

РЕДЕРИВАЦИЯ КАК СПОСОБ ОЧИСТКИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Е.Ю. Брусенцев¹, В.А. Напримеров^{1,3}, С.Я. Амстиславский^{1,2}

¹ Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: amstis@bionet.nsc.ru;

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия;

³ Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

В настоящее время стандарты биологических исследований постоянно повышаются. Кроме того, неуклонно возрастает число трансгенных и нокаутных линий мышей. В связи с этим все большее значение уделяется животным SPF-статуса (specified pathogens free). Работа на таких животных позволяет получать более точные результаты, без погрешности на инфекционное заболевание. Редеривация позволяет очистить колонии лабораторных животных и перевести их в SPF-статус. В обзоре сделано краткое описание и проведен сравнительный анализ основных способов редеривации с точки зрения эффективности, трудоемкости и других характеристик. Более подробно описан способ редеривации путем трансплантации эмбрионов как наиболее оптимальный на сегодняшний день.

Ключевые слова: лабораторные животные, редеривация, репродуктивные технологии.

Введение

Редеривация – от англ. rederivation – возврат к истокам, началу. В современной биотехнологии данный термин обозначает процесс очищения, избавления животных от различных патогенов. Редеривация может осуществляться различными способами: как простыми, с использованием кросс-фостеринга, так и более сложными, путем извлечения у зараженных доноров эмбрионов на разных стадиях преимплантационного развития, их отмывания в стерильных средах и последующей трансплантации. Важнейшая роль редеривации состоит в том, чтобы получить здоровое потомство от потенциально зараженного каким-либо патогеном донора. В последние годы редеривации придают все большее значение (Janus *et al.*, 2009; Okoli *et al.*, 2009; Pluck, Klasen, 2009; Yeom *et al.*, 2009; Lee, Kent Lloyd, 2010). Это обусловлено тем, что лабораторные животные, которые живут в условиях обычного (конвенционального) вивария, являются носителями большого числа различных инфекций (Zenner, Regnault, 2000). Однако по мере повышения стандартов в биологических исследованиях и ужесточения требований

биоэтики к экспериментальным работам все большее значение уделяется животным SPF-статуса (specified pathogens free); работа на таких животных позволяет получать более точные результаты, без погрешности на инфекционное заболевание (Shek, 2008). Другим важным фактором является появление большого числа трансгенных и нокаутных линий мышей (Abbott, 2004), которых необходимо предохранять и избавлять от различных патогенов (Mayer *et al.*, 2007). Согласно оценкам западных экспертов, одним из 10 наиболее значимых достижений науки в первом десятилетии XXI в. является расширение «биологических полномочий» бактерий и вирусов, сосуществующих вместе с многоклеточными хозяевами. Это не только не отрицает необходимости очистки конвенциональных животных, а, напротив, повышает требования к их SPF-статусу как необходимому условию изучения механизмов взаимодействия геномов хозяина и сопутствующей микрофлоры при формировании фенотипических свойств макроорганизма.

В вивариях России по-прежнему велика проблема заражения лабораторных животных всевозможными инфекциями, в том числе

вирусом экстремелии (мышинная оспа) (Абдрашитова, Конопленко, 2005). Он не несет вреда для человека, но представляет большую угрозу для животных, так как заразен, неизлечим и приводит к летальному исходу (Chapman *et al.*, 2010; Erez *et al.*, 2009; Moulton *et al.*, 2010). Во многих зарубежных центрах также имеет место заражение колоний лабораторных животных различными вирусными и бактериальными инфекциями и имеется потребность их очистки (Zenner, Regnault, 2000; Yamamoto *et al.*, 2001; Perdue *et al.*, 2007; Fray *et al.*, 2008). Правильно подобранный способ редеривации позволяет очистить колонии лабораторных животных и перевести их в SPF-статус.

Целью данного обзора являются анализ основных способов редеривации, активно применяющихся в мире, и выявление плюсов и минусов тех или иных методик (в частности, сравнительная оценка современных способов редеривации с точки зрения эффективности, экономичности, трудоемкости и других характеристик).

Краткое описание различных способов редеривации

Существует множество способов редеривации, как давно разработанных и используемых по сей день, так и предложенных относительно недавно, но уже получивших всеобщее признание.

Наиболее простым и известным способом является кросс-фостеринг. Он заключается в том, что новорожденное потомство переносят для дальнейшего выращивания другой самке в течение суток после рождения. Кросс-фостеринг давно применяют для исследования развития в онтогенезе физиологических и поведенческих характеристик у разных видов млекопитающих (Dennenberg *et al.*, 1969; Rosenberg *et al.*, 1970; Амстиславский и др., 1998–2000; Amstislavsky *et al.*, 2001; Kendrick *et al.*, 2001). Однако при посадке потомства от потенциально инфицированных доноров приемным матерям, которые не являются носителями определенного патогена, этот метод позволяет произвести очистку колоний лабораторных животных и рассматривается как один из способов редеривации (Bergin *et al.*, 2005; Glage *et al.*, 2007; Artwohl *et al.*, 2008; Okoli *et al.*, 2009; Yeom *et al.*, 2009). Этот способ иногда

применяют с дополнительной обработкой подсаживаемых потомков слабым раствором йода перед посадкой их на вскармливание приемным матерям (Watson *et al.*, 2005).

Процедура длительного воздействия антибиотиками на потомков в ходе раннего постнатального онтогенеза также может считаться разновидностью редеривации. Определенную дозу антибиотика добавляют в ежедневный рацион мышат. Процедура довольно длительная, так как животное необходимо содержать на этой диете как минимум 7–8 недель. Метод помогает не при всех инфекциях, а лишь при некоторых, не имеющих резистентности к антибиотикам (Goelz *et al.*, 1996; Bergin *et al.*, 2005; Kostomitsopoulos *et al.*, 2007).

Способ редеривации посредством хирургического извлечения практически сформированных потомков из матки потенциально инфицированных беременных самок непосредственно перед родами и последующей их посадки на вскармливание приемным матерям SPF-статуса применяют в некоторых крупнейших центрах генетических ресурсов мышей, таких, как «Джексоновская лаборатория» (США) (<http://www.jax.org/>). В России этот метод редеривации предлагает питомник «Пушино», который является одним из сертифицированных центров по разведению мышей и крыс SPF-статуса (<http://www.spf-animals.ru/>). Суть этого способа заключается в том, что на 18–19-й день беременности извлекают плоды (практически полностью сформированных мышат) из рогов матки потенциально инфицированных самок путем кесарева сечения, помещают преждевременно рожденных животных в инкубатор, предварительно обработав их дезинфицирующим раствором, где они доращиваются при 37 °С и увлажняемом воздухе. После 1–2 дней, проведенных в инкубаторе, мышат подсаживают здоровой суррогатной матери для дальнейшего доращивания и вскармливания (Marcotte *et al.*, 1996; Masy *et al.*, 2000; Glage *et al.*, 2007).

