

Національний університет біоресурсів і
природокористування України

Біотехнологія у тваринництві

Методичні вказівки

та завдання для контрольних робіт
студентам заочної форми навчання
освітньо - кваліфікаційного рівня 6.130200 – „Бакалавр”
із спеціальності „Технологія виробництва та переробки
продукції тваринництва”

Передмова

Біотехнологія у тваринництві базується на сучасних досягненнях біологічної науки, розробляє методи, способи та технології отримання статевих клітин, ембріонів, біологічно активних речовин, кормів і продуктів тваринного походження, удосконалює та розробляє нові способи відтворення тварин та цінних генотипів.

Знання і використання біотехнологічних методів прискорює розмноження та удосконалення існуючих порід сільськогосподарських тварин.

Після засвоєння усього курсу студент повинен знати: анатомо-топографічні особливості будови статевої системи самців та самок сільськогосподарських тварин, основи нейрогуморальної регуляції процесів відтворення тварин. Вміти: отримати гамети та зародки, їх кріоконсервувати; отримувати гомозиготних та гетерозиготних близнят, химерних, генетичномодифікованих (трансгенних) та клонованих методом пересадки ядер тварин для потреб сільськогосподарської галузі.

МЕТОДИЧНІ ПОРАДИ ДО ВИКОНАННЯ КОНТРОЛЬНОЇ РОБОТИ

Відповідно до навчального плану з дисципліни „Біотехнологія у тваринництві” студентами заочного відділення спеціальності „Технологія виробництва та переробки продукції тваринництва”.

Виконувати контрольну роботу доцільно тільки після ґрунтовного ознайомлення з матеріалом, який передбачено програмою, використовуючи рекомендовані підручники та допоміжну літературу. Відповіді на поставлені питання мають бути чіткими, але повноцінними і відповідати сучасному стану розвитку біотехнології відтворення сільськогосподарських тварин.

Питання контрольної роботи встановлюються індивідуально за таблицею 1. Варіант визначається за двома останніми цифрами. Наприклад, якщо останні цифри залікової книжки 45, то для визначення номерів питань контрольної роботи по горизонталі в таблиці знаходимо цифру – 5, а по вертикалі – 4. На місці перетину граф цих цифр у клітинці вказані номери питань 24, 2, 54, 78, 73.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Адамс Р.** Методы культуры клеток для биохимиков. – М.:Наука,1984.
2. **Альбертс Б., Брей Д.** и др Молекулярная биология клетки (в 3 т.). – М.: Мир, 1994
3. **Белоус А.М., Грищенко И., Паращук Ю.С.** Криоконсервация репродуктивных клеток. – К.: Наук. думка, 1986. – 25с.
4. **Богданов Г.О., Шеремета В.І., Поліщук В.П., Лакотош В.М., Опанасенко В.О.** Рекомендації щодо відбору та підготовки телиць-реципієнтів до трансплантації ембріонів К.: "Міжнародна фінансова агенція", 1997. – 12 с.
5. **Герасименко В.Г.** Биотехнология. – К.: Вища школа, 1989.– 343 с.
6. **Дыбан А.П.** Раннее развитие млекопитающих. – Л.: Наука, 1988. – 228 с.
- 7.**Завертяев Б.П.,** Биотехнология в воспроизводстве и селекции крупного рогатого скота. – Л.: Агропромиздат, 1989. – 255 с.
8. **Квасницкий А.В., Мартышенко Н.А., Близнюченко А.Г.** Трансплан-тация эмбрионов и генетическая инженерия в животноводстве. – К.: Урожай, 1988. – С 260
9. **Коваленко В.П., Горбатенко І.Ю.** Біотехнологія у тваринництві й генетиці. – К.: Урожай, 1992. – 150 с.
10. **Осташко Ф.И.** Биотехнология воспроизведения крупного рогатого скота, – К.: Аграрна наука, 1995. – 183 с.
11. **Прокофьев М.И.** Регуляция размножения сельскохозяйственных животных. – Л.: Наука, 1983. – 263 с.
12. **Хантер Р.Х.Ф.** Физиология и технология воспроизводства домашних животных. – М.: Колос, 1984. – 320 с.
13. **Харута Г.Г.** Прогнозування відтворної функції корів. – Біла Церква: Білоцерківський державний аграрний університет, 1999. – 92 с.
14. **Шеремета В.І., Богданов Г.О.** Рекомендації щодо використання препарату лютеїнізуючого гормону "Овогон-Тіо" для стимуляції приживлення ембріонів у корів при штучному осіменінні // "Міжнародна фінансова агенція", 1997. – 7 с.
15. **Шеремета В.І., Богданов Г.О., Опанасенко В.О. Поліщук В.П.,** Рекомендації щодо стимуляції суперовуляції у корів-донорів

з використанням біологічно активних речовин К.: Товариство "Знання України", 1999. – 10 с.

