

УДК 591.465.12.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Л. А. НИКИТИНА

**ПЕРЕСАДКА МАТЕРИАЛА ЗАРОДЫШЕВОГО ПУЗЫРЬКА  
В ЭНУКЛЕИРОВАННЫЕ ООЦИТЫ СЕВРЮГИ**

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 27 IV 1971)

Показано, что ооциты амфибий, созревающие без зародышевого пузырька, после пересадки в них соматических ядер не дробятся совсем или образуют более или менее атипичные борозды. Чем на более поздних стадиях созревания удален зародышевый пузырек, тем больший процент ооцитов приступает к дроблению и тем оно более типичное (<sup>2-6</sup>). Такой же результат был получен на ооцитах севрюги (Скоблина). Следовательно, карิโอплазма зародышевого пузырька необходима для того, чтобы цитоплазма ооцита приобрела способность к цитотомии. Этот вывод был подтвержден также в опытах обратной пересадки материала зародышевого пузырька в энуклеированные ооциты *Rana pipiens* (<sup>5, 6</sup>). После созревания в полученные таким образом ооциты пересаживали соматические клеточные ядра, и в 16% случаев наблюдалось дробление и образование частичных бластул.

В настоящей работе излагаются результаты опытов с обратной пересадкой материала зародышевого пузырька на ооцитах севрюги. Опыты проводились в июне 1970 г. на Волгоградском осетровом рыболовном заводе. Ооциты севрюги (*Acipenser saellatus*) брали из яичников щупом и культивировали *in vitro* в растворе Рингера с 0,1% яичным альбумином (метод см. в (<sup>3</sup>)). Во все растворы и в воду добавляли антибиотики (125 000 ед. стрептомицина и 500 000 ед. пенициллина на 1 л раствора): рН растворов был 7,5—8. В этом растворе ооциты энуклеировали, предварительно сняв с них наружные фолликулярные оболочки. Зародышевый пузырек удаляли через прокол, сделанный глазным ножом вблизи анимального полюса. В опыте использовали только те ооциты, зародышевый пузырек которых был удален без повреждения. Энуклеированные ооциты помещали на один час в раствор Рингера с яичным альбумином (0,1%) и прогестероном (0,1 мг на 25 мл раствора) и затем переносили обратно в раствор Рингера с белком. В интервале времени между 12—18 τ\* начиная с момента помещения ооцитов в прогестерон в часть энуклеированных ооцитов пересаживали материал зародышевого пузырька от интактных ооцитов. Во всех этих случаях, в ооциты был инъецирован материал 1—2 зародышевых пузырьков. В 37 ооцитов (данные, не вошедшие в таблицу) был инъецирован материал 3—5 зародышевых пузырьков. Для этого вводили шпигетку в центр анимальной области, где расположен зародышевый пузырек, делали прокол и втягивали в микрошпигетку содержимое зародышевого пузырька вместе с разорванной оболочкой. Все это инъецировали в энуклеированный ооцит. В контрольных неоплодотворенных ооцитах, развивающихся после их эксплозии в растворе прогестерона *in vitro*, к этому времени происходит растворение зародышевого пузырька. Все яйцеклетки (как оперированные, так и контрольные) через 30 τ° с момента помещения ооцитов в прогестерон переносили в воду и осеменяли.

\* τ° — продолжительность одного митотического цикла в период синхронных делений дробления (<sup>4</sup>).

Состояние оперированных яйцеклеток оценивали как прижизненно, так и на гистологических препаратах. Для гистологической обработки материал фиксировали формалином и жидкостью Санфеличе и после обычной проводки готовили срезы толщиной 8 м; для окраски использовали азоновый метод Гейденгайна.

Результаты опытов суммированы в табл. 1. Большинство подопытных ооцитов (за исключением сильно поврежденных), в которые был инъецирован материал зародышевого пузырька, после осеменения приступали

Таблица 1

Способность к дроблению и последующему развитию энуклеированных ооцитов севрюги после инъекции в них материала зародышевого пузырька (з.п.)

Тип операции	Число оперированных ооцитов	Число яйцеклеток			
		приступивших к дроблению		достигших стадии бластулы	достигших стадии гастрюлы
		типичному	атипичному		
Энуклеированные ооциты + материал з.п.	94	28 (100,0%)	52	24 (85,7%)	11 (39,3%)
Энуклеированные ооциты	89	—	13	—	—

к более или менее правильному дроблению (рис. 1). В группу атипично дробящихся яиц могут входить как оплодотворившиеся, так и только активированные яйцеклетки (рис. 1 и 2 см. вклейку к стр. 1485).

Из оперированных осемененных ооцитов 24 достигли стадии полной или частичной бластулы, а 11 зародышей начали гастрюляцию, причем 7 из них достигли стадии желточной пробки (рис. 2).

Во время дробления и гастрюляции у оперированных и осемененных яйцеклеток через надрез в оболочке, сделанный при энуклеации ооцитов, начинали вылезать клеточные экзваты, размеры которых постепенно увеличивались. Это приводило к сильному повреждению зародышей. Для предотвращения этого с дробящихся яйцеклеток приходилось снимать желточную капсулу; при этом часть зародышей неизбежно повреждалась. Оперированных зародышей культивировали как можно дольше, все зародыши были зафиксированы во время гастрюляции.

Оперированные ооциты, в которые был инъецирован материал 3—5 зародышевых пузырьков, после осеменения к типичному дроблению не приступали. Только у 6 из них на анимальном полюсе легли поверхностные борозды.

Контрольные энуклеированные ооциты, в которые после обработки прогестероном не инъецировали материал зародышевого пузырька, после укола их стеклянной иглой или осеменения активировались, но, как и в опытах Скоблиной<sup>(36)</sup>, к дроблению не приступали. У части яйцеклеток наблюдали образование единичных abortивных борозд на анимальном полюсе.

Неэнуклеированные ооциты после помещения их в прогестерон в растворе Рингера с белком созревали и после осеменения, как правило, дробились и нормально развивались.

Таким образом, энуклеированные ооциты севрюги с инъецированным в них материалом зародышевого пузырька, взятым из интактных ооцитов исходной стадии, после созревания и оплодотворения приобретают способность не только дробиться, но в ряде случаев и переходить к гастрюляции. Инъекция материала зародышевого пузырька псходных ооцитов в эн-

клеированные ооциты приводит к нормализации развития энуклеированных ооцитов.

Институт биологии развития  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
27 IV 1971

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Т. А. Детлаф, А. А. Детлаф, ДАН, 134, № 1, 199 (1960). <sup>2</sup> Т. А. Детлаф, Л. А. Никитина, О. Г. Строева, ДАН, 160, № 6, 1441 (1965). <sup>3</sup> М. Н. Скоблина: а) ДАН, 183, № 4, 982 (1968); б) Автореф. кандидатской диссертации, 1970. <sup>4</sup> Т. А. Dettlaff, L. A. Nikitina, O. G. Stroeve, J. Embryol. Exp. Morphol., 12, 851 (1964). <sup>5</sup> D. Smith, R. E. Ecker, S. Subtelny, Develop. Biol., 17, 627 (1968). <sup>6</sup> D. Smith, R. E. Ecker, Develop. Biol., 19, 281 (1969).