Начиная с 1970-х гг. экстракорпоральное оплодотворение применяется в медицинской практике (программа ЭКО), в частности, в целях преодоления бесплодия (Edwards, Steptoe, 1978; Papanikolaou *et al.*, 2008; Sills, Palermo, 2010). Метод редеривации, в основе которого лежит техника экстракорпорального оплодотворения

и культивирования образовавшегося зародыша до двухклеточной стадии с последующей подсадкой полученных *in vitro* эмбрионов суррогатной матери, является весьма надежным, хотя и достаточно трудоемким методом избавления от большинства патогенов (Suzuki *et al.*, 1996).

Между тем, по мнению большинства исследователей, наиболее оптимальным способом редеривации является трансплантация эмбрионов на ранних стадиях развития (двух клеток, морулы, бластоцисты) от зараженного донора чистому реципиенту (Carthew *et al.*, 1983; Homberger, 1997; Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Ike *et al.*, 2007; Besselsen *et al.*, 2008; Fray *et al.*, 2008; Janus *et al.*, 2009).

Редеривация колоний лабораторных животных путем трансплантации эмбрионов

Трансплантация эмбрионов – это процесс, в результате которого эмбрионы вымывают из репродуктивных путей животных-доноров, находящихся на ранних стадиях беременности, а затем пересаживают в яйцеводы или матку других самок (реципиентов эмбрионов), эстральный цикл которых, как правило, синхронизирован с донорами.

Впервые успешная трансплантация эмбрионов была осуществлена на кроликах (Heар, 1891) с исследовательскими целями, но прошло более 40 лет, прежде чем эта методика была применена к другим лабораторным животным, а именно – крысам (Nicholas, 1933) и мышам (Fekete, Little, 1942). Примерно в то же самое время метод трансплантации эмбрионов уже начали применять в сельском хозяйстве. Были осуществлены первые успешные трансплантации эмбрионов на овцах (Warwick, Berry, 1949), козах (Warwick *et al.*, 1934; Warwick, Berry, 1949), крупном рогатом скоте (Umbaugh, 1951) и лошадях (Oguri, Tsutsumi, 1974).

В настоящее время этот подход широко применяют как с исследовательскими, так и практическими целями, в частности, в сельском хозяйстве и медицине (Амстиславский и др., 1991), а также для сохранения видов и пород животных (Amstislavsky *et al.*, 2004, 2006). В последнем случае приходится иногда прибегать к межвидовой трансплантации (Амстиславский, 2006).

Начиная с 1980-х гг. в качестве метода редеривации широко используется перенос эмбрионов от доноров, несущих патогены, к «чистым» реципиентам SPF-статуса (Carthew *et al.*, 1983; Homberger, 1997; Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Ike *et al.*, 2007; Besselsen *et al.*, 2008; Fray *et al.*, 2008; Janus *et al.*, 2009). Данный метод является многоэтапным, состоящим из нескольких основных стадий, т. е. длительным и трудоемким, требующим четкой работы группы квалифицированных сотрудников. Несмотря на длительность проведения и относительно высокие материальные затраты, редеривация путем трансплантации эмбрионов является оптимальным способом очистки животных от подавляющего большинства патогенов (Carthew *et al.*, 1983; Homberger, 1997; Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Ike *et al.*, 2007; Fray *et al.*, 2008).

Для получения эмбрионов у мышей, как правило, вызывают суперовуляцию, вводя самкам-донорам гонадотропные препараты в определенных дозах по стандартной схеме (Hogan *et al.*, 1986). Эмбрионы вымывают либо на стадии морулы-бластоцисты и после соответствующих процедур очистки вводят в матку «чистого» реципиента (Carthew *et al.*, 1983; Suzuki *et al.*, 1996; Okamoto, Matsumoto, 1999; Peters *et al.*, 2006), либо на более ранней двухклеточной стадии и вводят в воронку яйцевода реципиента (Mahabir *et al.*, 2007; Besselsen *et al.*, 2008; Janus *et al.*, 2009; Pluck, Klasen, 2009).

Очистка извлеченных эмбрионов непосредственно перед их трансплантацией осуществляется путем отмывания их в стерильной питательной среде. Эту процедуру обычно осуществляют путем переноса зародышей по одному из капли в каплю, добываясь при каждом переносе разбавления 1 : 100 (Mahabir *et al.*, 2007). При работе с эмбрионами сельскохозяйственных животных существует достаточно жестко регламентированный протокол, при котором отмывание осуществляют последовательно через 10 капель, причем дополнительным фильтром очистки является проведение этих эмбрионов через раствор трипсина в течение 1,5 мин (Stringfellow, 1998). При работе с лабораторными грызунами нет столь жесткого регламента (Mahabir *et al.*, 2008), однако считается, что правильное выполнение отмывания и проводка через 10 капель

достаточны для избавления от подавляющего большинства патогенов (Peters *et al.*, 2006). Но следует учитывать, что эта процедура не позволяет избавиться от наиболее мелких вирусов мышей, например, mouse minute virus (MMV) (Mahabir *et al.*, 2007).

Использование по возможности более ранних стадий развития эмбрионов для проведения процедур редеривации считается предпочтительным по двум причинам. Во-первых, ранние эмбрионы меньше времени находились внутри инфицированного донора по сравнению с более поздними и, соответственно, меньше подвергались риску проникновения патогена внутрь зародыша. Во-вторых, структура прозрачной оболочки, являющейся барьером, предохраняющим эмбрион от внешних воздействий, меняется по мере его развития (Van Soom, 2010). Именно на ранних стадиях развития зародыша она максимально плотная и практически непроницаема для подавляющего большинства вирусов (Mertens, 2006).

Прозрачная оболочка как барьер, защищающий от патогенов

Основной оболочкой, присущей эмбрионам всех видов млекопитающих на протяжении всего их преимплантационного развития (или, по крайней мере, части этого периода), является *zona pellucida* (zp), известная в русскоязычной литературе как прозрачная оболочка (Амстиславский и др., 1991; Rankin *et al.*, 2000; Denker, 2000; Menkhorst, Selwood, 2008). Прозрачная оболочка большинства исследованных видов млекопитающих эластична (Schwartz *et al.*, 1996) и обладает пористой структурой (Dudkiewicz, Williams, 1977), хотя характер пористости и структура прозрачной оболочки меняются в зависимости от стадии развития зародыша, вида животных и существенным образом зависят от того, получен ли зародыш *in vivo* или *in vitro* (Van Soom *et al.*, 2010). Прозрачная оболочка ооцита играет важнейшую роль в процессе оплодотворения, затем на протяжении всего преимплантационного развития эта структура является тем образующим элементом, который удерживает эмбрион в заданном объеме, выполняя также роль естественного барьера по отношению к окружающей среде (Denker, 2000; Bedford, 2004; Van Soom *et al.*, 2010).

