A photograph of a brown mouse being held by two hands wearing blue nitrile gloves. The mouse is looking upwards and to the right. The background is a light blue fabric. The entire image is overlaid with a semi-transparent dark grey layer, and the text is centered within a white double-line border.

Анализ двигательной функции
мышей с генетическим
дефицитом белка дисферлина

д.м.н., профессор Покровский М.В.

Цель

- Поведенческое и патоморфологическое фенотипирование мышей, нокаутных по гену *Dysf*.

Задачи

- Формирование репрезентативных экспериментальных групп животных;
- Поведенческое тестирование;
- Патоморфологическое исследование скелетной мускулатуры (*m. gastrocnemius, m. tibialis*);
- Иммуногистохимический анализ фрагментов тканей.

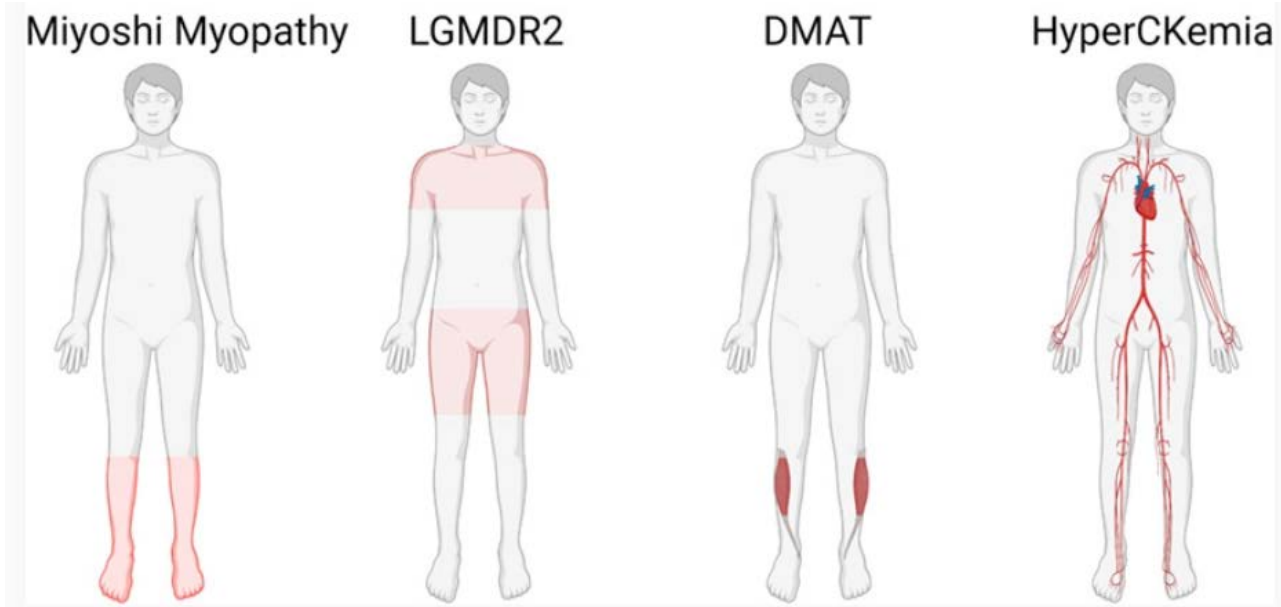
Дисферлинопатии

Гетерогенная группа нейро-мышечных заболеваний

Аутосомно-рецессивный тип наследования

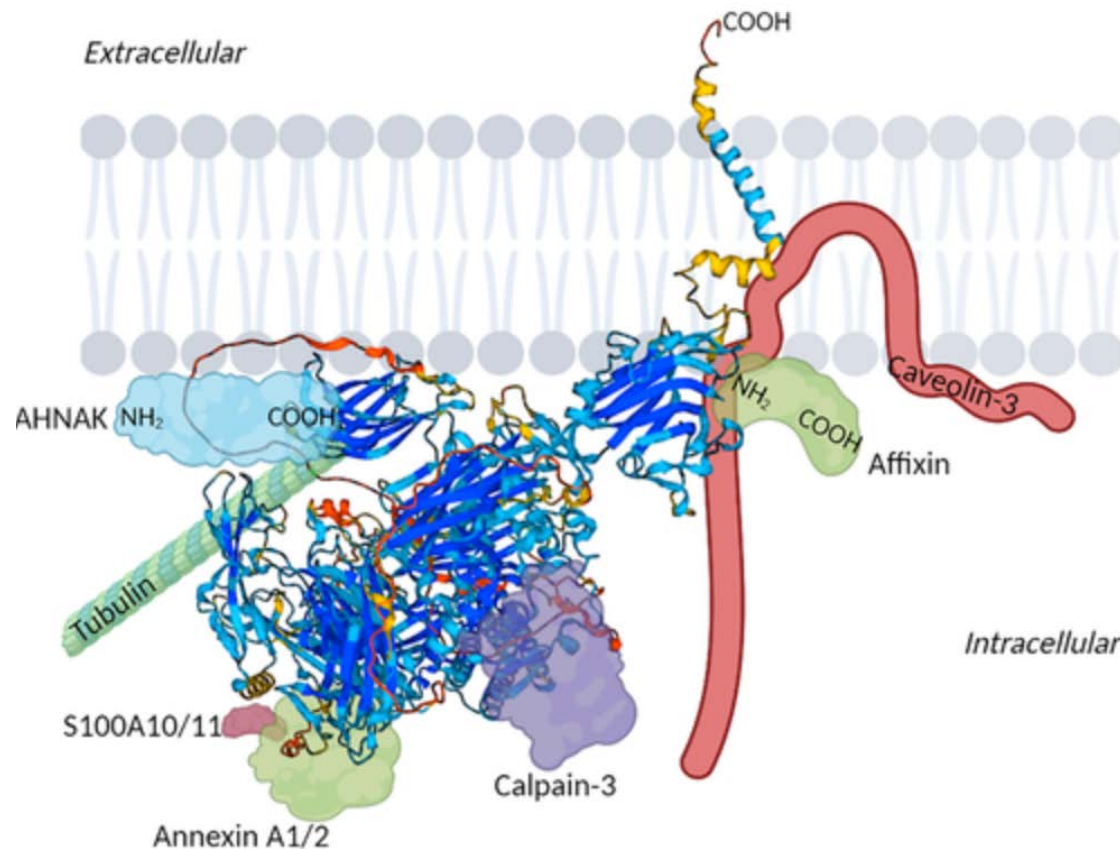
Характеризуются полной или частичной дисфункцией белка дисферлина в скелетных мышцах

