

УДК 591.392

## РОЗВИТОК *IN VITRO* РАНИХ ЗАРОДКІВ МИШЕЙ ЗА ВПЛИВУ ПРОЦЕДУРИ ЛІЗИСУ ПРОЗОРОЇ ОБОЛОНКИ

І. В. Лобачова, к. с.-г. н., зав. лаб.  
LIV-post@ukr.net

Інститут тваринництва степових районів імені М. Ф. Іванова «Асканія-Нова»,  
смт Асканія-Нова, Чаплинський р-н, Херсонська обл., Україна

На сьогодні ефективність методики отримання ембріонів поза організмом залишається незадовільною. Однією з причин низької якості зародків може бути недостатня кількість бластомерів, наявних на час початку компактизації та формування бластопорожнини. Є припущення, що проходження цих етапів можна покращити об'єднанням бластомерів від декількох ембріонів. Оскільки процедура об'єднання бластомерів пов'язана з порушенням цілісності зони пелюциду, поставлено завдання дослідити розвиток раних зародків після позбавлення їх прозорої оболонки.

Як дослідний матеріал використовували *in vivo*-зиготи лабораторних аутбредних мишей, які отримували через 22 год після ін'єкції ХГ. Дорошування зигот здійснювали трьома етапами. Тривалість 1-го етапу становила 20 год, 2-го — 24, 3-го — 22 год. Після 1-го етапу у частки отриманих 2-клітинних зародків ферментативно видаляли прозору оболонку. Як основу середовища для збору та подальшого дорошування зигот використовували модифікований розчин KSOM, доповнений NEPES (2 мг/мл) і EDTA (0,1 мМ). Відокремлення зигот від кумулюсних клітин здійснювали у 0,5 %-му розчині протеази, лізис прозорої оболонки — у 0,1 %-му розчині протеїнази К. Для зупинки дії ферменту зародки промивали у 10 %-му розчині фетальної сироватки. Вплив процедури лізису визначали за коефіцієнтом проліферації ( $k_{np}$ ) бластомерів, який вимірювали після підрахунку кількості клітин через певний проміжок часу і розраховували з використанням рівняння:

$$k_{np} = (\log N_t - \log N_0) / (t \times \log 2),$$

де  $N_0$  — кількість бластомерів на час початку культивування,  
 $N_t$  — кількість бластомерів через  $t$  годин культивування,  
 $t$  — тривалість етапу культивування (год).

Лізис прозорої оболонки, здійснений після 1-го етапу, спричинив вірогідне гальмування цитокінезу бластомерів на 2-му етапі. На 3-му етапі негативний вплив відсутності оболонки зменшився і різниця за  $k_{np}$  стала невірогідною (табл.). При подальшому культивуванні бластомери від зародків, які проходили процедуру лізису, об'єдналися у скупчення та утворили бластоцисти і бластоподібні структури.

Таблиця

Показники проліферації бластомерів *in vivo*-зигот мишей у досліді

Група, наявність/відсутність (+/-) прозорої оболонки	n	Коефіцієнт проліферації бластомерів ( $k_{np}$ ), у.о.		
		1-й етап	2-й етап	3-й етап
дослідна (-)	11	0,059±0,006 <sup>a</sup>	0,013±0,004 <sup>a</sup>	0,023±0,006 <sup>a</sup>
контрольна (+)	10	0,048±0,006 <sup>a</sup>	0,025±0,004 <sup>b</sup>	0,040±0,006 <sup>a</sup>

Примітка: дані в одній колонці з різними суперскриптами різняться між собою з  $P < 0,05$ .

За результатами досліді зроблено висновок, що процедура лізису прозорої оболонки, здійснена через 20 год дорошування *in vivo*-зигот *in vitro* може чинити негативний вплив на цитокінез бластомерів, але не перешкоджає подальшому набуттю бластомерами здатності до компактизації та утворення бластопорожнини.