

9. Усынин И. Ф. Новые методы научных исследований в клинической и экспериментальной медицине.— Новосибирск, 1980.— С. 96—98.
10. Sequence composition of the template active fraction of rat liver chromatin / J. M. Gottesfeld, G. Bagi, P. Berg, J. Bonner // Biochemistry.— 1976.— 15, N 11.— P. 2472—2483.
11. Neary R. H., Golland E. The effect of renal failure and haemodialysis on the concentration of free apolipoprotein A-I in serum and the implications for the catabolism of high-density lipoproteins // Clin. chim. acta.— 1988.— 171, N 2—3.— P. 239—246.
12. Панин Л. Е., Свечникова И. Г., Маянская Н. Н. Роль плазменных липопротеидов высокой плотности как модуляторов специфического гормонального эффекта гидрокортизона // Вопр. мед. химии.— 1990.— 3, № 3.— С. 600—622.
13. Панин Л. Е., Маянская Н. Н. Лизосомы: роль в адаптации и восстановлении.— Новосибирск: Наука, 1987.— 198 с.

Ин-т биохимии Сиб. отд-ния АМН СССР,
Новосибирск

Получено 29.05.91

УДК 591

М. Р. Столина, Л. М. Морозова, А. П. Соломко

ОПТИМИЗАЦИЯ СИСТЕМЫ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ГЕНЕТИКО-ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЯХ МЫШЕЙ.

1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СЕЗОННОЙ ПЛОДОВИТОСТИ САМОК МЫШЕЙ ЛИНИЙ BALB/cLac C57BL6/j и ICR

*Изучено влияние сезонного фактора на фертильность и плодовитость самок мышей инбредных линий BALB/cLac, C57BL/6j и ICR. Данные экспериментов указывают на то, что планирование работ в биологической системе, связанных с естественной репродуктивной функцией животных, необходимо проводить с учетом сезона года и линейной принадлежности мышей. Самки контрастных по окраске линий C57BL и ICR характеризуются стабильно высокой фертильностью и плодовитостью. Мыши C57BL предложены в качестве доноров гамет и зигот в исследованиях, связанных с оплодотворением и культивированием зародышей в системе *in vitro*, а самки ICR — как реципиенты для трансплантаций эмбрионов.*

Введение. Оптимизация условий проведения экспериментов в биологических системах определяется большим числом вне- и внутриорганизменных факторов, оказывающих существенное влияние на физиологический, гормональный, биохимический и т. п. статус объекта изучения. Для эффективности исследований и получения корректных результатов необходимо вычлнить и учесть из множества факторы, имеющие в определенной системе ключевое значение.

Современные генетические и молекулярно-биологические исследования на гаметах и эмбрионах млекопитающих (клонирование зародышей, консервация уникальных геномов, изучение ядерно-цитоплазменных взаимоотношений, процессов метилирования, регуляции экспрессии генов и т. д.), включающие этапы оплодотворения и культивирования эмбрионов *in vitro*, требуют выполнения ряда условий.

1. В эксперименте должны участвовать лабораторные животные инбредных линий, характеризующихся высокой плодовитостью и сезонной стабильностью.

2. Необходимо отсутствие стрессовых воздействий на организм донора гамет, в том числе гормональной суперовуляции, увеличивающей частоту резорбированных и отстающих в развитии плодов [1, 2], а также вызывающей активацию определенных генов гамет и зигот в ответ на действие стероидных гормонов [3].

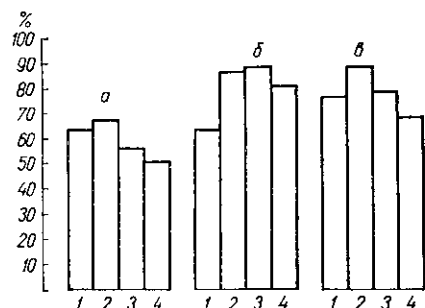
3. Получение оплодотворенных яйцеклеток и обеспечение достаточного количества эмбрионов, синхронно развивающихся в культуре.

© М. Р. СТОЛИНА, Л. М. МОРОЗОВА, А. П. СОЛОМКО, 1992

4. Трансплантация зародышей контрастным по окраске самкам-реципиентам, способным к эффективному вынашиванию и вскармливанию молодняка.

В этом сообщении нами представлены результаты сравнительного анализа сезонной плодовитости самок мышей инбредных линий BALB/cLac, C57BL/6j и ICR, проведенного с целью выбора оптимальных доноров гамет и реципиентов для трансплантации зародышей.

