным видом плоских червей, для которых разработаны методические подходы трансгенеза, что открывает возможности использования этого организма для создания новых противопаразитарных препаратов**

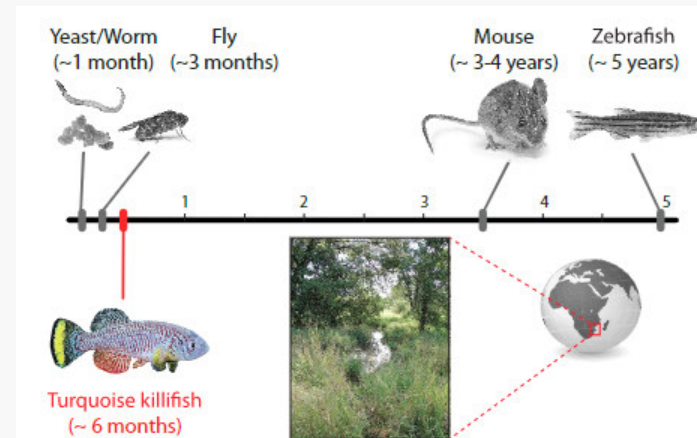
Turquoise killifish (*Nothobranchius furzeri*) – бирюзовый убийца

- Половая зрелость через 14 дней после вылупления
- Продолжительность жизни до 6 лет (в неволе)!

A Platform for Rapid Exploration of Aging and Diseases in a Naturally Short-Lived Vertebrate

Itamar Harel,¹ Bérénice A. Benayoun,¹ Ben Machado,¹ Param Priya Singh,¹ Chi-Kuo Hu,¹ Matthew F. Pech,^{2,3} Dario Riccardo Valenzano,^{1,5} Elisa Zhang,¹ Sabrina C. Sharp,¹ Steven E. Artandi,^{2,3,4} and Anne Brunet^{1,4,*}

¹Department of Genetics, Stanford University, Stanford, CA 94305, USA
²Department of Medicine, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA 94305, USA
³Biochemistry Department, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA 94305, USA
⁴Glenn Laboratories for the Biology of Aging at Stanford, Stanford, CA 94305, USA
⁵Present address: Max Planck Institute for Biology of Ageing, Cologne 50931, Germany
 *Correspondence: abrunet1@stanford.edu
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.038>



The short-lived African turquoise killifish: an emerging experimental model for ageing

Yumi Kim, Hong Gil Nam, Dario Riccardo Valenzano

Author and article information

Dis Model Mech (2016) 9 (2): 115–129.

<https://doi.org/10.1242/dmm.023226>

Житель пересыхающих водоемов Зимбабве и Мозамбика

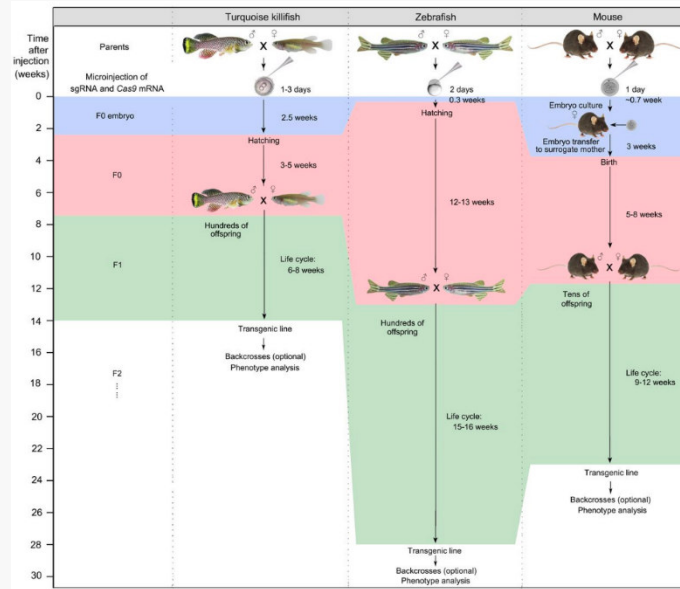
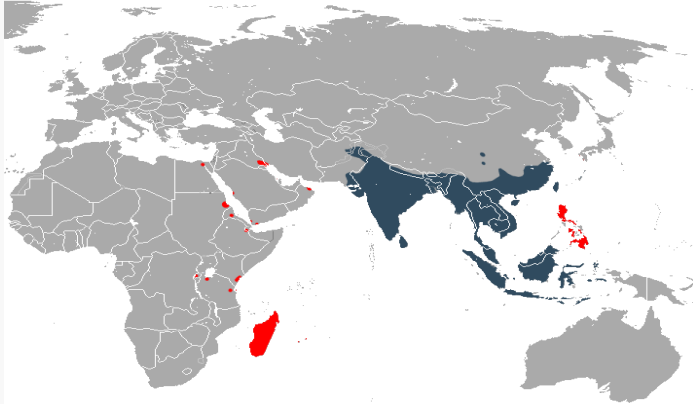


