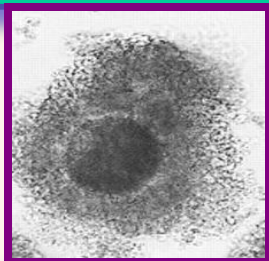




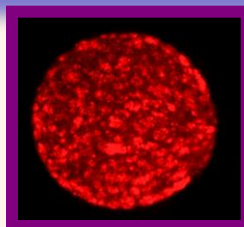
# *Стратегия совершенствования технологии витрификации ооцитов животных: инновации и перспективы*

© КУЗЬМИНА Т.И.

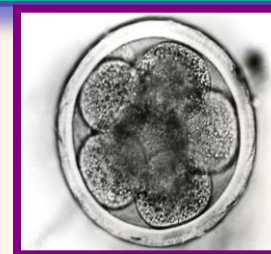
*от*



*ооцита*



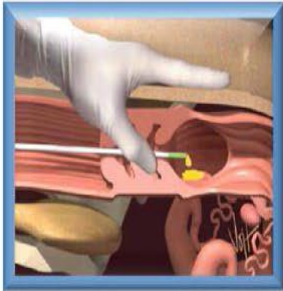
*к*



*эмбриону*

Санкт-Петербург-Пушкин  
2025

# ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ КЛЕТОЧНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ



1960/70

Искусственное осеменение

Множественная овуляция  
Эмбриотрансплантация  
МОЭТ  
Замораживание эмбрионов

1970/80

Получение эмбрионов in vitro & in vivo

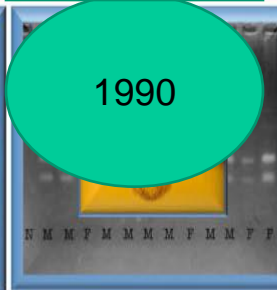
Трансвагинальная аспирация ооцитов (OPU)

1989/97



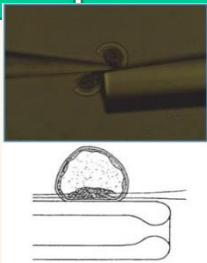
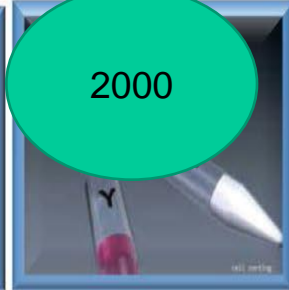
Определение пола эмбрионов

1990



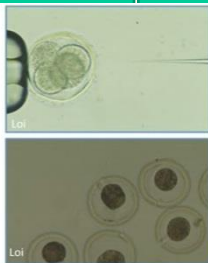
Сексированные сперматозоиды

2000



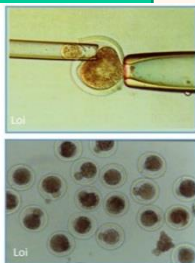
1979

Embryo splitting



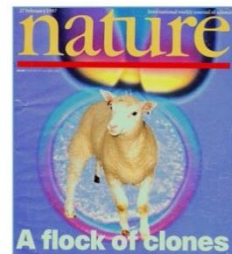
1984

Blastomere Separation  
Quartering embryos



1986

Nuclear transfer of Embryonic cells



1997

First Mammal cloned from a somatic cell



2005

All Farm animals cloned

**Present stage of embryo transfer  
and the International Embryo Transfer Society (I.E.T.S.)**

W.W. LAMPETER

*Institut für Tierzucht und Tierhygiene der L.M.U.,  
8000 München 22, Federal Republic of Germany*

The *International Embryo Transfer Society* (I.E.T.S.) has 560 members from 26 countries (Jan. 1982) and is serving its members with information related to E.T. This service includes abstracts, literature reviews and summaries, published in a newsletter. It holds a yearly meeting and publishes all reports presented at the meeting in « *Theriogenology* ».

About 35 000 calves were produced worldwide by E.T. techniques in 1981. Embryo collection and transfer of bovine embryos is done worldwide mostly non-surgically. The most widely used farm animal for E.T. is the cow.

**Cow embryo culture *in vitro***

L.K. ERNST, A.K. GOLUBEV, Z.N. MAKAROVA, R.S. MAMLEEV  
and T.I. KUZMINA

*All-Union Research Institute of Farm Animal Breeding and Genetics, Leningrad, U.S.S.R.*

