

індексу – від  $1,74 \pm 0,22$  до  $8,0 \pm 5,26$  ‰. Частота метафаз з ануеполюдією – від  $4,23 \pm 1,28$  до  $17,8 \pm 9,22$  %, з асинхронністю розщеплення центромірних районів хроматид – від 1,3 до  $3,82 \pm 1,14$  %, з поліплодією – від 0 до  $1,25 \pm 0,78$ , із хромосомними абераціями – від  $1,18 \pm 0,73$  до  $5,3 \pm 4,82$  %.

Таким чином, цитогенетичний аналіз, як невід’ємна складова в програмах оцінки цінності племінного молодняку, дає можливість не тільки виявляти тварин-носіїв конститутивних порушень, а і прогнозувати їх продуктивні якості.

УДК 636.2.082

## БІОПСІЯ ЗАРОДКІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

*Д. М. Басовський*

*Інститут розведення і генетики тварин НААН*

Складовою частиною різних сучасних біотехнологічних методів, що широко використовуються у селекційному процесі при збереженні та раціональному використанні генетичних ресурсів, є біопсія ембріонів. Технологія одержання зародків великої рогатої худоби з відомою статтю включає у себе одержання *in vivo* або *in vitro* зародків, їх біопсію та ідентифікацію статі методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Одним з необхідних елементів передімплатаційної генетичної діагностики є біопсія ембріонів. За допомогою біопсії ембріонів можливим є зажиттєве виявлення хромосомних аномалій у доімплатаційних зародків, наприклад, робертсонівської транслокації 1/29 у великої рогатої худоби. Ця транслокація не впливає на фенотип тварин, що сприяє її поширенню у популяціях різних порід. Але у цьому випадку часто трапляються порушення мейозу, внаслідок чого збільшується рівень ранньої ембріональної смертності. Аналіз біоптату методом ПЛР дає можливість виявляти у ембріонів різні мутації, що викликають генетичні захворювання (BLAD, CVM, DAMPS та ін. ). За допомогою методу ПЛР також можна генотипувати біоптовані ембріони за генами, що відповідають за прояв бажаних кількісних ознак (QTL) або зчеплених з ними. В зв’язку з низьким рівнем інтеграції генноінженерних конструкцій при одержанні трансгенних тварин виникає проблема ідентифікації зародків, що мають інтегровану чужорідну ДНК. За допомогою біопсії зародків та аналізу біоптату методом ПЛР є можливість визначити трансгенні ембріони перед трансплантацією. Таким чином, біопсія ембріонів дає змогу проводити генетичний аналіз на доімплатаційних стадіях розвитку. За результатами генетичного аналізу можна проводити ембріональну селекцію перед трансплантацією зародків.

Метою роботи було розроблення методу біопсії зародків великої рогатої худоби на доімплатаційних стадіях розвитку.

Мікроінструменти виготовляли на мікрокузні (МК, МЕ-4), як описано В. А. Нікітіним. Біопсію доімплантаційних ембріонів великої рогатої худоби проводили за допомогою мікрохірургічних методів. Мікрохірургічні маніпуляції здійснювали на мікроманіпуляторі. Перед мікроманіпуляціями, для дезагрегації бластомерів, ембріони поміщали у середовище ФСБ без іонів  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Mg}^{2+}$ . При біопсії пізніх морул та ранніх бластоцист мікроголкою робили розріз прозорої оболонки. В розріз вставляли мікропіпетку і повільно всмоктували декілька бластомерів. Біопсію пізніх бластоцист проводили на тій стадії розвитку ембріону, коли чітко відрізняються трофоектодерма (ТЕ) та внутрішньоклітинна маса (ВКМ). Мікроголкою проколювали прозору оболонку ембріона у місці, протилежному розташуванню ВКМ та відрізали частину ТЕ (10–50 клітин) разом з шматочком прозорої оболонки. В усіх випадках біопсію проводили у середовищі ФСБ з 10 % фетальною сироваткою. Після мікроманіпуляцій біоптовані ембріони культивували декілька годин у середовищі ФСБ з 10 % фетальною сироваткою (ембріони одержані *in vivo*) або середовищі 199 з 10 % фетальною сироваткою (*in vitro*). Після чого оцінювали їх придатність до трансплантації реципієнтам.

Існує багато переваг визначення статі ембріону на стадії бластоцисти. По-перше, порушення прозорої оболонки на цієї стадії розвитку позитивно впливає на подальший розвиток ембріону. По-друге, на стадії бластоцисти починається диференціювання клітин ембріону на трофоектодерму (ТЕ) та внутрішньоклітинну масу (ВКМ). Клітини ТЕ не приймають участь у розвитку ембріону після імплантації, тому зменшення їх кількості на 10–50 клітин у бластоцисті не впливає на імплантацію та подальший розвиток (особливо при пересадці декількох ембріонів одному реципієнту). Було проведено біопсію 7–8-денних бластоцист одержаних *in vivo* (n=8) та *in vitro* (n=11). Усі ембріони (n=19) відновили бластоцель після 1 години культивування.

Таким чином, розроблена методика біопсії бластоцист великої рогатої худоби, що дає можливість проводити генетичний аналіз на доімплантаційних стадіях розвитку. Мікроманіпуляції не впливають на подальший розвиток бластоцист. По результатам генетичного аналізу є можливість проводити ембріональну селекцію перед трансплантацією зародків. Використання такої технології значно прискорить темпи генетичного прогресу та скоротить затрати на селекцію.