У мышей прозрачная оболочка состоит из трех хорошо охарактеризованных гликопротеинов: ZP1, ZP2, ZP3 (Wassarman, 1998; Rankin *et al.*, 2000). Исследования эмбрионов мышей нокаутных линий выявили роль каждого из этих гликопротеинов на протяжении развития зародыша. В частности, эти исследования указывают на важнейшую роль гликопротеина ZP3 в процессе оплодотворения (Liu *et al.*, 1996; Rankin *et al.*, 2000). Толщина прозрачной оболочки зависит от вида млекопитающих и варьирует от 6 до 16 микрон (Bedford, 2004).

Таким образом, прозрачная оболочка является естественной преградой для попадания различных патогенов, в том числе вирусов, внутрь эмбриона (Gwatkin, 1967; Peters *et al.*, 2006; Van Soom *et al.*, 2010). В то же время именно на прозрачной оболочке могут адсорбироваться некоторые вирусы, от которых следует избавиться в ходе процедур редеривации (Van Soom *et al.*, 2009). Важной с точки зрения редеривации характеристикой прозрачной оболочки является ее относительная устойчивость к действию протеолитических ферментов, таких, как трипсин, хемотрипсин или проназа (Bedford, 2004). Именно на этом свойстве прозрачной оболочки основано применение трипсина в некоторых вариантах отмывки зародышей (Stringfellow, 1998; Angelo, 2009). Но время экспозиции должно быть коротким (1–1,5 мин) (Stringfellow, 1998). Этого времени контакта с трипсином достаточно, чтобы разрушить прилипшие к оболочке вирусы, но не достаточно для того, чтобы разрушить саму оболочку (Van Soom *et al.*, 2010). При воздействии трипсином характеристики прозрачной оболочки изменяются, что, однако, не влияет в большинстве случаев на дальнейшее развитие подвергнутых такому воздействию зародышей (Van Soom *et al.*, 2010).

В ходе движения по яйцеводам и нахождения в матке *zona pellucida* у большинства исследованных видов животных существенно изменяется по своей структуре и составу, а у некоторых видов млекопитающих дополнительно к прозрачной оболочке (или замещая ее) появляются так называемые «третичные» оболочки (Betteridge, 1989; Denker, 2000; Menkhorst, Selwood, 2008). Наличие третичных оболочек и динамика их развития хорошо изучены у эмбрионов кролика и лошади (Böving, 1957; Betteridge, 1989; Denker, 2000).

Дэнкер в своем обзоре (Denker, 2000) приводит указания на то, что множество других видов млекопитающих, такие, как кошки, бабуины, морские коты и ряд других, имеют дополнительные, помимо *zona pellucida*, оболочки, хотя до настоящего времени изученными в этом отношении видами являются лишь лошадь и кролик. Как правило, наличие дополнительных оболочек усложняет проведение биотехнологических процедур. Хорошей иллюстрацией данного положения является то, что замена *zona pellucida* на так называемую «капсулу» в ходе преимплантационного развития лошади существенно усложняет замораживание эмбрионов этого вида млекопитающих (Allen, 2005). Хотя до настоящего времени редеривация видов млекопитающих, у которых имеются дополнительные помимо *zona pellucida* оболочки, не проводилась, можно предположить, что редеривация этих видов будет технически более сложной по сравнению с теми видами млекопитающих, у которых третичных оболочек не образуется.

В настоящее время оболочкам в ходе преимплантационного развития зародыша уделяют самое пристальное внимание (Denker, 2000; Menkhorst, Selwood, 2008; Van Soom *et al.*, 2010). С учетом важности оболочек, прежде всего основной оболочки эмбриона – *zona pellucida*, производят одну из достаточно легко выполнимых манипуляций – отбраковку зародышей, у которых имеются существенные нарушения оболочки (разрывы, трещины или полное ее отсутствие). Для того чтобы увидеть эти нарушения, рекомендовано в процессе процедур редеривации рассмотреть зародыши при 50-кратном (или большем) увеличении и выбрать для дальнейшей работы лишь те из них, у которых отсутствуют нарушения прозрачной оболочки (Van Soom *et al.*, 2010).

Примеры использования трансплантации эмбрионов для очистки колоний мышей и крыс от различных патогенов

Трансплантацию эмбрионов эффективно используют для очистки колоний лабораторных животных от различного рода патогенов, в частности от вирусных инфекций, избавиться от которых другими способами особенно тяжело.

Аденовирусы мышей являются достаточно просто устроенными ДНК-содержащими вирусами, которые вызывают у животного воспаление верхних дыхательных путей, а также пневмонию (Van Keuren, Saunders, 2004). Редеривация путем трансплантации эмбрионов колоний лабораторных животных, зараженных мышинным аденовирусом типа 1 и 2 (mouse adenovirus type 1 (FL) + type 2 (R87)) (сокращенно их обозначают обычно как MAD 1+2), позволяет избавиться от этого вида вирусной инфекции (Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008).

Ротавирусы являются наиболее частыми возбудителями гастроэнтеритов у молодых мышей. Типичным представителем данного семейства является вирус эпизоотической диареи мышат (mouse rotavirus) (EDIM). Вирион (зрелая вирусная частица) содержит двуцепочечную РНК и внутренние белки. Способ инфицирования фекально-оральный. Вирус размножается в клетках эпителия ворсинок тонкого кишечника. В результате воспалительных процессов в слизистой оболочке кишечника усиливается перистальтика, что и вызывает диарею. Редеривация при помощи трансплантации эмбрионов привела к очистке колонии мышей от этого патогена (Van Keuren, Saunders, 2004).

Вирус гепатита мыши (mouse hepatitis virus) (MHV) относится к группе коронавирусов (Coronaviridae). Этот вирус содержит одноцепочечную РНК, вызывает поражение печени. Известен целый ряд примеров успешной очистки колоний мышей от вируса гепатита мыши путем редеривации посредством трансплантации эмбрионов (Homburger, 1996, 1997; Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008).

Представителями рода парвовирусов (*Parvovirus*) являются: парвовирус 1 (rat parvovirus) (PRV), вирус Килхема (Kilham rat virus) (KRV) и мелкий вирус мышей (mouse minute virus) (MMV, MVM). Трансплантация эмбрионов очищает животных и от этих патогенов (Van Keuren, Saunders, 2004; Besselsen *et al.*, 2008; Janus *et al.*, 2009).

