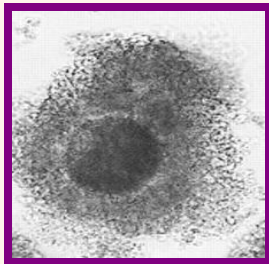


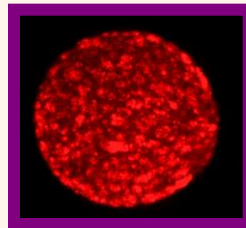
**ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ
ОВАРИАЛЬНЫХ ФОЛЛИКУЛОВ *SUS SCROFA DOMESTICUS (L)* В УСЛОВИЯХ
СВЕРХНИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР**

© *КУЗЬМИНА Т.И.*

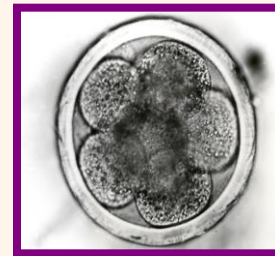


ООЦ

ООЦИТА



К



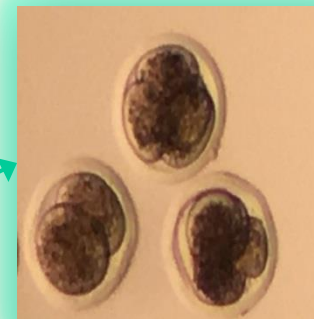
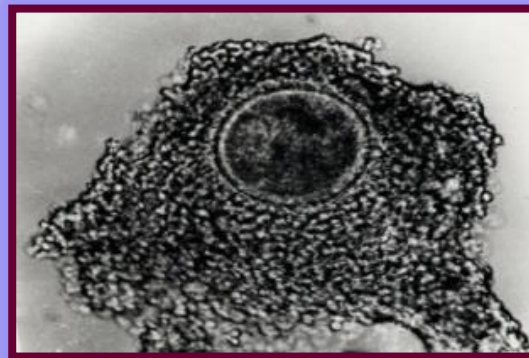
ЭМБРИОНУ

Санкт-Петербург-Пушкин, 2023

Актуальность темы исследования



Получение химер



Получение эмбрионов *in vitro*



Клонирование



Сохранение генетических ресурсов (криоконсервация)



Получение линий эмбриональных стволовых клеток



Эмбриотрансфер²

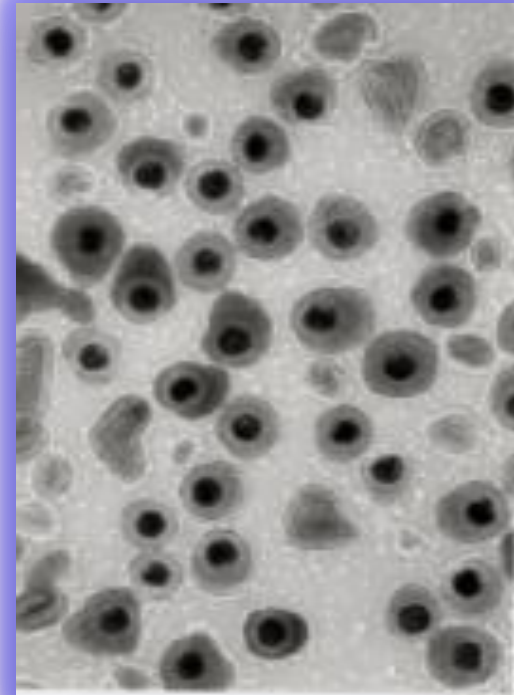


Трансгенез

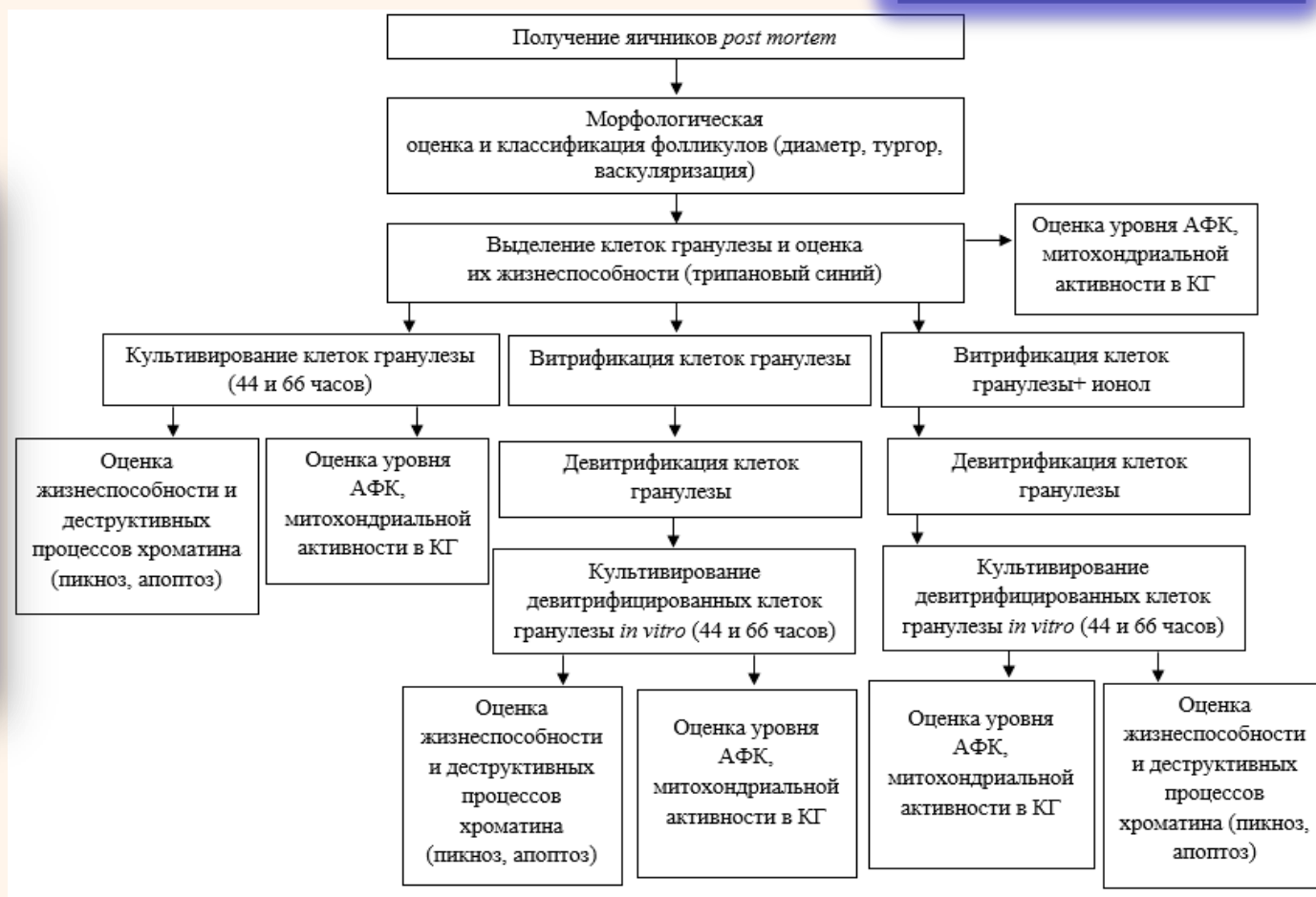
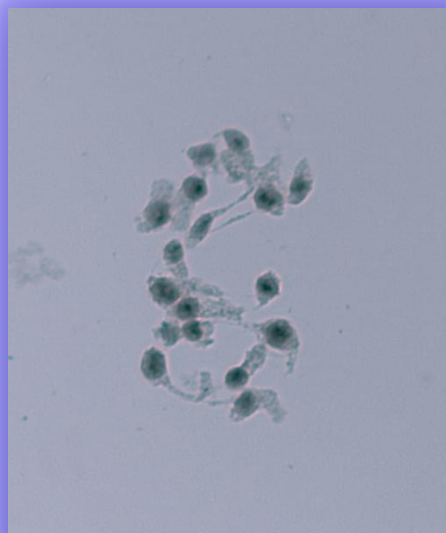
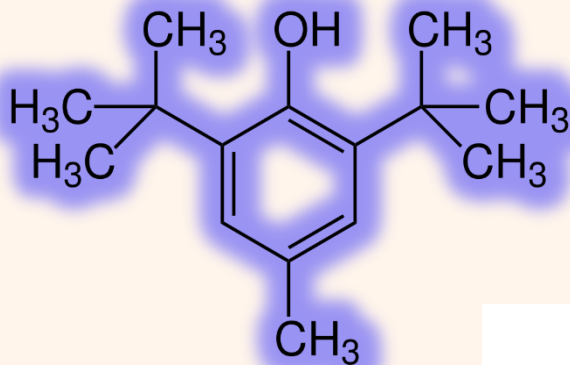