Обусловлены мутациями в гене *DYSF* (DYStrophy-associated Fer-1-like)



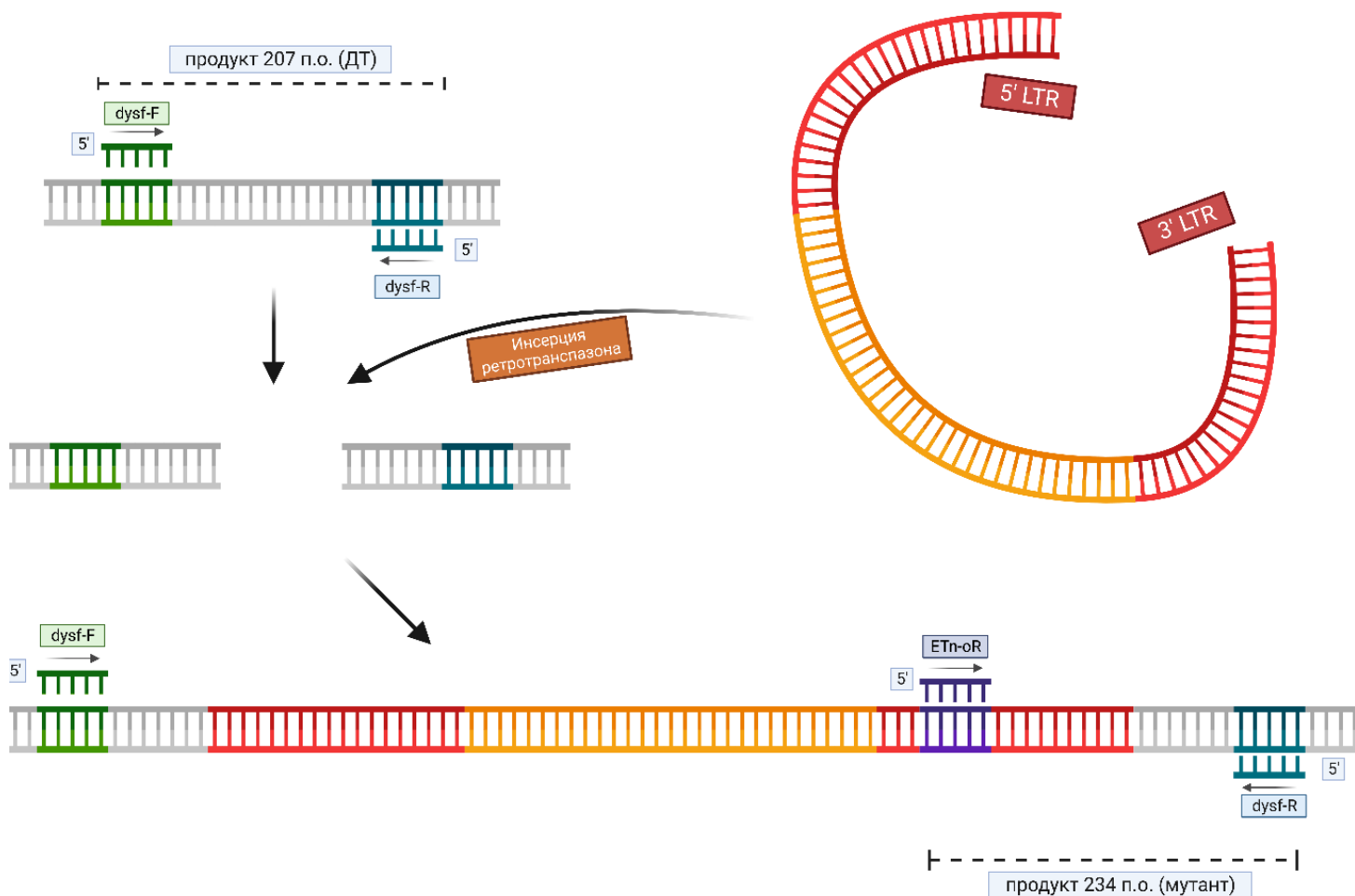


Дисферлин



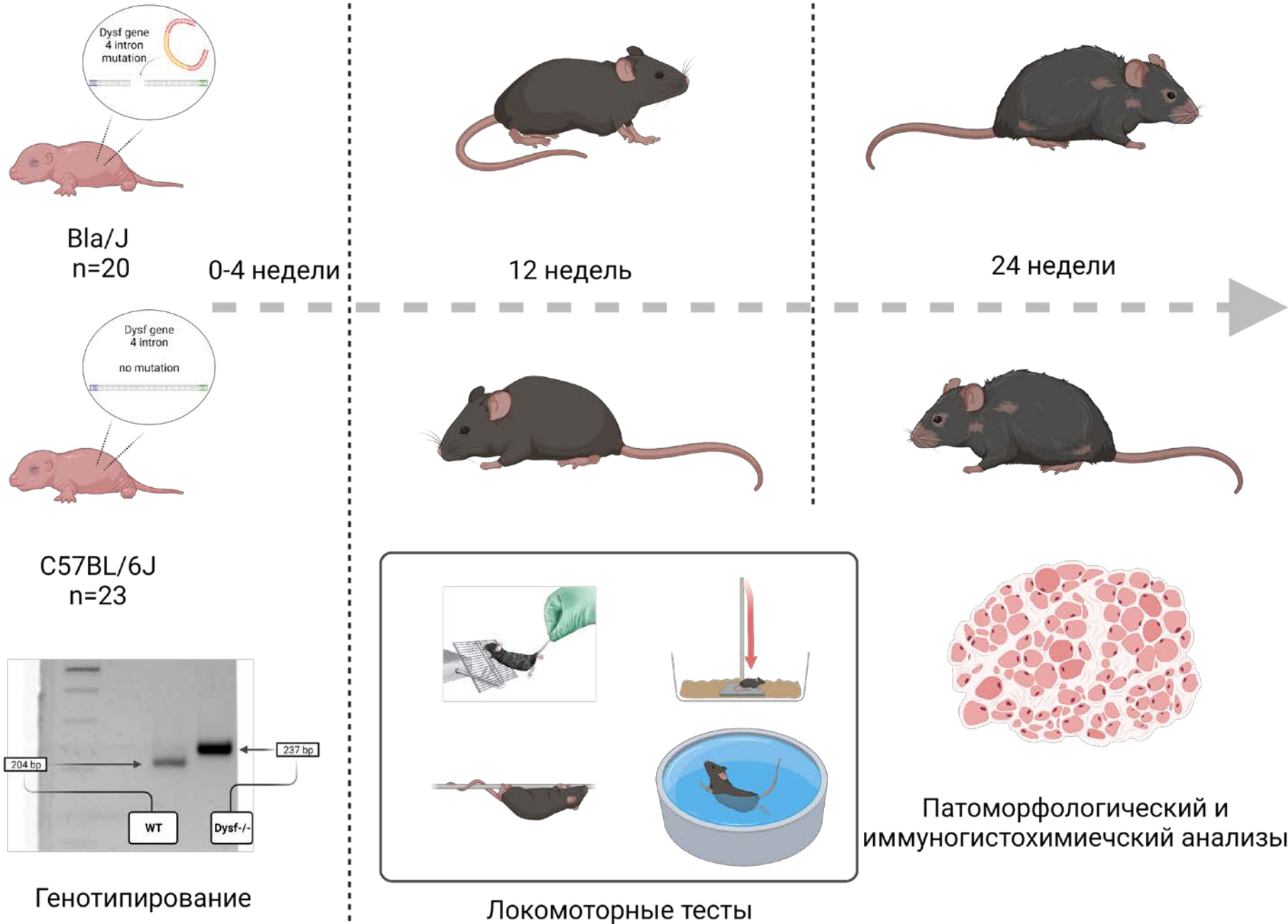
- Трансмембранный белок размером 237 kDa, содержащийся в сарколемме
- Основная роль – Ca²⁺ зависимая репарация участков повреждения сарколеммы

