

УДК 602.4: 591.33:591.04:602.6:599.323.4

ВПЛИВ ОБ'ЄМНОЇ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ СИСТЕМИ КЛІТИН ЯЙЦЕПРОВІДІВ НА ДОЗРІВАННЯ РАНИХ ЕМБРІОНІВ ДО ТРАНСФЕРАБЕЛЬНИХ СТАДІЙ

О. В. Штапенко, к. с.-г. н., І. І. Гевкан, к. біол. н., Ю. І. Сливчук, к. вет. н., В. Я. Сирватка, к. біол. н.
shtapenko@inenbiol.com.ua

Інститут біології тварин НААН, м. Львів

Фідерний клітинний моношар, який відіграє роль підтримуючого клітинного матриксу, здатен моделювати *in vitro* оточення ефективніше, ніж звичайне кондиційне середовище або його синтетичні аналоги. Культивування культур клітин на наноповірках дозволить створити комплексну просторово організовану клітинну систему, яка забезпечить найбільш оптимально наближені до *in vivo* умови та формування міжклітинного матриксу, що сприяє повноцінному дозріванню гамет та ембріонів ссавців.

Нами розроблено метод одержання об'ємної культуральної системи клітин яйцепровідів кролематок на нанопокритті з біогелю природного походження та альбуміну, нанесеного на скельця методом органічного синтезу, та проведено порівняльні дослідження їх впливу на дозрівання раних зигот *in vitro*.

Культуру клітин яйцепровідів кролематок отримували за стандартною методикою трипсинізації клітин. Зиготи мишей отримували після індукції суперовуляції шляхом внутрішньочеревного введення самкам гонадотропіну сироватки жеребних кобил (PMSG, Biowet, Drwalew Poland) у кількості 5 МО. Через 48 годин самкам вводили внутрішньочеревно хоріонічний гонадотропін hCG (Pregnyl, Organon) у кількості 5 МО та підсаджували до самців. Зародки на 2-клітинній стадії вимивали з ампульної ділянки яйцепровідів у середовище M2 під біокуляром. Після відмивання всі зародки оцінювали за морфологічними ознаками та розподілялися на три групи по 15 ембріонів у кожній групі, які переносили у підготовлені завчасно чашки з висіяними клітинами яйцепровідів кролематок у концентрації 0,5 млн/мл. Для досліджень створено контрольну групу — пластикова чашка Петрі та дві дослідні групи, які відрізнялися покриттям чашок біогелем з яєчного білку (дослідна група 1) та альбуміном, нанесеним на скельця методом органічного синтезу (дослідна група 2). Культивування ембріонів проводили у середовищі KSMO з 5% ФСТ під мінеральним маслом у термостаті при 37 °C впродовж 3-х діб. Якість ембріонів оцінювали через кожні 24 години за морфологічними критеріями, здатністю до поновлення мітозу та частотою дроблення до стадії бластоцисти.

При культивуванні двох клітинних ембріонів на нанопокритті з біогелем через 24 години культивування 33,3 % ембріонів були на 4- та 6-клітинних стадіях розвитку та 66,7 % — на 8-клітинній стадії, тоді як при культивуванні на нанопокритті з альбуміном 6,7 % зародків залишились на стадії двох бластомерів проти 13,3 % — у контрольній групі.

Через 48 годин культивування 53,3 % ембріонів у 1-й дослідній групі було на стадії морули, 26,7 % — на 8-клітинній стадії, а 13,3 % — ранньої бластоцисти, тоді як при культивуванні на нанопокритті з альбуміном більшість зародків (53,3 %) досягнула 8-клітинної стадії, 26,7 % розвинулись до морули, а 6,7% — до ранньої бластоцисти.

Через 72 год культивування ранні бластоцисти 1-ї дослідної групи з біогелем розвинулись в ескандовані та деякі бластоцисти вилупились з прозорих оболонок. Тоді як у контрольній та 2-й дослідній групах кількість ембріонів, які досягнули стадії середньої бластоцисти, була меншою, а в контрольній групі не спостерігалось хетчингу бластоцист.

Порівняння результатів розвитку двох клітинних ембріонів в контрольній на дослідних групах показало, що при культивуванні на нанопокриттях з альбуміном, а особливо з біогелем позитивно впливає на життєздатність та на розвиток раних ембріонів *in vitro*, сприяючи дробленню зародків, компактизації, диференціації клітин та формуванню бластоцист.