

Винахід належить до області медицини та ветеринарної медицини і може бути застосований у репродуктивних технологіях.

Відомо спосіб запліднення ооцитів ссавців поза організмом (1), що передбачає триразове відмивання сперматозоїдів від спермальної плазми, наступну їх інкубацію у термостаті при температурі 39°C та, власне, запліднення, що полягає у додаванні певної кількості суспензії таких сперматозоїдів у середовище з яйцеклітинами, де й відбувається цей процес.

Для аналогу характерна спеціальна процедура підготовки сперматозоїдів поза організмом, що передує спільному інкубуванню гамет.

Найближчим аналогом є спосіб (2), за яким відмиті від спермальної плазми сперматозоїди осаджують шляхом центрифугування. З утвореного згустку відбирають необхідну кількість сперматозоїдів та поміщають їх на дно пробірки. Зверху нашаровують такий же об'єм середовища та інкубують у термостаті протягом однієї години. Це дозволяє рухливим сперматозоїдам мігрувати у вищі шари середовища. Після цього верхні дві третини об'єму середовища зі сперматозоїдами відбирають і використовують для запліднення, додаючи до середовища з яйцеклітинами.

Недоліком найближчого аналогу є наявність одногодинного етапу інкубування у термостаті для міграції рухливих сперматозоїдів у вищі рівні нашарованого середовища що передує спільному інкубуванню гамет. Таке інкубування може призвести до помітної втрати рухливості сперматозоїдів і як наслідок, зниження показників запліднення яйцеклітин.

Задачею винаходу, що пропонується, є спосіб запліднення яйцеклітини ссавців поза організмом, що пришвидшує момент спільного інкубування гамет, шляхом суміщення процесу активної міграції сперматозоїдів у вищі шари середовища та спільного інкубування їх з яйцеклітиною.

Задачу вирішують за рахунок того, що, у заявленому способі запліднення яйцеклітини ссавців поза організмом, процес селекції сперматозоїдів та процес спільного інкубування сперматозоїдів та яйцеклітини проводять одночасно, шляхом уведення яйцеклітини в зону очікуваної появи активно мігруючих сперматозоїдів.

Технічним результатом запропонованого способу запліднення яйцеклітини ссавців поза організмом є скорочення одногодинного відрізка часу дня інкубування сперматозоїдів окремо від яйцеклітини та уникнення необхідності відбору сперматозоїдів, що мігрували у вищі шари середовища, та перенесення їх у посудину з яйцеклітиною.

Запропонований спосіб застосовують так. Із свіжо одержаної сперми відбирають зразок об'ємом три мілілітри. Сперматозоїди відмивають від плазми шляхом центрифугування та заміни надосадової рідини на свіже середовище. Процедуру центрифугування проводять при швидкості обертання ротора 600 X g протягом п'яти хвилин. Таке відмивання проводять тричі. Після заключного відмивання зі спермального осаду відбирають 0,3 мл суспензії та переносять на дно інкубаційного флакону. Зверху цієї сперми дуже обережно нашаровують півтора мілілітри спеціального середовища так, щоб не відбулося змішування цих двох середовищ. Після цього в шар середовища вводять яйцеклітину, яка сама перебуває в середовищі для запліднення, на таку глибину, щоб яйцеклітина знаходилася над суспензією сперматозоїдів. Дат інкубаційний флакон помішають у зволоженій ексікатор та інкубують у термостаті при 38°C на протязі чотирьох годин. Впродовж інкубування найбільш активні сперматозоїди мігрують у вищі шари середовища, де знаходиться яйцеклітина, та запліднюють її.

Таким чином використання способу, що заявляється забезпечує можливість його промислового застосування.

Джерела інформації:

1. Swain, J.E., Borman, C.L., Krisher, R.J., 2001. Development and viability of in vitro derived porcine blastocysts cultured in NCSU23 and G1.2/G2.2 sequential medium. *Theriogenology*, 56, 459-469.
2. Rho, G.J., Hahnel, A.C., Betteridge, K.J., 2001. Comparisons of oocyte maturation times and of the effects on the production of goat embryos in vitro. *Theriogenology*, 56, 503-516.