

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
НАУКИ

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

УДК 547.96; 577.11

№ госрегистрации

Инв. №



УТВЕРЖДАЮ

Директор ИФАН РАН,

член-корреспондент РАН,

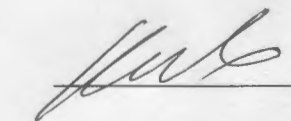
 С.О. Бачурин

«25» декабря 2015 г.

«МЕТОДИКА ПОВЕДЕНЧЕСКОГО ФЕНОТИПИРОВАНИЯ МОДЕЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ  
В КАМЕРАХ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОХОДКИ»

СТП-14.621.21.0008.18-2015

Ответственный исполнитель  
Заведующий лабораторией,  
к.б.н.

 С.Г. Ключков  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2015 г.

Черноголовка, Московская обл. 2015

## Оглавление

1. Наименование методики измерений .....	3
2. Назначение методики измерений и область применения .....	3
3. Нормативные ссылки .....	3
4. Погрешность измерений .....	3
5. Требования к показателям точности измерений .....	4
6. Условия измерений .....	4
7. Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, материалам, реактивам при выполнении данной методики. ....	4
7.1. Реактивы .....	4
7.2. Материалы .....	4
7.3. Оборудование .....	4
8. Операции, связанные с выполнением данной методики .....	4
8.1 Предварительная тренировка животных. ....	5
8.2 Подготовка дорожки. ....	5
8.2 Получение экспериментальных данных. ....	6
9. Обработка и оформление результатов измерений .....	8
10. Требования безопасности, охраны окружающей среды .....	8
11. Требования к квалификации операторов .....	9

## **1. Наименование методики измерений**

Настоящий документ СТП-14.621.21.0008.18-2015 устанавливает методику «Методика поведенческого фенотипирования модельных животных в камерах для оценки походки»

## **2. Назначение методики измерений и область применения**

Настоящая методика описывает процедуры, выполнение которых необходимо проведения поведенческого фенотипирования модельных животных в камерах для оценки походки. Основными областями применения данной методики являются биологические и медицинские науки (тестирование лабораторных животных, поведенческое фенотипирование)

## **3. Нормативные ссылки**

В настоящей методике использованы нормативные ссылки на следующие стандарты и документы:

ГОСТ Р 8.563-2009 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики (методы) измерений

СТП – 1.42.02 – 2002 Стандарты предприятия. Общие требования к построению, изложению, оформлению, содержанию, обозначению и порядку введения

ГОСТ 1.5—2001 Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Общие требования к построению, изложению, оформлению, содержанию и обозначению

ГОСТ Р ИСО 9000—2008 Системы менеджмента качества. Основные положения и словарь.

## **4. Погрешность измерений**

Не устанавливаются.

## **5. Требования к показателям точности измерений**

Не устанавливаются.

## **6. Условия измерений**

Не устанавливаются.

## **7. Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, материалам, реактивам при выполнении данной методики.**

### **7.1. Реактивы**

1. Этанол 96%

### **7.2. Материалы**

1. Салфетки для очистки стеклянных поверхностей

### **7.3. Оборудование**

1. Система CatWalk (Noldus, Нидерланды)

## **8. Операции, связанные с выполнением данной методики**

В состав системы CatWalk входит коридор, расположенный на стеклянной пластине. Благодаря технологии Illuminated Footprints области, в которых лапы тестируемого животного соприкасаются с поверхностью стеклянной пластины, подсвечиваются, затем при помощи чувствительной камеры сигнал записывается и анализируется при помощи специального программного обеспечения.



Рисунок 1. Общий вид установки CatWalk.