Table 2. Turquoise killifish as a platform to test gene variants associated with human age-related dysfunctions

Dysfunctions in human	Disease examples	Key genes in human	Killifish orthologues
Genome instability	Cancer Aplastic anaemia Dyskeratosis congenita Werner syndrome Progeria	<i>PS3, PTEN, PI3K, HER2, VEGFR, PARP, TERT, TERC, TRF1/2, TERT, TERC, DKC, WRN, LMNA</i>	<i>PTEN, PARP, TERT, DKC1, WRN, LMNA</i>
Mitochondrial dysfunction	Alpers-Huttenlocher syndrome Ataxia neuropathy syndromes Leigh syndrome Neuropathy, ataxia, and retinitis pigmentosa	<i>POLG, POLG, C10orf2, MT-ATP6, SURF1, MT-ATP6</i>	<i>POLG, POLG, ATP6, ATP6</i>
Neurodegeneration	Alzheimer's disease Huntington's disease Parkinson's disease	<i>APP, PSEN1/2, APOE, TREM2, HTT, LRRK2, PINK1, SNCA, FBXO7, PARK2, PARK7/DJ-1, PLA2G6, VPS35, ATP13A2, DNAJC6, SYNJ1</i>	<i>APP, PSEN1/2, HTT, LRRK2, PINK1, SCNA, FOXO7, PARK2, VPS35, PARK7, PLA2G6, ATP13A2, DNAJC6, SYNJ1</i>
Metabolic dysfunction	Phenylketonuria Propionic acidemia Glycogen storage diseases Tay-Sachs disease Type 1 diabetes	<i>PAH, PCCA, PCCB, G6PC, SLC37A4, GYS1/2, PYGL, PYGM, HEXA, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRB1</i>	<i>PAH, PCCA, PCCB, G6PC, SLC37A4, GYS1/2, PYGL, PYGM, HEXA</i>
Autoimmune defects	Systemic lupus erythematosus Rheumatoid arthritis Multiple sclerosis	<i>HLA-A/B/C, HLA-DP/DQ/DR, HLA-DRB1, HLA-DRB1, IL-7R</i>	<i>HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQB2, IL7R</i>
Cardiovascular dysfunction	Wolff-Parkinson-White syndrome Progressive familial heart block McKusick-Kaufman syndrome	<i>PRKAG2, SCN5A, TRPM4, MKKS</i>	<i>PRKAG2A/B, SCN5A, MKKS</i>

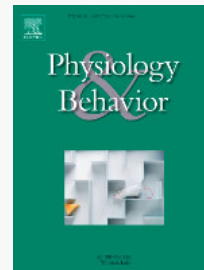
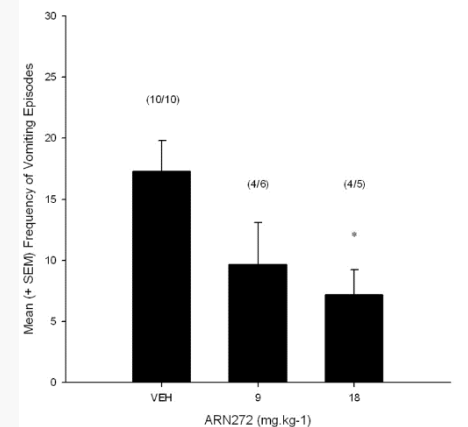


Гигантская белозубка, бурая мускусная землеройка, или домовая многозубка (*Suncus murinus*)



Anandamide transport inhibition by ARN272 attenuates nausea-induced behaviour in rats, and vomiting in shrews (*Suncus murinus*).

Br J Pharmacol. 2013 Aug 28. doi: 10.1111/bph.12360

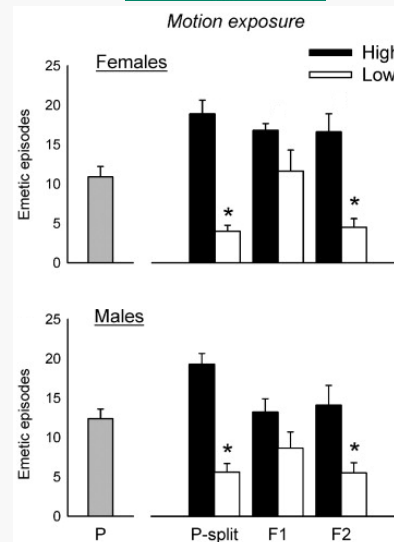


Musk shrews selectively bred for motion sickness display increased anesthesia-induced vomiting

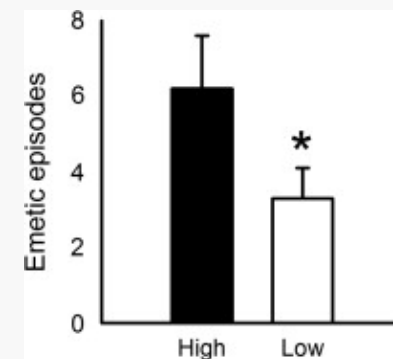
Physiology&Behavior, 2014
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.11.002>