Создание криобанка ооцитов животных позволит значительно интенсифицировать внедрение инновационных клеточных репродуктивных технологий в практику животноводства.

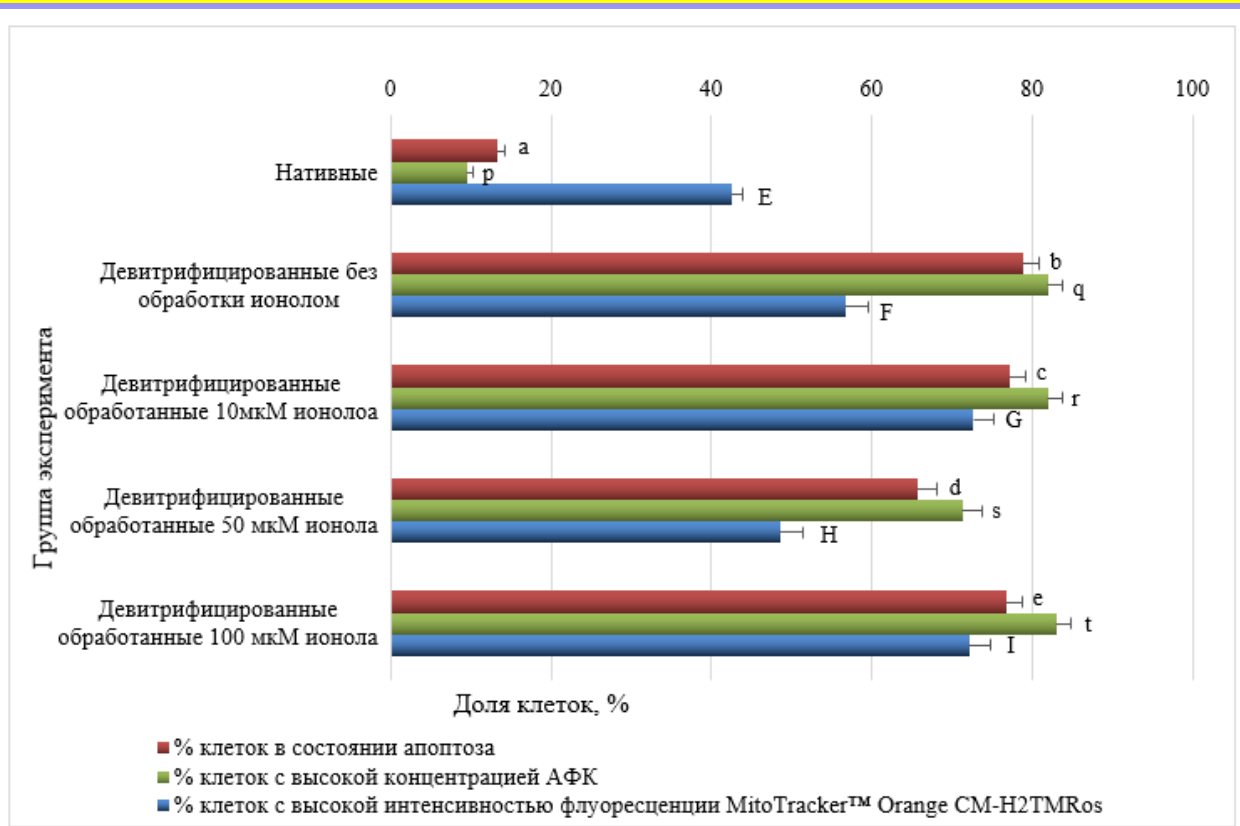
Преимущества перед традиционными методами сохранения видов:
возможность транспортировки на большие расстояния;
легкость обмена генетическим материалом между популяциями;
сведение до минимума эффекта генетического дрейфа и инбридинга;
обеспечение сохранения видов в случае эпидемий, экологических и социальных катастроф;
отдаленной гибридизации;
создание коллекции биологических материалов для фундаментальных исследований в медицине и животноводстве.



