

ПРИГОТУВАННЯ СУХОПОВІТРЯНИХ ПРЕПАРАТІВ ЕНУКЛЕЙОВАНИХ ООЦИТІВ КОРІВ

Повне видалення хромосомного матеріалу з ооцитів-реципієнтів із збереженням життєздатності клітин в експериментах з клонування ембріонів свавців методом пересадки ядер є одним із складних і важливих етапів. При енуклеації ооцитів видаляють перше полярне тільце і суміжну частину цитоплазми, де знаходиться метафазна пластинка. Однак на відміну від деяких лабораторних тварин, цитоплазма ооцитів корів непрозора і тому при звичайній світловій мікроскопії неможливо візуалізувати хромосомний матеріал під час проведення енуклеації (Robl J.M., 1999).

Для перевірки ефективності енуклеації ооцитів корів, які дозріли *in vitro* до метафази II, готували сухоповітряні препарати енуклейованих ооцитів за модифікованою нами методикою Тарковського (Tarkowski A.K., 1966), яка розроблена для інтактних яйцеклітин мишей. Особливість фіксації оопластів полягає у тому, що у них прозора оболонка має невеликий розмір.

Для приготування сухоповітряних препаратів енуклейованих ооцитів корів використовували 0,9%-й гіпотонічний розчин цитрату натрію. Після одноступінчастої експозиції в гіпотонічному розчині оопласт піпеткою з невеликою кількістю гіпотонії переносили на предметне скло, де його фіксували сумішшю льодяної оцтової кислоти і метанолу у співвідношенні 1:1. Препарати фарбували 2%-м розчином барвника Гімза та аналізували під світловим мікроскопом. Такий період перебування дозрілих ооцитів корів після енуклеації в гіпотонічному розчині забезпечував достатнє розбухання клітини без передчасного розривання оолеми, а нанесення фіксатора зверху да-

*Науковий керівник — доктор біологічних наук Б.Є. Кузнецов.

ло змогу тримати досить виразні пластинки хромосом на стадії метафази II мейозу. Частка ооцитів корів, в яких вони залишилися після енуклеації становила 30% (9/30). Таким чином, ефективність енуклеації дозрілих ооцитів корів у наших дослідах сягала 70% (21/30).

Виходячи з отриманих нами даних, можна зробити висновок, що дана методика забезпечує досить точний аналіз препаратів передбачуваних оопластів і може бути використана для з'ясування ефективності способів енуклеації ооцитів.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 632.2 : 591.3

В.Є. КУЗНЕЦОВ, І.Б. КУЗНЕЦОВА, С.І. КОВТУН

ДИФЕРЕНЦІЙНЕ С-ЗАБАРВЛЕННЯ ХРОМОСОМ ООЦИТІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

С-сегментація хромосом обумовлена диференційною денатурацією і ренатурацією блоків ДНК, які утворюють гетерохроматинові участки. У результаті більш щільної упаковки в цих участках ДНК є більш стійкою до денатурації і тому забарвлюється барвником Гімза інтенсивніше, тобто С-сегментація пов'язана із екстракцією ДНК (у процесі обробки препаратів) із слабозабарвлюваних частинок хромосом (Макгрегор Г., Варли Дж., 1986). За допомогою С-методу можна не тільки виявити структурно-морфологічні особливості хромосом, але і з'ясувати характер і функціонування окремих частинок хромосом. У результаті проведених експериментів нами показана можливість одержання придатних для цитогенетичного аналізу диференційно С-забарвлених мейотичних хромосом ооцитів корів, що дозрівали *in vitro*. Доведено, що хромосоми ооцитів корів на різних стадіях мейозу потребують неод-

© В.Є. Кузнецов, І.Б. Кузнецова, С.І. Ковтун, 2001

Розведення і генетика тварин. 2001. Вип. 34