**Ueno, S., Matsuki, N., and Saito, H. (1988).
Suncus murinus as a new experimental model
for motion sickness. Life Sci, 43, 413-420.**

**Ueno, S., Matsuki, N., and Saito, H. (1987).
Suncus murinus : a new experimental model in
emesis research. Life Sci, 41, 513-518**



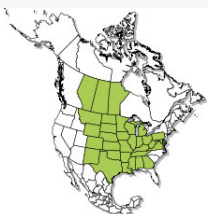
Emetic episodes to isoflurane exposure
(10 min; 3%) in the F1 generation



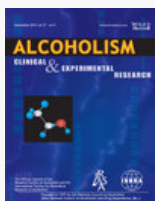
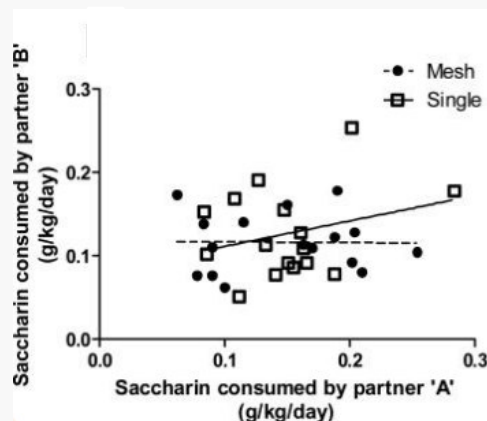


Прерийная полевка (*Microtus ochrogaster*)

Моногамный вид грызунов формирующий пары на всю жизнь



Getz et al., 1981. The mating system of the prairie vole, *Microtus ochrogaster*: Field and laboratory evidence for pair-bonding// Behavioral Ecology and Sociobiology 8(3):189-194



Prairie voles as a novel model of socially-facilitated excessive drinking

Allison M.J. Anacker, Jennifer M. Loftis, Simranjit Kaur, and Andrey E. Ryabinin
Addict Biol. 2011 Jan; 16(1): 92-107. doi: 10.1111/j.1369-1600.2010.00234.x

Высокая восприимчивость к этанолу в зависимости от социального окружения позволило рекомендовать прерийную полевку как модель для изучения социальной зависимости употребление алкоголя

NewScientist

Magazine issue 3152, published 18 November 2017

Prairie vole partners split up if one drinks more than the other

Модель для изучения привязанности в семейных парах.

«Когда степным полевым был предоставлен выбор между своим партнером и новым партнером, самцы полёвок, как правило, поддерживали сильную связь со своим партнером, если оба выпили одинаковое количество алкоголя. Но если только самец пил, у него гораздо больше шансов спариться с незнакомцем».



frontiers

in Psychology

Evolutionary Psychology

The Prairie Vole Model of Pair-Bonding and Its Sensitivity to Addictive Substances

Sheena Potretzke and Andrey E. Ryabinin

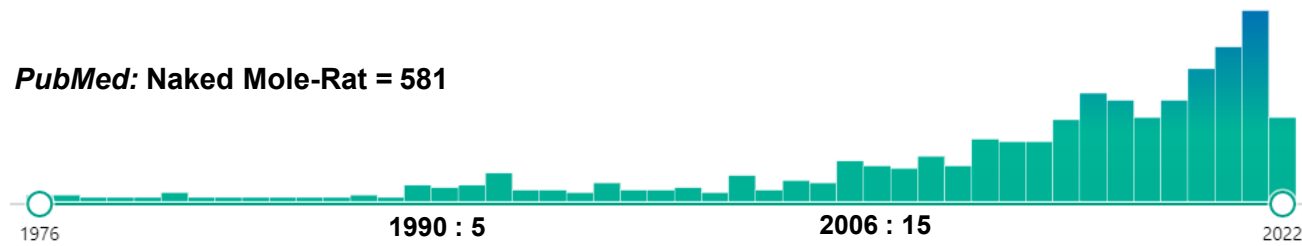
Front. Psychol. 06 November 2019 | <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.02477>

«Изучение причинно-следственных связей между потреблением наркотиков и формированием отношений оценивали с использованием метамfetаминa». Модель для изучения эффектов приема наркотических средств на формирование и поддержание парных отношений.



Голый землекоп

PubMed: Naked Mole-Rat = 581



- **Эусоциальный вид**, со структурой семьи, подобно общественным насекомым: матка, от одного до трех самцов, с которыми она размножается, «солдаты», фуражиры и тоннельщики. Размер колонии может достигать 300 особей. Кроме королевы, самки не способны к размножению.

