

**ВИЗНАЧЕННЯ КРИТИЧНОЇ ЗОНИ
КРИСТАЛОУТВОРЕННЯ ВНУТРІКЛІТИННОГО
СЕРЕДОВИЩА У ЕМБРІОНІВ МИШІ ПРИ ВИСОКИХ
ТА НАДВИСОКИХ ШВИДКОСТЯХ
ЗАМОРОЖУВАННЯ-ВІДТАВАННЯ**

Запобігання внутріклітинному кристалоутворенню є провідним фактором, який визначає отримання життєздатного деконсервованого біооб'єкта, а отже і ефективність проведення наступних біотехнологічних операцій. Мінімальна величина концентрації еквілібруючого (внутріклітинного) розчину кріопротектора повинна бути приблизно на половину менше величини концентрації загального вітрифікаційного (позаклітинного) розчину кріопротектора. Для підтвердження вірності нашого припущення було вітрифіковано ембріони миші у пластикових капілярах, що мали різний діаметр: 1,8; 1,0; 0,5; 0,3 мм. Заморожування здійснювалося прямим зануренням капілярів у рідкий азот, а відтавання — розміщенням їх у водяній бані при температурі 40 °С з використанням магнітної мішалки для перемішування теплоагента. Заморожування-відтавання капілярів, які мали діаметр 0,5 та 0,3 мм, проводилося у термозахисних чохлах з метою уникнення процесу рекристалізації при перенесенні контейнерів з рідкого азоту у водяну баню. Швидкість заморожування-відтавання визначали за допомогою обліку інтенсивності електропровідності для 65%-го розчину гліцерину.

Ембріони поділили на чотири групи по тридцять у кожній, які відповідали кожному з типів обраних капілярів. Швидкості заморожування (відтавання) становили 28 (37) °С/с; 109 (140) °С/с; 205 (230) °С/с та 320 (380) °С/с відповідно для кожної групи.

© Л.В. Горбунов, І.А. Морозова, 2001

Концентрація внутріклітинного (позаклітинного) кріопротектора була відповідно 25% G1 (50% G1); 20% G1 (40% G1); 15% (30%G1); 10% G1 (20% G1). Рівень збереження деконсервованого біооб'єкта дорівнював за групами відповідно 56,6% (17/30); 63,3% (19/30); 70% (21/30); 83,3 % (25/30).

Отримані дані підтверджують правильність нашого припущення відносно залежності мінімальної імовірності кристалотворення внутріклітинного середовища від характеру позаклітинного кристалотворення, який, у свою чергу, залежить від величини концентрації, складу та виду кріопротекторів, а також швидкостей заморожування-відтавання. Це дає змогу застосовувати запропоновану нами раніше аналітичну залежність вибору мінімальної концентрації еквілібруючого і вітрифікаційного розчинів для оптимізації технології кріоконсервації ооцитів та ембріонів ссавців у діапазоні високих і надвисоких швидкостей заморожування-відтавання (Л.В. Горбунов, І.А. Морозова, 1998).

Харківський біотехнологічний центр

УДК 636.4.082:57.08

Г.Г. ТРОХИМЕНКО, М.Д. БЕЗУГЛИЙ

ВИВЧЕННЯ ПРОНИКНОСТІ ЦИТОПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН ООЦИТІВ СВИНІ ДО КРІОПРОТЕКТОРІВ

Успішне заморожування біологічного матеріалу залежить від багатьох чинників, таких як співвідношення швидкостей заморожування-відтавання (з урахуванням виду біооб'єкта), складу середовища, типу та концентрації захисної речовини. Незважаючи на те, що для ембріонів свині деяких стадій розвитку вже існують шляхи вирішення проблеми кріоконсервації (Dobrinisky J., 1993, 1997), для ооцитів свині це питання досі ще залишається відкритим.

© Г.Г. Трохименко, М.Д. Безуглий, 2001

Розведення і генетика тварин. 2001. Вип. 34