16. **Яблонский В. А.** Трансплантация эмбрионов у сельскохозяйственных животных. – Кишинев, 1988. – 96 с.

17. Генетика селекция и биотехнология в скотоводстве /Под ред. М.В.Зубца, В.П.Бурката.: Раздел "Биотехнология в племенном скотоводстве (В.Е.Кузнецов) . –К., БМТ. –1997. – С 599 – 702.

18. Гормональная регуляция размножения у млекопитающих // Под ред. К. Остина, З.Шорта. – М.: Мир, 1987.

Вступ

Зміст курсу. Предмет і методи біотехнології відтворення тварин. Основні розділи біотехнології. Історія розвитку біотехнології відтворення. Еволюція розмноження тварин. Типи розмноження. Біологічні аспекти біотехнології відтворення тварин. Досягнення, напрямки та перспективи розвитку біотехнології відтворення в тваринництві.

Досягнення вітчизняних і зарубіжних учених у галузі біотехнології відтворення. Результати використання біотехнології в тваринництві.

Значення дисципліни та її місце серед інших зооветеринарних наук. Методи вивчення курсу.

Молекулярні основи оогенезу ссавців

Анатомо-топографічні особливості репродуктивної системи самок різних видів сільськогосподарських тварин. Морфологія матки. Гістологічна характеристика яєчників. Походження первинних статевих клітин самок (теорії: диференційовані соматичні клітини; рання сегрегація статевих клітин). Походження дефінітивних яйцеклітин. Особливості будови ооцитів різних видів ссавців.

Оогенез. Ядерні процеси в період оогенезу. Мейоз. Передовуляційні зміни в ядрах ооцитів. Синтез ДНК. Зміни ядерних структур в оогенезі. Цитоплазматичні процеси в період оогенезу. Мітохондрії. Органоїди цитоплазми. Апарат Гольджі. Біохімічні особливості росту ооцитів. Ліпіди ооцитів. Динаміка концентрації глікогену та мукополісахаридів в ооцит-кумуляюсних комплексах. Ферменти ооцитів і їх значення для розвитку ембріонів. Синтез білків та дозрівання цитоплазми ооцитів ссавців. Фактори цитоплазми, відповідальні за дозрівання ооцитів ссавців. Фактор дозрівання (МРР) та історія його відкриття. Структура та функції МРР. Білок СДС 2 та циклін, як складові компоненти МРР.

Регуляція розмноження у ссавців

Морфофункціональні особливості ендокринних залоз сільсько-господарських тварин. Роль нервової системи, епіфіза, гіпоталамуса, гіпофіза, яєчників, жовтого тіла, матки, плаценти, ембріона в регуляції відтворної функції. Фолікулогенез. Атрезія фолікулів. Взаємозв'язок ооцит-кумулюсних комплексів. Гормональні механізми дозрівання ооцитів ссавців. Морфофункціональні особливості овуляції. Лютеогенез. Типи жовтих тіл.

Запліднення в умовах *in vitro*. Оптимальний гормональний фон у період осіменіння корів. Підготовка яйцеклітини до запліднення. Роль яйцепроводу для запліднення і розвитку ембріонів. Нейрогуморальна регуляція статевого циклу у випадках приживлення та не приживлення ембріона. Нейрогуморальна регуляція статевого циклу різних видів тварин та корів з різним напрямком продуктивності в післяродовий період. Порушення статевої функції та способи її нормалізації.

Теоретичні та практичні основи кріобіології генеративних клітин

Теоретичні основи та практичні основи анабіозу генеративних клітин. Види анабіозу. Засоби забезпечення анабіозу генеративних клітин. Фізіолого-біохімічні властивості спермійв плідників, як об'єкта біотехнології відтворення тварин. Стан, перспективи та проблеми кріоконсервування сперми. Фактори, механізми і гіпотези кріоушкодження спермійв. Поняття кріозахист і кріостійкість та чинники, які їх забезпечують.

Використання в селекційних програмах методу трансплантації ембріонів (програма МОЕТ)

Історія розвитку методу. Інтенсифікація селекційного процесу. Етапи проведення методу. Схеми стимуляції та фактори, що впливають на ефективність суперовуляції у сільськогосподарських тварин. Стадії розвитку ембріонів, що можна вимити різними методами та їх морфологічна оцінка. Технологія отримання ембріонів. Приживлюваність ембріонів. Фактори, що сприяють приживлюваності ембріонів. Способи стимуляції приживлюваності ембріонів.

