

41,00 рубля, у коров-первотелок линии Вис Айдиала 933122 – 40,40 рубля, а у коров-первотелок линии Монтвик Чифтейна 95679 – 41,02 рубля. Прибыль на 1 ц молока составила у коров-первотелок линии Рефлекшн Соверинга 198998 – 5,54 рубля, у коров-первотелок линии Вис Айдиала 933122 – 6,16 рубля, а у коров-первотелок линии Монтвик Чифтейна 95679 – 5,52 рубля.

Полученные результаты показывают, что в целом уровень рентабельности производства молока у всех коров-первотелок линий Рефлекшн Соверинга 198998, Вис Айдиала 933122 и Монтвик Чифтейна 95679 положительный – 13,5 %, 15,2 и 13,3 % соответственно. Затраты труда на производство 1 ц продукции у коров-первотелок вышеперечисленных линий – 2,62; 2,56 и 2,64 чел/час.

УДК 636.2.082.4:59.089.3:591.3

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ СОЗРЕВАНИЯ ООЦИТОВ СВИНЕЙ IN VITRO

Сметанина И.Г., Татарина Л.В., Кириенко К.В., Максименко С.В.

«ВНИИ Физиологии, Биохимии и Питания животных»,

г. Боровск, Российская Федерация

Свиньи как вид получают все более широкое применение в области биомедицинских исследований и есть повышенный интерес в использовании трансгенных свиней как потенциальных доноров для ксенотрансплантации в будущем. Так как большинство исследований, которые направлены на получение трансгенных свиней через пересадку ядер (то есть клонирование) или через пронуклеарную инъекцию (то есть трансгенез) идет с использованием созревших ооцитов и ранних эмбрионов, соответственно, становится все более важным получать большое число ооцитов с компетенцией к развитию.

Установление возможности репрограммирования ядер соматических клеток после пересадки их в энуклеированный ооцит и потребности репаративной медицины привели к усилению внимания к технологии экстракорпорального культивирования ооцитов и эмбрионов свиней. Однако, эффективность получения эмбрионов свиней *in vitro* остается относительно низкой (Abeydeera, 2002; Nagai et al., 2006). Одним из основных условий полноценного созревания ооцитов *in vitro* является правильно подобранная гормональная схема.

Технология рекомбинантных ДНК позволяет получать гормоны с полным отсутствием контаминации другими гормонами. Использование гормонов, полученных из биологических источников, имеет ряд проблем (по сравнению с рекомбинантными), включая контаминацию другими гормонами, различия между партиями, и распространение возбудителей заболеваний. Следует отметить, что возможность использования рекомбинантных гормонов широко исследовалась на людях, так как эти гормоны почти два десятилетия применяются в клиниках экстракорпорального оплодотворения. На сельскохозяйственных животных вопрос использования рекомбинантных гормонов исследован значительно

меньше. С научной точки зрения подобное “межвидовое” использование гормонов позволило бы лучше изучить метаболические особенности доимплантационных эмбрионов различных видов млекопитающих *in vitro*.

Целью наших исследований было изучить возможность использования человеческого рекомбинантного хорионического гонадотропина (хГч) для созревания ооцитов свиней *in vitro*.

Яичники свиней получали на мясокомбинате Обнинского колбасного завода (Калужская обл.) и транспортировали в лабораторию в течение 30 минут при температуре 30°C в фосфатно-солевой среде Дюльбекко (“ПанЭко”, Россия). Для созревания ооцитов и культивирования эмбрионов использовали коммерческую среду фирмы “Life-Global” (global HP 1868), разработанную для культивирования эмбрионов человека от зиготы до стадии бластоцисты и содержащую 8.8 мг/мл человеческого сывороточного альбумина. Для созревания ооцитов свиней в среду добавляли 10 IU/ml “Фоллигон” (ГСЖК, “Intervet”, Нидерланды), 8 IU/ml “Ovogest” (хГч, “Intervet”, Нидерланды) или 8 IU/ml “Pregnyl” (рекомбинантный хГч, Нидерланды), 0.2 мМ пирувата натрия, 2 мМ глутамин (“Sigma”, США) и 100 ед. пенициллина/ 100 мкг стрептомицина (“ПанЭко”, Россия) на 1 мл среды.

Ооциты культивировали при температуре 38.5°C в атмосфере 5 %-ного CO₂ в воздухе в течение 45 часов. Ооциты, окруженные слоем кумулюсных клеток, были денудированы с использованием 0.1%-ной гиалуронидазы. Критерием созревания ядра являлось наличие первого направительного тельца (МII).

Активацию проводили путем инкубации с 10 мкМ кальциевым ионофором A23187 (“Sigma”, США) в течение 3 мин., а затем группы клеток культивировались с 2 мМ 6-DMAP (“Sigma”, США) на протяжении 3 часов.

После активации клетки культивировали под слоем минерального масла (“Sigma”, США) в атмосфере трехкомпонентной газовой смеси – 90% N₂, 5% O₂ и 5% CO₂ в течение 8.5 суток.

Результаты эксперимента показали, что в среде с Ovogest есть тенденция к улучшению созревания ядра по сравнению с вариантом с Pregnyl (без достоверной разницы) – 59.5% vs 45.8%. Ооциты, достигшие стадии МII, дробились примерно одинаково в обоих вариантах (89.4% vs 81.8%). Но, процент полученных бластоцист, как от общего числа активированных яйцеклеток, так и от числа дробящихся, был явно больше в варианте с Pregnyl (42.4% vs 23.4% без достоверной разницы и 51.9% vs 26.2% с достоверностью P < 0.05, соответственно). Полученные нами результаты показывают, что рекомбинантный хГч, применяемый для “человеческого” ЭКО, может быть успешно использован для созревания ооцитов свиней *in vitro*, что подтверждено успешным использованием яйцеклеток в экспериментах по партеногенетической активации эмбрионов.