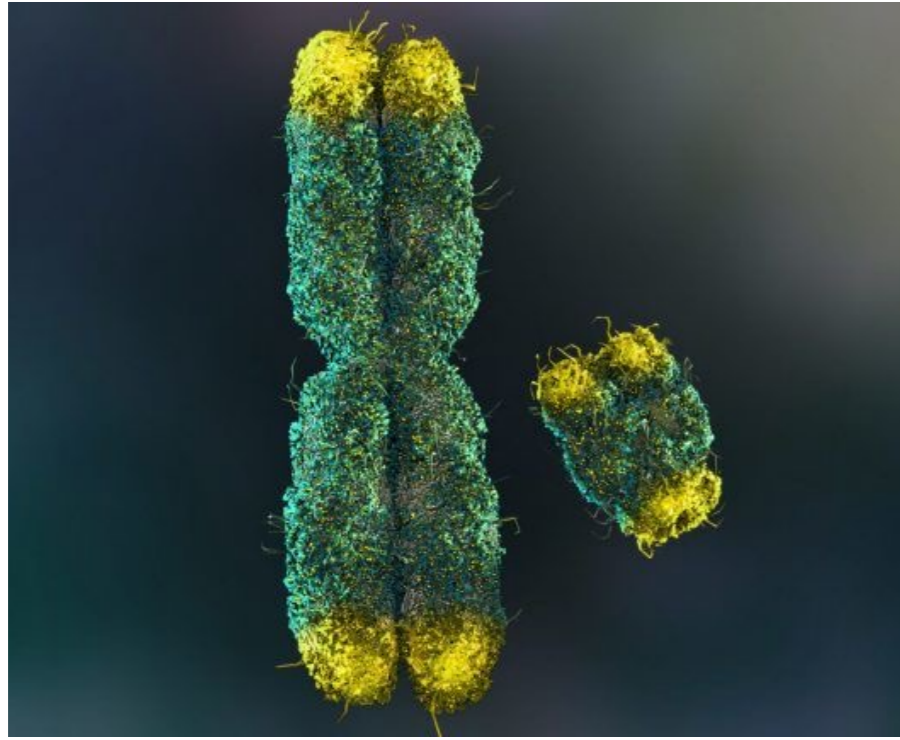


Увод

- При отглеждането на бозайници (крави, овце, кози и т.н.) селектирането на пола на поколението би било от голяма полза.
- За производство на мляко са нужни женски индивиди.
- За производство на месо мъжките се ценят повече.
- В този проект се разглеждат различни методи за контролиране на пола на поколението.