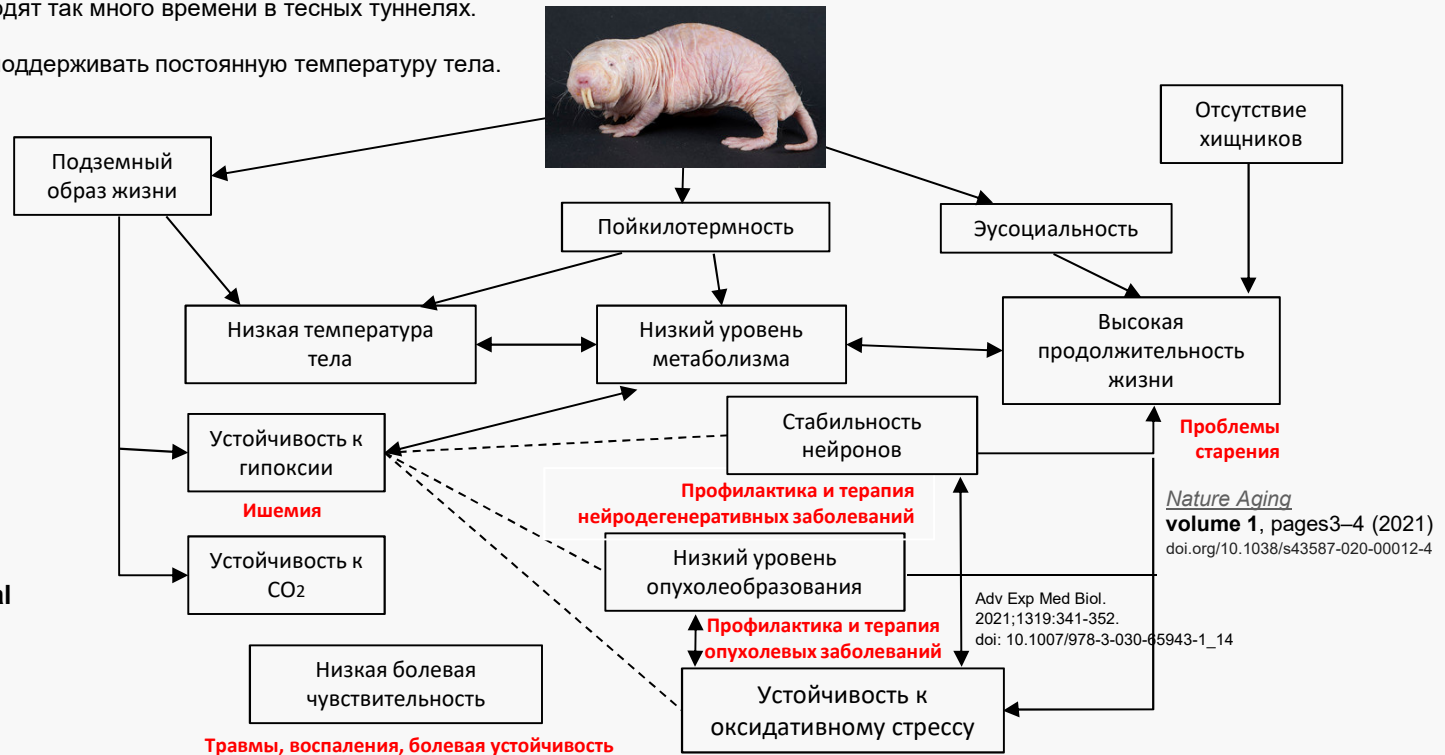
- **Долгожители**. Голый землекоп может прожить до 30 лет!

- **Не склонны к образованию опухолей**. Было показано, что у голых землекопов есть ген «p16», который предотвращает размножение клеток, когда они слишком сгруппированы (PNAS, 2009) Этот ген предотвращает развитие рака, вызванного агрессивным ростом клеток.

- **Устойчивость к гипоксии**: землекопы могут обходиться без воздуха в течение 18 минут или с небольшим количеством воздуха до пяти часов.

- **Низкая чувствительность к боли** (низкая pH, порезы, ожоги, капсаicin и т.д.), вероятно из-за того, что они проводят так много времени в тесных туннелях.

- **Пойкилотермны** - не способны поддерживать постоянную температуру тела.



The naked mole-rat as an animal model in biomedical research: current perspectives.

