

Применение вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в сохранении исчезающих видов диких кошек: гетерологичное и гомологичное ЭКО, криоконсервация гамет и эмбрионов.

Научный руководитель – Амстиславский Сергей Яковлевич

Кожевникова Валерия Валерьевна

Аспирант

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск, Россия

E-mail: kozhevnikova.it@yandex.ru

Внутри семейства Felidae, 25 из 39 видов кошачьих присвоен статус исчезающих, вымирающих или находящихся под угрозой исчезновения видов (в соответствии с IUCN Red list). Благодаря методам ВРТ в мире получены котята от кота-рыболова, барханной кошки и других исчезающих видов кошачьих. Одним из возможных способов сохранения исчезающих видов может быть использование межвидовых и межродовых гибридов в качестве суррогатных матерей для вынашивания детенышей редкого вида.

Целями данного исследования является получение *in vitro* эмбрионов кошачьих после гомологического и гетерологического ЭКО, а также криоконсервация гамет и эмбрионов кошачьих.

Кумулюс-ооцитные комплексы получали из яичников домашних кошек, взятых из ветеринарных клиник г. Новосибирска. Дозревание ооцитов осуществлялось в среде ТСМ-199 (Sigma) с добавлением гормонов ГСЖК и хорулона, при 38,5°C и 5%CO₂ в течение 36 часов

Для гомологического оплодотворения использовали эпидидимальное семя домашних котят, а для гетерологического оплодотворения - эякуляторное семя дальневосточного лесного кота (*Prionailurus bengalensis euptilura*). Семя котят этих видов было взято из криобанка генетических ресурсов ИЦиГ СО РАН. Гибридные эмбрионы и эмбрионы домашней кошки после ЭКО культивировали в модифицированной среде Ham's F-10 (Sigma) до 5 суток.

Ранее нами было показано, что криопротектор SpermFreeze (FertiPro, Бельгия) является наиболее оптимальным для замораживания семени кошачьих, поскольку после оттаивания выживает большее число сперматозоидов. В настоящей работе на ооцитах домашней кошки проверялась оплодотворяющая способность сперматозоидов, замороженных с двумя криопротекторами: SpermFreeze и CaniFreeze (Minitube, Германия).

Для криоконсервации кошачьих эмбрионов методом программного замораживания использовали эмбрионы домашней кошки на 3 либо 5 сутки развития, в качестве криопротектора был выбран пропиленгликоль.

Для оценки жизнеспособности и качества эмбрионов до/после замораживания применялась световая и флуоресцентная микроскопия с использованием красителей FDA/PI (тест на жизнеспособность) и DAPI (подсчет клеток). Было показано, что при таком способе замораживания кошачьи эмбрионы сохраняют целостность мембран и продолжают деление в культуре в течение 48 часов.

Методы криоконсервации эмбрионов, а также гомо- и гетерологического ЭКО, усовершенствованные в ходе работы, могут быть применены для сохранения исчезающих видов кошачьих. Впервые в мировой практике были получены *in vitro* гибридные эмбрионы между домашней кошкой и дальневосточным лесным котом, занесенным в Красную книгу Приморского края.

Работа выполняется при поддержке гранта РФФИ № 15-04-03258-а