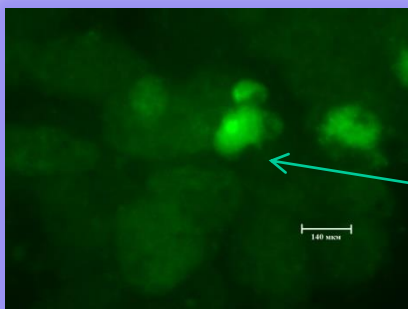
Оценка эффектов ионола, как перспективного антиоксиданта, при экстраовариальной витрификации соматических клеток антральных фолликулов *Sus Scrofa Domesticus*



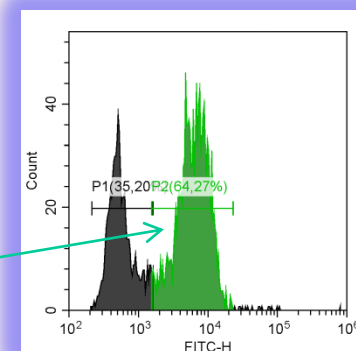
Влияние различных концентраций ионола на показатели жизнеспособности (АФК, митохондриальная активность, апоптоз) нативных и девитрифицированных клеток гранулезы.

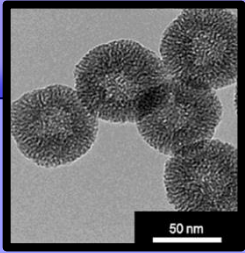


a:b; a:c; a:d; a:e; p:q; p:r; p:s; p:t; E:G; E:I; G:H; H:I p < 0,01; b:d; c:d; d:e; s:t; E:F; F:G; F:I; q:s p < 0,05



Окраска клеток гранулезы DCFH-DA [зеленое свечение - высокий уровень АФК (H2O2)]. Увеличении 900x





2005
Vision Paper



2006
SRA



2009
Roadmaps



2011
White Paper
"Improving Translation of
Public Healthcare Nano-
Research in Europe"

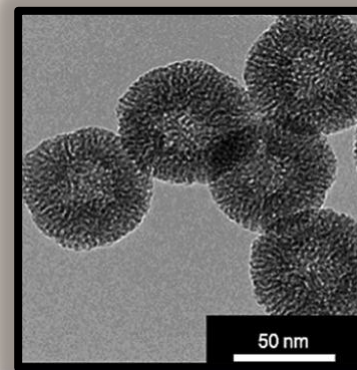


2013
White Paper
Nanomedicine 2020
"Contribution of
Nanomedicine to Horizon
2020"

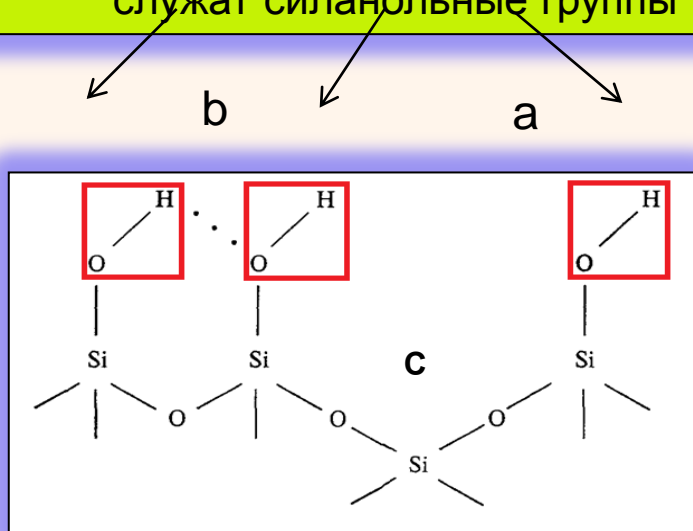


2016
Strategic Research
and Innovation Agenda
(2016-2030)

Наночастицы высокодисперсного кремнезема (нВДК)



Центрами адсорбции на поверхности ВДК
служат силанольные группы

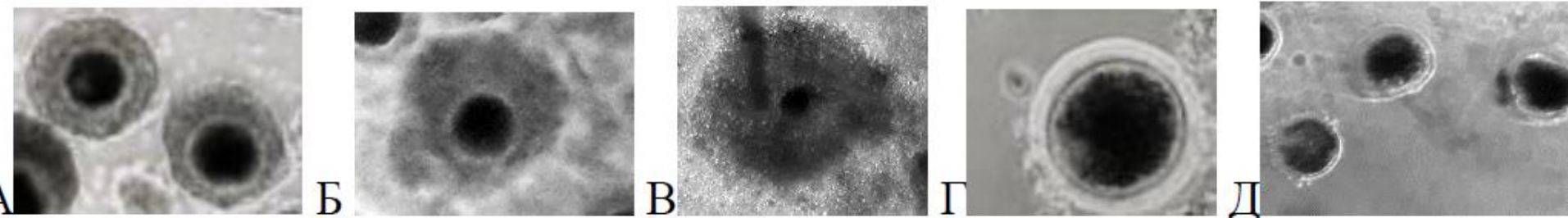


Силоксановые мостики (С) и силанольные группы (а,б) находятся на различных расстояниях друг от друга и относятся к свободным и связанным водородной связью

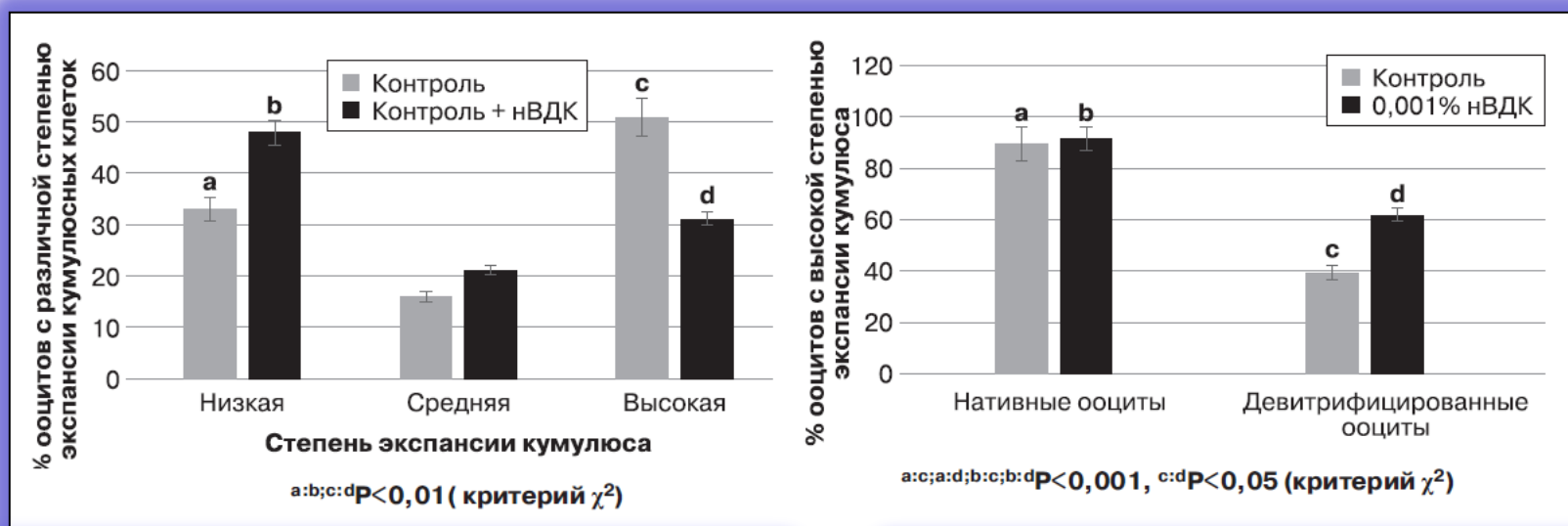
Высокая гидрофильность и адсорбционные свойства силанольных групп обуславливают способность эффективно сорбировать на своей поверхности даже микроорганизмы (Геращенко И.И., 2009). ВДК может сорбировать НА ТРИ ПОРЯДКА больше белковых соединений по сравнению с другими известными адсорбентами (Manavitehrani I. et al., 2018).