Animal Physiology, 2015
<https://doi.org/10.2147/OAAP.S50376>

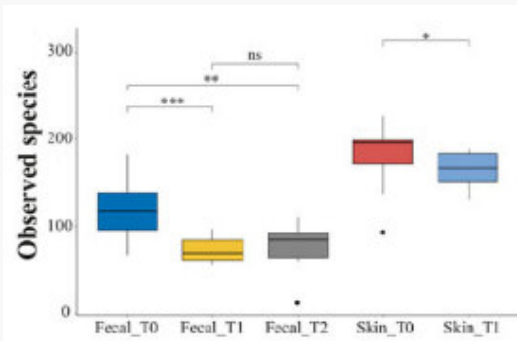
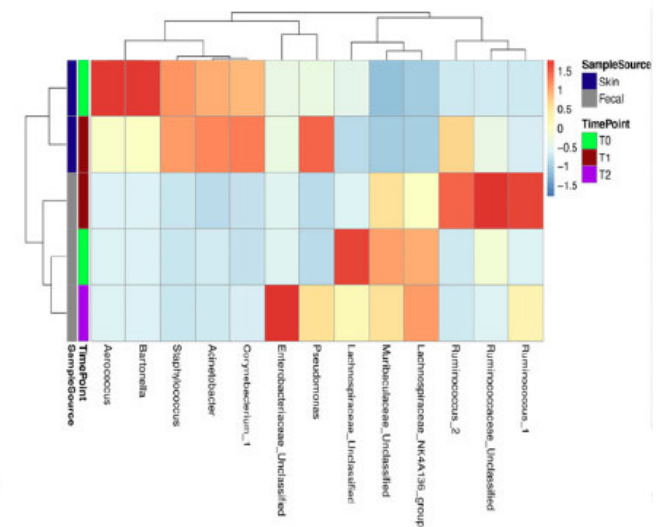
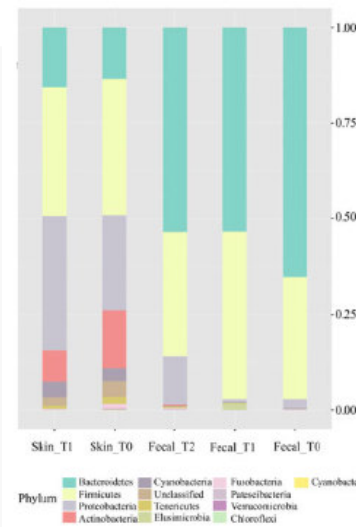
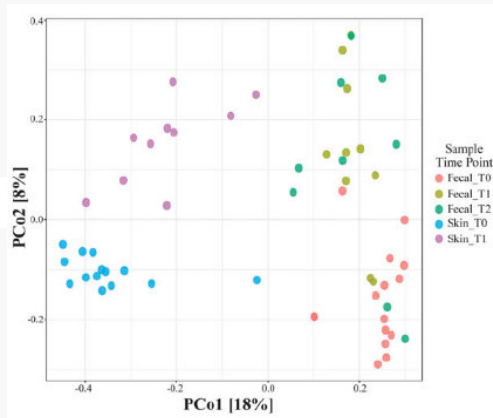
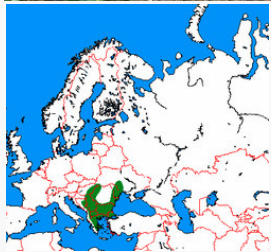
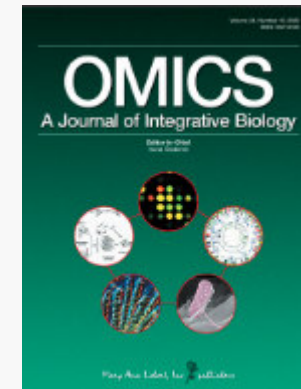


Малый слепыш Blind mole-rat (*Nannospalax leucodon*)

Microbiome and Longevity: High Abundance of Longevity-Linked Muribaculaceae in the Gut of the Long-Living Rodent *Spalax leucodon*

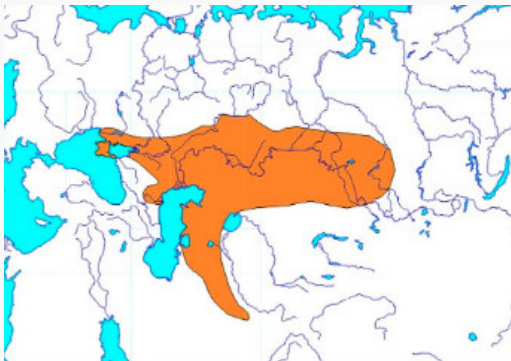
Mustafa Sibal, Ebru Altuntaş, Berna Yıldırım, Gürkan Öztürk, Süleyman Yıldırım, and Turan Demircan

Published Online: 5 Oct 2020 | <https://doi.org/10.1089/omi.2020.0116>



- The diversity between fecal and skin samples was manifested in the distant clustering, as revealed by beta diversity analysis.
- The longevity-linked Muribaculaceae bacterial family was found to be the dominating bacterial taxa in *Spalax* fecal samples.
- These new findings contribute toward further development of *Spalax* as a model for longevity research and potential linkages between microbiome composition and longevity.

