

ВМІСТ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА У КУЛЬТУРІ КЛІТИН ГРАНУЛЬОЗИ

Ю. В. Боднар, м. н. с.
ua_ylya@ukr.net

Інститут біології тварин НААН, м. Львів

Для культивування статевих клітин самок сільськогосподарських тварин, зокрема корів, як окремо, так і з іншими клітинами (кумулясом чи гранулозою) використовують еструсну сироватку, фолікулярну рідину, альбумін та інші протеїни. Вказані компоненти забезпечують подібність складу середовища культивування до природних умов існування, а також використання клітинами білків як структурних і транспортних засобів для біологічно активних речовин, так і факторів, які стимулюють ріст і метаболізм.

Мета досліджень — вивчити вміст загального білка в культурі гранулози залежно від фізіологічного стану яєчників корів та розміру фолікулів, з яких отримані клітини.

Для проведення досліджень після забою корів відбирали яєчники і за їх фізіологічним станом ділили на групи: зі «свіжою» овуляцією, з відтулиною на місці овульованого фолікула, з відсутнім жовтим тілом або його діаметром до 5 мм (колір червоний), з «раннім» жовтим тілом діаметром 10–20 мм (колір червоний або брудно-жовтий), з «пізнім» жовтим тілом діаметром 5–15 мм (колір жовтий), «фолікулярного росту» — без жовтого тіла. Використовували яєчники корів з малими (<4 мм), середніми (4–7 мм) і великими фолікулами (>7 мм). З фолікулів вказаних діаметрів методом аспірації отримували антральну рідину, центрифугували при 2000 об./хв., супернатант відділяли, а осад клітин суспендували в середовищах відповідно до об'єму фолікулярної рідини (ФФ): Dulbeccos modified Eagle medium (DME), Basal Medium Eagle (BME; Sigma) і RPMI-1640 з додаванням (в мас.%) еструсної сироватки корів (8–12%), фолікулярної рідини (10–12%), інсуліну (4 мкг/мл), гепарину (5 тис. од.) — 0,001–0,0015 мл. Отриману суспензію клітин гранулози вносили у планшети (діаметр лунок — 3 см) і культивували у герметично закритому ексікаторі при 5,0 % CO₂, 100 % вологості і температурі 38,5 °C. Через кожні 7 діб проводили заміну 2/3 середовища. У культурі гранулози визначали вміст загального білка з використанням реактиву Фоліна-Чокальтеу.

Встановлено, що вміст загального білка при культивуванні гранулози з яєчників «фолікулярного росту» становить 15,8±2,31 мг/мл, з «раннього жовтого тіла» — вищий на 15,8 %, з «пізнього жовтого тіла» і «свіжої овуляції» — нижчий, відповідно, на 22,2 % і 34,2 %. При цьому вміст загального білка у культурі гранулози залежить не тільки від фізіологічного стану яєчника, але й від розміру фолікула, з якого вилучені клітини. Наприклад, у гранулозі з малого фолікула яєчника «свіжої овуляції» вміст білка становив 8,2±1,63 мг/мл, що на 2,9–3,7 % менше, ніж з фолікулів розмірами понад 4 мм. На противагу, в культурі клітин із середнього за розміром фолікула «раннього жовтого тіла» вміст загального білка максимальний (21,0±4,15 мг/мл), а з малого і великого — відповідно, на 4,9 % і 3,1 % нижчий. Подібні зміни встановлені при «пізньому жовтому тілі»: вміст загального білка тенденційно вищий з великого фолікула (13,3±5,17 мг/мл) і на 0,5–2,5 % нижчий у малому і великому. При культивуванні гранулози, отриманої з яєчника «фолікулярного росту», вміст загального білка становив 15,1–16,3 мг/мл незалежно від розміру фолікула.

Отже, за відсутності вірогідної різниці між середніми величинами вмісту загального білка у культивованих клітин залежно від фізіологічного стану яєчника, вища величина значення (21,0±4,15 мг/мл) проявляється у гранулозі, вилученої з фолікулів 4–7 мм статевої залози «раннього жовтого тіла», а найнижча (8,2±1,63 мг/мл) — з фолікулів <4 мм «свіжої овуляції». Різниця між вказаними величинами становить 60,9 % (p<0,01). Встановлені зміни свідчать про значно вищу здатність синтезувати протеїни у клітин із середніх за розміром фолікулів яєчника «раннього жовтого тіла». І навпаки, гранулоза з малого фолікула яєчника після овуляції («свіжої овуляції») при культивуванні інтенсивно використовує протеїни середовища.