Используют для депротеинизации жидкостей, иммуносорбции, обеззараживания воды, лекарственных препаратов. С уменьшением диаметра частиц аморфного кремнезема увеличивается его активность. 4-10 нм, массовая концентрация – 0,001% синтезирован посредством высокотемпературного гидролиза (Институт химии поверхностей УАН им. Чуйко)

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ КУМУЛЮСА ООЦИТОВ СВИНЕЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ нВДК



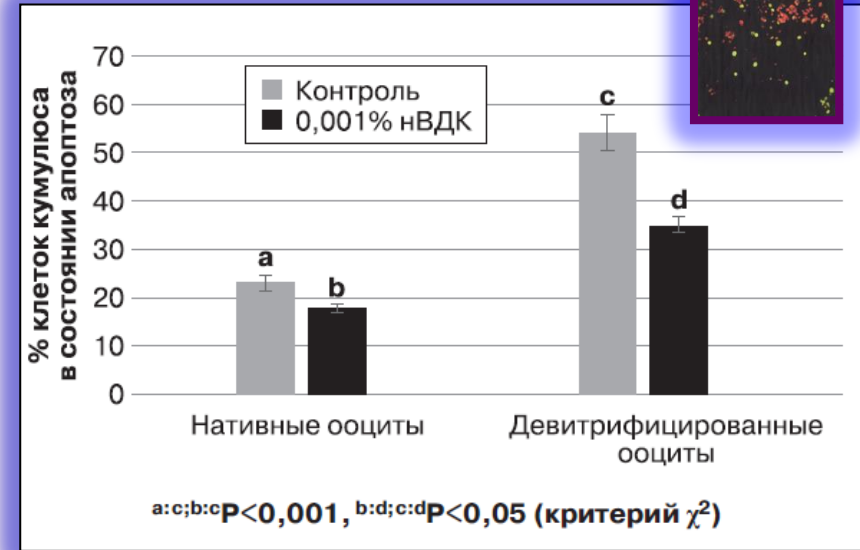
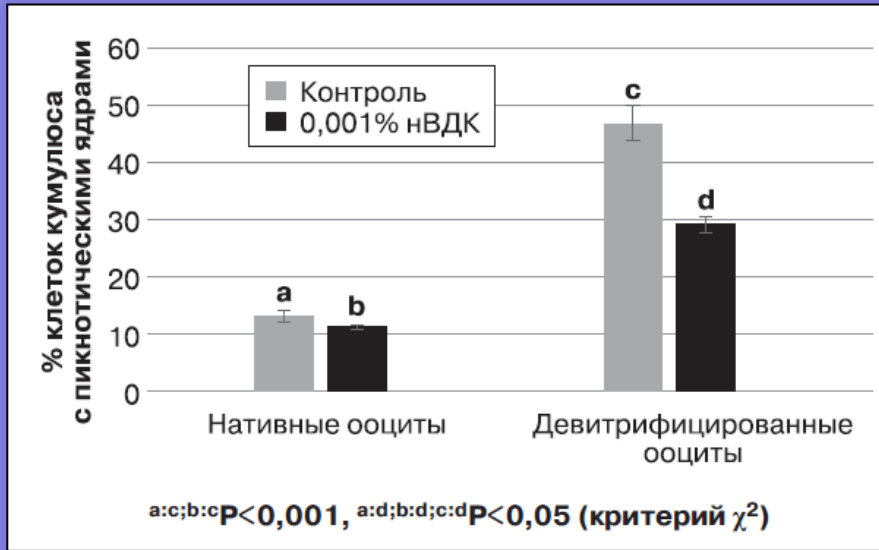
Ооциты с разной степенью экспансии кумулюсных клеток и дегенерированные ооциты. А – ооцит с низкой степенью экспансии КК, Б – ооцит со средней экспансией КК, В – ооцит с высокой экспансией КК, Г – денудированные ооциты, Д – дегенерированные ооциты.



Влияние наночастиц высокодисперсного кремнезема на морфологию кумулюса ооцитов свиней после процедуры замораживания/оттаивания (n ооцитов — 374, в 3–5 повторностях)

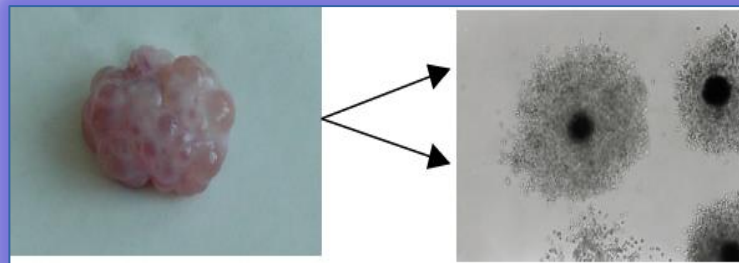
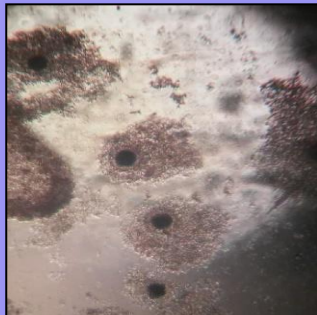
Влияние наночастиц высокодисперсного кремнезема на морфологию кумулюса ооцитов свиней (время культивирования — 44 часа, n ооцитов — 397, в 3–5 повторностях)