Материалы и методы. Работу проводили в течение года на мышках линий BALB/cLac, C57BL/6j и ICR, поддерживаемых в виварии ИМБиГ АН Украины инбредно, при инвертированном световом режиме 14:10 со световым периодом с 5 до 19 ч для линии C57BL и с 3 до 17 ч для линий BALB и ICR (аутобредная



Динамика сезонной (1—4 соответственно зима, весна, лето, осень) плодовитости самок трех инбредных линий мышей: а — BALB, б — C57BL, в — ICR. По оси ординат: доля беременных самок от числа фертильных

линия ICR любезно предоставлена нам в 1978 году В. С. Барановым).

Плодовитость определяли, скрещивая 3—5-месячных самок в течение 30 дней и подсаживая по 4—5 особей на ночь к фертильному самцу, используемому 1 раз в неделю. Покрытия определяли по наличию вагинальных пробок. Самок, не покрытых в течение месяца, две недели держали по 2—3 особи в клетке с фертильным самцом, меняя его каждую неделю (для полного учета количества фертильных самок).

Методы культивирования и трансплантации зародышей описаны в наших предыдущих работах [4, 5].

Результаты и обсуждение. Результаты экспериментов по определению количества фертильных самок в зависимости от сезона года представлены в табл. 1. За исключением зимних месяцев число фертильных самок ICR и C57BL было большим, чем у особей линии BALB. Количество самок, участвовавших в размножении, отличалось как по сезонам, так и среди линий (рисунок). Самки ICR и C57BL характеризуются не только стабильностью этого показателя, но и высокой

Таблица 1
Сезонная фертильность самок мышей трех линий

Линия	Сезон	Количество самок		
		В опыте	Фертильных (%)	Беременных (%)
BALB	1	56	56(100)	36(64,3)
	2	50	43(86)	29(58)
	3	40	34(85)	19(47,5)
	4	50	41(82)	21(42)
C57BL	1	50	36(72)	23(46)
	2	50	47(94)	40(80)
	3	40	37(92,5)	33(82,5)
	4	45	42(93,4)	36(75,6)
ICR	1	45	43(95,6)	33(73,3)
	2	30	28(93,3)	25(83,3)
	3	25	24(96)	19(76)
	4	50	48(96)	33(66)

Примечание. Здесь и в табл. 2 сезоны 1—4 — соответственно зима, весна, лето, осень. В скобках указан процент от числа взятых в опыт самок.

продуктивностью в течение всего года. Необходимо отметить увеличение доли пропустовавших самок С57BL в зимний период — 36 %, что согласуется с нашими данными по наличию в это же время одно- и двухклеточных зародышей в яйцеводах (у 29 % покрытых самок мы обнаруживали неоплодотворенные яйцеклетки либо деградировавшие зародыши).

Для мышей линии ICR наиболее неблагоприятен, по нашим данным, осенний период, когда доля беременных самок составляла около 70 % от числа фертильных. Самки линии BALB отличались высоким уровнем пропустований [5, 6]. Этот показатель для исследованной нами популяции достаточно стабилен и составляет от 36 до 49 % в разные сезоны года (см. рисунок). Таким образом, только 42—64 % популяции самок BALB принимают участие в размножении (см. табл. 1).

Потенциальную плодовитость оценивали по числу зародышей, находящихся в кумулюсной массе яйцеводов самок первого дня беременности, что позволило избежать потерь при выявлении ранних эмбрионов и ошибок во время подсчета желтых тел яичников. Этот показатель оказался для самок трех исследованных линий сезонно стабильным и обусловленным линейной принадлежностью (табл. 2).

Таблица 2
Сезонная плодовитость самок мышей трех линий

Линия	Сезон	Потенциальная плодовитость*	Средняя величина помета на одну самку		
			На момент родов	Доля мертворожденных	При отсадке
BALB	1	10,2	7,3	0,8	5,8
	2	9,9	6,1	0,1	5,4
	3	10,5	7,1	0,1	5,9
	4	9,5	6,3	0,2	6,0
C57BL	1	8,4	6,4	0,6	5,3
	2	8,3	6,2	0,1	4,7
	3	8,5	7,0	0,2	5,7
	4	8,4	6,4	0,2	4,7
ICR	1	10,3	8,0	1,1	6,0
	2	9,9	8,0	0,4	6,2
	3	10,5	7,6	—	6,0
	4	10,5	7,0	0,4	5,8

* Среднее число зародышей при вымывании из яйцевода на одну самку.

