

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623266>

# Характеристика фенотипов мышей с признаками эпилепсии, полученных посредством ENU-мутагенеза

В.П. Рыбакова<sup>1, 2\*</sup>, Н.Н. Митина<sup>1, 2</sup>, А.А. Бабаев<sup>1</sup>, В.С. Тарабыкин<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт нейронаук, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Российская Федерация;

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск, Российская Федерация;

<sup>3</sup> Институт клеточной биологии и нейробиологии клиники Шарите, Берлин, Германия

## АННОТАЦИЯ

Эпилепсия — хроническое неврологическое расстройство, характеризующееся спонтанными повторяющимися приступами, сопровождаемыми различными нарушениями двигательных, чувствительных, вегетативных и психических функций, обусловленными чрезмерной электрической активностью нейронов. Улучшить понимание механизмов эпилептогенеза можно путём выявления и последующего описания мутаций, вызывающих данную патологию.

**Цель исследования.** Характеристика мутантной линии мышей S8-3, для которой характерна индуцированная эпилептиформная активность в ответ на аудиогенную стимуляцию.

Для проведения исследования были сгенерированы мышинные мутанты путём химического мутагенеза N-этил-N-нитрозомочевинной (ENU). Было произведено 3 серии ENU-инъекции 29 самцов мышей линии СЗН с дозой 90 мг/кг. Выявление и отбор мышинных мутантов с повышенной склонностью к эпилептическим припадкам осуществлялось на 21 день после рождения (P21) с применением методики Крушинского, учитывающей степень проявления аудиогенных судорог. Создание линий с рецессивной мутацией проводилось с отбором животных, показывающих абберрантный фенотип во второй раз. Наследование абберрантного фенотипа подтверждалось в G5-поколении мышей. Для характеристики полученных эпилептических линий использовали базовое поведенческое фенотипирование, которое включает в себя проведение тестирований на память, способность к обучению, моторно-двигательные реакции и оценку эмоционального статуса. Также были проведены *in vitro* эксперименты для оценки спонтанной кальциевой активности с использованием первичных нейрональных культур коры головного мозга, полученных от мышей линии S8-3 на 1 день постнатального развития. В данном эксперименте был использован индикатор Ca<sup>2+</sup> Oregon Green 488 BAPTA-1 AM.

В результате скрининга 60 линий мышей на чувствительность к аудиогенной стимуляции были выявлены 12 линий, проявивших признаки эпилептиформной активности. Для создания мутантной линии была выбрана группа S8-3, так как проявление признака среди потомства (G3) было наиболее частым по сравнению с остальными группами. Комплекс поведенческих исследований у линии S8-3 выявил более интенсивный показатель акустической реакции вздрагивания по сравнению с контрольной гибридной группой животных. Также в условиях методики «открытого поля» по показателям среднего пройденного расстояния двигательная активность мышей линии S8-3 была выше, чем у контроля, но при этом уровень тревожности был понижен и определялся меньшим количеством вертикальных стоек, количеством мочевых точек и числом болюсов. При оценке когнитивных функций с применением теста УРПИ мутантные особи показали высокую способность к обучению.

В ходе *in vitro* экспериментов было выявлено повышение частоты спонтанных кальциевых событий в первичных культурах клеток коры головного мозга мышей линии S8-3.

**Ключевые слова:** эпилепсия; ENU-мутагенез; фенотипический скрининг; развитие мозга.

## Как цитировать:

Рыбакова В.П., Митина Н.Н., Бабаев А.А., Тарабыкин В.С. Характеристика фенотипов мышей с признаками эпилепсии, полученных посредством ENU-мутагенеза // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 548–549. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623266>

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (грант № FSWR-2023-0029).

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

\* В.П. Рыбакова; адрес: Российская Федерация, 603022, Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д. 23; e-mail: [verunya.rubackova@mail.ru](mailto:verunya.rubackova@mail.ru)

Рукопись получена: 24.05.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623266>

# Characteristics of murine phenotypes with signs of epilepsy obtained through ENU mutagenesis

V.P. Rybakova<sup>1,2\*</sup>, N.N. Mitina<sup>1,2</sup>, A.A. Babaev<sup>1</sup>, V.S. Tarabykin<sup>3</sup><sup>1</sup> Institute of Neurosciences, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation;<sup>2</sup> Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation;<sup>3</sup> Institute of Cell Biology and Neurobiology, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

## ABSTRACT

Epilepsy is a chronic neurological disorder marked by recurring seizures and associated dysfunctions of motor, sensory, autonomic, and mental functions resulting from excessive electrical activity of neurons. Identification and characterization of the mutations that cause this pathology are essential for understanding the mechanisms that control epileptogenesis.

The aim of the study is to characterize the S8-3 mutant mice strain, which shows induced epileptiform activity in response to audiogenic stimulation.

Mutant strains of mice were acquired through induced chemical mutagenesis using N-ethyl-N-nitrosourea (ENU). Twenty-nine male mice were administered three rounds of ENU injections at a dose of 90 mg/kg during the study. On day 21 after birth (P21), identification and selection of mouse mutants with an elevated inclination towards epileptic seizures were conducted using the Krushinsky scale, which considered the intensity of audiogenic seizures. Strains with a recessive mutation were created by selecting animals that exhibited the aberrant phenotype for the second time. The abnormal phenotype was confirmed in the G5 generation, and basic behavioral phenotyping was performed to characterize the resulting epileptic lines. Correct grammar, spelling, and punctuation. This included assessing memory, learning ability, motor reactions, and emotional status. *In vitro* experiments assessed spontaneous calcium activity with primary neuronal cultures of the cerebral cortex isolated from newborn mice. The Ca<sup>2+</sup> indicator used was Oregon Green 488 BAPTA-1 AM.

Upon screening 60 strains of mice for sensitivity to audiogenic stimulation, 12 strains exhibiting epileptiform activity were observed. Subsequently, the S8-3 group was selected for further research, as its offspring (G3) showed a higher frequency of the aberrant phenotype in comparison to the other groups. Results from behavioral studies comparing S5-1 mice to the control hybrid animal group displayed a higher intensity of the acoustic startle response. The open field tests revealed that the motor activity of S8-3 strain mice was higher than that of the control group, based on the average distance traveled, and their anxiety level was lower, as indicated by fewer rears, urinary points, and boluses. When assessing cognitive functions through the CPAR test, mutant individuals exhibited high learning ability.

*In vitro* experiments showed an increase in the frequency of spontaneous calcium events in primary cell cultures of the cerebral cortex isolated from S8-3 mice.

**Keywords:** epilepsy; ENU-mutagenesis; phenotype screening; brain development.

## To cite this article:

Rybakova VP, Mitina NN, Babaev AA, Tarabykin VS. Characteristics of murine phenotypes with signs of epilepsy obtained through ENU mutagenesis. *Genes & Cells*. 2023;18(4):548–549. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623266>

## ADDITIONAL INFORMATION

**Funding sources.** This study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project No. FSWR-2023-0029).

**Authors' contribution.** All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, and final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

## AUTHORS' CONTACT INFO

\* V.P. Rybakova; address: 23 Gagarin avenue, 603022 Nizhny Novgorod, Russian Federation; e-mail: [verunya.rubackova@mail.ru](mailto:verunya.rubackova@mail.ru)

Received: 24.05.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024