Вирус энцефаломиелита мышей (вирус Тейлера) (Theiler's murine encephalomyelitis virus) (TMEV или GD-7) относится к роду энтеровирусов (*Enterovirus*) семейства пикорнавирусов (Picornaviridae), содержащего одноцепочечную

РНК. Вызывает поражение ЦНС у мышей. Очистка животных от этого вируса эффективно осуществляется редеривацией при помощи переноса эмбрионов (Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008).

Хорошо известен вирус мышей гемагглютинирующий японский (вирус Сендай) (Sendai virus) (SEND), который относится к парамиксовирусам (Paramyxoviridae). Это семейство РНК-содержащих вирусов, имеющих липопротеиновую оболочку и единичную одноцепочечную линейную РНК. Вирус Сендай имеет общий антиген с вирусом парагриппа, является патогенным для мышей, вызывает у животных воспаление верхних дыхательных путей, в некоторых случаях пневмонию. Данный вирус обладает способностью модифицировать мембраны зараженных клеток и приводит к их слиянию. Успешное избавление от вируса Сендая колонии лабораторных мышей путем трансплантации эмбрионов описано в работе P. Carthew с соавт. (1983).

Одним из достаточно редко встречающихся заболеваний лабораторных мышей, но представляющим опасность для работников вивария, является лимфоцитарный хориоменингит (lymphocytic choriomeningitis virus) (LCMV). Болезнь вызывается вирусом из семейства аренавирусов. Источником служат больные мыши. Заболевание схоже с энцефалитом. Вирус поражает ЦНС, приводит к воспалению мозговых оболочек и развитию гидроцефалии. Во время беременности самки мышей могут передать лимфоцитарный хориоменингит плоду. У больных животных концентрация вируса высока во всех тканях в течение всей жизни. Вирус опасен и для человека, так как люди могут заразиться этим заболеванием от мышей через загрязненную патогеном пыль, попадающую в дыхательные пути. При появлении данного вируса в колонии мышей под угрозой заражения могут оказаться работники вивариев. При использовании трансплантации эмбрионов на ранних стадиях развития можно избавить животных от этого заболевания (Ike *et al.*, 2007), что представляется задачей исключительно важной и с точки зрения биоэтики, так как при контакте с зараженными животными могут заразиться люди (работники вивария, научные сотрудники), что является недопустимым.

Редеривация при помощи трансплантации эмбрионов позволяет очистить колонии лабораторных животных не только от вирусов, но и от бактериальных инфекций, а также экто- и эндопаразитов.

Данный метод редеривации эффективен при очистке колоний животных от бактериальных инфекций, возбудителей различных заболеваний печени, в частности рода хеликобактер (*Helicobacter bilis*) (Van Keuren, Saunders, 2004), (*Helicobacter hepaticus*) (Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008), которые вызывают хроническую и острую формы гепатита, а также воспаление желчного пузыря.

Заболевания легких и органов дыхания, вызываемые бактериями рода пастерелла (*Pasteurella pneumotropica*), приводят к воспалению легких. Редеривация посредством трансплантации эмбрионов позволяет избавиться от этого заболевания (Fray *et al.*, 2008).

Кроме вирусных и бактериальных инфекций, часто колонии мышей страдают от эктопаразитов (разные виды клещей) и эндопаразитов, в частности гельминтов (Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008). Метод редеривации при помощи трансплантации эмбрионов позволяет с высокой эффективностью очистить колонии мышей от клещей, например волосяных клещей (*Myocoptes musculus* и *Myobia musculi*) (Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008), а также с высокой эффективностью устранить эндопаразитов, например гельминтов *Syphacia obvelata*, остриц (Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008).

Согласно существующей в европейских центрах практике, после прохождения процессов редеривации рожденных в условиях SPF зоны животных следует протестировать на отсутствие бактерий, вирусов и иных инфекций в соответствии с рекомендациями FELASA (Federation of European Laboratory Animal Science Associations) (Nicklas *et al.*, 2002). Пробы для проверки рекомендовано посылать в специализированные диагностические лаборатории, аккредитованные согласно существующим международным стандартам (Homberger *et al.*, 1999; Nevalainen *et al.*, 1999). Существует несколько методов для определения наличия вирусной инфекции (ИФА, ПЦР и др.) (Nicklas *et al.*, 2002). Для тестирования

на наличие бактериальных инфекций делают посеы соскобов верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и репродуктивных путей. Тест на наличие экто- и эндопаразитов производят путем тщательного осмотра кожных покровов, экскрементов, а также с помощью серологических тестов. Для гарантии защиты основного поголовья от возможного проникновения патогенов через редеривированных животных проводят их обязательное карантинирование и только после подтверждения SPF статуса их переводят в основную колонию. Следует отметить, что в центрах генетических ресурсов, ориентированных на накопление и поддержание линейного разнообразия лабораторных животных, как правило существуют возможности самостоятельного внутреннего контроля качества редеривации (Mahabir *et al.*, 2009). Наличие оперативного контроля является обязательным условием эффективной работы центров на фоне динамично развивающегося производства различных генетических вариантов лабораторных животных.

Сравнительная характеристика различных способов редеривации

Различные способы редеривации, описанные в предыдущих разделах, имеют как свои преимущества, так и недостатки. Положительный результат обычно складывается из четырех составляющих: эффективности избавления от патогена, общей результативности (выживаемости потомства), материальных затрат и, наконец, трудоемкости метода включая время, необходимое для его проведения. Ниже приведено сравнение разных способов редеривации с учетом этой комплексной оценки.

Кросс-фостеринг является самым простым и наименее эффективным способом избавления от большинства вирусных инфекций, хотя достаточно эффективен при очистке от бактериальных инфекций, экто- и эндопаразитов. Выживаемость потомства при использовании этого метода самая максимальная, а затраты труда и времени – минимальные. Исходя из этого (простота метода, низкие затраты, высокая выживаемость потомства) кросс-фостеринг может быть рекомендован для избавления колоний мышей от некоторых видов клещей, таких,

как волосяные клещи (*Myocoptes musculinus* и *Myobia muscili*) (Bergin *et al.*, 2005), а также эндопаразитов за исключением *Syphacia obvelata* (Artwohl *et al.*, 2008). Метод эффективен также при некоторых вирусных инфекциях, например при очистке мышинных колоний от мышинного норовируса (Yeom *et al.*, 2009) и вируса гепатита мыши (Artwohl *et al.*, 2008). Метод может быть рекомендован и для избавления от некоторых бактериальных инфекций. Хорошие результаты были получены при очистке мышинных колоний от *Helicobacter hepaticus* (Okoli *et al.*, 2009; Yeom *et al.*, 2009) и от *Pneumocystis carinii* мышей (Yeom *et al.*, 2009). Этим же методом удалось очистить от *Helicobacter hepaticus* и колонию монгольской песчанки (Glage *et al.*, 2007).

