

3. Малишева Н.Р., Олещенко В.І., Кузнецова С.В., Красіліч Н.Д., Карамушка В.І. Правові засади впровадження в Україні Конвенції про біорізноманіття. – К., Хімджест. – 2003. – 176 с.
4. Перспективи використання, збереження та відтворення агробіорізноманіття в Україні / Відповідальні редактори акад. УААН, проф. Патики В.П., д-р біол. наук, проф. Соломаха В.А. – К.: Хімджест, 2003. – 255 с.
5. Червона книга України. Вони чекають на нашу допомогу/ Упорядники О.Ю. Шапаренко, С.О. Шапаренко – Х.: Торсінг, 2002-336 с.
6. Щербак М.М. Тваринний світ: Червона книга України. – К.: "Українська енциклопедія" імені М.П. Бажана, 1994. – 464 с.

ДОСЯГНЕННЯ ТА ПРОБЛЕМИ У ПРОДУКУВАННІ ЕМБРІОНІВ ІN VITRO (ІVP)

Корчан Н.О.

Полтавський національний педагогічний університет імені В.Г. Короленка

Одне з важливих місць у створенні якісно нових видів сільськогосподарської продукції займає клітинна біотехнологія, зокрема - культивування і запліднення *in vitro* ооцитів, отриманих з яєчників боєнського матеріалу, і подальше культивування *in vitro* одержаних у такий спосіб ембріонів [Day, 2000].

Розвиток нових технологій у репродукції свині, таких як трансгенез та клонування, створює великий попит на ооцити та ембріони. А можливість отримання таким шляхом великої кількості ембріонів є однією з необхідних умов забезпечення ембріо- і геноінженерних робіт, - інших важливих біотехнологічних напрямків [Koo et al., 2005.]. Наприклад, коли використовують ембріони, отримані *in vitro*, або такі, що стали результатом уведення ядра соматичної клітини в попередньо енуклеюваний ооцит, потрібно трансплантувати свині-реципієнту не півтора - два десятки бластоцист, як звичайно діють, коли мають справу з ембріонами, вимитими з матки свині-донора, а до 50.

Ефективні методи ІVP повинні б у значній мірі посприяти розв'язанню цієї проблеми. Незважаючи на масштабні дослідження, проведені у багатьох лабораторіях, ІVP технологія щодо свині розвинулася ще недостатньо [Gajda, 2009].

Ооцити піддають культивуванню *in vitro* для одержання і партеногенетичних ембріонів [Kurihara et al., 2002].

Їх культують і за клонування організмів пересадкою ядер соматичних клітин в ооцити, з яких попередньо вилучено власне ядро [Bethausser, 2000; Renard, 2005].

Отримані *in vitro* зиготи використовують і для трансгенеза. Різноманітні маніпуляції з отриманими *in vitro* ембріонами часто завершуються їх трансплантацією, - ще одним важливим напрямком розвитку біотехнології [Чирков і др. 2002; Kikuchi et al., 2002].

Трансплантують ембріони звичайно на стадії бластоцисти. Отже, виникає потреба культивування *in vitro* зигот, отриманих *in vitro*, до цієї стадії.

Ембріопродукція *in vitro* пов'язана і з вивченням її молекулярно-біохімічних і фізіологічних основ [Гончарук, 2001; Sun, Nagai, 2003.].

Ніні гілка біотехнології, яка пов'язана з ембріопродукцією, виходить на шлях комерціалізації: отримані поза організмом ембріони і організми,

які з них одержують, усе активніше продають і купують [Faber et al., 2003].

Через свою фізіологічну подібність до людини, свині стають усе більш важливими як потенціальні ксенографтні донори (xenograf donors), від яких можна пересаджувати органи людині [Abeydeera, 2002; Fan, Sun, 2004], і як трансгенні тварини для продукування специфічних білків.

Накопичена інформація свідчить, що механізми дозрівання та запліднення свинячих ооцитів ближчі до таких людини, ніж відповідні механізми гризунів. А тому, саме свинячі ооцити стають важливою моделлю вивчення процесів дозрівання та запліднення ооцитів людини [Fan, Sun, 2004].

Подальший розвиток теорії і практики ембріопродукції *in vitro* залишається важливим науково-практичним завданням.

[Abeydeera, Day, 1997] виявили, що коли запліднюють *in vitro* ооцити, що овулювали *in vivo*, утворюється до 60 % бластоцист, у порівнянні з усього 19 %, які утворюються за використання ооцитів, що дозріли *in vitro*. Це недвозначно вказує на те, що ооцити дозрівають *in vitro* в умовах середовища ще далеко не адекватних їх (ооцитам) потребам.

[Hyttel et al., 2000] пишуть про аберації в активації генів рибосомної РНК свинячих IVP ембріонів.

За [Abeydeera, 2002] дозрівання ооцитів можна розділити на два аспекти, - ядерне та цитоплазматичне. Хоча ядерні події дозрівання, руйнування зародкового пухирця, виділення полярного тільця з ооцита можуть відбуватися нормально, цитоплазма ооцита часто може бути не здатною сприяти MPN (mitochondrial pronucleus formation – формуванню чоловічого пронуклеуса). Було зроблено висновок, що цитоплазматичне дозрівання є неадекватним за деяких умов IVM. Ця нездатність цитоплазми може бути наслідком як внутрішньої недостатності (природи) ооцита, так і неоптимальних IVM систем культивування. Проаналізувавши літературні та власні дані, дослідник зробив висновок, що умови IVC теж не є оптимальними.