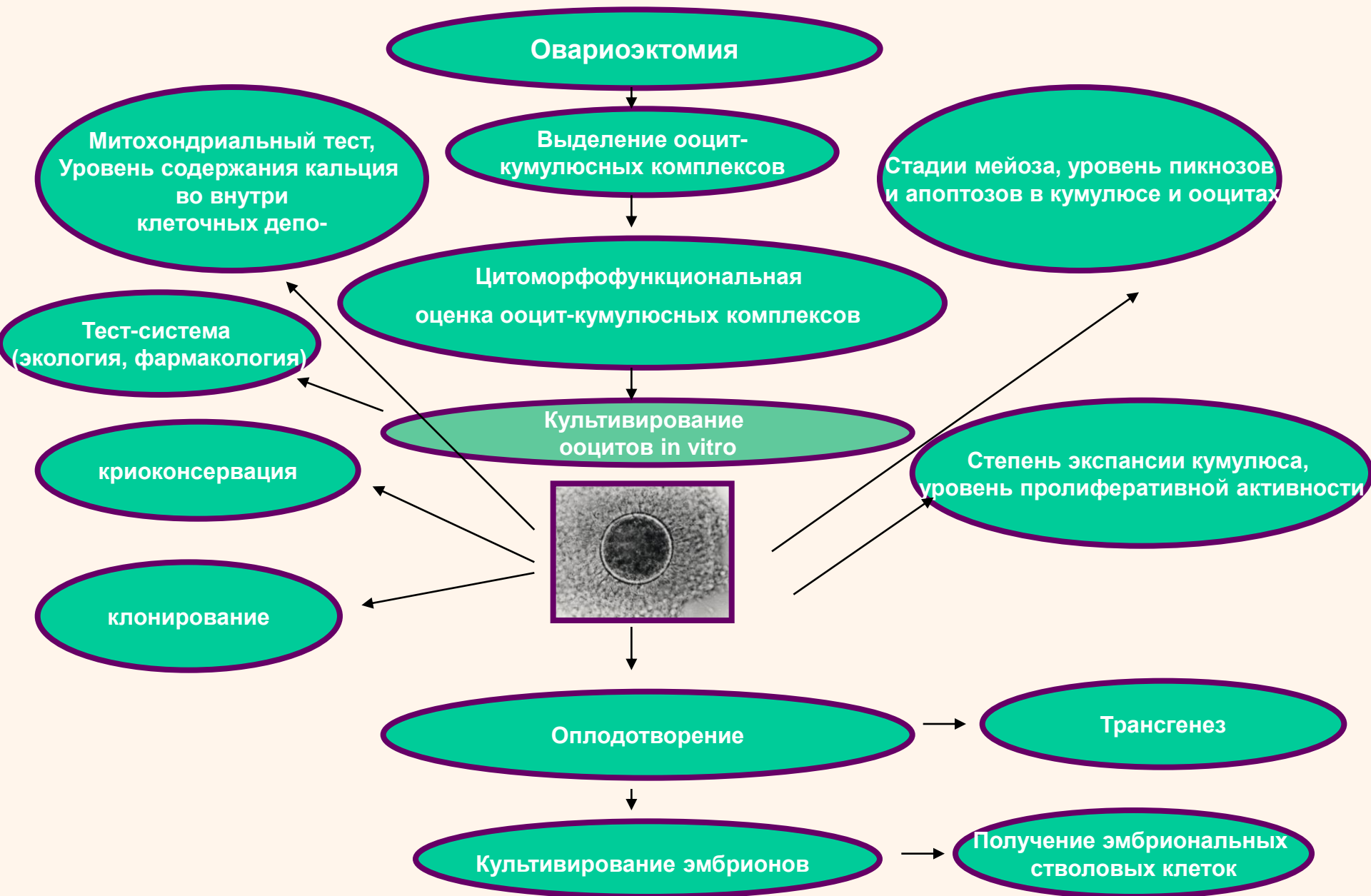
Fertilization of the cow oocytes matured *in vitro* to the metaphase II stage resulted in the cleavage of the oocytes. The percentage of cleaving oocytes averaged 13.9. In some experiments it amounted to 33.7 p. 100. The cleaving embryos developed to the morula and even blastocyst stage. The mechanisms of the cleavage of cow oocytes are discussed.

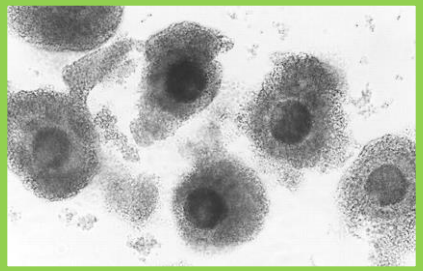


ТЕЛЕНОК, ПОЛУЧЕННЫЙ IN VITRO, 25 ЯНВАРЯ  
1983 Г.  
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ-ПУШКИН, ЛАБОРАТОРИЯ  
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭМБРИОНОВ

| Контролируемые параметры              | In vivo (%) | In vitro (%) |
|---------------------------------------|-------------|--------------|
| Созревшие ооциты                      | 90          | 90           |
| Выход эмбрионов на стадии бластоцисты | 70          | 35-40        |

# ЭТАПЫ ТЕХНОЛОГИИ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО СОЗРЕВАНИЯ И ОПЛОДОТВОРЕНИЯ ООЦИТОВ IN VITRO





**Криоконсервация женских гамет имеет преимущества перед традиционными методами сохранения видов и обеспечит значительное повышение эффективности внедрения КРТ в практику животноводства, биомедицину, ветеринарию:**

