

ВПЛИВ ОБ'ЄМНОЇ КЛІТИННОЇ СИСТЕМИ НА ДОЗРІВАННЯ РАННІХ ЕМБРІОНІВ МИШЕЙ *IN VITRO*

О. В. ШТАПЕНКО¹, Н. М. МАТВИЄНКО²

¹Інститут біології тварин НААН

вул. В.Стуса, 38, Львів, 79069, Україна,

²Інститут рибного господарства НААН України,

вул. Обухівська, 135, Київ, 03164, Україна

e-mail: shtapenko31@gmail.com

Створення умов для росту клітин на двовірних поверхнях, які б відповідали їх природним тривимірним умовам в тканинах організму, можливо використовуючи поверхні, модифіковані різними полімерами. Культивування клітин на таких наноповірнях забезпечує оптимальні умови найбільш наближені до умов *in vivo* і визначає всі подальші процеси росту клітин, їх диференціації, міграції і синтезу компонентів міжклітинного матриксу. Метою наших досліджень було вивчення впливу об'ємної культуральної системи клітин яйцепроводів кролиць, створеної на різних типах нанопокриттів, на дозрівання ранніх ембріонів мишей на трансферабельних стадіях при культивуванні *in vitro*. Досліди проводили на 2-клітинних ембріонах, отриманих від самок мишей після індукції суперовуляції шляхом внутрішньочеревної ін'єкції 5 МО гонадотропіну сироватки лошат кобил (PMSG, Biowet, Drwalew Poland) і 5 МО ЛХГ hCG (Pregnyl, Organon) з інтервалом між ін'єкціями 48 годин і підсадки їх до самців. Отримані ембріони переносили у краплю середовища KSMO з додаванням 5% фетальної телячої сироватки і клітин яйцепроводів (0,5x10⁶ клітин / мл) (контрольна група), група 1 - біогель + KSMO + клітини яйцепроводів, група 2 - альбумін + KSMO + клітини яйцепроводів. Ефективність використання комплексної просторово-організованої системи клітин яйцепроводів на біогелі і альбуміні визначали за розвитком до імплантаційних ембріонів до стадії експандованої бластоцисти *in vitro* і біохімічними показниками кондиційного середовища. При культивуванні на модифікованих нанопокриттях з біогелем або альбуміном на моношарі клітин яйцепроводів через 24 ч стадії 4-6-клітинних ембріонів досягло, відповідно, на 26,7 і 20% ембріонів більше, в порівнянні з контролем. Через 48 год культивування кількість ембріонів, які досягли стадії морули, було менше в контрольній і дослідній групі з альбуміном, ніж при культивуванні на покритті з біогелем (33,3% і 26,7% проти 53,3%, відповідно). В обох дослідних групах на третій день культивування виявлено також 6,7% і 13,3% ембріонів, які досягли стадії вилуплення бластоцисти, тоді так в контрольній групі такі бластоцисти були відсутні. Отже, порівняння результатів розвитку двох клітинних ембріонів мишей в контрольній і дослідних групах, показало, що культивування на нанопокритті з альбуміном, а особливо з біогелем, сприяє кращому розвитку ембріонів.

Ключові слова: ембріони; наноповірні; *in vitro* дозрівання; культура клітин яйцепроводів; альбумін; біогель.

Вступ. Культивування ранніх ембріонів *in vitro* – важлива складова біотехнологічних досліджень при IVF, клонуванні та отриманні трансгенних тварин. Широке використання методів культивування соматичних та статевих клітин тварин вимагає оптимізації систем культивування на основі застосування нових композитних матеріалів. В останні роки значна увага приділяється використанню об'ємних клітинних моделей на заміну клітинній моношаровій культурі (Toda et al., 2002; Yanez and Camarillo, 2017)

Клітинний ріст на об'ємних матриксах значно відрізняється за своєю морфологією та ступенем диференціації клітин. В умовах 3D взаємодії між клітинами та матриксом є найбільш наближені до умов *in vivo* (Antoni et al., 2015; Doyle et al., 2015; Nuh et al., 2011).

