

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

BİLDİRİ SUNUCUSUNUN

Adı, Soyadı, Ünvanı :SEZEN ARAT / DOÇ.DR./BAŞUZMAN ARAŞTIRMACI

Kurumu : TÜBİTAK MAM-GMBE

Adresi :TÜBİTAK MAM GMBE Merkez Bina Gebze Kocaeli 41470

e-mail :sezen.arat@mam.gov.tr

Telefon / Fax : 02626773351/05323414694 Fax:02626412309

Farklı Hayvan Irklarına Ait , Farklı Hücre Tiplerinin Sığır Klon Embriyolarının Gelişimi
Üzerine Etkisi

Sezen Arat, Arzu Taş Çaputçu, Tolga Akkoç, Gaye Çetinkaya, Haydar Bağış, Sakir Sekmen Erman Ateş,
Erdoğan Sezgin

TÜBİTAK MAM Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü Gebze Kocaeli
Doğu Anadolu Tarımsal Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Erzurum
E-mail: sezen.arat@mam.gov.tr

Nükleer transfer (NT) çalışmalarının amaçlarından biri de nesli tehlike olan türlerin klonlanmasıdır. Bu çalışmada; somatik hücre klonlanmasında hücre kaynağının, hücre tipinin ve cinsiyetin embriyo gelişimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada kullanılacak olan olgunlaşmamış sığır yumurtaları mezbaha materyalinden aspire edilerek 10%FCS, sodyum piruvat, bLH, bFSH, EGF ve IGF-1 ilave edilen TCM199 medyumunda 39°C%5CO₂'li inkübatörde 18 saat tutularak olgunlaştırılmıştır. Olgunlaşmış yumurtalar enükle edilerek somatik hücre transferi yapılmıştır. 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. NT çiftleri Sage+8 mg/ml BSA ile 72 saat kültüre edildikten sonra Sage+4mg/ml BSA+%5FCS medyum ile 4 gün daha kültüre edilmişlerdir. Yapılan çalışmalarda Boz ve GAK sığır ırklarına ait dokulardan granüloza, kıkırdak ve fibroblast hücreleri elde edilmiştir. İlk çalışmada iki ırk arasındaki fark incelenmiş ve Boz ırk (%23,97) ile yapılan çalışmalarda GAK'a (%16,19) göre yüksek oranda blastosist elde edilmiştir. Irklara ait farklı hücre tipleri incelendiğinde ise Boz ırka ait granüloza hücrelerinin (%36,45) blastosist gelişim oranlarının diğer gruplara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Boz GC %36,45-Kıkık %20,59- Fib %19,48; GAK Kıkık %16,30- Fib %16,00). Boz ırka ait dişi ve erkek hücreler karşılaştırıldığında iki cinsiyet arasında fark görülmemiştir (Boz dişi %20,83 erkek %20,41). Farklı ırklardan elde edilen embriyoların gelişim oranları ve kullanılan farklı hücre tiplerinin embriyo gelişimi üzerinde etkili olduğu fakat hücre cinsiyetinin gelişim üzerinde etkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışma TÜBİTAK -TOVAG 1040360 ve KAMAG 106G005 projesi ile desteklenmiştir.

Effects Of Different Strains And Cell Types On Bovine Nuclear Transfer Embryo Development

Sezen Arat, Arzu Taş Çaputçu, Tolga Akkoç, Gaye Çetinkaya, Haydar Bağış, Sakir Sekmen Erman Ateş, Erdoğan Sezgin

*TUBITAK, MAM, Genetic Engineering and Biotechnology Institute, Kocaeli, Turkey
Eastern Anatolia Livestock Research Institute, Erzurum, Turkey*

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

One of the application fields of nuclear transfer (NT) is to increase the decreasing numbers of native animal races by cloning. There are several parameters affecting reprogramming of somatic cell in oocyte cytoplasm. The objective of this study was to examine the effect of cell type, sex of cell and source of cell on somatic cell cloning (SSC). Bovine oocytes isolated from slaughterhouse ovaries were matured in TCM199 supplemented with 10% FBS, sodium pyruvate, bFSH, EGF, IGF-1 and bLH for 18 hours. Enucleated oocytes were used for somatic cell transfer. 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. NT units were cultured in Sage cleavage medium supplemented with 8 mg/ml BSA for 72 h and then developing embryos were cultured into Sage with 4 mg/ml BSA and 5% FCS for an additional 4 days. As nuclear material source, granulosa, cartilage and fibroblast cells obtained from the tissues of an Anatolian grey bull and South Anatolian red bulls were used. In the first experiment, the differences between Anatolian grey and South Anatolian red bulls were investigated and the Anatolian grey bulls have a higher blastocyst rate than the South Anatolian red bulls (Anatolian Grey %23,97 and South Anatolian %16,19). When the cell types were investigated, the granulosa cells of Anatolian grey bulls have a higher blastocyst development rate than the other groups (Anatolian Grey GC %36,45-Cartilage %20,59- Fibroblast %19,48; South Anatolian red Cartilage %16,30- Fibroblast %16,00). The sex of Anatolian Grey's cells were investigated there was no significant difference between two genders (Anatolian grey female %20,83 male %20,41). The differences between strains and cell types of NT units were effective to development rates of blastocysts but there was no significant difference between two genders. This study was supported by grants from TUBITAK (TOVAG-1040360 and KAMAG-106G005).