[Gajda, Smorag, 2004] знайшли, що загальна кількість клітин у бластоцистах, отриманих *in vitro*, знаходиться в межах від 58 до 139 у порівнянні зі 150 – 250 клітинами у бластоцистах, утворених *in vivo*.

Цитогенетичний аналіз свинячих бластоцист, отриманих *in vitro* [McCauley et al. 2003; Ulloa Ulloa et al., 2008], показав, що хромосомні аберації трапляються у приблизно 45 % цих ембріонів, у порівнянні з 7 % у бластоцистах, отриманих *in vivo* [Van der Hoeven et al., 1985].

Трансплантація ембріонів ссавців, отриманих *in vitro*, призводить до значних аномалій розвитку, таких як підвищена ембріональна смертність, подовжений період вагітності і значно збільшена вага новонароджених [Kruip, den Daas, 1997].

В ембріонах, утворених *in vitro*, хромосомні аномалії, такі, як анеуплоїдія, були знайдені частіше, ніж в ембріонах, отриманих *in vivo* і, імовірно, є результатом поліспермного запліднення у свиней [Rath et al., 2005; Sun, Nagai, 2003.].

[Pomar et al. 2005] показали, що апоптоз проявляється в *in vitro* утворених бластоцистах тварин сільськогосподарських видів у значно більшій мірі, ніж у *in vivo*.

[Koo et al., 2005] зазначають, що погана якість ембріонів, які походять від запліднення *in vitro*, - інша, після поліспермії, проблема, яку потрібно вирішувати за допомогою систем IVP.

[Bryla et al., 2009] виявили, що бластоцисти, утворені *in vitro*, хара-

ктеризуються більшою кількістю ядер, ДНК яких фрагментована, у порівнянні з бластоцистами, утвореними *in vivo*. Ці дослідники нарахували у середньому 32 апоптичних ядра у культивованих бластоцистах, у порівнянні з сімома у бластоцистах, утворених *in vivo*.

[Gajda et al., 2009] робить висновок: субоптимальні умови середовища культивування залишаються основною причиною низької якості ембріонів, отримуваних *in vitro*.

[Ozawa et al., 2006] спробували, на відміну від усіх інших дослідників, використати спосіб культивування ембріонів, отриманих *in vitro*, поза CO₂ - регульованим інкубатором. Виявилось, що утворення бластоцист можливе і без використання цього інкубатора, хоча якість бластоцист була гіршою, ніж таких, отриманих у інкубаторі.

[Kim et al., 2008] показали, співкультивування сперматозоїдів з ооцитами *in vitro* стимулює дозрівання останніх. Причому, речовина, що активувала мейоз в ооцитах, була здатна подолати пригнічуючий вплив на цей процес з боку дібутирил циклічного АМФ або форсколіна, індукуючи руйнування зародкового пухирця в цих гаметах.

В отриманні ембріонів *in vitro* (IVP) досягнуто значних успіхів [Ковтун, 2003, 2004, 2005, 2008; Niemann, Rath, 2001].

В окремих випадках відсоток відносно нормального дозрівання ооцитів, у вигляді ОКК, у культурі *in vitro* сягає 94 % [Kim et al., 2010].

Запліднення таких ооцитів сягає 85 % [Deng et al., 1992]. IVP ембріони можуть розвиватися у культурі *in vitro* до виходу бластоцисти поза прозору оболонку [Koo et al., 1997, 2005].

IVP ембріони, прокультивовані *in vitro* до бластоцисти, а потім трансплантовані в матку самиці, можуть розвиватися до народження [Kikuchi et al., 2002, Kim et al., 2010].

Тим не менше, можливість IVP залишається ще досить обмеженою з ряду причин. Процент дозрівання і запліднення *in vitro* ооцитів, та розвитку *in vitro* IVP ембріонів у більшості випадків залишаються ще значно нижчими за такі, які мають місце *in vivo*, див. [Koo et al., 2005; Krisher et al., 2007; Wheeler et al., 2007; Zhang et al., 2007].

У тих умовах *in vitro*, які вважаються зараз оптимальними для IVP, біля 50 % їх не досягають стадії бластоцисти [Abeydeera, 2002; Krisher et al., 2007].

У роботах інших дослідників бластоцист утворювалося лише біля 20 % [Matas et al., 2003].

IVP характеризується ще значною нестабільністю [Matas et al., 2003, Wheeler et al., 2004]. Запліднення *in vitro* у свиней ще не є оптимальним [Gil et al., 2008].

А тому, продовжується пошук нових методів культивування ооцитів та ембріонів та запліднення ооцитів [Tessaro et al., 2010; Zhang et al., 2010].

ЛІКАРСЬКІ ВЛАСТИВОСТІ ПРОДУКТІВ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ БДЖІЛ

*Кусайло А., Новописьменний С.А.
Полтавський національний педагогічний університет імені В.Г. Короленка*

Бджоли, найбільш високоорганізовані комахи, уміють здобувати користь із рослин, створюючи унікальні продукти – мед, обніжжа, пергу,