Одним з головних завдань клітинної біотехнології є вибір адекватного носія для клітин здатного забезпечити їх високу проліферацію клітин зі збереженням функціональних властивостей при тісній взаємодії зі носієм впродовж тривалого часу. Серед біоматеріалів, застосованих для конструювання матриксів клітин використовують як природні компоненти – колаген, фібрин, хітозан, кератиноцити, так і синтетичні матеріали – модифіковані форми гіалуринової кислоти, поліетиленгліколь, поліаміди, силікон, поліетилентерефталат, полімери гліколевої та молочної кислот, а також новий клас полімерів (Lakard et al., 2004; Miksa et al., 2006; Stetsyshyn et al., 2010; Yu et al., 2006).

Вибір біоматеріалів для іммобілізації на поверхні визначається поставленою метою і залежить від наявних у полімері функціональних

груп, які зумовлюють природу та геометрію наноповерхні. Адже, відомо, що навіть незначна модифікація біоматеріалу (елементний склад, фазовий стан, топографія і структура поверхні тощо) може значно змінювати його властивості (Малишкіна та Дедух, 2010).

З огляду на це створення комплексної просторово організованої клітинної системи на різних наноповерхнях, як природних похідних, так і полімерних наносферах, забезпечить ріст та проліферацію клітин у культурі, їх високу адгезивну здатність, що дозволить створити оптимальні умови для досягнення ембріонами стадії експансованої бластоцисти.

Метою наших досліджень – вивчення впливу об'ємної культуральної системи клітин яйцепроводів кролематок, створеної на різних типах нанопокриттів, на дозрівання ранніх ембріонів мишей до трансферабельних стадій при культивуванні *in vitro*.

Матеріали та методи дослідження.

Дослідження проведено в лабораторії біотехнології відтворення Інституту біології тварин НААН на самках нелінійних мишей з масою 18-20 г, яких утримували у віварії інституту. Зиготи отримували після індукції суперовуляції шляхом внутрішньочеревинної ін'єкції 5 МО гонадотропіну сироватки жеребних кобил (PMSG, Biowet, DrwalewPoland) та 5 МО хоріонічного гонадотропіну hCG (Pregnyl, Organon) з інтервалом введення 48 годин. Самок підсаджували до самців відразу після останньої ін'єкції. Результативність запліднення оцінювали за наявністю копулятивних корків наступного ранку. Евтаназію тварин проводили на другий день вагітності, дислокацією шийних хребців. Зародки на 2-клітинній стадії вимивали з ампульної ділянки яйцепроводів у середовище M2 під бінокулярном. Після морфологічної оцінки зародки розділяли на групи по 15 ембріонів у кожній та переносили у підготовлені завчасно краплі (500 мкл) культурального середовища KSMO з 5-процентною фетальною сироваткою теляти (ФСТ) та клітинами яйцепроводів кролематок (з концентрацією $0,5 \times 10^6$ клітин/мл) (контрольна група). Для порівняння ефективності співкультивування ембріонів на об'ємній культуральній системі клітин яйцепроводів кролематок, створених на основі нанопокриттів, були виділені дві дослідні групи, які відрізнялися покриттям чашок – біогелем у 1-й дослідній групі та нанесенням альбуміну на скельця методом органічного синтезу у 2-й дослідній групі.

Культуру клітин яйцепроводів, отримували з яєчників, від забитих на бойні приватного

підприємства кролематок, за стандартною методикою трипсинізації клітин.

Культивування ембріонів проводили під мінеральним маслом у термостаті при 37°C упродовж 3-ох діб. Якість ембріонів оцінювали через кожні 24 години за морфологічними критеріями, здатністю до поновлення мітозу та частотою дроблення до стадії бластоцисти.

Експерименти на тваринах проводили за регламентом, розробленим відповідно до Спільних принципів експериментів на тваринах, схвалених I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001 р.) та узгоджених з положеннями Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовують для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, Франція, 1985). Достовірність різниці між показниками оцінювали з використанням параметричного t-критерію Ст'юдента. Різницю між порівнювальними величинами вважали вірогідною за $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення.

За результатами морфологічного аналізу встановлено, що при культивуванні двох клітинних ембріонів на нанопокритті з біогелем через 24 години культивування стадії 4-6-ти бластомерів досягнуло 33,3 % ембріонів та 66,7 % знаходились на 8-клітинній стадії розвитку (табл. 1.).

