

ствам и антибиотикам. Модификация LPS путем пальмитоилирования является одной из стратегий, которые приводят к образованию стабильной биоупленки.

Структурно LPS *B. thailandensis* аналогичен структуре LPS *B. pseudomallei*. Он состоит из внешнего уникального O-антигена и внутреннего основного олигосахарида, который связан с липидом А.

Основной вид липида А, идентифицированный у *B. thailandensis*, представляет собой гетерогенную смесь пента- и тетраацелированных структур, различающихся заменами Ага4N и ацелированием C_{14:0}(3-ОН). Липид А *B. pseudomallei* имеет различные жирные ацильные цепи, индуцирует слабую иммунологическую активность и, таким образом, склоняется от ранней защиты хозяина. Присутствие Ага4N-модифицированных фосфатных групп и C_{14:0}(2-ОН) в липиде А может придавать устойчивость к воздействию цАМФ и позволять патогену выживать внутриклеточно. Напротив, более мощные ЛПС, синтезируемые *B. thailandensis* может сильнее активировать врожденную иммунную систему. Следовательно, *B. thailandensis* становится более восприимчивым к бактерицидным эффектам врожденных иммунных реакций хозяина, что приводит к эффективному выведению патогена [5].

Также имеются данные, что оперон биосинтеза O-антигена *B. thailandensis* идентичен или по крайней мере очень похож на таковой у *B. pseudomallei* [6].

Таким образом, *B. thailandensis*, генетически родственный непатогенный вид, имеет LPS схожий с *B. pseudomallei*, который перекрестно реагирует на сыворотки, полученные от инфекций *B. pseudomallei* и *B. mallei*. С клинической точки зрения эта идентичность привела к разработке вакцины против мелиоидоза с использованием LPS из *B. thailandensis*.

Знание структуры и функций липополисахаридов патогенных грамотрицательных бактерий дает основу для борьбы с инфекционными заболеваниями, для создания вакцин, на основе близкородственных условно-патогенных бактерий.

Список литературы

1. Tuanyok A. и др. The Genetic and Molecular Basis of O-Antigenic Diversity in Burkholderia pseudomallei Lipopolysaccharide // PLoS Negl Trop Dis. 2012. Т. 6. № 1. P. e1453.
2. Vitale A. и др. Mapping of the Denitrification Pathway in Burkholderia thailandensis by Genome-Wide Mutant Profiling // J Bacteriol. 2020. Т. 202. № 23. P. e00304-20.
3. Allen K.N., Imperiali B. Structural and mechanistic themes in glycoconjugate biosynthesis at membrane interfaces // Curr Opin Struct Biol. 2019. Т. 59. P. 81-90.
4. Farhana A., Khan Y.S. Biochemistry, Lipopolysaccharide // StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.
5. Webb J.R. и др. Burkholderia pseudomallei Lipopolysaccharide Genotype Does Not Correlate With Severity or Outcome in Melioidosis: Host Risk Factors Remain the Critical Determinant // Open Forum Infect Dis. 2019. Т. 6. № 4. C. ofz091.
6. Yu Y. и др. Genomic patterns of pathogen evolution revealed by comparison of Burkholderia pseudomallei, the causative agent of melioidosis, to avirulent Burkholderia thailandensis // BMC Microbiol. 2006. Т. 6. С. 46.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/C И МЕТОДЫ ПРОВЕРКИ ЧИСТОТЫ ЛИНИИ

Соколова А.В., Насакина А.Э.,
Черникова Е.А., Васина П.И.

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный
медицинский университет», Волгоград,
e-mail: sokoloovaaaa@yandex.ru

Мыши линии Balb/c (Инбредные)
Генотип: b, c, H-2d.

Особенностью данной линии мышей является высокая способность к обучению, так как они имеют более тяжелый и большой мозг, по сравнению с другими линиями лабораторных мышей. От этого мыши очень эмоциональны и имеют плохую психическую стабильность, сильно переживают любой стресс. Исследованиями установлено, что белые мыши редко проявляют агрессию.

Основные области использования: в научных экспериментах для решения практически всех медико-биологических проблем, для которых выступают в качестве моделей эксперимента. Обладают высокой чувствительностью к ионизирующему излучению [1].

Выбор линии осуществляется исследователем для определенных целей опыта, учитывая основные генетические характеристики животных.

Крайне важно поддерживать чистоту линии для получения верных и одинаковых результатов при повторении экспериментов. Для этого достаточно регулярно проводить мониторинг животных и под особым контролем соблюдать методику и условия их разведения. Для обеспечения качества лабораторных животных чрезвычайно важен генетический контроль.

Выведенные чистые линии лабораторных животных помогли в проведении исследований, которые раньше были недоступны, например в области иммунологии и онкологии, изучение гипертонии и пороков сердца. [2].