При кросс-фостеринге в сочетании с обработкой потомков слабым раствором йода выживаемость потомства ниже, чем без обработки. Метод максимально пригоден для избавления от эктопаразитов, в меньшей степени – от эндопаразитов; дает хороший результат при бактериальных инфекциях, таких, как *Helicobacter hepaticus* (Watson *et al.*, 2005), а также вирусных включая вирус гепатита мыши (Watson *et al.*, 2005), вирус энцефаломиелита мыши (Watson *et al.*, 2005) и ротавирус мыши (Watson *et al.*, 2005). Материальные затраты и время проведения процедур при данной разновидности метода несколько повышаются из-за появления стадии отмывания потомков в растворе йода.

Применение антибиотиков эффективно при таких бактериальных инфекциях, как *Helicobacter bilis* (Bergin *et al.*, 2005), *Helicobacter hepaticus* (Kostomitsopoulos *et al.*, 2007) и *Pasteurella pneumotropica* (Goelz *et al.*, 1996), в меньшей степени – при очистке от экто- и эндопаразитов. От этой процедуры животные не погибают, выживаемость высокая. Применение антибиотика должно быть постоянным, что влечет за собой дополнительные финансовые траты. Этот способ редеривации длителен по времени. Продолжительность составляет 7–8 недель. Успешность метода доказана для *Helicobacter bilis* на монгольской песчанке (Bergin *et al.*, 2005) и *Helicobacter hepaticus* – на мышах (Kostomitsopoulos *et al.*, 2007). От вирусных инфекций метод не избавляет, что является существенным недостатком. К ми-

нусам также относятся большие финансовые затраты на антибиотики, а чрезмерное их применение приводит к развитию дисбактериоза у животных.

Редеривация путем кесарева сечения имеет больше преимуществ для очистки животных от патогена по сравнению с предыдущими способами, хотя выживаемость потомства несколько ниже. Эффективно используется при избавлении от паразитарных заболеваний, а также бактериальных, таких, как *Helicobacter hepaticus* монгольской песчанки (Glage *et al.*, 2007), *Pneumocystis carinii* у мышей (Marcotte *et al.*, 1996; Macy *et al.*, 2000), *Pasteurella pneumotropica* у мышей (Macy *et al.*, 2000), но не дает 100 %-й гарантии. Этот способ редеривации связан с достаточно большими затратами средств и времени, так как этапы данного метода являются достаточно сложными.

Экстракорпоральное оплодотворение является одним из самых эффективных способов редеривации, связанных с тонкими манипуляциями с гаметам (сперматозоидами и ооцитами). Этот способ, однако, является далеко не дешевым и весьма трудоемким. Несмотря на низкую выживаемость эмбрионов, этот способ обладает несомненным достоинством по сравнению с перечисленными выше. Это достоинство заключается в эффективности очистки от инфекций. При применении этого способа для очистки колоний мышей от вирусных (вирус гепатита мыши) и бактериальных патогенов (*Pasteurella pneumotropica*) (Suzuki *et al.*, 1996) был получен стойкий позитивный результат. Однако имеются данные и о неэффективности этого способа при очистке крупного рогатого скота от бычьего герпесвируса типа 1 (Bovine herpesvirus type 1) (BHV-1) даже после отмывания эмбрионов в питательной среде с добавлением трипсина (Angelo, 2009).

Трансплантация эмбрионов – широко распространенный способ очистки животных от патогенов. При этом методе высока эффективность избавления практически от всех типов инфекций, однако следует помнить, что далеко не все трансплантированные эмбрионы имплантируются. Так же, как и редеривация посредством экстракорпорального оплодотворения, эта процедура достаточно длительна, требует немалых финансовых затрат, больших

усилий и высокой квалификации персонала. В отличие от редеривации при помощи экстракорпорального оплодотворения (*in vitro*) в данном случае работа осуществляется с преимплантационными эмбрионами, развившимися до нужной стадии в организме матери (*in vivo*). Данный способ на сегодняшний день признается большинством специалистов как оптимальный и наиболее универсальный подход к редеривации, являясь способом выбора в подавляющем большинстве случаев. При помощи этого способа редеривации удавалось успешно очистить колонии мышей от аденовирусов (Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008), ротавирусов (Van Keuren, Saunders, 2004), коронавируса (Homberger, 1996, 1997; Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008), парвовирусов (Van Keuren, Saunders, 2004; Besselsen *et al.*, 2008; Janus *et al.*, 2009), вируса энцефаломиелита мышей (Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008), вируса Сендай (Carthew *et al.*, 1983), вируса лимфоцитарного хориоменингита (Ike *et al.*, 2007), а также от бактериальных инфекций, обусловленных бактериями рода *Helicobacter* (Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008) и *Pasteurella pneumotropica* (Fray *et al.*, 2008). Данный способ был также весьма эффективным для очистки мышинных колоний от разных видов клещей и эндопаразитов (Morrell, 1999; Van Keuren, Saunders, 2004; Fray *et al.*, 2008).

В заключение хотелось бы отметить следующее. В настоящее время отсутствует идеальный способ редеривации колоний лабораторных животных, который давал бы полную гарантию избавления их от всех существующих патогенов и был бы при этом дешевым и легким в исполнении. Однако на сегодняшний день редеривация путем трансплантации эмбрионов становится все более популярным подходом к этой проблеме и признается современными экспертами в качестве «золотого стандарта» редеривации (Mahabir *et al.*, 2008). Длительность и высокие материальные затраты при редеривации посредством эмбриотрансплантации компенсируются эффективностью данной процедуры. При помощи этого способа можно избавиться практически от всех распространенных патогенов, поскольку большинство вирусов не могут проникнуть внутрь эмбриона из-за имеющейся

на нем прозрачной оболочкой, играющей роль защитного барьера. Это обеспечивает защиту от подавляющего большинства вирусов и бактерий при последовательной отмывке эмбрионов в стерильных средах, но не гарантирует полной чистоты, так как некоторые вирусы имеют очень мелкие размеры и могут прикрепляться к наружной поверхности оболочки (Mahabir *et al.*, 2008). В этих случаях приходится не только отмывать эмбрионы в стерильных средах, но и прибегать к дополнительным ухищрениям, например к инкубации эмбрионов в растворе трипсина (Stringfellow, 1998; Angelo, 2009), что усложняет процедуру, увеличивая тем самым затраты на ее проведение и потенциально (хотя и не всегда) снижая выживаемость потомства. Перспективным подходом, на наш взгляд, является сочетание двух способов, когда полученные *in vivo* зародыши некоторое время культивируют *in vitro* в средах, содержащих антибиотики, и лишь после этого трансплантируют реципиенту (Suzuki, 1996; Angelo, 2009). Другим перспективным сочетанием является комбинация трансплантации и криоконсервации эмбрионов (Амстиславский, Трукшин, 2010), при этом после размораживания эмбрионов непосредственно перед их трансплантацией необходимо провести процедуры очистки эмбрионов так, как описано выше.