За культивування на нанопокритті з альбуміном 6,7 % зародків залишилися на стадії двох бластомерів проти 13,3 % - у контрольній групі. Натомість відсоток ембріонів на стадії 8 бластомерів був значно вищим (53,3 %) у 2-й дослідній групі порівняно із контролем – 26,7 % ембріонів досягнули 8-клітинної стадії.

Через 48 годин культивування 53,3% ембріонів у 1-й дослідній групі знаходились на стадії морули, 26,7% - на стадії 8-ми бластомерів, а 13,3% - ранньої бластоцисти (рис.1). Тоді як за культивування на нанопокритті із альбуміном більшість зародків – 53,3% - досягнули 8-клітинної стадії та 26,7% розвинулись до морули та 6,7% - до ранньої бластоцисти. На 48 годину культивування у контрольній групі 40% ембріонів були на 8-клітинній стадії, 33,3 % досягнули стадії морули та 6,7 розвинулися до ранньої бластоцисти.

При порівнянні на 48 годину кількості ембріонів, які призупинили розвиток на 2–4-клітинній стадії, спостерігали тенденцію зниження цього показника у дослідній групі, за умови культивування ембріонів на нанопокритті з біогелем.

Таблиця 1
Вплив умов культивування на морфологічні
характеристики ембріонів мишей на 24 годину
культивування

Table 1
Influence of culturing conditions on morphological
characteristics of mouse embryos on 24 hours of
culturing

Характеристика груп	Розвиток ембріонів до стадії в кожній групі, n (%)		
	2-х бластомерів	4-6 бластомерів	8 бластомерів
Контроль (ОС+ культура клітин яйцепроводів)	2 (13,3)	9 (60)	4 (26,7)
1-а дослідна (біогель+ культура клітин яйцепроводів)	-	5 (33,3)	10 (66,7)
2-а дослідна (скло+альбумін+культура клітин яйцепроводів)	1 (6,7)	6 (40)	8 (53,3)

Так, відсоток ембріонів зі зупинкою розвитку був найнижчим у 1 групі і перебував на рівні 6,7 %, що у 1,98 рази нижче, порівняно із 2-ою дослідною групою та у 2,98 разу - відносно контролю (рис. 1). Блок розвитку ембріонів пов'язаний із активацією ембріонального генома та уповільненням перебігу метаболічних реакцій (Петрушко та Піняєв, 2016, Khan et al., 2015, Latham and Schultz, 2001). Тому співкультивування в об'ємній культуральній системі клітин яйцепроводів, забезпечує секрецію у середовище культивування біологічно активних речовин та факторів росту, що стимулює розвиток ембріонів та максимально наближає умови культивування до системи *in vivo*.

Через 72 години культивування ранні бластоцисти 1-ї дослідної групи з біогелем розвинулися в експандовані та деякі бластоцисти вилупилися із прозорих оболонок.

Натомість у контрольній та 2-й дослідній групах кількість ембріонів, які досягнули стадії середньої бластоцисти була меншою, а у контрольній групі не спостерігалось хетчингу бластоцист. Отримані результати вказують, що культивування двох клітинних ембріонів на об'ємній культуральній системі клітин яйцепроводів кролематок, модифікований альбуміном, а особливо нанопокриття з біогелем, сприяє кращому розвитку ембріонів, зокрема, знижує кількість дегенерованих ембріонів та підвищують здатність бластоцисти до вилуплення.