Инбридинг

Эксперименты с использованием аутбредных линий велись вплоть до 1930-х годов, когда стало понятно, что линии животных не подходят для всех экспериментов, те являются индивидуальными. В связи с этим прибегают к инбридингу – близкородственному скрещиванию. Такие животные гомозиготны и генетически одинаковы, что обеспечивает получение верных результатов и возможность их воспроизведения в любой лаборатории. Генетическая однородность позволяет использовать меньшее количество животных для получения доказательных результатов. В инбредных линиях гомозиготность животных сохраняется постоянным спариванием родных братьев и сестер. Каждый инбредный

штамм – это исключительное сочетание генетического материала, порождающее особый фенотип. Многие такие фенотипные черты полезны в экспериментах, часть из них используют для выведения позволяют моделировать болезни, анатомические характеристики и психологическое поведение [1].

Методы/способы оценки и поддержания чистоты линии лабораторных животных

Первые показатели нарушения чистоты линии можно определить по 2 показателям: плодовитость и поведение. Резкие изменения могут быть вызваны влиянием генетики или окружающей среды, что должно сопровождаться выяснением причин.

Нарушение чистоты линии происходит из-за единичных мутаций или в результате случайных скрещиваний с животными другой линии. Частота такой контаминации возрастает, если в одном помещении содержались разные линии с одинаковым окрасом. Генетический контроль не помогает в предотвращении «загрязнения» линии, но важен для поддержания чистоты.

Генетический контроль делят на 3 категории:

1. Характеризация линии. Процедуру проводят для подтверждения чистоты генотипа инбредных животных и создания новых линий с помощью проверки большего количества локусов-маркеров. Маркеры делят по биологическим функциям: биохимические, морфологические, иммуногенетические, молекулярные генетические, фармакогенетические и цитогенетические. Биохимические и иммуногенетические маркеры чаще исследуют, так как они обеспечивают точность, просты в исполнении, эффективны и экономичны. Данные группы маркеров наиболее изучены и их проще обнаружить.

2. Мониторинг I. Изредка проводится для подтверждения генотипа линии, воспроизводимой в питомнике.

3. Мониторинг II. Используют для подтверждения частных подгрупп, которые характеризуются минимальным набором маркеров, что позволяет выделять их в отдельную линию [3].

Помимо исследования маркеров есть иные способы проверить чистоту линии лабораторных животных:

- Реципрокная изотрансплантация кожи позволяет контролировать гомозиготность по большому количеству генов. Метод прост и не требует больших материальных затрат. Трансплантацию проводят на 2-, 3-месячных мышках и 3-, 3,5-месячных крысах, но не ранее 6-недельного возраста.

- Массовый SNV (единичные нуклеотидные варианты) анализ позволяет различить особей разных линий. Он заключается в нахождении различий в последовательности ДНК размером в один нуклеотид (А, Т, G или С). Однако данный метод недостаточно точен, иногда возни-

кают трудности в разделении, а так же ошибки секвенирования [4].

- Полногеномное или полноэкзомное секвенирование позволяет сравнивать геномы отдельных особей между собой. Минусом является дороговизна данного подхода.

- Использование микросателлитов в качестве ДНК-маркеров – самый популярный метод генетического мониторинга чистоты линий лабораторных животных.

В наше время сканирование генома с использованием SNP-маркеров стало дешевым. В геноме мыши миллионы SNP, в которых различаются отдельные особи или инбредные штаммы. Особи, подлежащие тестированию, могут быть типизированы и сравнены с известным профилем SNP аутентичных штаммов. В тех генах, где животные отличаются, можно провести количественный анализ. Этот метод также позволяет изучать успешность обратного скрещивания для получения когенных штаммов [5].

Для контроля гомозиготности мышей инбредных линий используют метод изотрансплантации кожи, о котором упоминалось ранее. Ценность метода заключается в том, что он:

- 1) позволяет контролировать гомозиготность по большому числу генов;

- 2) дает возможность обнаружить самые мелкие генетические различия между особями одной линии;

- 3) прост и не требует больших материальных затрат;

- 4) чтение результатов однозначно – приживление или отторжение пересаженной кожи;

- 5) короткие сроки проведения.

Трансплантация кожи с хвоста на бок с правой стороны в области грудной клетки осуществлялась по общепринятой методике в современной модификации. Наблюдение за состоянием животных осуществлялось каждый день в течение месяца, затем 1 раз в неделю, после 200 дней 1 раз в месяц. Общий срок наблюдения составляет 250-300 дней [6].

Таким образом, главными плюсами при выборе мышей линии BALB/c являются их высокая обучаемость, высокая психоэмоциональная лабильность, что позволяет использовать их в исследованиях по психологии. «Золотым стандартом» в проверке чистоты линии мышей является трансплантационный метод. Он позволяет в достаточно короткий срок определить чистоту особи, не используя для этого дорогих реактивов или оборудования. В настоящее время наряду с трансплантационным методом широкой популярностью пользуется микросателлитный анализ с помощью ПЦР. Он позволяет сравнить минимум две последовательности, которые при чистоте линии должны совпадать.

Список литературы

1. Мыши линии Balb/c (Инбредные) [Электронный ресурс]. URL: <https://ib.komisc.ru/rus/nauchnye-kollektsii/351-nauchnaya-kollektsiya-eksperimentalnykh-zhivotnykh/2373-myshi-linii-balb-c-inbrednye> (дата обращения: 19.11.2022).
2. Gajdaj E.A., Gajdaj D.S. Genetic variety of laboratory mice and rats: history of occurrence, methods of obtaining and control // Lab Anim Sci Rus. 2019. Vol. 2, № 4.
3. Букреев Ю.М. и др. Мониторинг чистоты линий лабораторных мышей с использованием ДНК-маркеров: 3 // Российский биотерапевтический журнал. 2017. Т. 16, № 3. С. 86–91.
4. Хлесткина Е.К., Салина Е.А. SNP-маркеры: методы анализа, способы разработки и сравнительная характеристика на примере мягкой пшеницы // Генетика. 2006. Т. 42, № 6.
5. Рузенова Н., Парванов П., Станилова С. Метод мультиплексной ПЦР для быстрого обнаружения *Paenibacillus larvae* в гнилой массе сот и колониях бактерий // Прикладная биохимия и микробиология. 2013. Т. 49. С. 88–93.
6. Трещалина Е.М. Иммунодефицитные мыши Balb/c nude и моделирование различных вариантов опухолевого роста для доклинических исследований: 3 // Российский биотерапевтический журнал. 2017. Т. 16, № 3. С. 6–13.

**МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТИ ВЕЩЕСТВ,
МОДУЛИРУЮЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ
ТИПЫ ИОННЫХ КАНАЛОВ**

Султанов Л.В., Салова А.Ю.,
Брылева С.В., Вершенко М.М.

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный
медицинский университет», Волгоград,
e-mail: vladislavovich24@yandex.ru

Ионные каналы.

Значение и классификация

Ионный канал – это крупный белок, образующий центральную пору, которая сообщает наружную и внутреннюю среду клетки. Канал имеет наружное устье, обращенное в сторону межклеточной среды, и внутреннее, которое обращено в сторону цитоплазмы. Кроме этого канал имеет ворота – специальный участок, который может конформационно меняться и перекрывать водную пору. При помощи этого воротного механизма канал может открываться и закрываться.

Ионные каналы мембран живых клеток выполняют целый ряд функций:

1. Регуляция объема клетки;
2. Регуляция pH внутренней среды клетки;
3. Обеспечение пассивного транспорта воды и ионов через мембрану;
4. Участие в системной регуляции функций организма;
5. Возбудимых клетках:
6. Создание мембранного потенциала;
7. Обеспечение активной и пассивной деполаризации;
8. Инициация синаптической передачи сигнала, мышечного сокращения или секреции веществ.

Ещё продолжают открываться разные типы ионных каналов (на сегодняшний день их чис-

ло доходит до нескольких сотен). Для каждого из них имеется своя система регуляции работы. Существуют несколько классификаций ионных каналов, которые в разных соотношениях учитывают такие свойства как параметры работы, молекулярную организацию и гены, кодирующие, структуру каналов, участие в определенной клеточной функции, механизм регуляции, чувствительность к регулирующим факторам и другие характеристики [1].

По способу активации все обнаруженные к настоящему времени ионные каналы можно разделить на три группы:

1. Потенциал-активируемые;
2. Механо-чувствительные;
3. Лиганд-активируемые

а) с внутриклеточными рецепторными центрами

б) с внеклеточными рецепторными центрами (ионотропные)

Первая группа активируется в зависимости от изменения мембранного потенциала клетки. Вторые активируются при механическом воздействии на клетку, например давлении или растяжении мембраны. А работа третьих регулируется посредством химических веществ, связывающихся с рецепторами самого канала или рецепторами, запускающими каскад реакций, впоследствии влияющих на работу ионного канала.

В зависимости от ионов, транспортируемых каналов, бывают селективные и неселективные каналы. Среди селективных выделяют натриевые, калиевые, кальциевые и хлорные.

Для ионных каналов возбудимых клеток также характерно деление на каналы покоя и воротные каналы. Каналы покоя открываются и закрываются спонтанно, а для воротных каналов необходимы регулирующие факторы [1].

Модуляторы ионных каналов

Модуляторы – это вещества, изменяющие работу путём блокирования или облегчения механизмов открывания или изменения чувствительности ионного канала к регулирующим факторам в большую или меньшую сторону. В соответствии с направлением действия выделяют блокаторы и открыватели. По механизму действия выделяют прямые и косвенные модуляторы. Прямые присоединяются к рецептору на ионном канале и непосредственно модулируют его работу. Косвенные присоединяются к метаболитному рецептору на мембране и запускают внутриклеточный каскад реакций с участием G-белка, приводящий к изменению работы канала. Практически все модуляторы являются по химическому строению нейропептидами, т.е. аминокислотными цепочками, более короткими, чем белки [2].

**Методы оценки эффективности
модуляторов ионных каналов**

Оценить фармакодинамическую активность какого-либо модулятора по отношению к ион-