АНАЛИЗ ДЕСТРУКТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В КУМУЛЮСЕ ООЦИТОВ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ СВЕРХНИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР

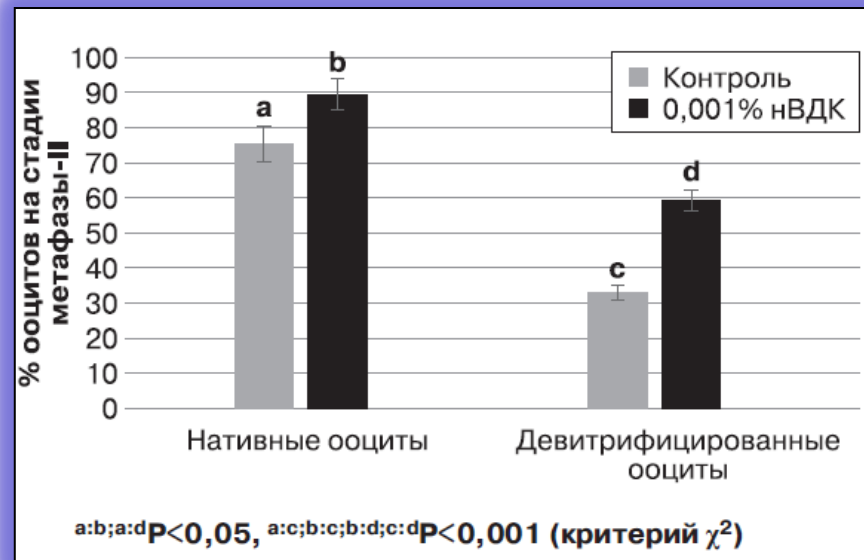
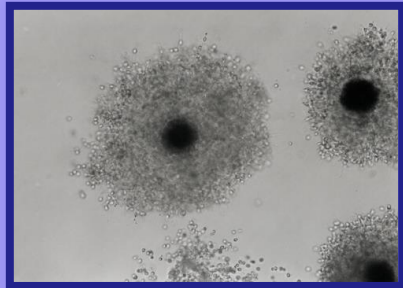


Влияние наночастиц высокодисперсного кремнезема на уровень пикнозов в клетках кумулюса свиней (время культивирования — 44 часа, n ооцитов — 131, в 3–5 повторностях)

Влияние наночастиц высокодисперсного кремнезема на апоптоз в клетках кумулюса свиней (время культивирования (Tunel) — 44 часа, n ооцитов — 260, в 3–5 повторностях)



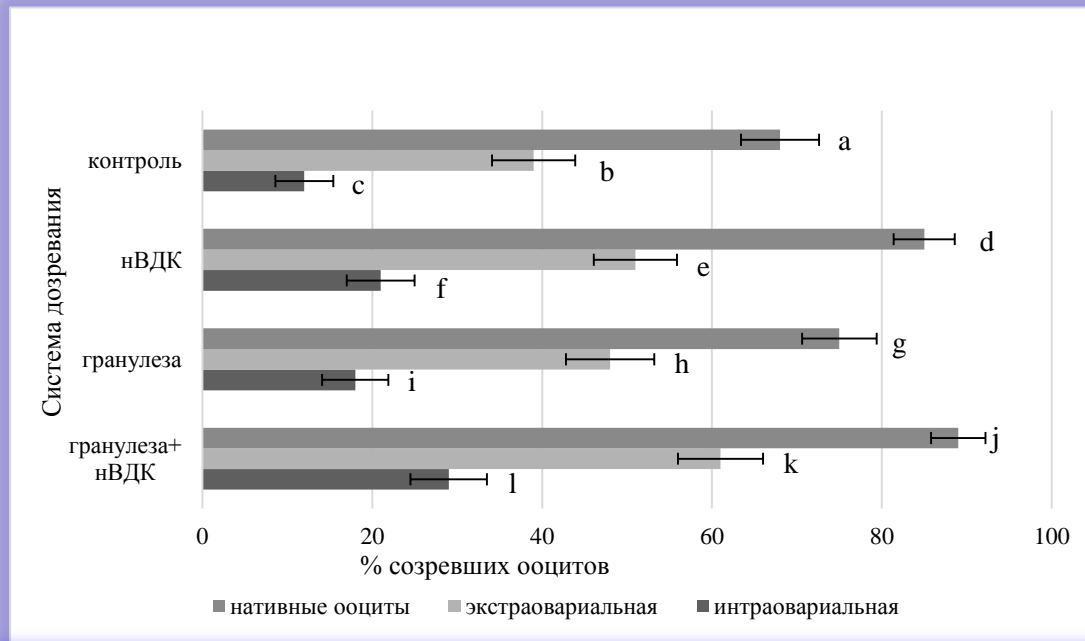
КРИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ООЦИТОВ СВИНЕЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ нВДК



Хроматин ооцитов свиней на стадии телофаза – метафаза II

Влияние наночастиц высокодисперсного кремнезема на созревание *in vitro* нативных и девитрифицированных ооцитов свиней (время культивирования — 44 часа, n ооцитов — 267, в 3–5 повторностях)





Ядерное созревание в нативных и девитрифицированных (экстра- или интра-овариально) ооцитах свиней после культивирования в различных системах (время культивирования 44 часа, n ооцитов - 1166)

хи-квадрат тест c:b, c:a, f:e, f:d, i:h, i:g, l:k, l:j, b:a, e:d, h:g, k:j, a:j P<0,001, b:k P<0,005, a:d, g:j P<0,01, c:l P<0,005.

