

## **МОРФОЛОГИЯ КУМУЛЮСА И ЛОКАЛИЗАЦИЯ МИТОХОНДРИЙ В ДОНОРСКИХ ООЦИТАХ КОРОВ**

**Кузьмина Т. И.<sup>1</sup>, Епишко О. А.<sup>2</sup>, Усенбеков Е. С.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> – ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных Санкт-Петербург, РФ

<sup>2</sup> – УО «Гродненский государственный аграрный университет» г. Гродно, Республика Беларусь

<sup>3</sup> – РГП «Казахский национальный аграрный университет» Республика Казахстан

Основной проблемой в интенсификации внедрения клеточных репродуктивных технологий в практику животноводства, получении трансгенных и клонированных особей на протяжении десятилетий остается качество донорского ооцита, компетентного к экстракорпоральному созреванию и оплодотворению *in vitro* с дальнейшим развитием плода и здорового потомства [1]. Многочисленные исследования показывают, что использование цитоморфологических характеристик при оценке ооцит-кумуляусных комплексов (ОКК) не является окончательным критерием их полноценности [2]. Ранее нами была показана эффективность ВСВ-диагностики при оценке функционального состояния исходной популяции ооцитов, не отличающихся по морфологии клеток кумулюса (5-6 слоев, плотный, гомогенный), окружающих гамету [3]. Цель настоящего исследования – на основе визуализации митохондрий флуоресцентным зондом MitoTracker Orange CMTRos идентифицировать их локализацию в ооцитах, окруженных плотным, гомогенным многослойным кумулюсом. Для стандартизации условий эксперимента ОКК выделяли из яичников на стадии фолликулярного роста из фолликулов диаметром 6 мм с высоким тургором и обширной васкуляризацией. Для визуализации митохондрий использовали флуоресцентный зонд MitoTracker Orange CMTRos (Molecular Probes M-7510, Oregon, USA, в концентрации 500 нМ). Оценка статуса хроматина в обработанных MitoTracker Orange CMTRos ооцитах проводили с использованием Хехст 33258 (2,5 мкг/мл). Процедура окрашивания изложена нами ранее (4). Просмотр проводили на флуоресцентном микроскопе (длины волн возбуждения и эмиссии соответственно 540 нм, 570 нм). Достоверность различия сравниваемых средних значений оценивали при трех уровнях значимости ( $\chi^2$ ). Всего оценен 371 ОКК, соответствующий следующим критериям: ооциты с тонко гранулиро-

ванной гомогенной ооплазмой, равномерной по ширине зоной пеллюцида, окруженные гомогенным, многослойным (не менее 5-6 слоев) кумулюсом. Выявлена неоднородность исходной популяции донорских ооцитов коров с идентичной морфологической характеристикой кумулюса по интрацитоплазматической локализации митохондрий. Идентифицировано 3 типа распределения митохондрий в ооплазме: по периферии – 47% ооцитов (174/371); гомогенное – 28% (104/371) и кластерами – 25% (93/371). При оценке хроматина обнаружено, что 98% (171/174) ооцитов с расположением митохондрий по периферии содержали хроматин без признаков дегенерации, в ооцитах с гомогенной локализацией митохондрий 47% (49/104) гамет имели нормальный хроматин, а в ооцитах, где митохондрии формировали кластеры, лишь у 6% (6/93) ооцитов тестировали хроматин без признаков дегенерации. Полученные данные свидетельствуют о гетерогенности популяции донорских ооцитов с идентичными характеристиками окружающих их кумулюсными клетками по интрацитоплазматической локализации митохондрий. Результаты экспериментов также позволяют расценивать кластерную локализацию митохондрий в донорских ооцитах, извлеченных из антральных фолликулов, как предиктор последующих деструктивных изменений при культивировании гамет.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Krisher R. L. In Vivo and In Vitro Environmental Effects on Mammalian Oocyte Quality. Annual Review of Animal Biosciences. - 2013, - Vol.1, - p. 1-512
2. Blanco M. R, Demyda S., Moreno Millán M. et al. Developmental competence of *in vivo* and *in vitro* matured oocytes: Biotechnology and Molecular Biology Review. - 2011-Vol. 6(7)-p. 155-165,
3. Кузьмина Т. И., Т. И. Станиславович, Д. Н. Татарская и др. ВСВ-диагностика донорских ооцитов *Bos Taurus* и *Sus Scrofa Domesticus*-перспективы использования в клеточных репродуктивных технологиях. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. - № 2. - С. 212-214.
4. Кузьмина Т. И., Х. М. Мутиева, Л. Н. Ротарь. Митохондриальная активность в ооцитах коров, завершивших фазу роста *in vivo* или *in vitro*. «Сельское хозяйство – проблемы и перспективы». Гродно. – 2014, - Том 26 (Зоотехния). - С. 148-153.