Среднюю величину помета на момент родов и при отсадке определяли как в опытах по определению сезонных пропустований у самок, так и в популяции размножающихся животных. Различий в этих вариантах не обнаружено и данные по ним сведены в табл. 2. Достоверных сезонных отличий по средней величине помета на самку между линиями также нет. Однако количество мертворожденных в зимний период у всех линий достоверно выше, чем в другие сезоны. По нашим данным, 23 % зародышей линии ICR и 25 % зародышей линии C57BL гибнет, не рождаясь, а линия BALB характеризуется наибольшими эмбриональными потерями — 33 %. Высокая пренатальная смертность у мышей линии BALB отмечена многими авторами [7, 8].

В связи с этим для проведения дальнейших исследований были отобраны две инбредные контрастные по окраске линии C57BL и ICR. Однако, как известно, самки C57BL отличаются каннибализмом и по этой причине не могут быть реципиентами, но благодаря стабильно высокой сезонной фертильности пригодны как доноры гамет.

Обычно к самкам-реципиентам предъявляют следующие требования: стабильно высокая фертильность, контрастность по окраске в сравнении с донором, способность к вскармливанию молодняка даже в

случае рождения 1—2 детенышей. Этим требованиям, по нашему мнению, удовлетворяют самки линии ICR. В летний и осенний периоды нами проведены предварительные опыты по совместным пересадкам 1—2-клеточных зародышей C57BL и ICR, культивированных *in vitro* в течение 2—24 ч, в ампулу яйцевода псевдобеременных самок линии ICR. Беременными оказались 15 из 31 и 18 из 37 самок-реципиентов соответственно по сезонам. Вскрытие на 16-й день беременности свидетельствовало о наличии во всех случаях как эмбрионов ICR, так и C57BL.

Наши данные указывают на то, что при получении гамет без предварительной гормональной стимуляции линейных самок-доноров не обойтись учет сезонного фактора, а выбор линии самок-реципиентов должен основываться на их стабильно высокой фертильности.

Summary. We present data on optimization of the biological system, which is connected with natural reproductive function of animals. The fertility and productivity of BALB/cLac, C57BL/6j and ICR females were studied as a function of season factor. C57BL and ICR females, which differ in their coat color, have stable and high fertility and productivity. C57BL mice may be proposed as gamete and zygote donors in experiments, connected with *in vitro* fertilization and embryo incubation. ICR females may be used as recipients for embryo transplantations.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Studies on genotoxic and embryotoxic effects in different mouse strains after spontaneous and induced ovulation (superovulation)* / R. Vogel, T. Lankes, H. Rux et al. // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.—1989.—339.—P. 29.
2. *Суперовуляторная реакция у разных линий мышей в ответ на введение гонадотропных препаратов* / А. Н. Голубица, С. Я. Амтиславский, Р. З. Файзулин и др. // Пробл. сохранения и поддержания генет. коллекций лаб. животных. Консервация генет. ресурсов: Сб. науч. тр.—Пушино, 1991.—С. 93—97.
3. *Chen W. G., Scoon V., Reid R. A. Gene hierarchies in developmental processes* // J. Embryol. and Exp. Morphol.—1984.—N 82, Suppl.—P. 131.
4. *Морозова Л. М. Роль генетико-физиологических взаимоотношений мать — потомок в становлении жизнеспособности и плодовитости млекопитающих: Дис. ... канд. биол. наук.—Киев, 1978.—109 с.*
5. *Евсиков С. В., Морозова Л. М., Соломко А. П. Роль ядерно-цитоплазматического соотношения в регуляции развития млекопитающих. Развитие зигот с уменьшенным объемом цитоплазмы* // Биополимеры и клетка.—1989.—5, № 5.—С. 87—93.
6. *McLaren A., Michie D. Studies on the transfer of fertilized mouse eggs to uterine fostermothers. Factors affecting the implantation and survival of native and transferred eggs* // J. Exp. Biol.—1956.—33.—P. 334.
7. *Семенов Х. Х., Малащенко А. М. Цитологическое исследование ранней эмбриональной смертности у лабораторных мышей* // Бюл. эксперим. биологии и медицины.—1975.—80.—С. 107.
8. *Danny L. B., Keith Y. E. Factors influencing peri- and early postnatal calf mortality* // J. Anim. Sci.—1973.—37.—P. 1092.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН Украины,
Киев

Получено 06.09.91