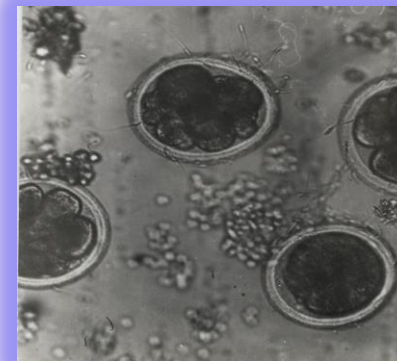
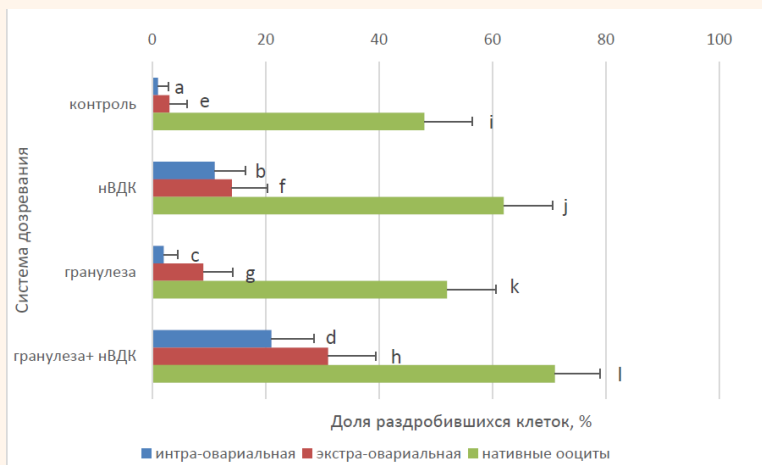


Ооцит на стадии метафазы II (окраска Хехст Ноеchst 33258)

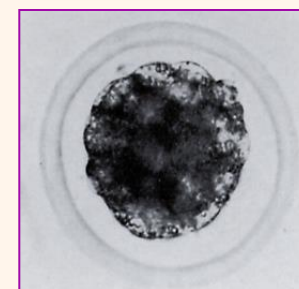
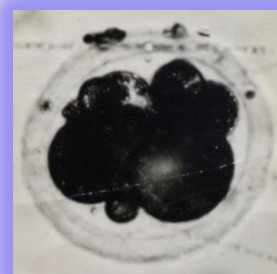
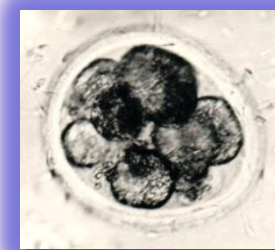
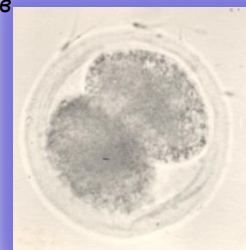
онных эмбрионов из девитрифицированных ооцитов



Развитие доимплантационных эмбрионов из девитрифицированных ооцитов



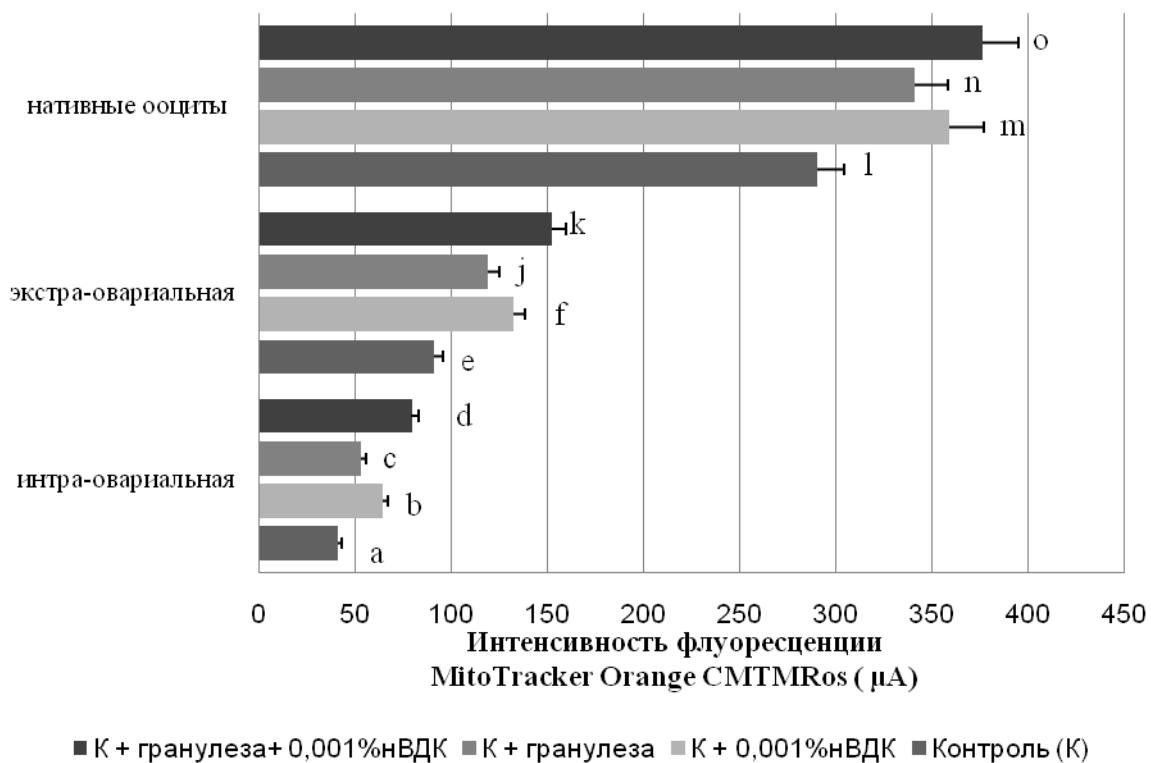
b:d; b:e; ij; P<0.05; a:g; b:c; b:h; b:i; b:j; b:k; b:l; c:g; d:g; e:f; f:h; h:i; k:l p<0.01; a:b; a:d; a:f; a:h; a:i; a:j; a:k; a:l; c:d; c:f; c:h; c:i; c:j; c:k; c:l; d:e; d:i; d:j; d:k; d:l; e:h; e:i; e:j; e:k; e:l; f:l; f:j; f:k; f:l; g:h; g:i; g;j; g:k; g:l; h:j; h:k; h:l; i:l P<0,001 (число ооцитов 1509).



m:r; m:s; n:s; o:r; o:s; q:r; q:s; t:u; v:x P<0.05; n:r; r:u; p:t; t:w p<0.01; m:t; m:u; m:v; m:w; m:x; n:t; n:u; n:v; n:w; n:x; o:t; o:u; o:v; o:w; o:x; p:u; p:v; p:w; p:x; q:t; q:u; q:v; q:w; q:x; r:v; r:w; r:x; s:u; s:v; s:w; s:x; t:v; t:x; u:x; w:x P<0,001



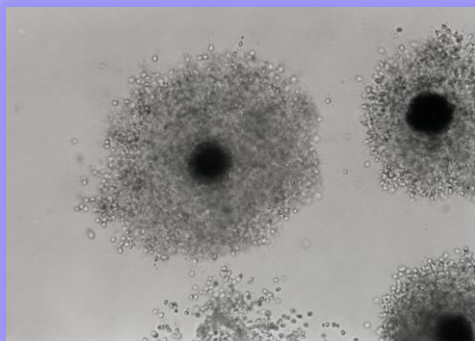
Модель витрификации



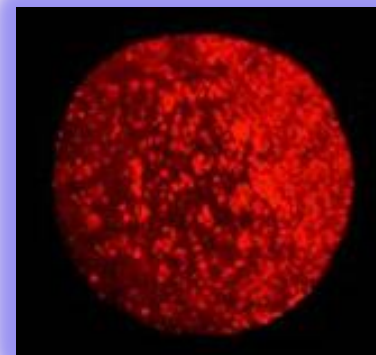
Интенсивность флуоресценции MitoTracker Orange CMTMRos (μA) в ооцитах, прокультивированных в различных системах после интра- или экстра- овариальной витрификации (число ооцитов 367).