В 2010 г. в Новосибирском научном центре запущен уникальный SPF-виварий, в котором внедрены (или находятся в процессе освоения) самые современные технологии работы с лабораторными животными. Авторами данной статьи совместно с сотрудниками ИЦиГ СО РАН: к.б.н. И.Н. Рожковой, Т.Н. Уколовой, Н.А. Морозовым, О.Н. Никитиной и к.б.н. И.Ф. Плюсниной проведен пилотный эксперимент по редеривации линии ручных крыс, полученных путем селекции из диких крыс пасюков. В результате трансплантации эмбрионов от самок-доноров линии ручных крыс самкам-реципиентам линии Sprague-Dawley родились крысята линии ручных крыс, успешно прошедшие процедуру редеривации. Таким образом, в SPF-виварии Новосибирского научного центра был сделан первый важный шаг для перевода этой линии в SPF-статус редеривацией путем трансплантации эмбрионов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность сотрудницам ЦКП «SPF-виварий» Сальниковой Наталье Юрьевне и Приваловой Ольге Григорьевне за помощь и сотрудничество при проведении пилотного эксперимента по редеривации линии ручных крыс.

Литература

- Абдрашитова Э.Х., Конопленко Л.А. Экстремелия лабораторных мышей и методы ее диагностики // Биомедицина. 2005. № 1. С. 118–121.
- Амстиславский С.Я. Межвидовая трансплантация эмбрионов и клеточных ядер как подход к сохранению исчезающих видов млекопитающих // Онтогенез. 2006. Т. 37. № 1. С. 3–11.
- Амстиславский С.Я., Булыгина В., Маслова Л.Н. и др. Влияние перекрестного воспитания на некоторые физиологические и поведенческие признаки у крыс линий Вистар и ГК (генетическая каталепсия) // Рос. физиол. журнал им. Сеченова. 2000. Т. 86. С. 1630–1637.
- Амстиславский С.Я., Максимовский Л.Ф., Вороников М.Т. Методы биотехнологии в практике разведения животных. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1991. 170 с.
- Амстиславский С.Я., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Повышение артериального давления у приемных матерей крыс НИСАГ и Вистар: эффект перекрестного воспитания потомства // Рос. физиол. журнал им. Сеченова. 1999. Т. 85. С. 1496–1502.
- Амстиславский С.Я., Попова Н.К., Томилова Ю.Э. и др. Влияние материнской среды на артериальное давление и рефлекс испуга у крыс с наследственной артериальной гипертензией // Рос. физиол. журнал им. Сеченова. 1998. Т. 84. С. 783–789.
- Амстиславский С.Я., Трукшин И.С. Криобанк эмбрионов млекопитающих: выбор приоритетов и оптимальных репродуктивных технологий // Онтогенез. 2010. № 1. С. 19–31.
- Abbott A. Geneticists prepare for deluge of mutant mice // Nature. 2004. V. 432. P. 541.
- Allen W.R. The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding // Reprod. Domest. Anim. 2005. V. 40. P. 310–329.
- Amstislavsky S., Aalto J., Järvinen M. *et al.* Transfer of European mink (*Mustela lutreola*) embryos into hybrid recipients // Theriogenology. 2004. V. 62. P. 458–467.
- Amstislavsky S., Alekhina T., Barykina N. *et al.* Effects of maternal environment during early postnatal de-

