

скота. Следует отметить, что в исследованной выборке выявлено 25 вариантов гетерозиготных генотипов у животных джерсейской породы (92,3% общего числа генотипов). Одной из причин такого уровня гетерозиготности, по нашему мнению, является полиморфность гемоглобинового локуса, в то время как другие породы по данному локусу почти мономорфны.

*Национальный институт животноводства и ветеринарии  
(Республика Молдова)*

УДК 636.92:636.22/28:57.08

Ю.М. КОСЕНЮК

### **ВИГОТОВЛЕННЯ МІКРОІНСТРУМЕНТІВ ДЛЯ ПЕРЕСАДКИ ЯДЕР ЕМБРІОНІВ ССАВЦІВ В ЕНУКЛЕЙОВАНІ ООЦИТИ\***

Відомо, що ефективність пересадок ядер в енуклеювані ооцити до 50% залежить від якості виготовлення мікроінструментів. Тому на першому етапі нами було освоєно методику виготовлення мікроінструментів на мікрокузні типу «МК».

Мікроінструменти виготовлялися з капілярів довжиною 100 мм, зовнішнім діаметром 1,5 та внутрішнім 1,2 мм, із молібденового скла, температура плавлення 560° С та із скла пірекс, температура плавлення 800° С. Завдяки легкоплавкості молібденове скло легше піддавалося обробці, ніж тугоплавке скло пірекс.

Початковим етапом виготовлення інструментів було витягування та формування перетяжок, діаметр яких залежав від типу мікроінструмента.

Для енуклеації ооцитів та пересадки ядер зародків великої рогатої худоби в цитопласти нами було виготовлено такі мікроінструменти:

1) утримуючі піпетки з внутрішнім діаметром на виході 10–20 мкм для фіксації ооцитів та ембріонів;

2) піпетки для енуклеації та пересадки ядер в оопласти із зовнішнім діаметром 25–30 мкм. Для виготовлення піпеток цю-

---

\* Науковий керівник канд. біол. наук В.Є. Кузнєцов

го типу із скошеним кінцем проводили заточку торця перетяжок на валу електродвигуна за допомогою водяного охолодження під кутом  $30^\circ$ ;

3) скляні мікроголки для розсічення прозорої оболонки яйцеклітин-реципієнтів.

Важлива роль у методиці пересадки ядер належить енуклеації яйцеклітин, істотним моментом якої є виявлення першого полярного тільця. Це пов'язане з тим, що як цитопласти використовуються енуклеювані ооцити, які дозріли до метафази II. А саме перше полярне тільце і є показником дозрівання ооцитів до цієї стадії. Крім того, перше полярне тільце є маркером місця знаходження метафазної пластинки. Тому при енуклеації всмоктують у кінчик піпетки полярне тільце з суміжною ділянкою ооплазми, в якій має знаходитися мейотичне веретено. Виходячи з цього, істотним моментом є визначення часу виділення першого полярного тільця найбільшою кількістю ооцитів, але при цьому слід враховувати, що перше полярне тільце через деякий час починає дегенерувати і тому стає непридатним для використання як маркера розташування мейотичного веретена, до того ж перше полярне тіло з часом може розділитись на два тільця, що також ускладнює можливість використання цього показника для енуклеації клітин.

У зв'язку із цим метою наших досліджень було вивчення динаміки дозрівання ооцитів до метафази II за показником «виділення морфологічно нормального першого полярного тільця».

У попередніх експериментах нами були відпрацьовані метод звільнення ооцитів корів, дозрілих *in vitro*, від клітин кумулюсу шляхом піпетування та методика візуалізації першого полярного тільця у перівітеліновому просторі ооцита під мікроскопом. Нами не встановлено різниці у частоті виділення ооцитами добре помітного першого полярного тільця (без морфологічних ознак дегенерації) через 20 (81,5%, 44/54) та 22 (88%, 44/50) годин дозрівання яйцеклітин *in vitro* ( $P > 0,05$ ). Проте через 18 годин культивування лише 62,6% яйцеклітин (52/83) мали полярне тільце ( $P < 0,05$  і  $P < 0,01$  відповідно)

*Інститут розведення і генетики тварин УААН*