

**Витрификация полученных *in vitro* эмбрионов крупного рогатого скота с использованием различных носителей при соблюдении принципа охлаждения в минимальном объеме**

**Научный руководитель – Маленко Галина Петровна**

*Романова А.Б.<sup>1</sup>, Корниенко Е.В.<sup>2</sup>*

1 - Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет биотехнологии и промышленной экологии (БПЭ), Новомосковский, Россия; 2 - Пущинский государственный естественно-научный институт, Московская область, Россия

Метод витрификации является перспективной альтернативой программируемому замораживанию при криоконсервации полученных *in vitro* (IVP) эмбрионов крупного рогатого скота. Однако витрификация до сих пор не получила широкого распространения в сельском хозяйстве, так как наиболее широко используемые витрификационные носители открытого типа предназначены для криоконсервации ограниченного количества эмбрионов и ставят эффективность метода в зависимость от уровня опыта исполнителя в большей степени, чем при проведении программируемого замораживания. Витрификация с использованием в качестве носителя триацетат целлюлозных полых волокон (HFV) позволяет соблюсти принцип охлаждения в минимальном объеме [1] и одновременно криоконсервировать достаточно большие группы ооцитов и IVP эмбрионов млекопитающих, существенно упрощая и стандартизируя процедуры витрификации/отогревания [5]. При этом, была показана более высокая эффективность полого волокна по сравнению с носителями открытого типа при витрификации исключительно криочувствительных партеногенетических морул свиньи [6].

В нашей работе семидневные IVP эмбрионы крупного рогатого скота на стадии развития бластоцисты и экспандированной бластоцисты витрифицировали согласно [4] с использованием одного из трех витрификационных носителей: Cryotop, полусоломинки (HS) или устройства на основе триацетат целлюлозного полого волокна (HFV) [1]. В группе HFV эмбрионы витрифицировали в группах по 5-10 штук, в группах HS и Cryotop - индивидуально. Уровни выживания и вылупления витрифицированных эмбрионов учитывались через 24, 48 и 72 часа после отогревания. В качестве контроля использовали невитрифицированные IVP эмбрионы того же возраста. Уровень выживания эмбрионов в группе HFV через 24 часа после отогревания был статистически достоверно ниже (84,0%), чем при использовании других носителей (97,0% Cryotop и 94,3% HS) и в контрольной группе (100,0%). В группах HS и HFV наблюдалось снижение жизнеспособности эмбрионов после 48 часов культивирования (62,3 и 75,3 % соответственно). В то же время, уровень выхода из блестящей оболочки эмбрионов из группы HFV был сопоставим с аналогичными уровнями в других экспериментальных группах, а наибольшее снижение жизнеспособности наблюдалось у эмбрионов в группе HS. Полученные уровни выживания и вылупления эмбрионов в группе HFV были сопоставимы с результатами, полученными при групповой витрификации на других носителях [2, 3], уступая по эффективности только индивидуальной витрификации на Cryotop и его близких аналогах. При этом, в нашем случае уровень выживания экспандированных бластоцист через 24 часа после отогревания в группе HFV (98,5%) статистически значимо не отличался от соответствующего уровня в группе Cryotop (100,0%) и не снижался в течение дальнейшего культивирования.

Работа выполнена в центре экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий (ФГБНУ ЦЭЭРБ).

### Источники и литература

- 1) Маленко Г.П., Корниенко Е.В., Косовский Г.Ю. Система и устройство (варианты) для криоконсервации группы ооцитов и эмбрионов млекопитающих по методу витрификации при использовании в качестве носителя полого волокна: патент РФ № 2584584. – 2014.
- 2) Abdalla H., Shimoda M., Hara H., Morita H., Kuwayama M., Hirabayashi M., Hochi S. Vitrification of ICSI- and IVF-derived bovine blastocysts by minimum volume cooling procedure: effect of developmental stage and age // Theriogenology – 2010 – Vol.74 – P.1028-1035.
- 3) Beck A., Kurome M., Nagashima H., Reichenbach M., Reichenbach H.D., Wolf E. Hollow fiber vitrification of biopsied in vitro produced bovine blastocysts // Reprod Biol – 2013 – Vol.13 – Suppl 2 – P.57.
- 4) Kuwayama M., Vajta G., Ieda S., Kato O. Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination // Reprod Biomed Online – 2005 – Vol.11 – P.608-614.
- 5) Matsunari H., Maehara M., Nakano K., Ikezawa Y., Hagiwara Y., Sasayama N., Shirasu A., Ohta H., Takahashi M., Nagashima H. Hollow fiber vitrification: A novel method for vitrifying multiple embryos in a single device // J Reprod Dev – 2012 – Vol.58 – P.599-608.
- 6) Nagashima H., Uchikura A., Maehara M., Hatae S., Nakano K. 2015. Direct comparison of the hollow-fiber vitrification and conventional vitrification methods. (IFFS/JSRM International Meeting 26-29th April 2015), Yokohama, Japan, 2015, P.24.