- velopment on behavior in cataleptic rats // *Behav. Proc.* 2001. V. 56. P. 41–47.
- Amstislavsky S., Kizilova E., Ternovskaya Y. *et al.* Embryo development and embryo transfer in the European mink (*Mustela lutreola*), an endangered mustelid species // *Reprod. Fertil. Dev.* 2006. V. 18. P. 459–467.
- Angelo M., Visintin J.A., Richtzenhain L.J., Gonçalves R.F. Evaluation of trypsin treatment on the inactivation of bovine herpesvirus type 1 on *in vitro* produced pre-implantation embryos // *Reprod. Domest. Anim.* 2009. V. 44. № 3. P. 536–539.
- Artwohl J.E., Purcell J.E., Fortman J.D. The use of cross-foster rederivation to eliminate murine norovirus, *Helicobacter* spp., and murine hepatitis virus from a mouse colony // *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2008. V. 47. № 6. P. 19–24.
- Bedford J.M. Enigmas of mammalian gamete form and function // *Biol. Rev.* 2004. V. 79. P. 429–460.
- Bergin I.L., Taylor N.S., Nambiar P.R., Fox J.G. Eradication of enteric helicobacters in Mongolian gerbils is complicated by the occurrence of *Clostridium difficile* enterotoxemia // *Comp. Med.* 2005. V. 55. № 3. P. 265–268.
- Besselsen D.G., Romero-Aleshire M.J., Munger S.J. *et al.* Embryo transfer rederivation of C.B-17/Icr-Prkdc(scid) mice experimentally infected with mouse parvovirus 1 // *Comp. Med.* 2008. V. 58. № 4. P. 353–359.
- Betteridge K.J. The structure and function of the equine capsule in relation to embryo manipulation and transfer // *Equine. Vet. J.* 1989. Suppl 8. P. 92–100.
- Böving B.G. Rabbit egg coverings // *Anat. Rec.* 1957. V. 127. P. 270.
- Chapman J.L., Nichols D.K., Martinez M.J., Raymond J.W. Animal models of orthopoxvirus infection // *Vet. Pathol.* 2010. V. 47. № 5. P. 852–870.
- Carthew P., Wood M.J., Kirby C. Elimination of Sendai (parainfluenza type 1) virus infection from mice by embryo transfer // *J. Reprod. Fertil.* 1983. V. 69. № 1. P. 253–257.
- Chin H.J., Wang C.K. Utero-tubal transfer of mouse embryos // *Genesis.* 2001. V. 30. № 2. P. 77–81.
- Denker H.-W. Structural dynamics and function of early embryonic coats // *Cell Tiss. Organs.* 2000. V. 166. P. 180–207.
- Dennenberg V.H., Rosenberg K., Zarrow M.X. Mice reared with rat aunts: effect in adulthood upon plasma corticosterone and openfield activity // *Physiol. Behav.* 1969. V. 4. P. 705–707.
- Dudkiewicz A., Williams W. Fine structural observations of the mammalian *zona pellucida* by scanning electron microscopy // *Scan. Electron. Microsc.* 1977. V. 2. P. 317–324.
- Erez N., Paran N., Maik-Rachline G. *et al.* Induction of cell-cell fusion by ectromelia virus is not inhibited by its fusion inhibitory complex // *Virology.* 2009. V. 6. P. 151.
- Fekete E., Little C.C. Observation on the mammary tumor incidence of mice born from transferred ova // *Cancer Res.* 1942. V. 2. P. 525–530.
- Fray M.D., Pickard A.R., Harrison M., Cheeseman M.T. Upgrading mouse health and welfare: direct benefits of a large-scale rederivation programme // *Lab. Anim.* 2008. V. 42. № 2. P. 127–139.
- Glage S., Dorsch M., Hedrich H.J., Bleich A. Rederivation of *Helicobacter hepaticus*-infected Mongolian gerbils by Caesarean section and cross-fostering to rats and mice // *Lab. Anim.* 2007. V. 41. № 1. P. 103–110.
- Goelz M.F., Thigpen J.E., Mahler J. *et al.* Efficacy of various therapeutic regimens in eliminating *Pasteurella pneumotropica* from the mouse // *Lab. Anim. Sci.* 1996. V. 46. № 3. P. 280–285.
- Gwatkin R.B. Passage of mengovirus through the *zona pellucida* of the mouse morula // *J. Reprod. Fertil.* 1967. V. 13. № 3. P. 577–578.
- Heap W. Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster-mother // *Proc. R. Soc. (London).* 1891. V. 48. P. 457–458.
- Hogan B., Constantiny F., Lacy E. Manipulating the mouse embryo. A laboratory manual. N.Y.: Springer Harbor Laboratory, 1986.
- Homberger F.R. Mouse hepatitis virus // *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 1996. V. 138. № 4. P. 183–188.
- Homberger F.R. Enterotropic mouse hepatitis virus // *Lab. Anim.* 1997. V. 31. № 2. P. 97–115.
- Homberger F., Boot R., Feinstein R. *et al.* FELASA guidance paper for the accreditation of laboratory animal diagnostic laboratories // *Lab. Anim.* 1999. V. 33. Suppl 1. P. 19–38.
- Ike F., Bourgade F., Ohsawa K. *et al.* Lymphocytic choriomeningitis infection undetected by dirty-bedding sentinel monitoring and revealed after embryo transfer of an inbred strain derived from wild mice // *Comp. Med.* 2007. V. 57. № 3. P. 272–281.
- Janus L.M., Smoczek A., Hedrich H.J., Bleich A. Risk assessment of minute virus of mice transmission during rederivation: detection in reproductive organs, gametes, and embryos of mice after *in vivo* infection // *Biol. Reprod.* 2009. V. 81. № 5. P. 1010–1015.
- Kendrick K.M., Haupt M.A., Hinton M.R. *et al.* Sex difference in the influence of mothers on the social preferences of their offspring // *Hormones and Behavior.* 2001. V. 40. P. 322–338.
- Kostomitsopoulos N., Donnelly H., Kostavasili I. *et al.* Eradication of *Helicobacter bilis* and *H. hepaticus* from infected mice by using a medicated diet // *Lab. Anim. (N.Y.).* 2007. V. 36. № 5. P. 37–40.
- Lee A.Y., Kent Lloyd K.C. Rederivation of transgenic