Зберігання ембріонів

Теоретичне та практичне значення. Короткочасове зберігання ембріонів. Тривале зберігання зародків. Теоретичні основи замороження гамет самиць та ембріонів. Кріопротектори. Прилади та методи кріоконсервування ембріонів та яйцеклітин. Відбір ембріонів та яйцеклітин для заморожування. Теоретичні основи розморожування гамет самиць і ембріонів. Методи оцінки життєздатності (морфологічний, цитогенетичний, вітальне забарвлення, культивування) після деконсервування.

Визначення та регуляція статей у ссавців

Народногосподарське значення. Поняття "регуляція" та визначення статі. Методи визначення статі у зародків (НУ-антиген, молекулярний зонд, цитогенетичний метод, полімеразна ланцюгова реакція, метод культивування бластомерів). Методи визначення гіпоспермій та андроспермій (імунологічний метод, центрифугування, флуоресцентний аналізатор, та ін.).

Культивування гамет самиць. Отримання зародків ссавців *in vitro* (програма IVP)

Методи отримання ооцитів. Стан культивування ооцитів (ооцити, ооцит-кумулюсні комплекси, фолікули). Параметри відбору ооцит-кумулюсних комплексів. Способи культивування. Вимоги до середовища для культивування. Дозрівання ядра та ооплазми. Фактори, що впливають на розвиток ооцитів. Зберігання гамет. Практичне та теоретичне значення для тваринництва культивування гамет та ембріонів *in vitro*. Історія культивування. Середовища для запліднення яйцеклітин та культивування ембріонів *in vitro*.

Запліднення *in vitro*

Коротка історія питання. Методи оцінки якості сперми сільськогосподарських тварин. Оцінка запліднювальної здатності спермій (НОР-тест, отримання ембріонів *in vitro*).

Гомологічна та гетерологічна пенетрація яйцеклітин. Каріотипування сперматозоїдів ссавців.

Методи запліднення. Умови запліднення для різних видів. Вимоги до середовищ. Капацитація – морфофункціональні зміни. Фактори стабілізації мембран сперміїв. Методи капацитації. Індукція капацитації. Акросомальна реакція. Вплив клітин розпущеного кумулюсу на запліднюваність яйцеклітин.

Культивування зигот і ембріонів *in vitro*

Обмін речовин ембріонів на різних стадіях розвитку. Вимоги до середовищ та умов культивування. Критичні періоди росту та розвитку ембріонів. Блок-стадія та шляхи її подолання. Способи та системи культивування. Фактори, що впливають на ефективність культивування (фактори росту, інтенсивність дроблення та ін.). Термін культивування.

Одержання клонів сільськогосподарських тварин

Поняття клон. Коротка історія питання. Теоретичне та практичне значення клонів. Методи отримання клонів. Мікрохірургічний поділ його переваги та обмеження. Отримання клонів тварин методом пересадки ядер. Поняття тотипотентності та плуріпотентності клітин. Клітини-донори ядер. Каріопласт та цитопласт. Соматичне та ядерне клонування. Енуклеація яйцеклітин та зигот. Методи проведення та прикладне значення дисоціації і злиття. Фактори, що впливають на ефективність отримання клонів (техніка проведення маніпуляцій, значення MPP, фази клітинного циклу, умови культивування).

Одержання химерних тварин

Теоретичне та практичне значення химер. Природні та штучні химери. Методи отримання химер (агрегаційний, ін'єкційний). Етапи отримання химер. Поняття агрегації та адгезії. Способи агрегації. Методи культивування химер. Міжвидові та міжпородні химери. Виявлення химеризму. Способи отримання внутрішньоклітинної маси бластоцист.

Отримання трансгенних тварин

Можливості використання трансгенних тварин. Методи введення чужорідної ДНК (ч ДНК). Метод ін'єкції чДНК у зиготу. Ін'єкція чДНК у зародковий міхурець незрілих ооцитів та ранні ембріони. Метод використання трансформованих стовбурових ембріональних клітин. Спермій - носій чДНК. Метод балістичної трансфекції. Фактори, що впливають на життєздатність модифікованих зигот та інтеграцію чДНК (мікрохірургічна техніка, середовище культивування, місце та час введення, форма чДНК).

Аномалії розвитку ембріонів та тварин отриманих методами клітинної та генної інженерії

Генетичні аномалії розвитку (анеуплодія, міксоплодія, поліплодія, гаплодія). Хромосомні порушення (делеція каріотипу за Y-хромосомою, транс-локації). Тератологічні аномалії. Епігенетичні аномалії. Фактори, що спричинюють виникнення аномалій розвитку.