Слепушонка (*Elobius talpinus*) – сибирский землекоп

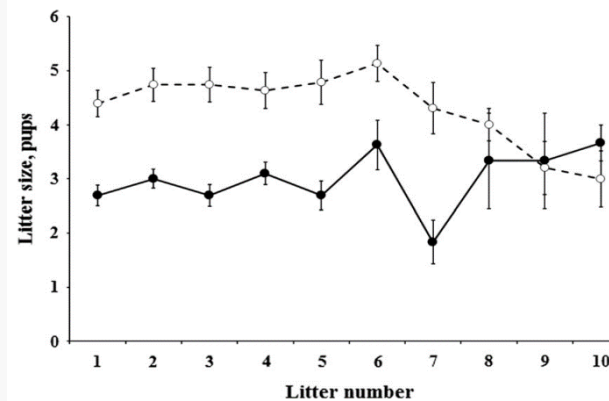
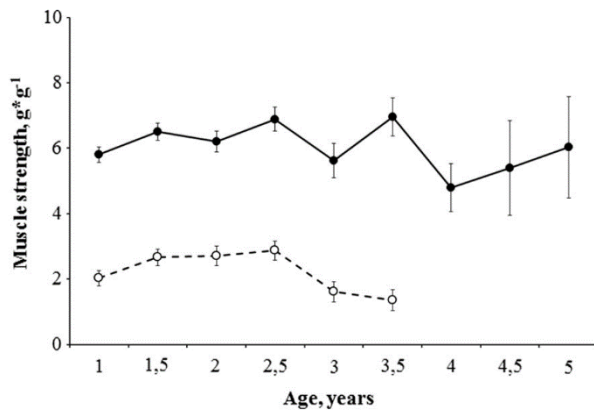
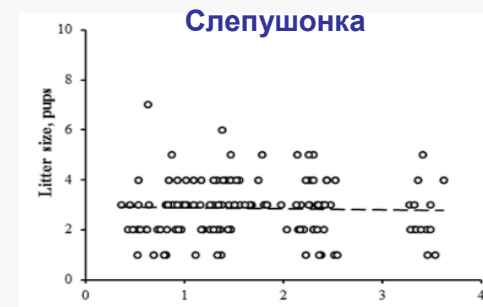
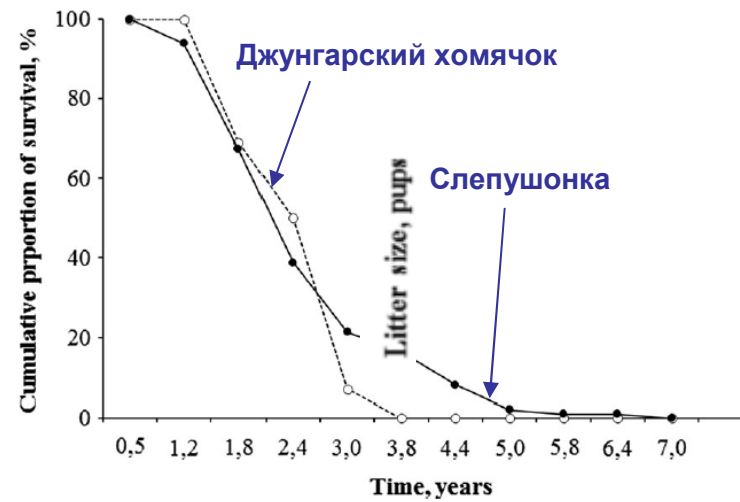


Reproduction, ageing, and longevity in two species of laboratory rodents with different life histories

Eugene Novikov · I. Zadubrovskaya · P. Zadubrovskiy · T. Titova

Biogerontology

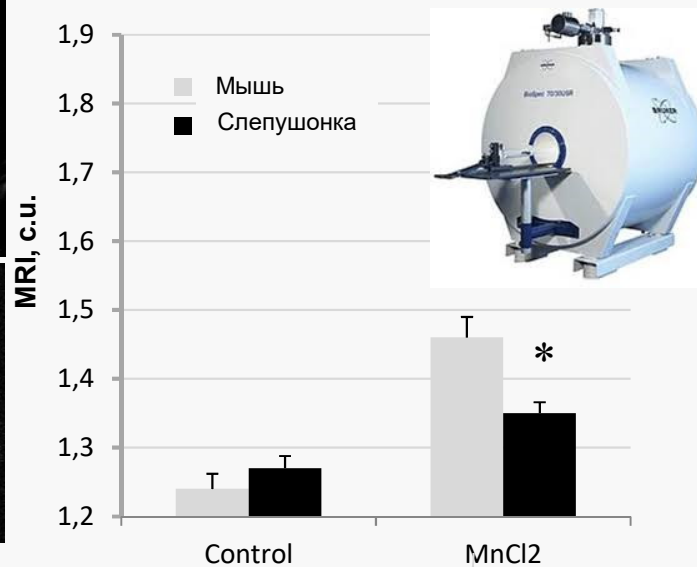
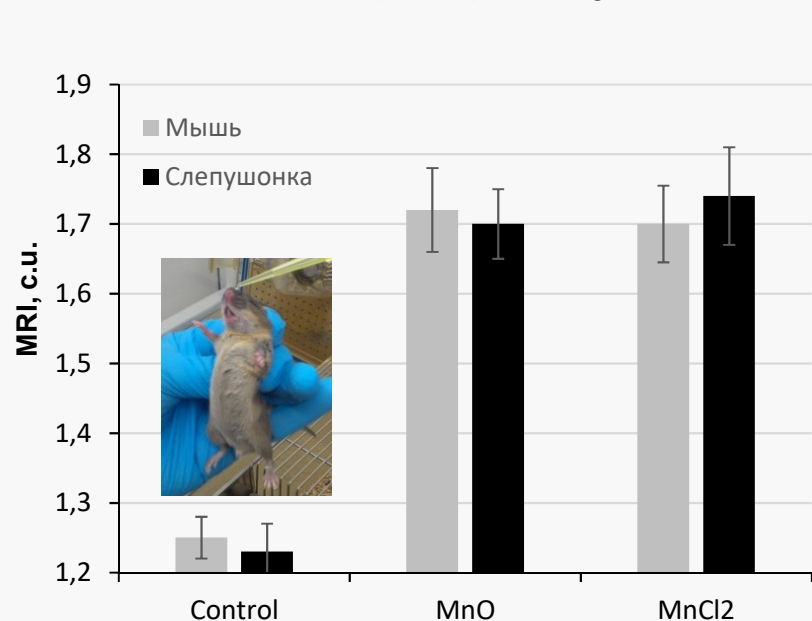
DOI 10.1007/s10522-017-9723-7



