

УДК 591.392

МЕЙОТИЧНЕ ДОЗРІВАННЯ ООЦИТІВ МИШЕЙ ЗА ВАРІАЦІЙ ВМІСТУ ГЛЮКОЗИ ТА ОБ'ЄМУ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ КРАПЛІ

I. В. Лобачова, зав. лабораторії біології відтворення с.-г. тварин
LIV-post@ukr.net

Інститут тваринництва степових районів ім.М. Ф. Іванова «Асканія-Нова», смт Асканія-Нова

Глюкоза зазвичай входить до складу майже усіх середовищ, які використовують при культивуванні *in vitro* ооцитів та ранніх зародків ссавців. Для визначення оптимальних умов досліджували вплив різних концентрацій глюкози та варіацій об'єму культуральної краплі на мейотичне дозрівання *in vitro* ооцитів лабораторних мишей. Середовища komponували на основі розчину SOF з неорганічними солями за Н. R. Tervit (1972), доповненому бичачим сироватковим альбуміном (3 мг/мл, A9647, «Sigma»), глутаміном (0,1 мг/мл, «Реахим») та сумішами мінімальних (MEM, M7145, «Sigma») і базових (BME, B6766, «Sigma») амінокислот в асортименті за Іглом (кожну додавали у кількості 1 % за об'ємом). Вміст глюкози становив 0, 0,1 або 1,0 мг/мл. Інших енергетичних речовин та будь-яких гормонів не додавали. Ооцит-кумуляні комплекси оцінювали за станом цитоплазми та наявністю кумулюсних клітин та ділили на 2 групи: 1 — I і II, 2 — VI і IVKK категорії разом. До I категорії відносили ооцити з багатопловою, рівно окресленою *corona radiata*. II категорію склали ооцити з 3–4 неперервними шарами кумулюсних клітин. IV становили повністю оголені, а IVKK — ооцити з оголеною більше 60 % площі прозорої оболонки. Комплекси з темними включеннями у цитоплазмі або нерівномірною конденсацією клітин кумулюсу не використовували. Культивування здійснювали в герметично зачищеному ексікаторі з 5–10% вмістом вуглекислого газу у повітрі. Тривалість культивування становила 17 год.

Таблиця

Вплив глюкози на мейотичне дозрівання ооцитів мишей за різного об'єму краплі

| Категорія ооцитів | Вміст глюкози, мг/мл | N/n | Ооцитів на краплю, шт. | Частка ооцитів з хромосомами на стадії, % | | | |
|---------------------|----------------------------|------|---------------------------|---|-----------------------------|-----------------------|---------------------------|
| | | | | ДД–ДФ | Дк–М1 | А–Т | М2 |
| об'єм краплі 0,1 мл | | | | | | | |
| I, II | 0,0 | 3/27 | 9±1 | 56,5±27,52 ^{a,b} | 19,4±12,27 ^{a,c} | 0,0 ^a | 20,4±18,56 ^{a,b} |
| I, II | 0,1 | 3/28 | 9±1 | 22,6±5,25 ^a | 64,3±13,36 ^{a,b} | 4,8±5,83 ^a | 8,3±10,21 ^{a,b} |
| I, II | 1,0 | 3/44 | 9±1 | 6,3±3,93 ^a | 64,8±7,94 ^b | 0,0 ^a | 28,9±4,76 ^b |
| IV, IVKK | 0,0 | 3/30 | 10±0 | 89,3±7,87 ^b | 10,7±7,87 ^c | 0,0 ^a | 0,0 ^a |
| IV, IVKK | 0,1 | 3/30 | 10±0 | 92,6±4,54 ^b | 7,4±4,54 ^c | 0,0 ^a | 0,0 ^a |
| IV, IVKK | 1,0 | 3/40 | 15±3 | 62,4±10,33 ^b | 32,2±13,33 ^{a,b,c} | 0,0 ^a | 5,6±3,93 ^{a,b} |
| об'єм краплі 0,5 мл | | | | | | | |
| I, II | 0,0 | 3/32 | 11±1 | 70,4±12,63 ^{a,b} | 29,6±12,63 ^{a,b} | 0,0 ^a | 0,0 ^a |
| I, II | 0,1 | 3/29 | 10±1 | 81,5±16,35 ^{a,b} | 14,8±12,0 ^{a,b} | 3,7±4,54 ^a | 0,0 ^a |
| I, II | 1,0 | 3/32 | 11±1 | 31,5±13,25 ^a | 34,4±3,60 ^b | 3,3±4,08 ^a | 30,7±11,82 ^a |
| IV, IVKK | 0,0 | 3/30 | 10±0 | 96,3±4,54 ^b | 3,7±4,54 ^a | 0,0 ^a | 0,0 ^a |
| IV, IVKK | 0,1 | 3/32 | 11±1 | 86,7±10,80 ^b | 10,0±7,07 ^a | 0,0 ^a | 3,3±4,08 ^a |
| IV, IVKK | 1,0 | 3/30 | 10±0 | 96,7±4,08 ^b | 3,3±4,08 ^a | 0,0 ^a | 0,0 ^a |

Примітки: N — кількість повторів, n — кількість культивованих ооцитів. ДД — дифузна диплотена, ДФ — фібрилярна диплотена, Дк — діакінез, М1 — метафаза-1, А — анафаза, Т — телофаза, М2 — метафаза-2.

За малого об'єму культуральної краплі (0,1 мл) додавання глюкози посилювало ініціацію мейозу в ооцитах, оточених кумулюсом (I та II категорії). Це посилення було значнішим за більшого вмісту моносахариду. Разом з тим, додавання глюкози лише трохи змінило кількість ооцитів, хромосоми яких досягли стадії метафаза-2. Внесення глюкози до оголених ооцитів майже не вплинуло на їх розвиток — лише при концентрації 1 мг/мл спостережено невірогідне збільшення частки клітин, хромосоми яких утворили біваленти.

При об'ємі краплі 0,5 мл в групі ооцитів з кумулюсом позитивний ефект глюкози проявився лише при концентрації 1 мг/мл — зниженням частки ооцитів, хромосоми яких зупинились на стадії диплоти, та збільшенням частки ооцитів на стадії метафаза-2. Додавання глюкози до середовищ з оголеними ооцитами не мало ефекту.

Таким чином, у простому безгормональному середовищі за відсутності інших енергетичних речовин глюкоза у концентрації до 1 мг/мл включно не здатна підтримати повноцінний розвиток основної частки ооцитів мишей.