

К ВОПРОСУ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ДОНОРСКИХ ООЦИТОВ *BOS TAURUS*

Кузьмина Т. И.¹, Станиславович Т. И.¹, Стефанова В. Н.²,
Епишко О. А.³

¹ – ГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных
Санкт-Петербург, Российская Федерация

² – ГБНУ Институт цитологии Российской академии наук
Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь

Донорские ооциты животных – источник для получения нативных (путем оплодотворения *in vitro*), трансгенных и клонированных эмбрионов, линий эмбриональных стволовых клеток. Востребованность большого количества качественных гамет для решения задач клеточных репродуктивных технологий определяет актуальность проблемы оценки качества исходной популяции ооцитов. Морфологические критерии отбора, к которым относятся такие показатели, как наличие окружающего ооциты компактного 5-6 слойного кумулюса, равномерной по ширине зоны пеллюцида, гомогенной ооплазмы недостаточно информативны, т. к. выход эмбрионов из ооцитов, оцененных по вышеуказанным показателям, у коров колеблется от 15% до 40%. Метаболические маркеры качества ооцитов, такие как уровень митохондриальной активности, содержание цитозольного и депонированного кальция, липидов позволяют прогнозировать качество гамет индивидуально, однако после анализа использование этих ооцитов для культивирования невозможно, т. к. методы требуют фиксации клеток или применения токсических красителей. Использование в качестве зонда для прижизненного тестирования ооцитов бриллиантового кристаллического голубого (*brillant cresyl blue* – BCB) – индикатора активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (G6PDH) – обеспечивает возможность их дальнейшего культивирования. BCB детерминирует интрацеллюлярную активность G6PDH, которая играет важную роль в клеточном росте, являясь ключевым ферментом пентозо-фосфатного цикла. Активность фермента возрастает в растущем ооците, к моменту завершения роста – снижается. Нетоксичность данного красителя при его использовании в качестве теста для определения активности G6PDH была показана в ооцитах овец, а также при определении компетенции к мейотическому дозреванию ооцитов коров и свиней (Rodríguez-González E., et al. 2002,

Alm H., et al. 2005, Bhojwani S., et al. 2007, Кузьмина Т.И., и др., 2013). Постмортальные яичники животных, из которых извлекаются ооциты, гетерогенны, т. к. животные забиваются на разных стадиях овариального цикла. Нами проанализированы потенциалы к развитию и оплодотворению ооцитов, выделенных из яичников разного типа (яичники со следами свежей овуляции, с желтыми телами на разных стадиях развития, яичники в фолликулярной фазе), отобраных по ВСВ-тесту. Для этого после морфологической оценки ооциты подвергали воздействию раствора 26μМ ВСВ (90 минут), после чего оценивали и разделяли на: ВСВ(+) - окрашенные (завершившие фазу роста *in vivo*) и ВСВ(-) – неокрашенные (не завершившие фазу роста *in vivo*) ооциты. Режим культивирования и оплодотворения ооцитов *in vitro*, культивирования доимплантационных эмбрионов соответствовал методическим рекомендациям, разработанным в лаборатории биологии развития ФГБНУ ВНИИГРЖ (Кузьмина Т.И., и др. 2009). Ооциты коров, завершившие фазу роста *in vivo* перед аспирацией их из фолликулов, вне зависимости от типа яичников, из которых они были выделены, имели высокие показатели оплодотворяемости и дробления (81% и 39%, соответственно). Ооциты, не завершившие фазу роста *in vivo*, извлеченные из разных типов яичников, реинициировали мейоз, однако доля развившихся из них эмбрионов значительно отличалась от таковой у ооцитов, протестированных по ВСВ тесту, как завершившие рост (54% против 81%, $p < 0.001$), а выход морул и бластоцист составил (16% против 39%, $p < 0.001$).

Результаты исследований свидетельствуют о целесообразности предварительной селекции донорских ооцитов коров, выделенных из яичников животных *post mortem*, по ВСВ-тесту.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rodrí'guez-González E., et al. Theriogenology. -2002. –V. 57. –P. 1397–1409.
2. Alm H., Torner H., Lohrke B., et al. Theriogenology. 2005. V. 63. P. 2194–2205.
3. Bhojwani S., Alm H., Torner H., et al. Theriogenology. 2007. V. 67. P. 341–5.
4. Кузьмина Т. И., Новичкова Д. А, Волкова Н. А. Сельскохозяйственная биология, 2013, №2, С. 52-57.
5. Кузьмина, Т. И., В. А. Багиров, А. В. Егизарян, и др., Методические рекомендации, 2009, 44 с.