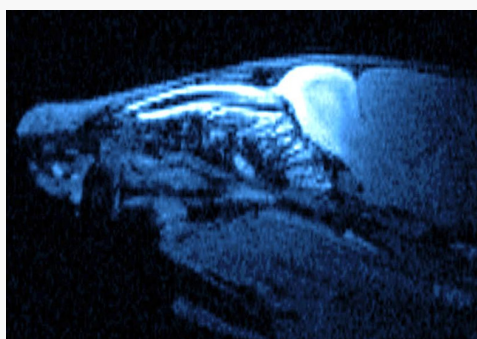
Эусоциальные норные грызуны –

как модельные объекты для изучения адаптаций к дыханию пылью

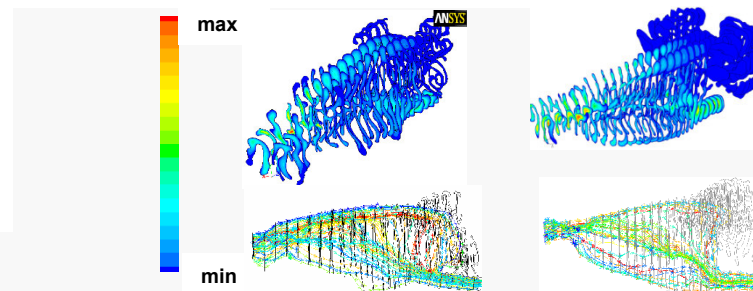
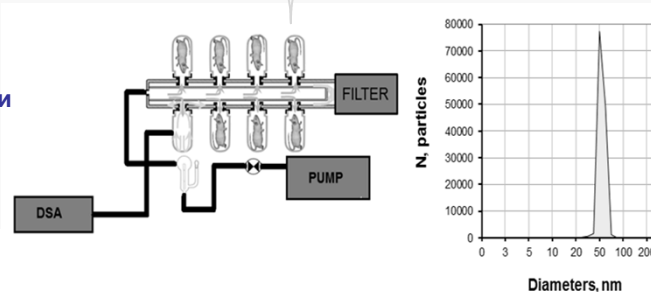
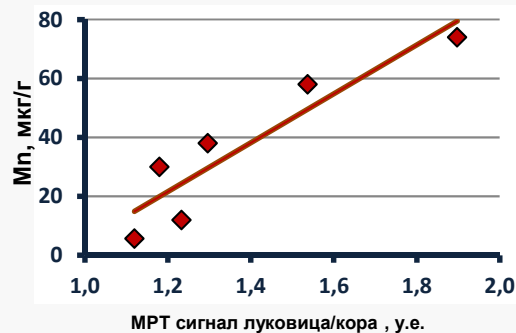
Накопление Mn в обонятельных луковицах после интраназального введения или ингаляции раствора

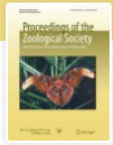


Поступление магнито-контрастных NPs MnO (5-50 nm) из носовой полости в мозг



Корреляция MPT сигнала и концентрации марганца в обонятельных луковицах (по результатам атомно-эмиссионной спектроскопии)





