

О.І. ГАДЖІВ*

**ЕНУКЛЕАЦІЯ ООЦИТІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ,
ЯКІ ДОЗРІЛИ *IN VITRO* ДО МЕТАФАЗИ II**

Основною метою клонування сільськогосподарських тварин методом ядерних пересадок є отримання більшої кількості генетично ідентичних потомків. Енуклеація яйцеклітин-реципієнтів відноситься до важливого і одного з найбільш трудомістких етапів клонування.

Існують різні способи енуклеації яйцеклітин ссавців: за допомогою ультрафіолетового опромінення, центрифугування (Wagoner E.J. et al., 1996), хімічний (Mahboubi A. et al., 1994) та найбільш поширений мікрохірургічний (Stice S.L. et al., 1994; Mohamed Nour M.S., Takahashi Y., 1999; Skrzyszowska M., Smogag Z., 1999). Суть мікрохірургічного методу полягає у видаленні хромосомного матеріалу клітини за допомогою скляних мікроінструментів.

Відомо, що цитоплазма яйцеклітин сільськогосподарських тварин, зокрема корів, не прозора завдяки наявності великої кількості ліпідних гранул, і це є основною перешкодою енуклеації ооцитів. Під час енуклеації ооцитів, що дозріли до стадії метафази II мейозу, перше полярне тільце є показником перебування їх на цій стадії. Крім того, воно є маркером місця розташування метафазної пластинки. Тому під час енуклеації мікрохірургічним способом видаляють перше полярне тільце і суміжну з ним ділянку цитоплазми з мейотичним веретенем.

Перед маніпуляціями ооцити обробляють розчином цитохалазину В, який руйнує актинові мікрофіламенти і клітини стають більш пластичними. При видаленні метафазної пластинки ооцити фіксуються утримуючою мікропіпеткою ліycopодібно-

*Науковий керівник — доктор біологічних наук В.С. Кузнецов.

го типу. Скляною мікроголкою робиться розріз прозорої оболонки клітин. Загострену мікропіпетку діаметром 25 мкм вводять через розріз у перивітелиновий простір ооцитів, не пошкоджуючи плазматичну мембрану і створюють від'ємний тиск. Перше полярне тільце і суміжна з ним ділянка цитоплазми з метафазною пластинкою всмоктуються в піпетку.

У наших попередніх дослідженнях цитогенетичний аналіз препаратів передбачуваних цитопластів, отриманих із ооцитів корів після дозрівання *in vitro* протягом 20—22 год., показав, що ефективність видалення хромосомного матеріалу ооцитів становить 66% (33/50).

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.2:591.453.5

О.Є. ГУЗЕВАТИЙ, П.А. ТРОЦЬКИЙ

КРІОКОНСЕРВУВАННЯ ООЦИТІВ КОРІВ З РІЗНИМ КУМУЛЮСОМ

Наукові розробки І.В. Смирнова, якого фахівці по праву вважають піонером методу глибокого заморожування статевих клітин плідників сільськогосподарських тварин, дали не тільки можливість вирішити проблему глибокого заморожування сперми плідників сільськогосподарських тварин, а й стали підґрунтям для розробок нових методичних підходів кріоконсервування репродуктивних клітин і ембріонів ссавців. Перші спроби заморозити гамети самиць були проведені А.У. Smith у 1952 р., проте з 600 яйцеклітин кролиць лише декілька не мали порушень після розморожування. Нині впевнено можна констатувати лише про успішне заморожування ооцитів лабораторних тварин (мишей, хом'яків), але є певні здобутки й при заморожуванні ооцитів інших видів ссавців, а саме овець, великої рогатої худоби і людини.

© О.Є. Гузеватий, П.А. Троцький, 2001

Розведення і генетика тварин. 2001. Вип. 34