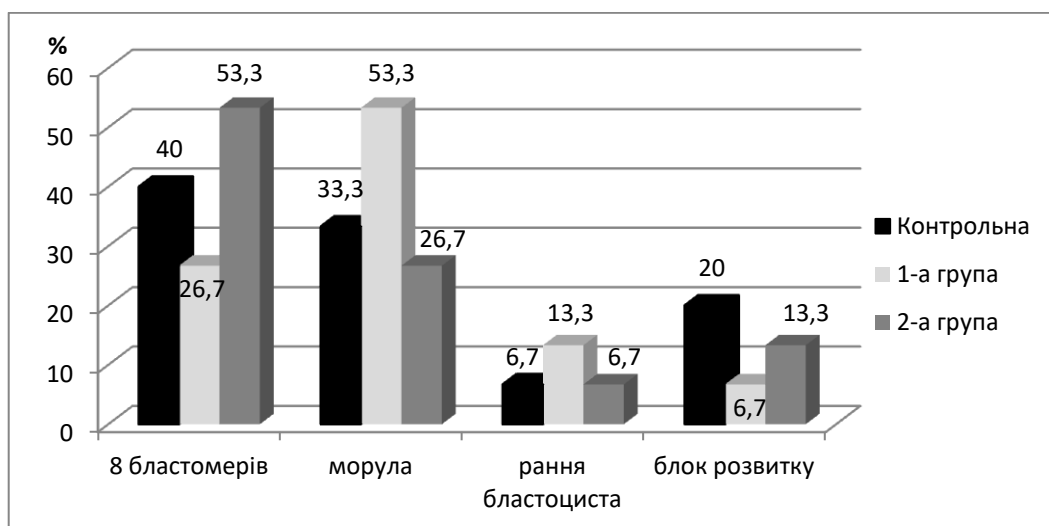


Рис. 1. Морфологічна характеристика розвитку ембріонів мишей різних досліджуваних груп на 48-му годину культивування

Fig. 1. Morphological characteristics of mouse embryos development of different studied groups on 48 hours of culturing

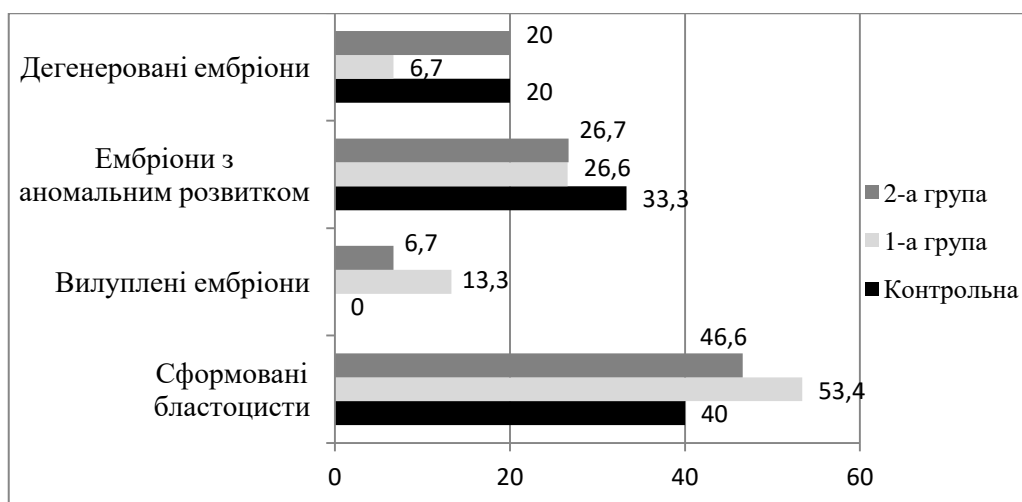


Рис. 2. Розвиток ембріонів мишей на об'ємній культуральній системі клітин яйцепроводів кролематок, створеній на різних типах нанопокриттів на 72-ну годину культивування

Fig. 2. Development of mouse embryos on 3D culture system with oviduct cells modified by different nanosurfaces on 72 hours of culturing

Серед показників, які характеризують перебіг метаболічних процесів у період розвитку ембріонів, є концентрація ЛДГ та рівень глюкози у середовищі культивування. При аналізі біохімічних показників кондиційного середовища після культивування ембріонів на нанопокриттях культури клітин яйцепроводів встановлено зниження вмісту концентрації ЛДГ в усіх групах упродовж культивування (табл. 2.).

При визначенні динаміки обміну глюкози впродовж культивування ембріонів на культурі клітин яйцепроводу встановлено незначне зменшення її вмісту в кондиційному середовищі в усіх групах на 48-му годину культивування, тоді як на 72-ну годину культивування її концентрація знижується в 2,7, 3,6 та 3,5 рази порівняно із кондиційним середовищем на 24 годину культивування (табл. 2). Це пов'язано із підвищенням рівня біосинтетичних процесів, зокрема, посиленням вуглеводневим обміном та додатковою потребою в енергії ембріонів на стадії морули та бластоцисти.