Мышиная модель дисферлиновой миопатии Bla/J

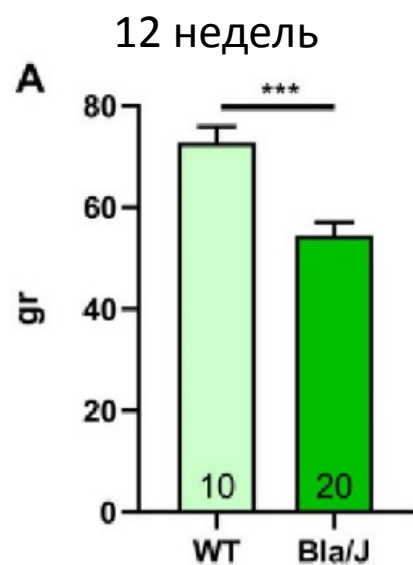


- Спонтанная вставка ретротранспозона (6 тыс. bp) в интрон 4 гена *Dysf* у мышей A/J привела к aberrantному сплайсингу первичных транскриптов, что послужило причиной отсутствия конечного продукта гена – белка Dysf.
- Мышей скрестили с мышами C57BL/6
- Полученную конгенную линию назвали B6.A-Dysf^{prmd}/GeneJ

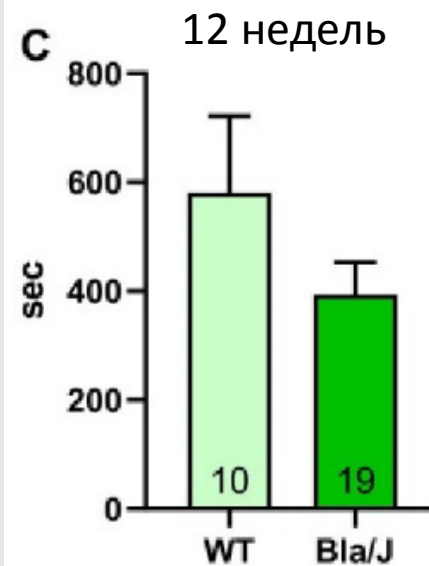
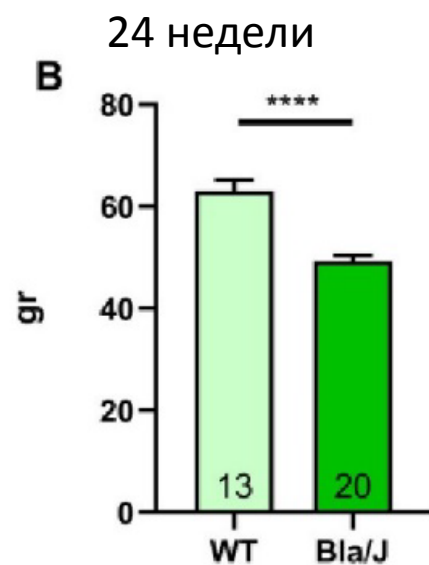
Схема исследования



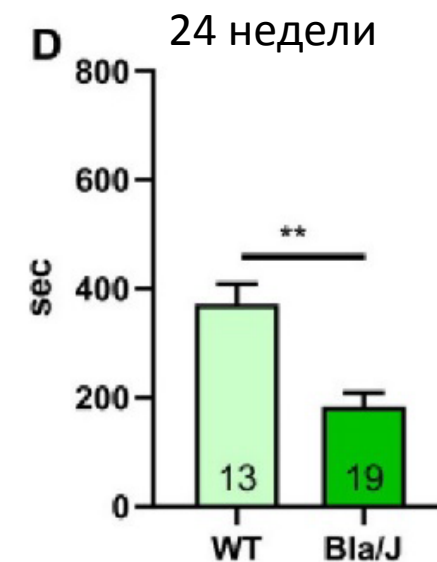
Поведенческое тестирование



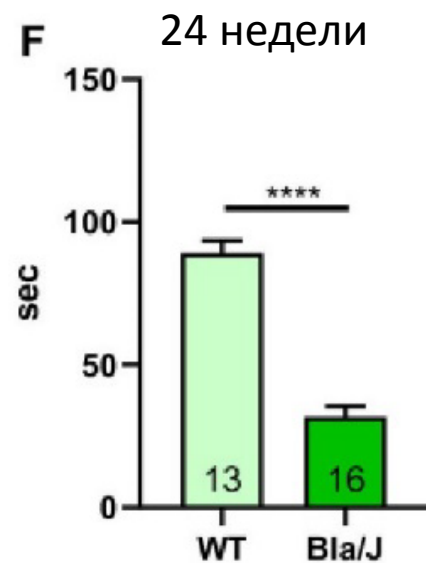
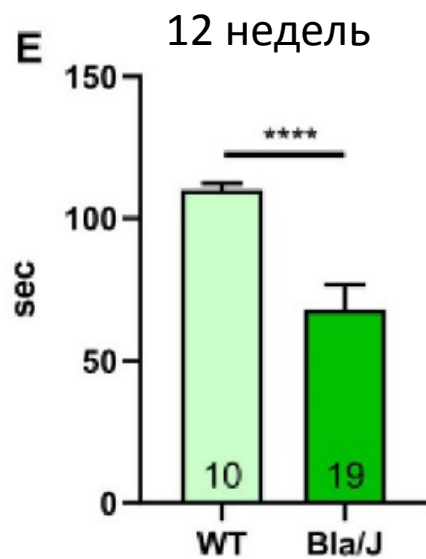
«Сила хватки»



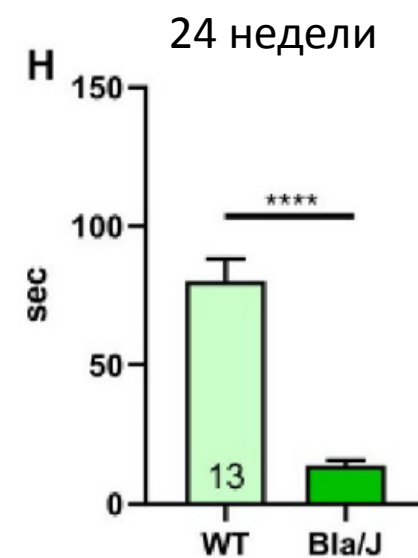
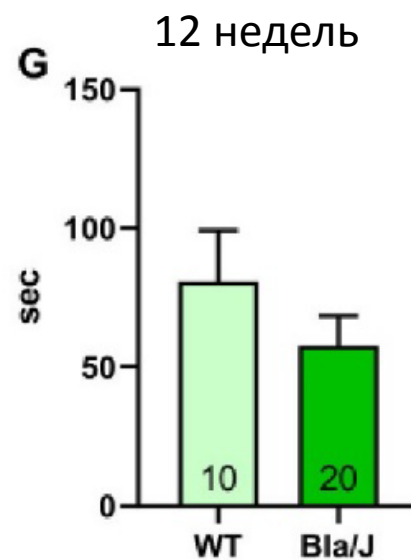
«Принудительное плавание с грузом»



Поведенческое тестирование



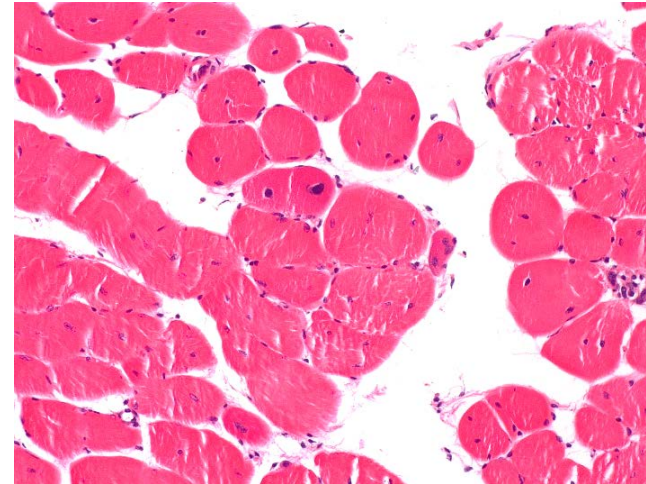
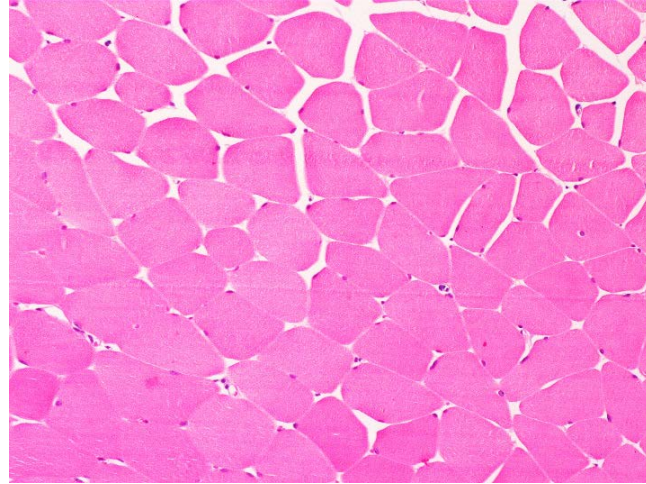
«Проволочный тест»



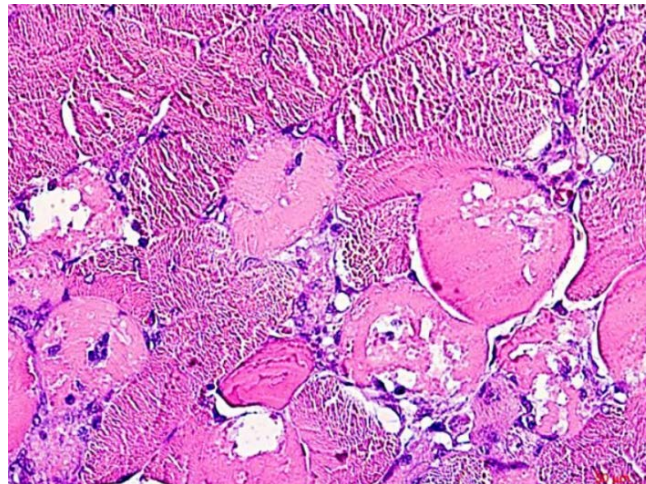
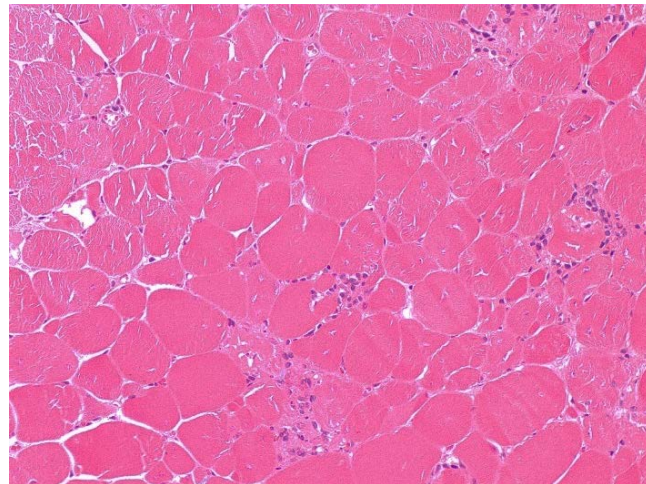
Удержание животного на скользком вертикальном стержне»

Патоморфологические изменения мышечной ткани **Bla/J**

12 недель



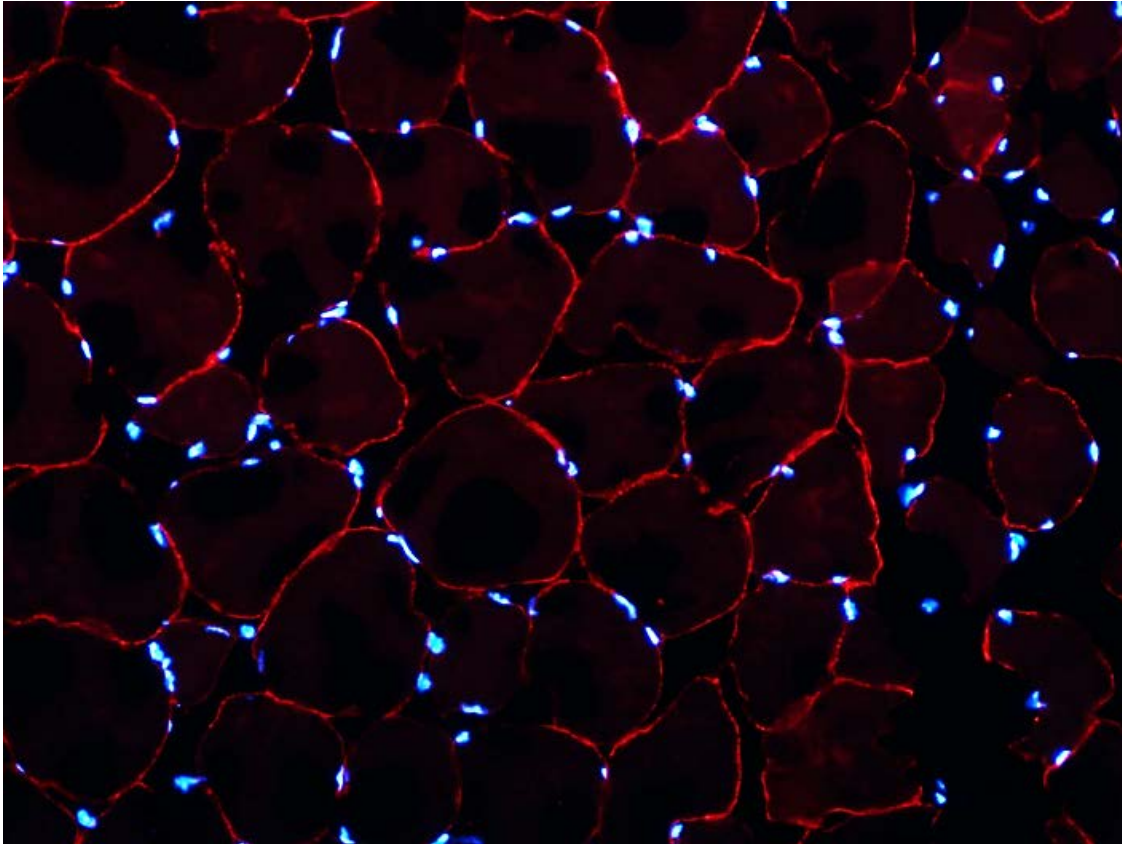
24 недели



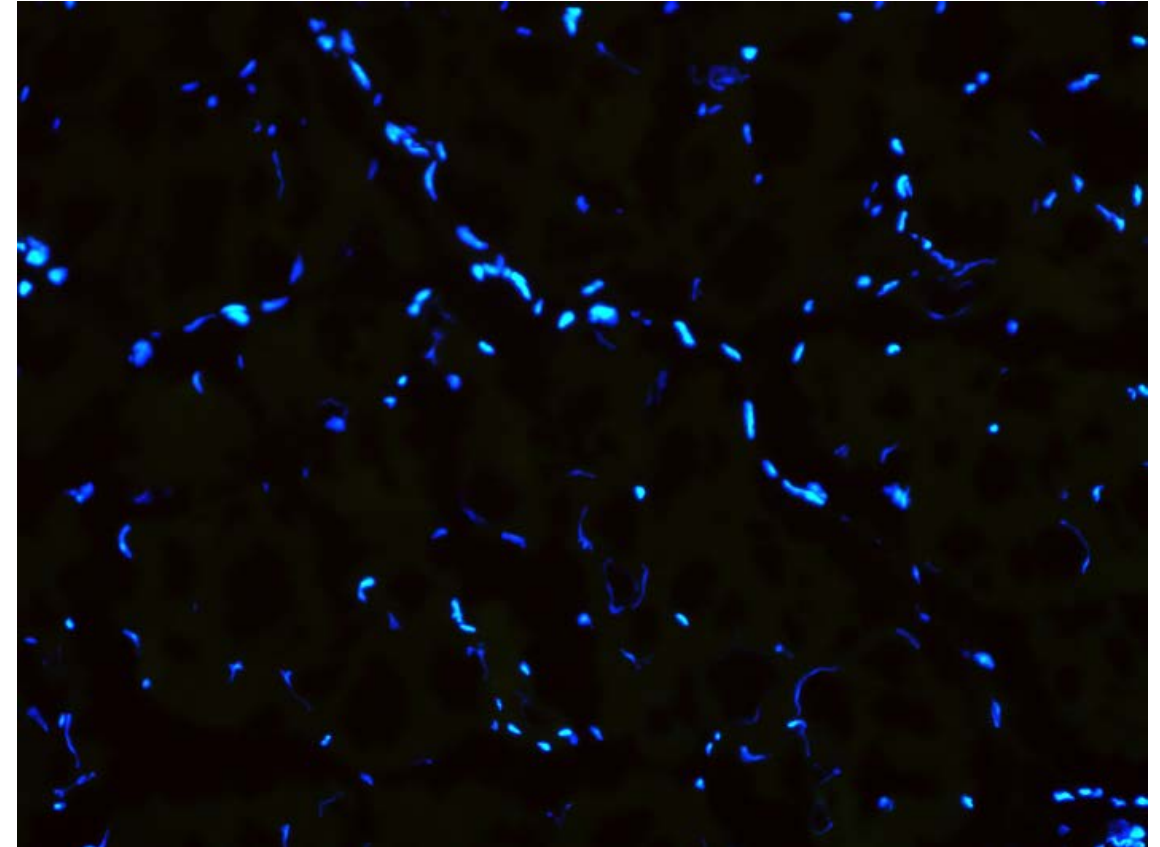
Контроль

Bla/J

Иммуногистохимический анализ



Контроль



Bla/J

Красный цвет – детектируемый дисферлин, синий цвет – ядра. Докраска: *DAPI*. Ув. $\times 200$

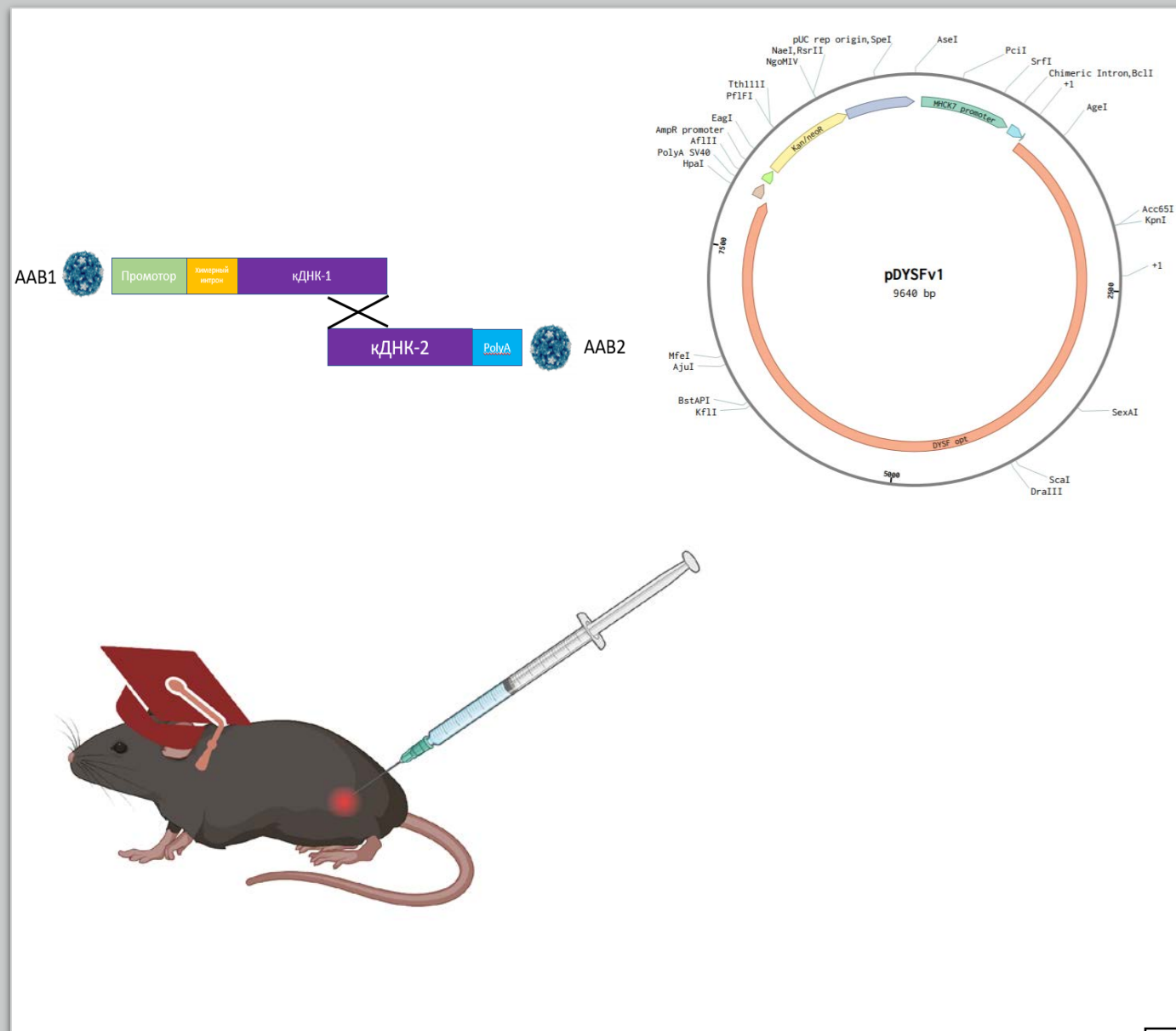
Выводы

- У мышей линии Vla/J подтверждается отсутствие белка дисферлина, наличие морфометрических и патогенетических изменений структуры мышечной ткани.
- Физическая активность и выносливость исследуемых животных понижается с возрастом, что отражает прогрессирование основного мышечного заболевания.
- Линия Vla/J подходит для проведения доклинических исследований дистальной миопатии Миоши.

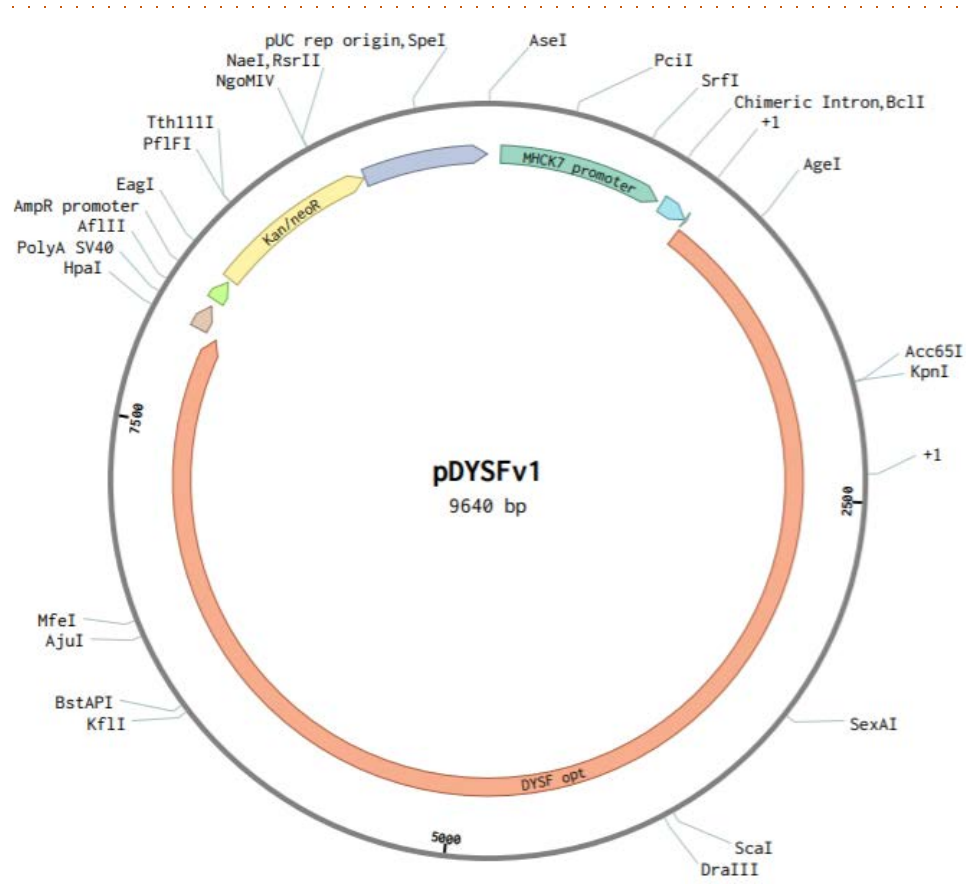
Перспективы

Испытание генно-терапевтических препаратов на основе аденоассоциированных вирусов (AAV) или плазмид с целью замещения мутантного гена.

Работы проводятся в рамках проекта ФНТП №075-15-2021-1346 совместно с ПАО «Институт стволовых клеток человека» и ООО «Генотаргет».



Препарат на основе плазмидной ДНК, несущей полноразмерный ген дисферлина под специфическим промотором МНСК7



Двухвекторная система: использованы 2 вектора, несущие 2 части кДНК с пересекающейся последовательностью в связи с большим размером кДНК дисферлина, превышающем ёмкость AAV