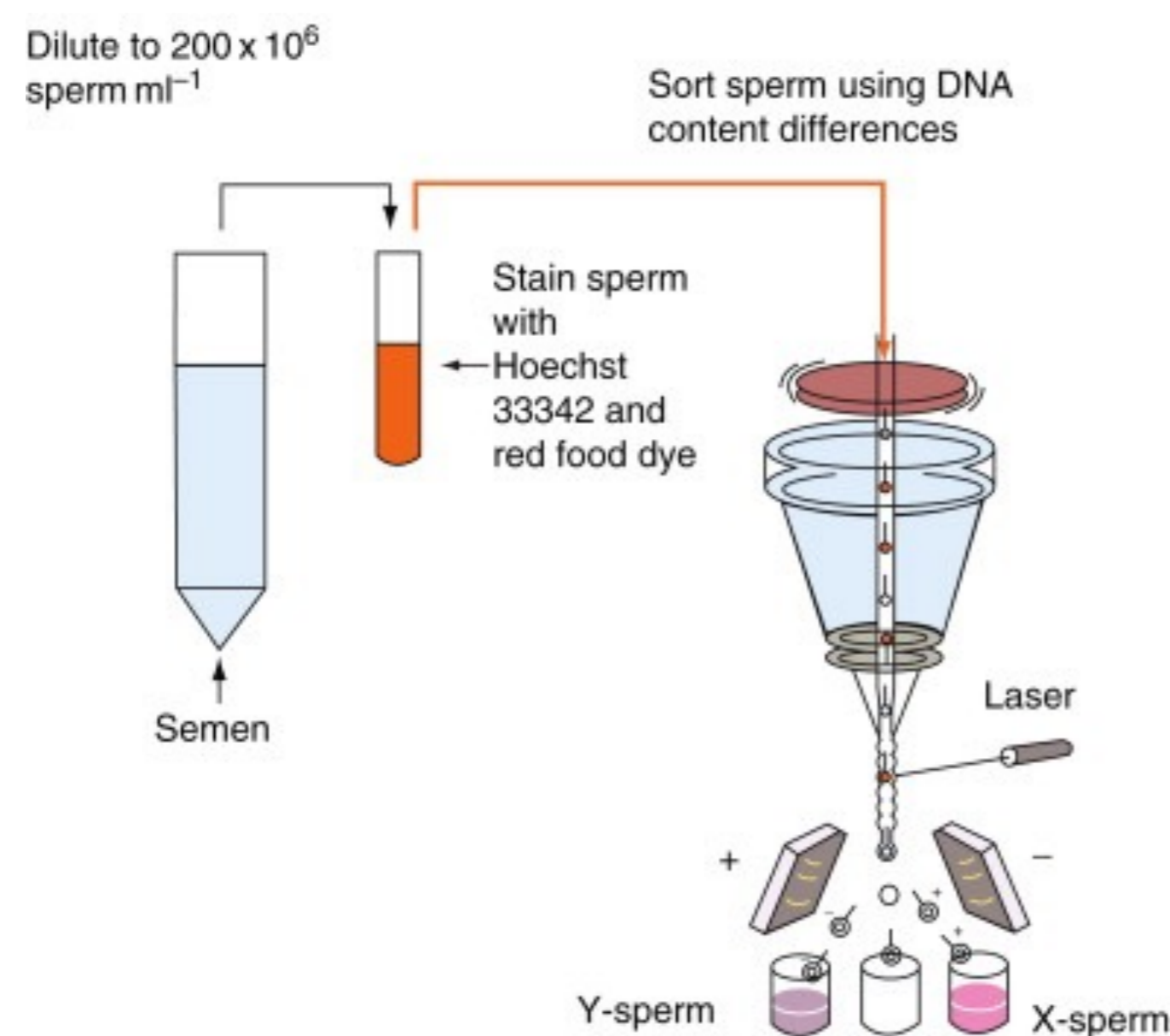


Разделяне на сперматозоиди по пол (сексиране)

- При бозайниците полът на поколението се контролира от хромозомния набор на сперматозоида. Той може да съдържа или Y-, или X-хромозома, като след оплождане се получава съответно мъжки или женски ембрион.

Сексиране чрез флоуцитометрия

- ДНК в сперматозоидите се оцветява с бисбензамид (Hoechst 33342). Клетките с X-хромозома съдържат повече ДНК, следователно флуоресцират по-силно.¹
- Клетките минават една по една през модифициран флоуцитометър, който измерва нивото им на флуоресценция и ги разделя на 3 популации – вероятно X, вероятно Y и неопределени.²



Флоуцитометрично сексиране на сперматозоиди (Hasler and Garner, 2011)