Активність ЛДГ у кондиційному середовищі обох дослідних груп на 48-72-ну годину культивування була вірогідно нижчою в порівняно до показників контрольної групи.

Таблиця 2
Біохімічні показники середовища культивування 2-клітинних ембріонів мишей на об'ємній культуральній системі клітин яйцепроводів кролематок ($M \pm m$)

Table 2
Biochemical indexes of culturing media after co-culturing of 2-cell mouse embryos in 3D culture system with oviduct cells ($M \pm SD$)

Дослідні групи	Термін культивування, год.	Біохімічні показники	
		ЛДГ	Глюкоза
		УО	г/л
Контроль (ОС+культура клітин яйцепроводів)	24	38,2±0,27	10,69±0,36
	48	27,4±0,67**	9,0±0,28
	72	14,8±0,33***	4,02±0,18**
Дослідна 1-ша (біогель+культура клітин яйцепроводів)	24	35,6±0,37	9,31±0,54
	48	23,6±0,53**	8,55±0,36
	72	11,7±0,27***	2,61±0,31***
Дослідна 2-га (скло+альбумін+культура клітин яйцепроводів)	24	35,4±0,57	10,78±0,68
	48	24,7±0,2**	7,99±0,14*
	72	12,7±0,3***	3,08±0,2***

Примітка: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$ – вірогідна різниця відносно контролю

Note: * – $P < 0.05$; ** – $P < 0.01$; *** – $P < 0.001$ – the differences are statistically significant compared to the control

Таким чином, встановлено, що нанопокриття із біогелем природного походження, забезпечує оптимізацію просторовоорганізованої культуральної системи клітин яйцепроводів кролематок, що сприяє кращому розвитку ембріонів від зиготи до бластоцистипоза організмом.

Висновки:

1. Проведено порівняльний аналіз дозрівання доімплантаційних ембріонів мишей на покритті з біогелем природного походження та нанопокритті з альбуміном зі створенням об'ємної системи клітин яйцепроводів.
2. Встановлено, що культивування 2-клітинних ембріонів на об'ємній клітинній системі клітин яйцепроводів, вирощених на біогелі природного походження сприяє збільшенню кількості ембріонів, які розвинулися до стадії бластоцисти (53,4 %) порівняно із контрольною та 2-ою дослідною групами, в яких кількість ембріонів, що досягнули стадії бластоцисти становила 46,6 % та 40 % відповідно.

Список літератури:

1. Малишкіна С.В., Дєдх Н.В. Медико-біологічні дослідження штучних біоматеріалів для ортопедії та травматології / С.В. Малишкіна, Н.В. Дєдх // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2010. - № 2. – С. 93–100.
2. Петрушко М.П. Амінокислотний профіль середовищ спів культивування доімплантаційних ембріонів людини *in vitro* на моношарі свіжовиділених або кріоконсервованих клітин кумулюса та гранульози / М.П. Петрушко, В.І. Піняєв // Проблеми кріобіології і кріомедицини. – 2016. – Т. 26. - №2. – С. 124–132.
3. Antoni D. Three-Dimensional Cell Culture: A Breakthrough in Vivo / D. Antoni, H. Burckel, E. Josset, G. Noel // Int. J. Mol. Scien. – 2015. – Vol. 16. - No. 3. – P. 5517-5527. doi: [10.3390/ijms16035517](https://doi.org/10.3390/ijms16035517)
4. Doyle A.D. Local 3D matrix microenvironment regulates cell migration through spatiotemporal dynamics of contractility-dependent adhesions / A.D. Doyle, N. Carvajal, A. Jin, K. Matsumoto, K.M. Yamada // Nature Commun. – 2015. - 6: 8720.
5. Huh D. From 3D cell culture to organs-on-chips / D. Huh, G. A. Hamilton, D. E. Ingber // Trends in Cell Biology. - 2011. - Vol. 21. - No. 12. - P. 746-754.
6. Khan D. Transcriptomic analysis of cyclic AMP response in bovine cumulus cells / D. Khan, C. Guillemette, M. Sirard et al. // Physiol. Genomics. – 2015. – Vol. 47. - №9. – P. 432–442.
7. Lakard S. Adhesion and proliferation of cells on new polymers modified biomaterials / S. Lakard, G. Herlem, A. Propper, A. Kastner, G. Michel, N. Vallès-Villarreal, T. Gharbi, B. Fahys // Bioelectrochemistry. – 2004. – Vol. 62. - No. 1. – P. 19-27.