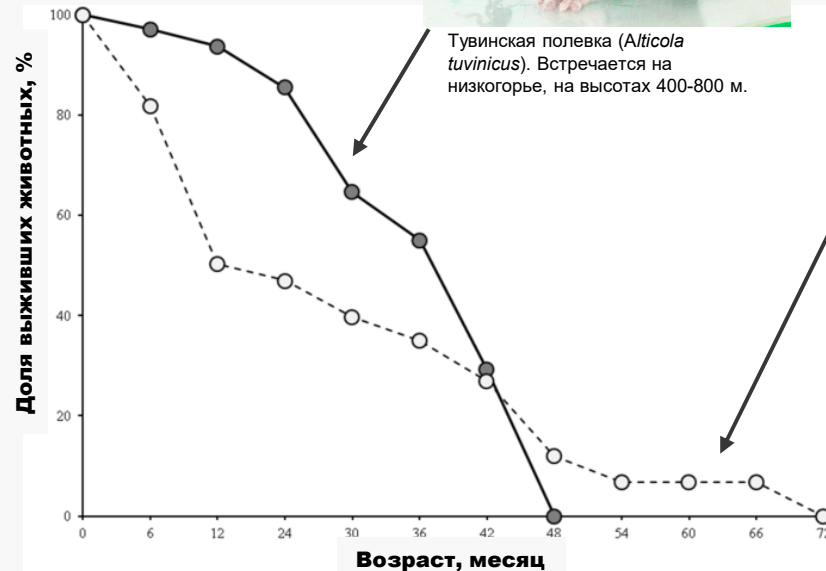
Novikov, E.A., Lopatina, N.V., Titova, T.V. *et al.* Physical Condition, Activity, and Longevity of Two Rock Vole Species: *Alticola Tuvanicus* and *A. Strelzowi*. *Proc Zool Soc* **75**, 103–110 (2022). <https://doi.org/10.1007/s12595-021-00428-9>



Тувинская полевка (*Alticola tuvinicus*). Встречается на низкогорье, на высотах 400-800 м.



Плоскочерепная полевка (*Alticola srelzowi*) - малочисленный и редкий вид. Плоскочерепная полевка обитает в высокогорье на высотах 1400-3000 м - природный носитель возбудителя ЧУМЫ



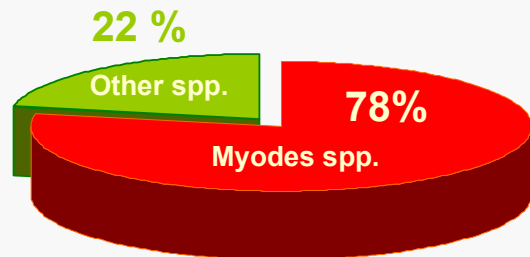
- Скальные полевки имеют более высокую продолжительность жизни, чем большинство широко распространенных видов полевок.
- Плоскочерепная полевка (*Alticola srelzowi*), обитающая в условиях с дефицитом кислорода, имеет потенциально более высокую максимальную продолжительность жизни и доживает в условиях вивария до 6 лет, но менее приспособлен к лабораторным условиям, тувинские полевки (*A. tuvinicus*), которые живут более 4 лет.

Лесные полевки *Myodes* как модель для изучения устойчивости организма млекопитающих к инфекциям, переносимым клещами рода *Ixodes*



Зараженность личиночными стадиями клещей полевок рода *Myodes* (*Clethrionomys*) и распространение среди них инфекций, передаваемых клещами рода *Ixodes*

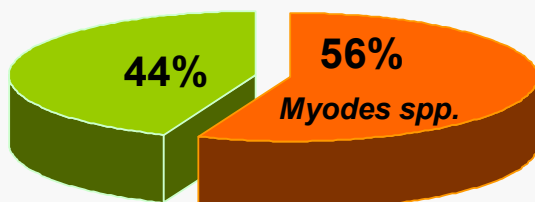
Распространение иксодовых клещей среди мелких животных



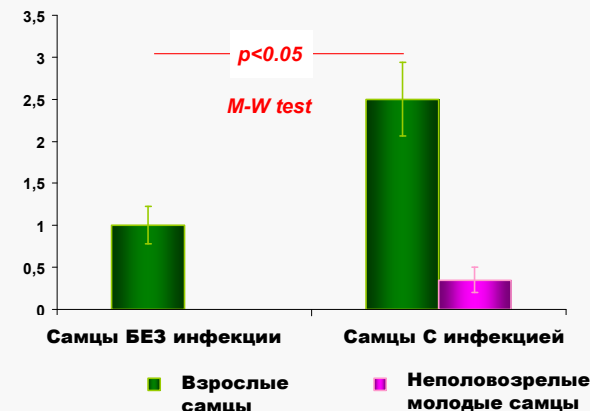
Инфекции, передаваемые грызунами:

- Rickettsia
- West-Nile encephalitis virus
- Borrelia
- Tick-borne encephalitis virus

Распространение инфекций среди мелких животных



Зараженность полевок зависит от уровня тестостерона





Изучение природных популяций животных открывает широкие перспективы для поиска новых подходов в лечении различных заболеваний человека и животных!



Спасибо за внимание!