

ЗНАЧЕННЯ СИНХРОНІЗАЦІЇ КЛІТИННИХ ЦИКЛІВ У КЛОНУВАННІ В ССАВЦІВ МЕТОДОМ ПЕРЕСАДКИ ЯДЕР

Експерименти показали, що G1-ядра ембріонів та ЕС-клітин (P. Loi e.a., 1994; S.L. Stice e.a., 1996), а також донорські клітини ембріонів на мітозній стадії (O.Y. Kwon, T. Kono, 1996) є найбільш придатними для пересадки в енуклеювані дозрілі ооцити, ядра ED-клітин та соматичних клітин краще пересаджувати в фазі спокою (G0-фазі) (K.H.S. Campbell e.a., 1996; C. Stewart, 1997). Недиплоїдні (4с) S- та G2-ядра клітин-донорів є несумісними з диплоїдними ооцитами-реципієнтами на метафазі II (C. Stewart, 1997). Так, невдовзі після пересадки інтерфазного ядра в енуклеюваний ооцит, що дозрів до метафазі II, відбуваються руйнування ядерної оболонки і передчасна конденсація хроматину, що може привести до фрагментації хромосом. Крім пошкоджень хромосом додатковим фактором, який впливає на розвиток реконструйованих ембріонів, може бути вміст ДНК.

Тривалість G1-фази в ранніх ембріонах є дуже короткою (більшість ядер ранніх ембріонів овець і великої рогатої худоби знаходиться в S-фазі), тому важливо зупинити клітинний цикл бластомерів одразу після телофази. Для цього можна використати цитоскелетний інгібітор нокодазол. Він сприяє зупиненню клітинного циклу бластомерів ранніх ембріонів на метафазі, зумовлюючи деполімеризацію мікротрубочок.

Іншим підходом до синхронізації стадій клітинних циклів каріопласта і цитопласта є пересадка ядер у цитопласти після зниження активності фактора, який сприяє дозріванню ооцитів (MPF, maturation promoting factor). Зниження активності MPF можна, зокрема, досягти преактивацією реципієнтної цитоплазми до злиття з бластомером. Однак низький рівень MPF — не єдиний фактор, що забезпечує правильне перепрограмування ядер. Як було виявлено в досліджах із застосуванням зигот-реципієнтів, існують також інші невідомі фактори, які тісно пов'язані з пронуклеусами і видаляються разом з ними при енуклеації.

Використання попередньо активованих оопластів як реципієн-

© В.Є. Кузнецов, 1999

тів для пересадок ядер давало змогу уникнути порушень ДНК і підтримувало нормальну плідність, коли донорські ядра знаходились на G1-, S- або G2-фазі клітинного циклу, що допомогло отримати клони нащадків у різних видів тварин з несинхронізованих за циклом клітин. Тому такі ооцити назвали «універсальними реципієнтами» (K.H.S. Campbell et al., 1996).

Але при множинному клонуванні значно кращі результати були одержані, якщо клітини-донори були синхронізовані за циклом.

Аналіз даних останніх праць щодо ефективності пересадки ядер ссавців у цитопласти свідчить про те, що пізня G2/M/, рання G1, а також G0-фази клітинного циклу мають кращу здатність до перепрограмування хроматину ядра донорських клітин різного походження, що, зокрема, пов'язано з тим, що під час цих фаз із хроматину звільняються певні фактори і, тим самим, полегшується доступ до хроматину ядра факторів ооцитарного походження (K.H.S. Campbell, I. Wilmut, 1997).

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 591.39:636.2

В.Є. КУЗНЕЦОВ

ПІДВИЩЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО ПРОГРЕСУ В МОЛОЧНОМУ СКОТАРСТВІ ПРИ ВИКОРИСТАННІ МЕТОДИКИ ОТРИМАННЯ ЕМБРІОНІВ IN VITRO

Біотехнологічні методи розмноження значно підвищують ефективність генетичного прогресу в тваринництві. Великий інтерес у цьому відношенні являє методика вилучення незрілих ооцитів з яєчників живих генетично цінних корів і телиць (ovum pick-up — OPU). Нами показано, що запліднення in vitro OPU-ооцитів та культивування ранніх зародків поза організмом дає змогу отримати морули і бластоцисти великої рогатої худоби майже з тією ж частотою, що й для ооцитів, вилучених з яєчників забитих тварин (Smorag, Gogol, Kuznetsov, *Biotechnologia*, 1998, 2(41), 153–160).

У скотарстві очікуваний щорічний генетичний прогрес у популяції завдяки селекції батьків бугаїв, батьків корів, матерів

© В.Є. Кузнцов, 1999

Розведення і генетика тварин. 1999. Вип. 31 – 32