### **8.1 Предварительная тренировка животных.**

Перед тем, как начать сбор экспериментальных данных необходимо заранее обучить опытных животных совершать пробег по дорожке. Мышь должна двигаться равномерно и без остановок. Лишь при выполнении этого условия можно сравнивать результаты различных тестовых пробегов. Есть несколько основных способов тренировки, сочетание которых поможет адаптировать режим тренировки в соответствии с условиями конкретного эксперимента. В первую очередь нужно приучить животное находиться внутри коридора для пробегов. Для этого необходимо, в течении нескольких дней до начала тестирования ежедневно помещать экспериментальное животное в коридор до тех пор, пока животное полностью не изучит дорожку. Убедитесь, что стенки коридора плотно прилегают друг к другу, не мешая прямолинейному движению животного и не давая ему отклоняться в стороны слишком сильно. Во-вторых, за неделю до тестирования необходимо минимум трижды в день тренировать животное пробегать по стеклянной пластине. Вы можете простимулировать животное, разместив еду с противоположного конца туннеля. Кроме того, необходимо добиться, чтобы животное могло трижды совершить тестовый пробег с постоянной скоростью и не разу не остановившись. Среднее время, за которые экспериментальные животные преодолевают стеклянную пластину, можно использовать в качестве базового критерия.

В тренировку можно проводить и вне системы Cat Walk, принуждая животное ежедневно совершать тестовые пробеги на сходные дистанции в похожем окружении. При тренировке следует избегать силового принуждения. Подождите 15-20 минут, пока животное само не найдет правильный путь, такой подход принесет лучшие результаты.

### **8.2 Подготовка дорожки.**

Перед сбором экспериментальных данных необходимо удостовериться, что стеклянная пластина чиста. Поднимите коридор, используя мягкую тряпку сотрите грязь с пластины, также можно использовать подходящий стеклоочиститель для лучшей очистки. Кроме того, в качестве очистительного раствора можно использовать 1% спиртовой раствор с добавлением некоторого количества уксуса. Далее необходимо проверить правильность расположения камеры. Расстояние между камерой и стеклянной пластиной определяет ширину обзора дорожки. При условии того, что вы за один пробег рассчитываете зафиксировать 5-6 циклов, расстояние должно составлять около 45 см. Для более точного определения рекомендуется провести 2-3 пробных пробега. Убедитесь, что коридор установлен правильно. Его центр должен совпадать с центром стеклянной пластины. Отрегулируйте ширину коридора под размер животного. Убедитесь, что иллюминированный потолок опущен. Опционально можно оставить промежуток между коридором и иллюминированным потолком, для удобства размещения животного.

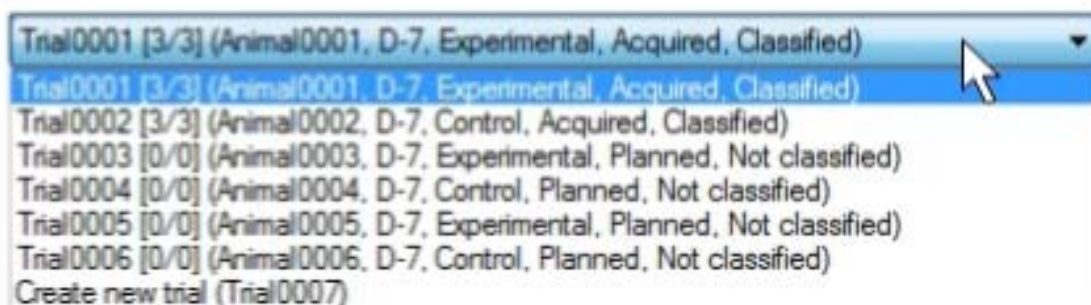
## **8.2 Получение экспериментальных данных.**

После подготовки установки и обучения животных можно приступать к получению экспериментальных данных, следуя описанным инструкциям.

Для того, чтобы начать сделайте одно из следующих действий:

1. В окне **Experiment Task** нажмите **Open Acquisition**
2. Выберите **Acquire > Open Acquisition**
3. Под **Acquisition** нажмите правой кнопкой мыши и выберите **Acquire Runs**

Под **Trial Selection** выберите пробег из списка, если список пуст выберите **Create new Trial**. (Рисунок 2)

**Trial Selection**Рисунок 2. Меню **Trial Selection**

Нажмите кнопку **Snap Background** для захвата фонового изображения пустой чистой дорожки. Невозможно произвести сбор данных без захвата фонового изображения дорожки. Просмотр фонового изображения можно осуществить через настройки: выберите **Setup > Acquisition Settings** и нажмите кнопку **View Background Image**.