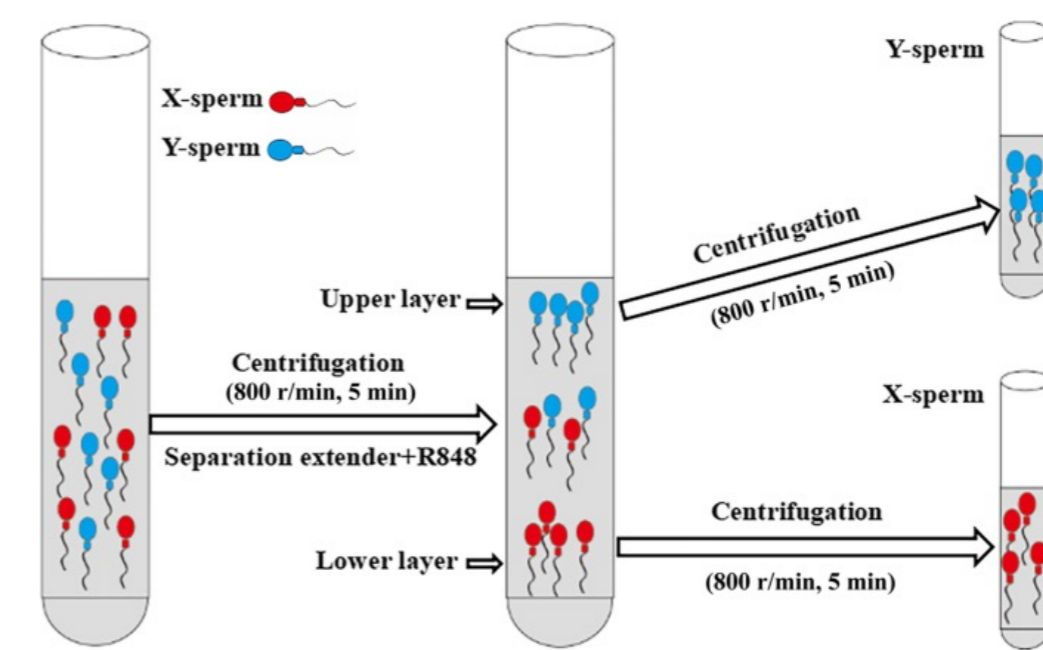
- Предимството на сортирането е високата му точност.
- Недостатъците са високата цена, ниската скорост на сортиране и намалената оплодителна способност на клетките, преминали през него.⁴

Благодарности

Проектът е разработен с подкрепата на проект ДСД5 „Образование с наука II“ и на Националната научна програма „ИнтеЖиво“.

Сексиране чрез активация на рецептора TLR 7/8

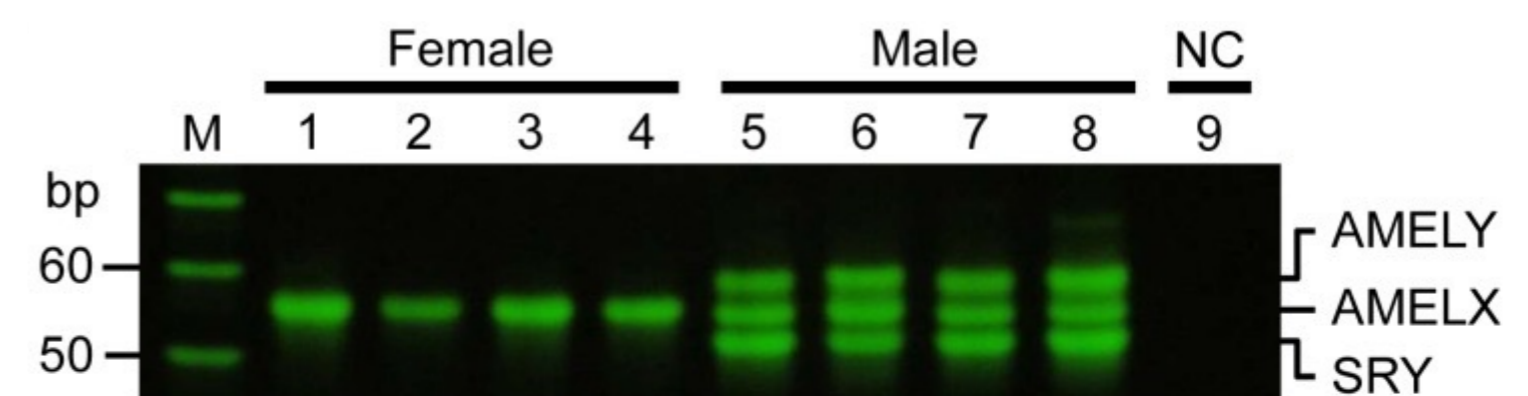
- X-сперматозоидите съдържат специфични рецептори – Toll-like receptors 7/8 (TLR 7/8), чиято активация намалява продукцията на АТФ.
- Пробата с клетки се третира с лиганда resiquimod (R-848) – агонист на тези рецептори.
- X-сперматозоидите драстично намаляват подвижността си и се утаяват на дъното на епруветката. Y-сперматозоидите се концентрират в горния слой на разтвора.
- Предимства – може да се прилага лесно в лаборатории и ферми за животни.
- Недостатъци – сперматозоидите могат да се ползват само за IVF, тъй като третирането с R-848 води до капацитация – клетките се подготвят за оплождане, но губят възможността си да се придвижват ефективно в женската репродуктивна система.