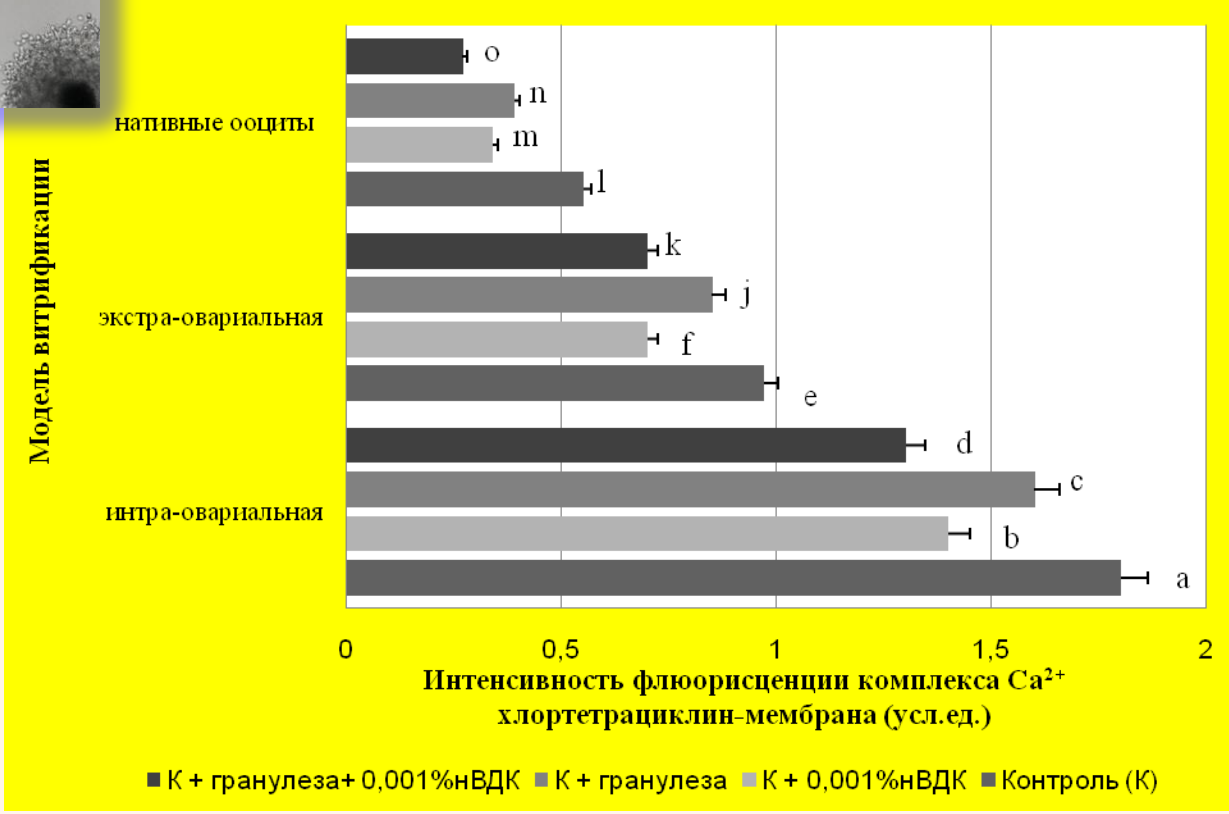
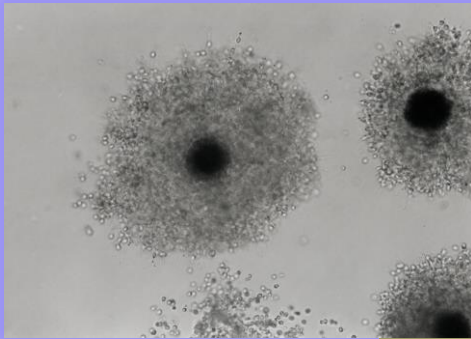
a:b, a:d, a:e, c:d, c:j, c:f, d:f, d:j, d:k, e:f, e:k, n:o, j:k $P < 0,05$, a:j, b:f, b:j, b:k, c:e $P < 0,01$,

a:f, a:k, a:l, a:m, a:n, a:o, b:l, b:m, b:n, b:o, c:k, c:l, c:m, c:n, c:o, d:l, d:m, d:n, d:o, e:l, e:m, e:n, e:o, f:l, f:m, f:n, f:o, j:l, j:m, j:n, j:o, k:l, k:m, k:n, k:o $P < 0,001$



