

Влияние среды замораживания на жизнеспособность и катионный состав ранних эмбрионов мыши

Е.И. Смольянинова¹, А.Г. Погорелов², Е.Г. Лисина³, А.А. Колесникова³, Л.Ф. Розанов¹

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
г. Пушкино, Московской обл., Россия

³Институт животноводства УААН, пос. Кулинич, Харьковской обл., Украина

Одной из причин снижения морфологической и функциональной сохранности клеток после процедуры криоконсервирования является нарушение целостности мембранных структур пассивного и активного транспорта ионов и, как следствие, – ионного гомеостаза клетки.

В первой серии экспериментов методом электронно-зондового микроанализа (ЭЗМА) были определены внутриклеточные концентрации калия одно- и двухклеточных эмбрионов мыши. Показано, что значения внутриклеточных концентраций этого катиона в ранних эмбрионах мыши до имплантационных стадий развития меняется циклически в соответствии со стадией клеточного цикла. В течение первых двух циклов деления дробления значения концентрации калия варьируют от 148 ± 22 и 130 ± 6 мМ в S-фазе клеточного цикла (стадия зиготы и двухклеточного эмбриона соответственно) до 44 ± 7 мМ в профазе митоза.

Во второй серии экспериментов нами исследовано влияние продолжительности эквilibрации двухклеточных эмбрионов мыши в среде замораживания на их морфологическую и функциональную сохранность, а также содержание калия в цитоплазме бластомеров. Клетки, выделенные на стадии G₂/S- фазе клеточного цикла были разделены на контрольную и экспериментальную группы. Клетки экспериментальной группы подвергались 10-минутной эквilibрации в 10%-м растворе этиленгликоля с последующим переносом в среду криоконсервирования, состоящей из смеси 30% этиленгликоля и 70% 1 М раствора сахарозы. Исследуемые времена эквilibрации составили 1,5 и 3 мин. Затем клетки отмывали в 0,5 М растворе сахарозы в течение 10 мин и переносили в чистую физиологическую среду. Эмбрионы, отмывые от криопротектора, были перенесены в среду M16 для последующего культивирования в условиях CO₂- инкубатора. Эмбрионы контрольной группы переносили в CO₂-инкубатор для культивирования сразу же после получения. Показано, что увеличение времени пребывания эмбрионов мыши от 1,5 до 3 мин в

этиленгликоль-сахарозной среде приводит к снижению способности эмбрионов мыши развиваться в условиях *in vitro* до стадии поздней бластоцисты (62 и 35% соответственно). Методом ЭЗМА определено, что цитоплазматическая концентрация калия в бластомерах двухклеточных эмбрионов мыши также зависит от продолжительности контакта клеток со средой замораживания. Увеличение продолжительности эквilibрации эмбрионов в исследуемом временном диапазоне приводит к снижению содержания этого катиона в клетках (130 ± 6 и 47 ± 3 мМ соответственно). Наблюдаемое снижение внутриклеточной концентрации калия свидетельствует о том, что цитоплазма эмбриональной клетки искусственно “переводится” из фазы S клеточного цикла в фазу начала митоза, минуя необходимые молекулярно-генетические перестройки, что приводит к нарушению общего клеточного гомеостаза, в частности, взаимодействия кардио- и цитокинеза.

Адрес для корреспонденции: Смольянинова Е.И., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-38-71, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua