

УДК: 59.085:599.323.45

Генетически модифицированная мышь (GEMM).

**Петрова М.И., Шукшанцева Т.С., Рябоштан П.Ф.**

ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава Российской Федерации, направление подготовки «Биология»,  
Россия, Волгоград, e-mail: [mashapetrovablk12@mail.ru](mailto:mashapetrovablk12@mail.ru)

**Аннотация:** Благодаря росту иммуноонкологических исследований, использование иммунокомпетентных моделей продолжает расти, к таким моделям относятся генетически модифицированные мышиные модели (GEMM). Генетически модифицированная мышь или генетически модифицированная модель мыши — это мышь (*Mus musculus*), геном которой был изменен с помощью методов генной инженерии. Генетически модифицированные мыши обычно используются для исследований или в качестве животных моделей заболеваний человека, а также используются для исследований генов. Генетически модифицированные мыши являются наиболее распространенными моделями *in vivo* в исследованиях рака. Существуют большие коллекции GEMM, охватывающие многие распространенные признаки рака, такие как рак легких, предстательной железы, молочной железы, толстой кишки и поджелудочной железы, по сравнению, например, с сингенными моделями, для которых существует ограниченное количество клеточных линий. Генетически модифицированная мышь, как правило, хорошо характеризуется после многих лет исследований. Мыши являются полезной моделью для генетических манипуляций и исследований, поскольку их ткани и органы похожи на ткани и органы человека и несут практически все те же гены, которые действуют у людей. У мыши около 24 000 генов – примерно столько же, сколько у людей. Эти гены распределены по 40 хромосомам у мышей, по сравнению с 46 хромосомами у людей. Они также имеют преимущества перед другими млекопитающими в отношении исследований в том, что они доступны в сотнях генетически однородных штаммов. Кроме того, благодаря своим размерам, они могут храниться и размещаться в большом количестве, что снижает стоимость исследований и экспериментов.

**Ключевые слова:** генетически модифицированная мышь, рак, моделирование, генетические манипуляции.

Genetically Engineered Mouse Models (GEMM)

**Petrova M.I., Shukshantseva T.S., Ruabostan P.F.**

FSBEI HE VolgSMU Of the Ministry of Healthcare of the Russian, direction of preparation «Biology»,  
Russia, Volgograd, email: [mashapetrovablk12@mail.ru](mailto:mashapetrovablk12@mail.ru)

**Abstract:** Due to the growth of immuno-oncological studies, the use of immunocompetent models continues to grow, such models include genetically modified mouse models (GEMM). A genetically modified mouse or a genetically modified mouse model is a mouse (*Mus musculus*) whose genome has been modified using genetic engineering techniques. Genetically modified mice are commonly used for research or as animal models of human diseases, and are also used for gene research. Genetically modified mice are the most common *in vivo* models in cancer research. There are large GEMM collections covering many common signs of cancer, such as lung, prostate, breast, colon and pancreatic cancers, compared, for example, with syngenic models for which there are a limited number of cell lines. A genetically modified mouse is generally well characterized after many years of research. Mice are a useful model for genetic manipulation and research, because their tissues and organs are similar to human tissues and organs and carry almost all the same genes that act in humans. A mouse has about 24,000 genes – about the same as humans. These genes are distributed across 40 chromosomes in mice, compared to 46 chromosomes in humans. They also have advantages over other mammals in terms of research in that they are available in hundreds of genetically homogeneous strains. In addition, due to their size, they can be stored and placed in large quantities, which reduces the cost of research and experiments.

**Key words:** Genetically Engineered Mouse, cancer, modeling, genetic manipulation.

Лабораторные животные являются незаменимым объектом в различных областях современной медицины и биологии. Они были использованы с первых дней научных исследований и до сих пор в значительной степени способствуют нашему пониманию функций отдельных генов, механизмов многих заболеваний, а также эффективности и токсичности различных химических веществ [1].

Из всех лабораторных животных мыши наиболее часто применяются в лабораторной практике.

В начале 20-го века исследователи в основном использовали мышей для изучения рака. Они обнаружили, что могут передавать рак только мышам с определенной мутацией, но не животным, лишенным этой мутации. Потомство обладало характеристиками своих родителей, а это означает, что их восприимчивость к раку, была унаследована.

Поэтому для этого исследования ученым требовались мыши с максимально последовательным генетическим составом. Прорыв был достигнут в 1909 году, когда исследователям впервые удалось спаривать мышей друг с другом на протяжении многих поколений.

В 1929 году в Соединенных Штатах была основана лаборатория Джексона для изучения генетики млекопитающих и рака. Впоследствии ученые узнавали все больше и больше о геноме мыши: от порядка расположения генов в отдельных хромосомах до секвенирования генома мыши в 2002 году. Полное секвенирование генома мыши открыло новые возможности для исследователей. В частности, в онкологии манипулирование с генами позволяет получить “нокаутированных” мышей. На модели трансгенных и “нокаутированных” животных показано, что развитие опухоли может быть результатом мутации в генах, играющих ключевую роль в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток. Кроме того, трансплантация стволовых клеток иммунной системы человека лабораторным мышам открывает новые возможности в производстве моноклональных антител.

У мыши около 24 000 генов – примерно столько же, сколько у людей. Эти гены распределены по 40 хромосомам у мышей, по сравнению с 46 хромосомами у людей.

Сегодня мышь, безусловно, является самым распространенным исследовательским млекопитающим в мире.

Все лабораторные мыши, используемые в науке, являются потомками домашней мыши, *Mus musculus*. Вид можно разделить на три подвида, два из которых обитают в Европе: западная домашняя мышь (*Mus musculus domesticus*) живет к западу от линии, которая проходит через восточную Германию, Баварию, западную Австрию и Балканы до Черного моря. Он также встречается в Африке, Америке и Австралии. Восточная домовая мышь (*Mus musculus musculus*) встречается к востоку от разделительной линии через Европу вплоть до Японии. Эти два подвида все еще могут скрещиваться, но их потомство менее плодовито. Третий подвид, *Mus musculus castaneus*, произрастает в Юго-Восточной Азии.

Лабораторная мышь - гибрид: ее геном представляет собой мозаику всех трех подвидов. Выведенный для генетической однородности, он менее разнообразен генетически,

чем его дикие собратья, и его генофонд содержит только одну версию большинства генов. Некоторые ученые считают, что различия между дикими и лабораторными мышами настолько велики, что лабораторных животных следует классифицировать как отдельный вид, получивший название *Mus laboratorius*.

Дикие мыши и лабораторные мыши отличаются по внешнему виду, особенно по цвету шерсти. Дикие формы обычно имеют коричневую шерсть, тогда как лабораторные штаммы-альбиносы имеют белый мех, а другие штаммы имеют черный мех. В то время как домашние мыши в дикой природе вырастают до семи-одиннадцати сантиметров в длину и весят от 20 до 25 граммов, размер и вес лабораторных мышей значительно различаются в зависимости от штамма. Поведение лабораторных животных похоже на поведение диких животных, но они намного спокойнее и менее агрессивны [6].

Лабораторная мышь широко рассматривается как надежный и доступный модельный организм для изучения заболеваний человека. Большинство доклинических исследований на мышах страдают недостаточной прогностической ценностью по сравнению с биологией рака и реакцией на терапию пациентов-людей

Ученые и исследователи опираются на них по нескольким причинам. Мыши обладают чрезвычайно высоким обменом веществ, относительно малым размером тела, высокой интенсивностью роста и развития. Также они отличаются большой плодовитостью, непродолжительным сроком беременности и способностью выкармливать свое потомство в короткие сроки.

Мыши живут в среднем около 2-3 лет, поэтому в относительно короткий период времени можно наблюдать, что происходит при тех или иных обстоятельствах с несколькими поколениями мышей.

Другая причина использования грызунов в качестве объектов при медицинском тестировании состоит в том, что их генетические, биологические характеристики, а также поведение напоминают человеческие [5].

Генетически модифицированная мышь (GEMM) представляет собой мышь, геном которой был изменен с помощью методов геной инженерии. Генетически модифицированные мыши обычно используются для исследований или в качестве животных моделей заболеваний человека, а также используются для исследования генов. Генетически модифицированная мышь являются наиболее распространенными моделями *in vivo* в исследованиях рака.

В 1974 году Беатрис Минц и Рудольф Ениш создали первое генетически модифицированное животное, внедрив ДНК-вирус в эмбрион мыши на ранней стадии и показав, что внедренные гены присутствуют в каждой клетке. Однако мыши не передали трансген своему потомству, и поэтому влияние и применимость этого эксперимента были ограничены.

В 1981 году лаборатории Фрэнка Раддла из Йельского университета, Фрэнка Костантини и Элизабет Лейси из Оксфорда, а также Ральфа Л. Бринстера и Ричарда Палмитера в сотрудничестве из Пенсильванского университета и Вашингтонский университет ввел очищенную ДНК в одноклеточный эмбрион мыши, используя методы, разработанные Бринстером в 1960-х и 1970-х годах, впервые продемонстрировав передачу генетического материала последующим поколениям. В 1980-х годах Пальмитер и Бринстер разработали и возглавили область трансгенеза, совершенствуя методы модификации

Существует два основных технических подхода к получению генетически модифицированных мышей. Первый включает пронуклеарную инъекцию, метод, разработанный и усовершенствованный Ральфом Л. Бринстером в 1960-х и 1970-х годах, в единственную клетку эмбриона мыши, где он случайным образом интегрируется в геном мыши. Этот метод создает трансгенную мышшь и используется для вставки новой генетической информации в геном мыши или для сверхэкспрессии эндогенных генов. Второй подход, впервые предложенный Оливером Смитисом и Марио Капеччи, включает модификацию эмбриональных стволовых клеток с помощью конструкции ДНК, содержащей последовательности ДНК гомологичен целевому гену. Отбирают эмбриональные стволовые клетки, которые рекомбинируют с геномной ДНК, и затем их вводят мышам бластоцисты. Этот метод используется для манипулирования одним геном, в большинстве случаев «нокаутируя» целевой ген, хотя могут происходить все более тонкие и сложные генетические манипуляции [2].

В начале 1990-х годов генный нокаут был усовершенствован, что позволило создать Генетически модифицированная мышшь, в котором отсутствовали гены-супрессоры опухолей, что также приводит к развитию опухоли.

На протяжении многих лет Генетически модифицированная мышшь предоставляла обширные знания как для фундаментальных исследований рака, так и для трансляционной онкологии.

В начале 1980-х годов первые клонированные гены рака были введены в геном трансгенных мышшей, которые были названы *onc mice* (Hanahan et al., 2007). Первой онкомышью была GEMM с трансгенной экспрессией специфического активированного онкогена (v-HRas) под контролем специфичного для молочной железы промотора (MMTV), что делало мышшь склонной к развитию опухолей молочной железы. Первая *onc mouse* вызвала большое волнение в сообществе исследователей рака, поскольку они предоставили однозначное доказательство гипотезы о том, что экспрессия онкогена в нормальных клетках может привести к образованию опухоли.

С развитием технологии нацеливания на ген в 1992 году можно было также изучать предрасположенность к раку у мышшей с нокаутом гена супрессора опухоли (TSG).

Хотя мышши с нокаутом *onc mice* и TSG предоставили обширные знания, у них также есть свои ограничения. Учитывая, что трансгены экспрессируются во всех клетках конкретной ткани, а TSG у мышшей с нокаутом инактивируются во всех клетках животного, эти модели не могут имитировать спорадические виды рака, при которых накопление генетических событий в одной клетке приводит к онкогенезу в здоровом органе. Вводя мутации, связанные с определенным типом рака, можно создавать мышшиные модели, которые точно имитируют гистопатологические, молекулярные и клинические особенности опухолей у пациентов [4].

Очевидной ключевой особенностью GEMM для использования в оценке иммунотерапии является их полностью компетентный мышшиный иммунитет и обширная мышшиная строма. Еще одной полезной особенностью является способ развития опухолей – они возникают у мышши спонтанно, а не внедряются в нее.

Это означает, что рост опухоли имитирует первичный рост опухоли человека, сопровождающийся такими признаками, как глубокое подавление иммунитета и уход от

иммунного надзора. Таким образом, GEMM можно использовать для изучения всего процесса прогрессирования рака и оценки того, где стимуляция иммунной системы может быть наиболее полезной.

GEMM, как правило, хорошо охарактеризованы после многих лет исследований, в отличие от более новых моделей, таких как гуманизированные мыши. Доступны большие коллекции GEMM, охватывающие многие распространенные признаки рака, например, рак легких, предстательной железы, молочной железы, толстой кишки и поджелудочной железы, по сравнению, например, с сингенными моделями, для которых существует ограниченное количество клеточных линий.

Основное применение GEMM неразрывно связано с тем, как развиваются опухоли, и ограничениями платформы. Спонтанная природа опухолей делает модель идеальной для изучения механизма действия, но менее полезной для оценки эффективности. У каждой отдельной мыши заболевание будет прогрессировать с разной скоростью, и 100%-ная пенетрантность не может быть достигнута. Существует также латентный период перед развитием опухоли, который может быть чрезвычайно длительным.

Хотя GEMM зарекомендовали себя как ценные инструменты для исследования рака, все еще есть аспекты, которые можно улучшить. Основным ограничением GEMM зародышевой линии является то, что разработка и проверка этих моделей отнимают много времени, являются трудоемкими и дорогостоящими. Это иллюстрируется, когда новая мутация зародышевой линии должна быть введена в существующую мультиаллельную модель мыши, поскольку это требует интенсивного разведения. Быстро растущее число мутаций, выявленных в исследованиях секвенирования рака, требует новых стратегий моделирования мышей, которые позволяют ускорить оценку генов-кандидатов рака *in vivo* и мутаций, релевантных для пациента, в известных генах рака у GEMM, не относящихся к зародышевой линии.

Другим основным недостатком GEMM является то, что их биология - мышь, а не человек. Это означает, что специфичные для человека иммунотерапевтические средства не могут быть протестированы, если не существует ортолога мыши для использования. Биология мышей также может значительно отличаться от человеческой, особенно при использовании иммунотерапии, что необходимо учитывать при использовании этой платформы. Для тестирования специфичных для человека агентов необходимо использовать гуманизированные / целевые гуманизированные модели [3].

Список литературы:

1. ЛАБОРАТОРНАЯ МЫШЬ КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ // Студенческий научный форум - 2018 URL: <https://scienceforum.ru/2018/article/2018002100?ysclid=lcxhajhfkdl79792237> (дата обращения: 11.01.2023).
2. Douglas Hanahan; Erwin F. Wagner; Richard D. Palmiter (2007). "The origin of oncomice: The story of the first transgenic mice genetically modified to develop cancer." *Genes Dev.* 21 (18): 2258-2270.

3. Genetically Engineered Mouse Models (GEMM) for I/O Studies // Crownbio  
URL: <https://blog.crownbio.com/gemm-immuno-oncology-models> (дата обращения: 10.01.2023).

4. Quail DF, Joyce JA (2013) Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. Nat Med 19: 1423 – 1437

5. Rational Design of Mouse Models for Cancer Research // NIX URL:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29310843/> (дата обращения: 11.01.2023).

6. The mouse as a model organism // MPG URL: <https://www.mpg.de/10973406/mice> (дата обращения: 11.01.2023).