Питання для виконання контрольної роботи

1. Морфологія морули та бластоцисти.
2. Що слід враховувати у донорів та реципієнтів при виконанні гормонограми суперовуляції використовуючи два простагландіна?
3. Статевий цикл та його феномени.
4. Морфофункціональні зміни при заплідненні яйцеклітини.
5. Гормональна регуляція статевого циклу.
6. Які органи і їх гормони беруть участь у регуляції статевого циклу?
7. Капацитація спермій та її біологічне значення.
8. Умови культивування ембріонів *in vitro*.
9. Методи отримання клонів тварин.
10. Ембріон не прижився, гормональні зміни.
11. Що таке рекомбінантне ДНК?
12. Плазмід та їх використання.
13. Що таке косміди?
14. Сайти рестрикції.
15. Властивості рестриктаз.
16. Що таке гіперваріабельні райони.
17. Що таке біфуркація, її значення для методу трансплантації.
18. Що таке фримартинізм?
19. Які гормони виробляє яєчник і їх дія?
20. Екзогенні та ендогенні фактори, що впливають на рівень суперовуляції.
21. Акрсомальна реакція і її біологічне значення.
22. Значення методу трансплантації ембріонів для тваринництва та біологічної науки.
23. Фази статевого циклу та морфофункціональні зміни в організмі самиці.
24. Вимоги до умов культивування ооцитів *in vitro*.
25. Гормональні зміни в організмі самки, якщо ембріон прижився?
26. Стимуляція суперовуляції та порядок і дози введення гормонів.
27. Методи отримання ооцитів.
28. Умови культивування ембріонів *in vitro*.
29. Морфологія морули та бластоцисти.
30. Геномна дактилоскопія.
31. Поліморфізм ДНК.
32. Що таке секвенування?
33. Агрегаційні химери.
34. Штучний партеногенез.

35. Регуляція співвідношення статей
36. Монозиготні та гетерозиготні двійнята.
37. Що таке химери?
38. Цитогенетичний метод визначення статі.
39. Етапи одержання ДНК.
40. Клітинна інженерія.
41. Де використовуються вектори, вимоги до них.
42. Способи отримання химер.
43. Одержання протопластів, каріопластів і цитопластів.
44. Оцінка якості (життєздатності) ембріонів.
45. Морфологічна оцінка ембріонів.
46. Одержання рекомбінантного соматропіну.
47. Клонування ембріонів.
48. Ідентифікація клітин в які потрапили плазмід.
49. Які ви знаєте вектора?
50. Носії для іmobilізації ферментів.
51. Простагландини та їх практичне використання.
52. Кріоконсервація ембріонів.
53. Використання гібридних клітин.
54. Методи іmobilізації ферментів.
55. Одержання рекомбінантного інтерферону.
56. Що таке липкі кіпці?
57. Для чого отримують ДНК?
58. Прогестерон та його значення для регуляції статевих циклу.
59. Який гормон продукує ембріон та його значення в регуляції статевих циклу.
60. Які ви знаєте катетери для вимивання ембріонів.
61. Отримання трансгенних тварин.
62. Лютенізуючий гормон та його значення в регуляції статевих циклу.
63. Що таке запліднюваність, приживлюваність ембріонів, яловість, неплідність, приживлення?
64. Методика ректальних досліджень корів - донорів.
65. Відбір та підготовка донорів до суперовуляції.
66. Методика ректальних досліджень телиць - реципієнтів.
67. Відбір та підготовка телиць - реципієнтів до пересадження ембріонів.
68. Методи оцінки придатності ембріонів до пересадження.
69. Методи визначення статі у ембріонів.

70. Історія розвитку методу трансплантації ембріонів.
71. Етапи методу трансплантації ембріонів.
72. Відбір донорів та реципієнтів.
73. Складіть гормонограму суперовуляції враховуючи нативну охоту донора.
74. Складіть гормонограму суперовуляції використовуючи два простогландини.
75. Методи отримання та пересадження ембріонів.
76. Методика не хірургічного вимивання ембріонів. Обладнання та реактиви.
77. Фактори, що впливають на розвиток ооцитів *in vitro*.
78. Біотехнологія імобілізованих ферментів.
79. Характеристика типів розмноження
80. Методи зберігання ембріонів.
81. Значення замороження ембріонів для тваринництва та біологічної науки.
82. Значення кріопротекторів при замороженні ембріонів.
83. Розморожування ембріонів. Відбір та оцінка ембріонів до замороження та після розмороження.
84. Підготовка ембріонів до замороження.
85. Короткочасне зберігання ембріонів.
86. Статева система корів у післяродовий період.
87. Гормональні препарати, що використовуються при стимуляції статевої охоти у самок сільськогосподарських тварин.
88. Для чого використовують у тваринництві аналоги простогландіну F_{2a}.
89. Стимуляція приживлення ембріонів у самок великої рогатої худоби.
90. Синхронізація статевої охоти у тварин та її практичне значення.

