

V.ULUSAL REPRODÜKSİYON ve SUNİ TOHURLAMA KONGRESİ
01 – 04 Ekim 2009 / Elazığ
(Sözlü Bildiri Özet Formu)

BİLDİRİ SUNUCUSUNUN

Adı, Soyadı, Ünvanı :ARZU ÇAPUTÇU / ARAŞTIRMACI

Kurumu : TÜBİTAK MAM-GMBE

Adresi :TÜBİTAK MAM GMBE Merkez Bina Gebze Kocaeli 41470

e-mail :arzu.tas@mam.gov.tr

Telefon / Fax : 02626773361/05442367272 Fax:02626412309

Sığır Nükleer Transfer Çalışmalarında Hücre Tipi ve Senkronizasyonunun Embriyo Gelişimi Üzerine Etkisi

Arzu Taş Çaputçu, Sezen Arat, Tolga Akkoç, Gaye Çetinkaya, Haydar Bağış, Şakir Sekmen ,Erman Ateş, Deniz Soysal

TÜBİTAK MAM Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü Gebze Kocaeli
Marmara Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Bandırma Balıkesir
E-mail: sezen.arat@mam.gov.tr

Bu çalışmada; hücre tipinin ve senkronizasyonunun somatik hücre klonlanmasındaki etkisi araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan olgunlaşmamış sığır yumurtaları mezbahadan temin edilen yumurtalıkların üzerindeki folliküllerin aspire edilmesi ile elde edilmiş ve 18 saat maturasyonun ardından sitoplazma kaynağı olarak kullanılmıştır. Birinci çalışmada; Boz sığır ırkından elde edilen kıkırdak ve fibroblast hücreleri nükleus kaynağı olarak kullanılmıştır. Nükleer transfer (NT) öncesinde somatik hücrelerin %10 FCS içeren DMEM/F12 medyumunda kültüre edilerek konfluent (G0/G1) olması sağlanmıştır. Hücreler nükleusu alınmış yumurta hücrelerine transfer edildikten sonra -yumurta-hücre çiftleri Zimmerman medyumu içerisinde 133V/500 µm for 30 µs 1 atış ile füzyona tabi tutulmuşlardır. Füzyonu takiben NT çiftleri CaI (5µM 5 dak), cytochalasin D (2.5 µg/ml)- cycloheximide (CHX,10µg/ml) 1 saat ve CHX medyumunda 4 saat tutularak kimyasal aktivasyonları gerçekleştirilmiştir. İkinci çalışmada; Nükleus kaynağı olarak sadece kıkırdak hücreleri kullanılmıştır. NT öncesi hücrelerin bir kısmı %10 FCS içeren DMEM/F12 medyumunda konfluent olmaları sağlanmış (Grup 1) bir kısımda %10 FCS içeren DMEM/F12 medyumunda 24 saat boyunca 15 µM roscovitine ile senkronize edilmişlerdir (Grup2). Gruplar arasındaki blastosist gelişim oranları karşılaştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde birinci çalışmada hücre tipleri karşılaştırıldığında kıkırdak hücrelerinin (%26,8) fibroblast hücrelerine (%17,8) göre blastosist gelişim oranlarının yüksek olduğu belirlenmiştir. İkinci çalışmada; birinci grubun (%20) blastosist gelişim oranı ikinci gruba göre (%7) anlamlı derecede olumlu sonuç vermiştir. Sonuç olarak; NT çalışmalarında, kıkırdak hücrelerinin ve hücre konfluensinin embriyo gelişim oranları üzerine olumlu etkileri olduğu görülmüştür. . Bu çalışma TÜBİTAK -TOVAG 104O360 ve KAMAG 106G005 projesi ile desteklenmiştir.

Effects Of Cell Type And Cell Synchronization On Bovine Nuclear Transfer Embryo Development

A Tas Çaputçu¹, S Arat¹, T Akkoc¹, G Cetinkaya¹, H Bagis¹, S Sekmen¹, E Ates¹, D Soysal²

¹TUBITAK, MAM, Genetic Engineering and Biotechnology Institute, Gebze, Kocaeli, ²Marmara Livestock Research Institute, Bandirma, Turkey

Correspondence: Sezen.Arat@mam.gov.tr.

The objective of this study was to examine the effect of cell type and cell synchronization on somatic cell cloning (SSC). Bovine oocytes isolated from slaughterhouse ovaries were matured for 18 hours and used as cytoplasm sources. In the first experiment, as nuclear material source, cartilage and fibroblast cells obtained from the ear tissue of a male Anatolian grey bull were used. Prior to NT, all somatic cells were allowed to grow to confluency (G1/G0) in DMEM-F12 supplemented with 10% FBS. After transfer of single cells to enucleated oocytes, oocyte-cell couples were fused by a DC pulse of 133V/500 μ m for 30 μ s in the Zimmerman's medium. After fusion, fused Nuclear transfer (NT) units were activated using a combination of CaI (5 μ M for 5 min), cytochalasin D (2.5 μ g/ml) and cycloheximide (CHX, 10 μ g/ml) for 1 h and CHX alone for 4 h. In the second experiment, prior to NT, cartilage cells were culture either in DMEM-F12 supplemented with 10 % FBS to confluency (group 1) or in DMEM-F12 supplemented with 10 % FBS and 15 μ M roscovitine for 24 hr (group 2). In the first experiment, blastocys formation rate was higher on NT embryos from cartilage cells (26.8%) than from fibroblast cells (17.8). In the second experiment, blastocys formation rate was higher on NT embryos from group 1 (20 %) than from group 2(7 %). The results indicate that cartilage cells and confluency have beneficial effect on NT embryo development. This study was supported by grants from TUBITAK (TOVAG-104O360 and KAMAG-106G005).