



РОЛЬ МИКРОФИЛАМЕНТОВ В ОСВОБОЖДЕНИИ Ca²⁺ ИЗ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ДЕПО ООЦИТОВ СВИНЕЙ, ЗАВЕРШИВШИХ ФАЗУ РОСТА *IN VIVO*

Чистякова И.В., Кузьмина Т.И.

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных - филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр животноводства - ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», Санкт-Петербург, Россия

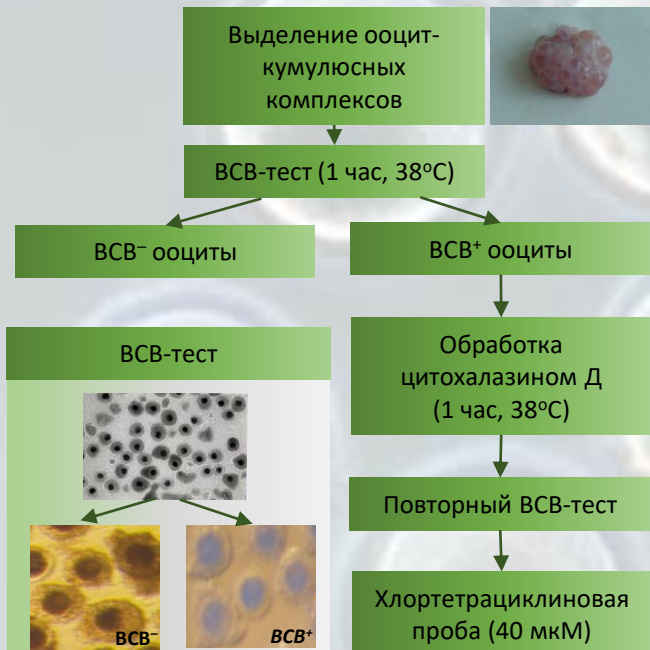
Введение

Кальций необходим для прохождения процессов роста и мейотического созревания женской гаметы. Согласно гипотезе Wang Y. и др. (2002) актиновый цитоскелет вовлекается в регуляцию активности Ca²⁺-освобождающих каналов за счёт изменения их распределения в плазматической мембране. ВСВ-тест позволяет диагностировать функциональный статус ооцита (растущий или завершивший фазу роста) в соответствии с интрацеллюлярной активностью играющей важную роль в клеточном росте ГБФДГ (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы), которая определяется окраской ооплазмы: после воздействия бриллиантовым кристаллическим голубым (BCB) ВСВ⁺ ооцит имеет окрашенную ооплазму, а ВСВ⁻ теряет ее в связи с утилизацией BCB.

Цель исследования

идентификация роли микрофиламентов в освобождении кальция из внутриклеточных депо ооцитов свиней, завершивших фазу роста *in vivo*.

Материалы и методы исследований



Результаты исследований

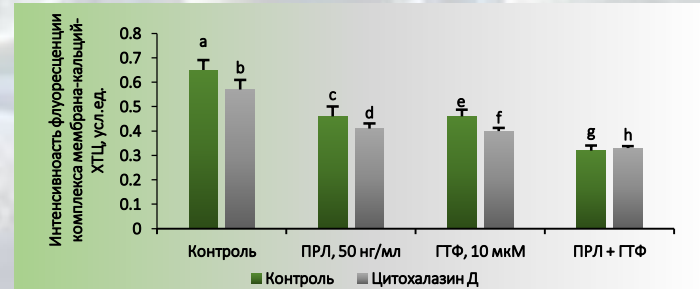
Эксперименты проводили в 3-5 повторностях, всего проанализировано 164 ооцита.

Таблица 1. Влияние ингибитора полимеризации микрофиламентов цитохалазина Д на изменение окраски ооплазмы завершивших фазу роста *in vivo* (ВСВ⁺) ооцитов свиней после проведения повторного ВСВ-теста.

| Функциональный статус ооцитов | Окраска ооплазмы ооцитов после повторной инкубации с бриллиантовым голубым кристаллическим (BCB) | | | |
|---|--|---|------------|------------|
| | Контроль (без ингибитора) | Ответ на воздействие различных концентраций ингибитора микрофиламентов цитохалазина Д | | |
| | | 1 мкМ | 10 мкМ | 50 мкМ |
| Завершившие фазу роста <i>in vivo</i> (ВСВ ⁺) | Окрашенная | Окрашенная | Окрашенная | Окрашенная |

При воздействии ингибитора не обнаружено изменения в окраске ооплазмы ооцитов, тестированных как завершившие фазу роста *in vivo* (табл. 1).

Рисунок 1. Влияние ингибитора цитохалазина Д (10 мкМ) на стимулированное ПРЛ и ГТФ освобождение Ca²⁺ из внутриклеточных депо ооцитов свиней, завершивших фазу роста *in vivo*.



Достоверность сравниваемых значений (t-критерий Стьюдента): a;g;b;h - P<0.001; b;f - P<0.01; a;c;e;e;g;b;d;f;h;d;h - P<0.05.

Добавление в среду инкубации 50 нг/мл пролактина (ПРЛ) или/и 10 мкМ гуанозинтрифосфата (ГТФ) вызывало выход Ca²⁺ из внутриклеточных депо ооцитов. В случае совместного действия ПРЛ и ГТФ на ВСВ⁺ ооциты свиней в присутствии цитохалазина Д по-прежнему отмечали дополнительное высвобождение кальция из внутриклеточных депо (рис.2).

Заключение

- ❖ Воздействие ингибитора полимеризации микрофиламентов (цитохалазина Д) не изменяло окраски ВСВ⁺ ооцитов и ПРЛ-ГТФ-зависимого высвобождения кальция из внутриклеточных депо.
- ❖ Микрофиламенты не вовлекаются в реализацию действия ПРЛ и ГТФ на ооциты свиней, завершивших фазу роста *in vivo*.