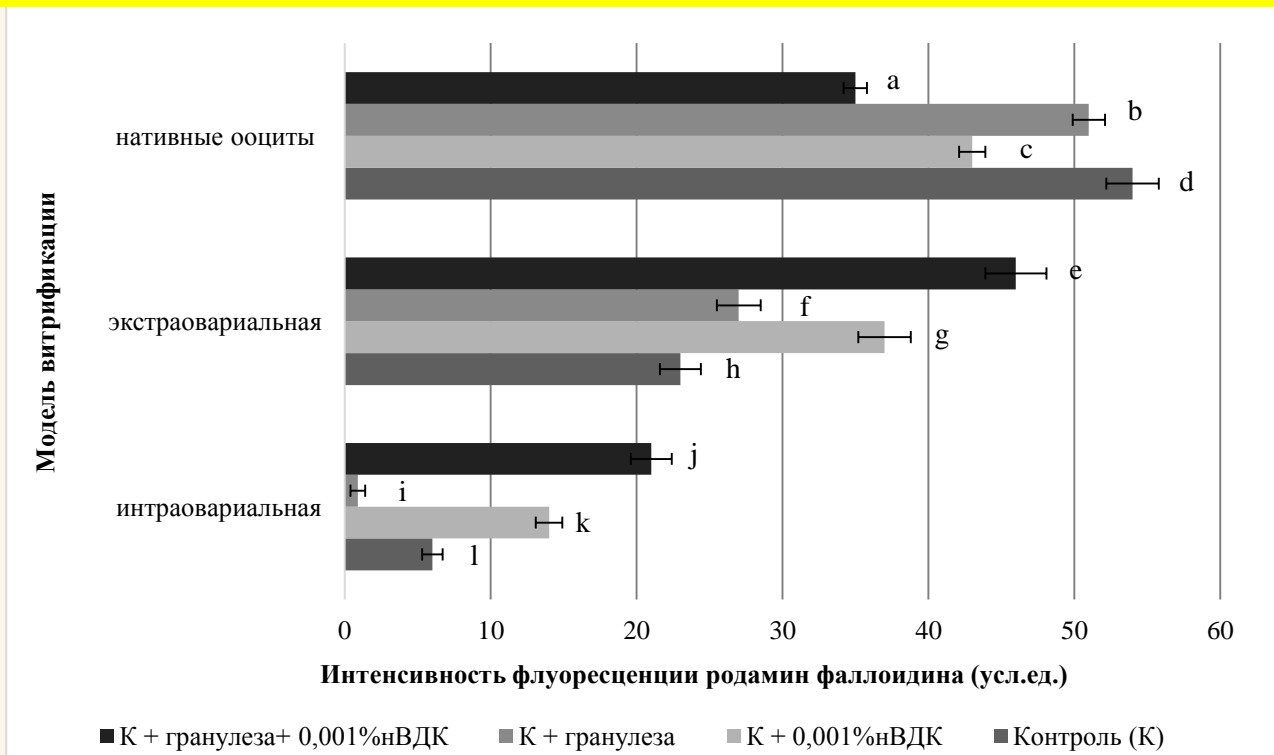
Ооцит *Sus scrofa domesticus* (L) с высокой степенью интенсивности флуоресценции MitoTracker Orange CMTMRos после экстраовариальной витрификации.
X900,



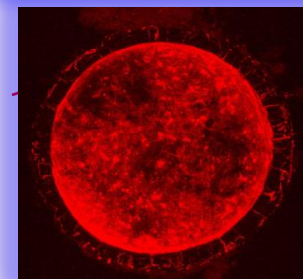
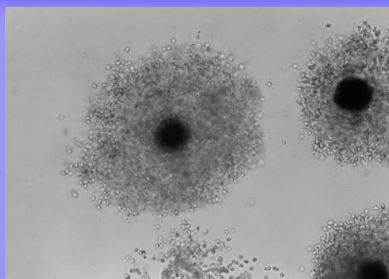


Интенсивность флюоресценции комплекса Ca^{2+} хлортетрациклин+мембрана (усл.ед.) в ооцитах, прокультивированных в различных системах после интра- или экстра-овариальной витрификации (число ооцитов 377).
a:b, a:d, b:c, d:e, d:j, e:f, e:k, e:j, e:l, e:m, e:n, e:o, f:j, j:k, f:k, f:m, f:n, f:o, n:o, j:l $P < 0,05$, *a:e, b:f, b:j, b:k, b:e, d:f, d:k, d:l, c:d, c:e, j:n, j:m, j:o* $P < 0,01$, *a:m, a:n, a:o, a:f, a:j, a:k, a:l, b:l, b:m, b:n, b:od:m, d:n, d:o, c:f, c:j, c:k, c:l, c:m, c:n, c:o* $P < 0,001$ (Studentt-test).

Анализ функциональной активности актинового цитоскелета в нативных и девитрифицированных женских гаметах *Sus Scrofa Domesticus* в зависимости от модели витрификации и времени культивирования



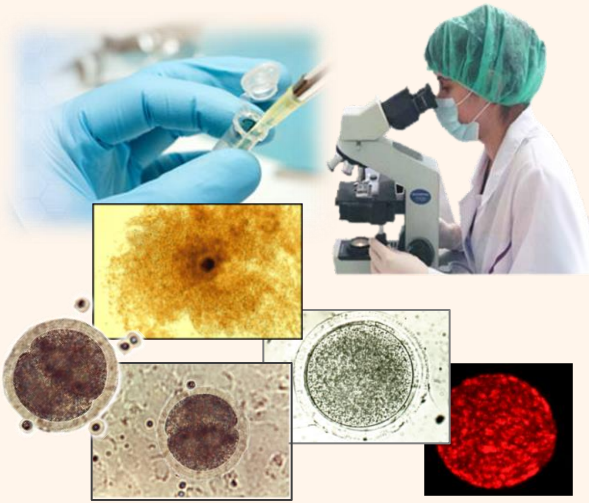
Интенсивность флуоресценции родамин фаллоидина в нативных и девитрифицированных (экстра- или интра-овариально) ооцитах *Sus Scrofa Domesticus* после культивирования в течение 44 часов в различных системах (n ооцитов – 271). $P < 0,001$ i,j, l;d, h;d, c:k, i:f, b:i, $P < 0,005$ j:l, i:k, b:i, e:h, a:d, a:b, h:l, k:g, f:b, e:j, a:j, $P < 0,01$ a:c, e:f, g:h, i:l.



Визуализация актинового цитоскелета в ооцитах родамин фаллоидином (F-актин, X900,)

Лаборатория биологии развития

готова к сотрудничеству в ракурсе следующих фундаментальных и прикладных аспектов биологии развития:



Фундаментальные аспекты:

- Селекция доминантного фолликула (механизмы гормональной регуляции мейоза).
- Роль цитоплазматических факторов в формировании зрелой яйцеклетки.
- Экспрессия генов в раннем развитии млекопитающих.
- Межклеточные взаимодействия, регуляторные и сигнальные системы.
- Механизмы, детерминирующие фертильность мужских гамет

Прикладные аспекты:

- Экологический мониторинг вредных факторов окружающей среды на основе анализа статуса хроматина половых и соматических клеток овариальных фолликулов.
- Тест-системы мутагенности и генотоксичности биологически активных веществ различной природы.
- Получение эмбрионов *in vitro* (коровы, свиньи, овцы) и OPU-Technology.
- Получение эмбриональных стволовых клеток из реконструированных эмбрионов млекопитающих.
- Получение эмбриональных стволовых клеток из партеногенетических зародышей млекопитающих для биомедицинских и фармакологических целей.
- Ранняя диагностики фертильности мужских гамет.

На базе лаборатории проводится подготовка специалистов– эмбриотехнологов, мастер-классы по повышению квалификации «Клеточные репродуктивные технологии в животноводстве и биомедицине» (специализация для эмбриотехнологов)

«Omne vivum ex ovo»



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