

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0196**

Etablovanie techník kryouchovania ovariálneho tkaniva hovädzieho dobytká pre účely génovej banky

Zodpovedný riešiteľ **Ing. Alexander Makarevič, DrSc.**

Príjemca **Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum (NPPC) - Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra;
Ústav biochémie a genetiky živočíchov (ÚBGŽ), organizačná zložka Centra biovied SAV, Bratislava

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Biotechnologický ústav Akadémie vied Českej republiky (BIOCEV), Vestec, ČR
Fakulta agrobiológie, potravinových a prírodných zdrojov, Česká zemědělská univerzita v Praze (ČZU), Praha, ČR

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

neboli

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Makarevič A.V., Olexiková L., Foldešiova M., Pivko J., Kubovičová E. Ooplasm cryopreservation: ovarian fragments versus oocytes alone. The 6th Int. Sci. Conf. Animal Biotechnology 2018. Slovak J. Anim Sci., vol. 51 (4), 2018, pp. 156-160.
2. Jankovičová J., Sečová P., Maňásková-Postlerová P., Šimoník O., Frolíková M., Chmelíková E., Horovská L., Michalková K., Dvořáková-Hortová K., Antalíková J. Detection of CD9 and CD81 tetraspanins in bovine and porcine oocytes and embryos. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 123, 2019, pp. 931-938. ISSN 0141-8130.
3. Olexiková L., Dujíčková L., Kubovičová L., Pivko J., Chrenek P., Makarevič A.V. Development and ultrastructure of bovine matured oocytes vitrified using electron microscopy grids. Theriogenology, vol. 158, 2020, pp. 258-266.
4. Dujíčková L., Makarevič A.V., Olexiková L., Kubovičová E., Strejček F. Methodological approaches for vitrification of bovine oocytes. Zygote, 2020, Sep 4:1-11. doi: 10.1017/S0967199420000465. Online ahead of print.
5. Jankovičová J., Neuerová Z., Sečová P., Bartóková M., Bubeníčková F., Komrsková K., Postlerová P., Antalíková J. Tetraspanins in mammalian reproduction: spermatozoa, oocytes and embryos. Medical Microbiology and Immunology, vol. 209 (4), 2020, pp. 407-425.

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky riešenia projektu môžu byť uplatnené pri realizácii programov ochrany biodiverzity živočíchov, pri tvorbe génovej banky živočíšnych genetických zdrojov, v laboratóriách zaoberajúcich sa tvorbou embryí in vitro z kryokonzervovaných vajíčok (gamét) živočíchov.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Dosiahli sme pomerne vysokú efektivitu produkcie kvalitných blastocýst po kryokonzervácii maturovaných oocytov hovädzieho dobytku. Aj keď je na základe ultraštruktúrálnej analýzy zrejmé, že oocyty boli ovplyvnené procesmi vitrifikácie a rozmrazovania, rozsah kryopoškodení bol nižší, ako sa predtým uvádzalo v dostupnej svetovej literatúre. To sme potvrdili aj v našej štúdií zlepšeným vývojom oocytov po in vitro oplodnení (IVF) v porovnaní s predchádzajúcimi publikovanými výsledkami na boviných oocytoch. Zvolená metodika, spočívajúca v použití techniky ultra-rychlej vitrifikácie maturovaných oocytov na elektron-mikroskopických sieťkach vyzerá byť sľubná a pravdepodobne môže byť použitá na kryokonzerváciu oocytov dobytku pre vytvorenie banky živočíšnych genetických zdrojov. Avšak ďalšie zlepšenie v tejto oblasti je stále predmetom výskumu. Okrem toho, popísali sme lokalizáciu viacerých tetraspanínov na oocytoch. Podrobná analýza zmeny expresie a lokalizácie týchto molekúl počas maturácie oocytov a v procesoch súvisiacich s oplodnením a ďalším vývojom gamét môže významne prispieť k pochopeniu fertilizácie na molekulárnej úrovni, najmä v súvislosti s tetraspanínovým charakterom CD9 a CD81, ich schopnosti interagovať s inými membránovými molekulami ako aj s cytoskeletom oocytu. Na základe lokalizácie oboch tetraspanínov na plazmatickej membráne oocytu a modelu homologickej, prípadne heterologickej siete interakcií CD9 a CD81 vytvoreného na podklade dát získaných analýzou ľudských aj býčích spermií predpokladáme, že sú súčasťou komplexnej siete, v rámci ktorej sa podieľajú na reorganizácii a zakrivení membrány, čím sprostredkovávajú proteín-proteínovú interakciu nevyhnutnú pre úspešné oplodnenie.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

We achieved a relatively high efficiency of of quality blastocyst production after cryopreservation of mature bovine oocytes. Although the ultrastructural analysis shows that the oocytes were affected by vitrification and thawing processes, the extent of cryodamages was lower than previously reported in the available world-wide literature. We have also proved this in our study by improved oocyte development after in vitro fertilization (IVF) compared to previously published results on bovine oocytes. The chosen methodology, based on the use of the technique of ultra-rapid vitrification of mature oocytes on electron microscopic grids, seems to be promising and can probably be used for cryopreservation of cattle oocytes to create a bank of animal genetic resources. However, further improvements in this area are still the subject of future research. In addition, we have described the localization of several tetraspanins on oocytes. Detailed analysis of the change in expression and localization of these molecules during oocyte maturation and in processes related to fertilization and further gamete development can significantly contribute to understanding fertilization at the molecular level, especially in relation to the tetraspanine nature of CD9 and CD81, their ability to interact with other membrane molecules as well as with the cytoskeleton of the oocyte. Based on the localization of both tetraspanins on the plasma membrane of the oocyte and the model of homologous or heterologous network of interactions of CD9 and CD81, created on the basis of data obtained by analysis of human and bovine sperm, we assume that they are part of a complex network, in which they participate in the membrane reorganization and curvature, thereby mediating the protein-protein interaction necessary for successful fertilization.