

Předchozí techniky enukleace byly nepřesné a časově náročné. Často se využívala barvení jaderné DNA pomocí Hoechstu, přičemž je barvivo pro oocyt jedovaté a má vliv na jeho další vývoj. Chemická enukleace je metoda, která usnadní vznik cytoplasm ve větším množství a v kratším čase. Budoucnost chemické enukleace se nachází na poli biotechnologického, a to zejména v oblasti jaderného přenosu (terapeutické, reprodukční klonování). Chemická enukleace byla úspěšně provedena u několika modelových zvířat: myš, ovce, skot. Avšak u prasat je tato technika stále vylepšována, vzhledem k podobnosti s člověkem, kde by se měla později uplatnit. Bylo zjištěno, že u každého druhu působí stejné chemikálie jiným způsobem na oocyt a tudíž je nutné zkoumat každý druh zvlášť. Proto byly hledány chemické látky působící na prasečí oocyty, tak aby došlo k vytvoření výstupku obsahujícího chromozomy (protrusion). Jako nejvhodnější pro chemickou enukleaci jsme stanovili demekolcin v koncentraci 0,4 µg/ml a doba působení 30 minut (který zastavuje polymeraci tubulinu). Dale cytochalasin B v koncentraci 7,5 µg/ml a doba působení 10 minut. Úspěšný vznik výstupku obsahujícího chromozomy (protrusion) koreluje s kvalitou oocytů.

Dále jsme se zaměřili na distribuci mitochondrií po fúzi enukleovaného a neenukleovaného oocytu. Rovnoměrnou distribuci mitochondrií 12 hodin po fúzi jsme pozorovali u 13% případů, naopak nerovnoměrná distribuce se vyskytovala v 87% případech. K výraznější změně distribuce mitochondrií nedošlo ani po elektrické aktivaci oocytu. Značení cytoskeletálních komponent ukázalo, že při vytvoření výstupku (tzv. protrusion) se díky působení demekolcinu a cytochalasinu B, chromozomy dostanou do větší blízkosti (zkrácení mikrotubulárních vláken dělicího vřetenka) a fibrilární aktin se koncentruje v oblasti výstupku. U fuzantů dochází 12 hodin po fúzi k téměř kompletní obnově cytoskeletu. Oocyty ošetřené demekolcinem jsou použitelné pro přípravu embryí pomocí metody přenosu jader.