1.Номери питань контрольної роботи

Передос- тання цифра шифру книжки	Остання цифра шифру книжки									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	1,27,49, 79,56	13,40,41, 86,63	2,28,50, 78,57	9,39,42, 87,70	12,36,51, 80,69	3,29,43, 88,64	8,38,52, 82,59	4,30,44, 89,76	14,35,53, 81,60	5,31,54, 83,71
1	16,29,55, 77,68	6,34,46, 90,74	19,31,50, 78,67	7,36,45, 86,58	15,37,51, 83,73	8,33,49, 82,66	6,32,47, 87,61	9,40,52, 80,75	7,34,46, 90,72	10,32,48, 62,88
2	11,35,41, 86,65	17,38,53 82,62	12,28,42, 87,69	3,25,54, 84,66	13,37,43, 75,88	18,27,49, 84,67	14,34,44, 89,71	4,28,55, 85,61	15,38,45, 86,68	5,26,50, 83,76
3	16,31,46, 87,69	2,27,52, 82,65	17,40,47, 90,70	1,32,51, 63,79	18,39,48, 64,89	20,39,50, 84,72	19,32,53, 80,60	2,27,55, 77,64	20,39,49, 75,72	8,33,54, 78,65
4	21,9,49, 79,56	6,26,53, 81,74	22,1,50, 68,80	23,80,90, 48,57	4,32,51, 81,63	24,2,54, 78,73	12,29,52, 73,81	25,7,55, 77,58	26,3,53, 83,66	6,31,49, 77,90
5	19,30,49, 64,80	10,27,41, 89,55	2,21,47, 56,88	18,40,50, 78,63	9,26,46, 87,74	3,29,43, 90,62	17,28,42, 57,90	8,26,51, 75,82	18,36,48, 86,65	1,25,43, 77,76
6	1,31,41, 81,60	6,37,53, 83,73	20,34,49, 66,77	5,22,42, 59,89	19,33,50, 90,72	4,23,52, 58,77	7,35,45, 89,61	17,32,44, 86,67	6,27,51, 66,78	16,23,50, 83,59
7	9,34,47, 72,88	15,38,51, 68,78	8,32,46, 62,87	5,28,49, 83,86	11,39,45, 88,71	7,24,48, 64,89	3,33,54, 69,84	14,33,25, 70,86	8,34,52, 80,65	2,31,45, 68,87
8	11,37,54, 68,81	10,35,53, 71,79	5,36,46, 87,76	10,35,44, 70,90,	11,25,53, 80,75	4,29,44, 60,87	13,26,52, 73,79	4,32,54, 80,58	3,22,43, 88,67	9,39,42, 89,74
9	14,40,55, 82,64	20,39,48, 56,86	7,38,43, 88,42	12,36,55, 57,79	12,30,47, 86,70	12,21,41, 61,89	6,31,55, 81,68	15,37,48, 71,87	13,20,42, 88,63	16,38,49, 69,78

Зміст

Передмова.....	3
Методичні поради до виконання контрольної роботи.....	4
Список рекомендованої літератури.....	5
Вступ.....	6
1. Молекулярні основи оогенезу ссавців.....	6
2. Регуляція розмноження у ссавців.....	6
3. Теоретичні та практичні основи кріобіології генеративних клітин...7	
5. Використання в селекційних програмах методу трансплантації ембріонів (програма МОЕТ)	7
6. Зберігання ембріонів.....	7
7. Визначення та регуляція статей у ссавців.....	7
8. Отримання ембріонів ссавців <i>in vitro</i> (програма IVP). Культивування гамет самиць.....	8
9. Запліднення <i>in vitro</i>	8
10. Культивування зигот та ембріонів <i>in vitro</i>	8
11. Одержання клонів сільськогосподарських тварин.....	8
12. Одержання химерних тварин.....	9
13. Отримання трансгенних тварин.....	9
14. Аномалії розвитку ембріонів та тварин отриманих методами клітинної та генної інженерії.....	9
Питання для виконання контрольної роботи.....	10
Номери питань контрольної роботи.....	13