8. Latham K., Schultz R. Embryonic genome activation / K. Latham, R. Schultz // Front Biosci. – 2001. – Vol. 1. - №6. – P. 748–759.
9. Miksa D. Dextran Functionalized Surfaces via Reductive Amination: Morphology, Wetting, and Adhesion / D. Miksa, E. R. Irish, D. Chen // Biomacromolecules. – 2006. - Vol. 7. - P. 557–564.
10. Stetsyshyn Y. Investigation of the adsorption of albumin on the surface modified glass by ellipsometry / Y. Stetsyshyn, A. Kostruba, X. Hahraj // Herald of Lviv Univer. – 2010. – Vol. 54. – P. 51-58.
11. Toda S. A new organotypic culture of thyroid tissue maintains three-dimensional follicles with cells for a long term / S. Toda, K. Watanabe, F. Yokoi, S. Matsumura, K. Suzuki, A. Ootani, S. Aoki, N. Koike, H. Sugihara // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2002. – V. 294. – No 4. – P. 906-11.
12. Yanez L.Z. Microfluidic analysis of oocyte and embryo biomechanical properties to improve outcomes in assisted reproductive technologies / L.Z. Yanez, D.B. Camarillo // Mol. Hum. Reprod. – 2017. Vol. 23. - No. 4. – P. 235-247. doi: 10.1093/molehr/gaw071.
13. Yu S. Y. Stable and pH-sensitive nanogels prepared by self-assembly of chitosan and ovalbumin / S. Y. Yu, J. H. Hu, X. Y. Pan // Langmuir. – 2006. - Vol. 22. - P. 2754–2759.

Reference:

1. Malishkina S. V. Medical-biological studies of artificial biomaterials for orthopaedics and traumatology / S. V. Malishkina, N. V. Dedukh // J. Orthopaedics, traumatology and prosthetics. – 2010. – Vol. 2. – P. 93-100.
2. Petrushko M. P. Media Amino Acid Profile During In Vitro Co-Culture of Human Pre-Implantation Embryos on Monolayer of Fresh or Cryopreserved Cumulus and Granulosa Cells / M. P. Petrushko, V. I. Pinyayev // J. Probl. Cryobiol. Cryomed. – 2016. – Vol. 26(2). – P. 124–132.
3. Antoni D. Three-Dimensional Cell Culture: A Breakthrough in Vivo / D. Antoni, H. Burckel, E. Josset, G. Noel // Int. J. Mol. Scien. – 2015. – Vol. 16. - No. 3. – P. 5517-5527. doi: [10.3390/ijms16035517](https://doi.org/10.3390/ijms16035517)
4. Doyle A.D. Local 3D matrix microenvironment regulates cell migration through spatiotemporal dynamics of contractility-dependent adhesions / A.D. Doyle, N. Carvajal, A. Jin, K. Matsumoto, K.M. Yamada // Nature Commun. – 2015. - 6: 8720.
5. Huh D. From 3D cell culture to organs-on-chips / D. Huh, G. A. Hamilton, D. E. Ingber // Trends in Cell Biology. - 2011. - Vol. 21. - No. 12. - P. 746-754.
6. Khan D. Transcriptomic analysis of cyclic AMP response in bovine cumulus cells / D. Khan, C. Guillemette, M. Sirard et al. // Physiol. Genomics. – 2015. – Vol. 47. - №9. – P. 432–442.
7. Lakard S. Adhesion and proliferation of cells on new polymers modified biomaterials / S. Lakard, G. Herlem, A. Propper, A. Kastner, G. Michel, N. Vallès-Villarreal, T. Gharbi, B. Fahys // Bioelectrochemistry. – 2004. – Vol. 62. - No. 1. – P. 19-27.