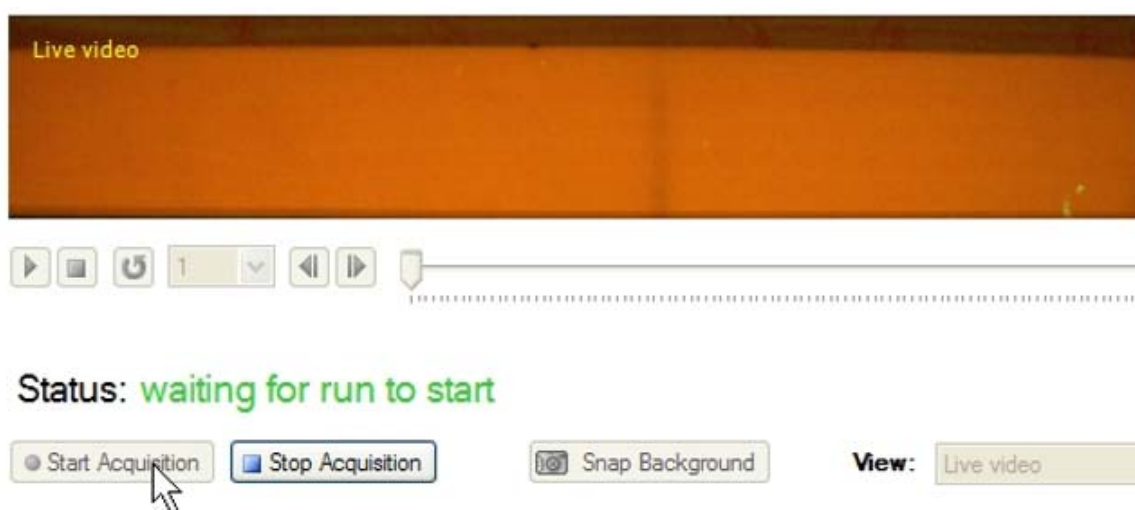


Рисунок 3. Окно сбора данных

Нажмите **Start Acquisition** или **Page-Up**. Статус должен измениться на “Waiting for run to start” (Рисунок 3)

Поместите животное к коридор. Сбор данных начнется автоматически, как только прибор засечет контур животного. Статус изменится на “Recording

run#”. Как только животное покинет поле зрения камеры, статус изменится на “Waiting for run to start”.

Сбор данных можно приостановить в ручную, нажав кнопку **Stop Acquisition**, или нажав **Page-Down**. Сбор данных будет прекращен автоматически, как только будет произведено установленное количество пробегов.

После завершения сбора данных будет открыто окно **Acquisition Finished Task**, здесь можно выбрать:

**Acquire Next Trial** - Перейти к следующему пробегу из списка.

**Acquire New Trial** – Создать новый пробег и перейти к сбору данных

**Classify Runs** Перейти в меню классификации, где можно провести классификацию произведенных пробегов.

При использовании Goal Box, животных из одной клетки содержите вместе. Например, первый раз в течении 5 минут, второй – трех. Это позволит удостовериться, что только одно животное вышло на дорожку, а остальные остались в Goal Box.

## **9. Обработка и оформление результатов измерений**

Обработка результатов измерений проводится при помощи программного обеспечения CatWalk XT10.5 (Noldus, Нидерланды). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программных пакетов Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США) и GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., США).

## **10. Требования безопасности, охраны окружающей среды**

Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать норм, установленных ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно допустимые концентрации



(ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны». Организация обучения работников безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004.

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования, изложенные в технической документации к приборам.

### **11. Требования к квалификации операторов**

К выполнению измерений могут быть допущены штатные сотрудники, имеющие соответствующую профессиональную подготовку, прошедшие соответствующий инструктаж, освоившие метод в процессе тренировки