Разделяне на сперматозоиди чрез R-848 (Ren, F., H. Xi, Y. Ren, et al., 2021)

Сексиране на ембриони

- Използва се широко при най-различни животни и при хора⁶, подложени на IVF, като ДНК се взема чрез биопсия или от хранителната среда на ембриона⁷.
- PCR с гени, характерни за Y-хромозома (SRY и AMELY) или за X-хромозома (AMELX)⁷, последвано от електрофореза или измерване на флуоресценцията при 302 nm⁹.
- Недостатъци – изисква се IVF или екстракция на ембрионите след естествено оплождане, което понижава жизнеспособността им.¹⁰



Резултати от електрофореза на ДНК от женски и мъжки ембриони (Masuyama, K. et al., 2017)

Източници

1. Vishwanath et al. *Animal*, 2018 Jun, 12 (s), pp. s85 – s96. doi: 10.1017/S1751731118000496.
2. Seidel, G. E. Jr. *J. Reprod. Dev.*, 2012, 58 (5), pp. 505 – 509. doi: 10.1262/jrd.2012-077.
3. First, N. L. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 1990, 41, pp. 3 – 14. PMID: 2213713.
4. Steele, H. et al., 2020 Apr 10, 10 (1), pp. 6255. doi: 10.1038/s41598-020-63077-6.
5. Umehara, T. et al. *Nat. Protoc.*, 2020 Aug, 15 (8), pp. 2645 – 2667. doi: 10.1038/s41596-020-0348-y.
6. Hasler, J. F., D. L. Garner. Gamete and Embryo Technology | Sexed Offspring. – In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition), 2011.
7. Esmaili, M. et al. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2020 Sep, 252, pp. 89 – 93. doi: 10.1016/j.ejogrb.2020.06.023.
8. Mishra, A. et al. *Reprod. Domest. Anim.*, 2020 Jul, 55 (7), pp. 885 – 892. doi: 10.1111/rda.13699.
9. Hasler, J. F. et al. *Theriogenology*, 2002 Nov, 58 (8), pp. 1457 – 1469. doi: 10.1016/j.theriogenology.2003.07.008.
10. Tominaga, K. et al. *Theriogenology*, 2004 Apr 15, 61 (6), pp. 1181 – 1191. doi: 10.1016/j.theriogenology.2003.07.008.
11. Ren, F., H. Xi, Y. Ren et al. *J. Animal. Sci. Biotechnol.*, 12, 89 (2021), <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00613-y>.
12. Masuyama, K. et al. *PloS one*, vol. 12,1 e0169348. 4 Jan. 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0169348.
13. Masuyama, K. et al. *Reprod. Domest. Anim.*, 2021 Feb, 56 (2), pp. 262 – 269. doi: 10.1111/rda.14211.