8. Latham K., Schultz R. Embryonic genome activation / K. Latham, R. Schultz // *Front Biosci.* – 2001. – Vol. 1. - №6. – P. 748–759.
9. Miksa D. Dextran Functionalized Surfaces via Reductive Amination: Morphology, Wetting, and Adhesion / D. Miksa, E. R. Irish, D. Chen // *Biomacromolecules.* – 2006. - Vol. 7. - P. 557–564.
10. Stetsyshyn Y. Investigation of the adsorption of albumin on the surface modified glass by ellipsometry / Y. Stetsyshyn, A. Kostruba, X. Hahraj // *Herald of Lviv Univer.* – 2010. – Vol. 54. – P. 51-58.
11. Toda S. A new organotypic culture of thyroid tissue maintains three-dimensional follicles with cells for a long term / S. Toda, K. Watanabe, F. Yokoi, S. Matsumura, K. Suzuki, A. Ootani, S. Aoki, N. Koike, H. Sugihara // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2002. – V. 294. – No 4. – P. 906-11.
12. Yanez L.Z. Microfluidic analysis of oocyte and embryo biomechanical properties to improve outcomes in assisted reproductive technologies / L.Z. Yanez, D.B. Camarillo // *Mol. Hum. Reprod.* – 2017. Vol. 23. - No. 4. – P. 235-247. doi: 10.1093/molehr/gaw071.
13. Yu S. Y. Stable and pH-sensitive nanogels prepared by selfassembly of chitosan and ovalbumin / S. Y. Yu, J. H. Hu, X. Y. Pan // *Langmuir.* – 2006. - Vol. 22. - P. 2754–2759.

THE INFLUENCE OF 3D CULTURE CELL ON THE MATURATION OF PRE-IMPLANTATION MOUSE EMBRYOS *IN VITRO*

O. V. Shtapenko, N. N. Matvienko

Creating of conditions for the growth of cells on two-dimensional surfaces, that would match their natural three-dimensional conditions in the body tissues, is possible using surfaces modified by different polymers. The cultivation of cells on such nanosurfaces provides optimal conditions closest to conditions in vivo and determines all further cell growth processes, their differentiation, migration and synthesis of the components in intercellular matrix. The research aim was to investigate the effect of modified nanosurfaces, grafted by albumin and biogel, on the morphokinetic characteristics of mouse 2-cell embryos cultivated in vitro. For experiments, mouse pre-implantation embryos were removed from epy mice females after superovulation with intra-peritoneal injection (i.p.) of 5 IU pregnant mare's serum gonadotropin (PMSG; Sigma Chemical, MO, USA) and 5 IU of human chorionic gonadotropin (hCG; Pregnyl, Organon, Netherlands) in the 48 h interval and were housed in male mice. The 2-cells embryos were transferred into 500 μ ldrops of KSMO medium supplemented with 5 % FCS and Oviduct Epithelial Cells Culture (OECs) (0.5×10^6 cells/ml) (control group), group 1 – biogel+KSMO+MOECs; group 2 – albumin+KSMO+ MOECs. The efficiency of three-dimensional oviduct cell culture on biogel and albumin was determined by the development of pre-implantation embryos to the blastocyst stage in vitro and biochemical indexes of the condition medium. During co-culturing on the modified nanosurfaces by biogel or albumin with the layer of Oviduct Epithelial Cells Culture (OECs), the 4-6-cell stage at 24 hours was reached by respectively 26.7 and 20% more embryos versus those for the control group. To 48 hours of culturing the morula stage was reached by respectively 33.3% and 26.7% embryos in control and experimental group with albumin versus 53.3% those embryos in experimental group with biogel. On the third day in experimental groups during culturing onto both nanosurfaces with cells monolayer 6.7% and 13.3% of the embryos were compacted unlike in the control group. Comparison of the results of two-cell mice embryos development in the control and experimental groups showed that cultivation on nanosurfaces with albumin, and especially with biogel, promotes better embryos development.

Keywords: embryos, nanosurfaces, in vitro maturation, oviduct cell culture, albumin, biogel.

Отримано редколегією 25.04.2017