- mice from iPS cells derived from frozen tissue // *Transgenic Res.* 2010. V. 20. № 1. P. 167–175.
- Liu C., Litscher E.S., Mortillo S. *et al.* Targeted disruption of the mZP3 gene results in production of eggs lacking a *zona pellucida* and infertility in female mice // *PNAS.* 1996. V. 93. P. 5431–5436.
- Macy J.D.Jr., Weir E.C., Compton S.R. *et al.* Dual infection with *Pneumocystis carinii* and *Pasteurella pneumotropica* in B cell-deficient mice: diagnosis and therapy // *Comp. Med.* 2000. V. 50. № 1. P. 49–55.
- Mahabir E., Bauer B., Schmidt J. Rodent and germplasm trafficking: risks of microbial contamination in a high-tech biomedical world // *ILAR J.* 2008. V. 49. № 3. P. 347–355.
- Mahabir E., Bulian D., Needham J. *et al.* Transmission of mouse minute virus (MMV) but not mouse hepatitis virus (MHV) following embryo transfer with experimentally exposed *in vivo*-derived embryos // *Biol. Reprod.* 2007. V. 76. № 2. P. 189–197.
- Mahabir E., Bulian D., Needham J., Schmidt J. Lack of transmission of mouse minute virus (MMV) from *in vitro*-produced embryos to recipients and pups due to the presence of cumulus cells during the *in vitro* fertilization process // *Biol. Reprod.* 2009. 81(3). P. 531–538.
- Marcotte H., Levesque D., Delanay K. *et al.* *Pneumocystis carinii* infection in transgenic B cell-deficient mice // *J. Infect. Dis.* 1996. V. 173. № 4. P. 1034–1037.
- Mayer A., Bulian D., Scherb H. *et al.* Emergency prevention of extinction of a transgenic allele in a less-fertile transgenic mouse line by crossing with an inbred or outbred mouse strain coupled with assisted reproductive technologies // *Reprod. Fertil. Dev.* 2007. V. 19. № 8. P. 984–994.
- Menkhorst E., Selwood L. Vertebrate extracellular preovulatory and postovulatory egg coats // *Biol. Reprod.* 2008. V. 79. P. 790–797.
- Mertens E.M. Der Einfluss der *in vitro* Kultur boviner Embryonen auf die Struktur der extraembryonalen Matrix (*Zona pellucida*): eine rasterelektronen- und lichtmikroskopische Studie: Ph.D. Thesis, Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany. 2006.
- Morrell J.M. Techniques of embryo transfer and facility decontamination used to improve the health and welfare of transgenic mice // *Lab. Anim.* 1999. V. 33. № 3. P. 201–206.
- Moulton E.A., Bertram P., Chen N. *et al.* Ectromelia virus inhibitor of complement enzymes protects intracellular mature virus and infected cells from mouse complement // *J. Virol.* 2010. V. 84. № 18. P. 9128–9139.
- Nevalainen T., Berge E., Gallix P. *et al.* FELASA guidelines for education of specialists in laboratory animal science (Category D) // *Lab. Anim.* 1999. V. 33. № 1. P. 1–15.
- Nicholas J.S. Development of transplanted rat eggs // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1933. V. 30. P. 1111–1113.
- Nicklas W., Baneux P., Boot R. *et al.* Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units // *Lab. Anim.* 2002. V. 36. № 1. P. 20–42.
- Oguri N., Tsutsumi Y. Non-surgical egg transfer in mares // *J. Reprod. Fertil.* 1974. V. 41. P. 313–320.
- Okamoto M., Matsumoto T. Production of germfree mice by embryo transfer // *Exp. Anim.* 1999. V. 48. № 1. P. 59–62.
- Okoli A.S., Menard A., Mendz G.L. *Helicobacter* spp. other than *Helicobacter pylori* // *Helicobacter.* 2009. V. 14. № 1. P. 69–74.
- Papanikolaou E.G., Kolibianakis E.M., Tournaye H. *et al.* Live birth rates after transfer of equal number of blastocysts or cleavage-stage embryos in IVF. A systematic review and meta-analysis // *Hum. Reprod.* 2008. V. 23. № 1. P. 91–99.
- Perdue K.A., Green K.Y., Copeland M. *et al.* Naturally occurring murine norovirus infection in a large research institution // *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2007. V. 46. № 4. P. 39–45.
- Peters D.D., Marschall S., Mahabir E. *et al.* Risk assessment of mouse hepatitis virus infection via *in vitro* fertilization and embryo transfer by the use of zona-intact and laser-microdissected oocytes // *Biol. Reprod.* 2006. V. 74. № 2. P. 246–252.
- Pluck A., Klasen C. Surgical techniques for the generation of mutant mice // *Methods Mol. Biol.* 2009. V. 561. P. 231–243.
- Rankin T., Soyal S., Dean J. The mouse *zona pellucida*: folliculogenesis, fertility and preimplantation development // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2000. V. 163. P. 21–25.
- Rosenberg K., Dennenberg V.H., Zarrow M.X. Mice reared with rat aunts: the role of rat-mouse contact in mediating behavioral and physiological changes in the mouse // *Anim. Behav.* 1970. V. 18. P. 138–143.
- Schwartz P., Magerkurth C., Michelmann H.W. Scanning electron microscopy of the *zona pellucida* of human oocytes during intracytoplasmic sperm injection (ICSI) // *Hum. Reprod.* 1996. V. 11. P. 2693–2696.
- Shek W.R. Role of housing modalities on management and surveillance strategies for adventitious agents of rodents // *ILAR J.* 2008. V. 49. № 3. P. 316–325.
- Sills E.S., Palermo G.D. Human blastocyst culture in IVF: current laboratory applications in reproductive medicine practice // *Rom. J. Morphol. Embryol.* 2010. V. 51. № 3. P. 441–445.
- Steptoe P.C., Edwards R.G. Birth after reimplantation of human embryo // *Lancet.* 1978. V. 2. P. 366.
- Stringfellow D.A. Recommendation for the sanitary handling of *in vivo*-derived embryos // *Manual of*

- the International Embryo Transfer Society. 1998. P. 79–84.
- Suzuki H., Yorozu K., Watanabe T. *et al.* Rederivation of mice by means of *in vitro* fertilization and embryo transfer // *Exp. Anim.* 1996. V. 45. № 1. P. 33–38.
- Umbaugh R.E. Superovulation and ovum transfer in cattle // *Fertil. Steril.* 1951. V. 2. P. 243–252.
- Van Soom A., Nauwynck H.J., Wrathall A.E. Scientific foundations of the epidemiological safety of embryo transfer // *Manual of the International Embryo Transfer Society: a Procedural Guide* <http://www.publish.csiro.au/journals/rfd> and General Information for the Use of Embryo Transfer Technology, Emphasizing Sanitary Procedures. 2009. 4th ed. P. 13–40.
- Van Soom A., Wrathall A.E., Herrler A., Nauwynck H.J. Is the *zona pellucida* an efficient barrier to viral infection? // *Reprod. Fertil. Dev.* 2010. V. 22. P. 21–31.
- Van Keuren M.L., Saunders T.L. Rederivation of transgenic and gene-targeted mice by embryo transfer // *Transgenic Res.* 2004. V. 13. № 4. P. 363–371.
- Warwick B., Berry R. Inter-generic and intra-specific embryo transfers in sheep and goats // *J. Hered.* 1949. V. 40. P. 297–303.
- Warwick B.L., Berry R.O., Horlacher W.R. Resulting of mating rams to Angora female goats // *Proc. 27th Ann. Meet. Am. Soc. Anim. Prod.* 1934. P. 225–227.
- Wassarman P.M. *Zona pellucida* glycoproteins // *Annu. Rev. Biochem.* 1998. V. 57. P. 415–442.
- Watson J., Thompson K.N., Feldman S.H. Successful rederivation of contaminated immunocompetent mice using neonatal transfer with iodine immersion // *Comp. Med.* 2005. V. 55. № 5. P. 465–469.
- Yamamoto H., Sato H., Yagami K. *et al.* Microbiological contamination in genetically modified animals and proposals for a microbiological test standard for national universities in Japan // *Exp. Anim.* 2001. V. 50. № 5. P. 397–407.
- Yeom S.C., Yu S.A., Choi E.Y. *et al.* Prevalence of *Helicobacter hepaticus*, murine norovirus, and *Pneumocystis carinii* and eradication efficacy of cross-fostering in genetically engineered mice // *Exp. Anim.* 2009. V. 58. № 5. P. 497–504.
- Zenner L., Regnault J.P. Ten-year long monitoring of laboratory mouse and rat colonies in French facilities: a retrospective study // *Lab. Anim.* 2000. V. 34. № 1. P. 76–83.

REDERIVATION AS A MEANS FOR LABORATORY ANIMAL PURIFICATION

E.Yu. Brusentsev¹, V.A. Naprimerov^{1,3}, S.Ya. Amstislavsky^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: amstis@bionet.nsc.ru;

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia;

³ Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

Summary

Standards for biological studies are constantly increasing. So is the number of transgenic and knockout mouse strains. For this reason, Laboratory Animal Science focuses its attention on specified pathogens free (SPF) animals. Use of these animals minimizes the variance of experimental data related to animal pathogens. Rederivation provides means for purification of laboratory animal stocks and elimination of specified pathogens. The main methods of rederivation are outlined and compared with regard to their effectiveness, labor input and some other parameters. Rederivation by embryo transfer is described more comprehensively, for this approach is presently considered the best.

Key words: laboratory animals, rederivation, reproduction techniques.