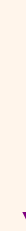
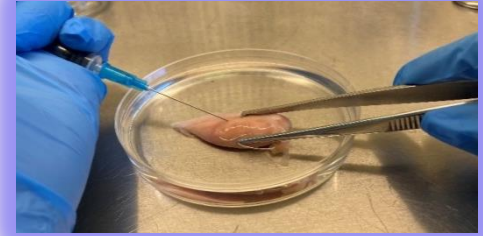
- возможность транспортировки на большие расстояния;
- высокая степень надежности наличия донорских ооцитов для получения нативных и реконструированных эмбрионов;
- использование отдаленной гибридизации;
- сведение до минимума эффекта генетического дрейфа и инбридинга;
- обеспечение сохранения видов в случае эпидемий, экологических и социальных катастроф;
- легкость обмена генетическим материалом между популяциями;
- создание коллекции биологических материалов для фундаментальных исследований в биомедицине, животноводстве, ветеринарии.

# Факторы, влияющие на эффективность технологии витрификации ооцитов животных

## Биологические аспекты



## Технологические аспекты



Вид животного, стадия эстрального цикла яичника, диаметр фолликула, морфология ооцит-кумулюсного комплекса, функциональный статус ооцита (растущий, завершивший фазу роста), стадия мейоза

• Способы витрификации (интра-, экстра-овариальная), тип криодевайсов для витрификации, состав криопротекторных и культуральных сред, газовый и температурный режимы, уровень профессионализма эмбриотехнолога





# Модернизация протоколов витрификации с использованием:

- естественных криопротекторов (гемолимфа арктической бабочки);
- антиоксидантов (введение в состав культуральных сред соматических и половых клеток овариальных фолликулов);
- жидкости фолликулов малого диаметра;
- наночастиц высокодисперсного кремнезема (нВДК);
- Гидрогелей.

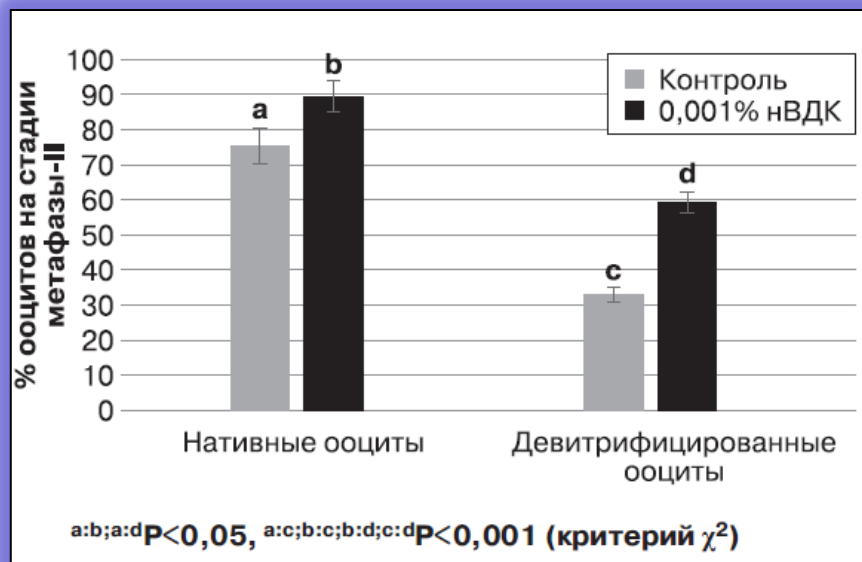
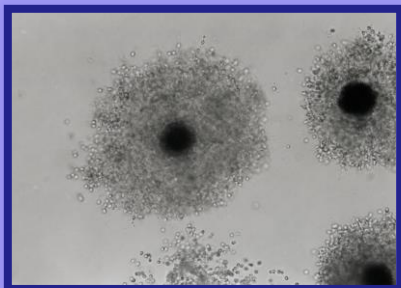
*Влияние наночастиц высокодисперсного кремнезема (HDSns) на морфологию клеток кумулюса *Bos taurus* после замораживания / оттаивания (286 ооцит-кумулясных комплекса, в 3 повторностях)*



обработка нВДК повышает долю девитрифицированных ооцитов с низкой степенью экспансии кумулюса



# КРИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ООЦИТОВ СВИНЕЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ нВДК

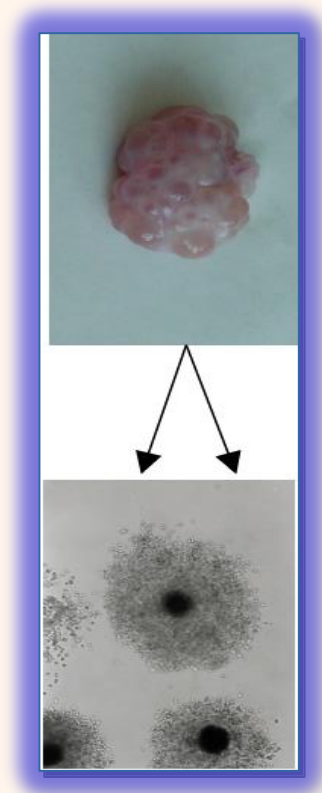
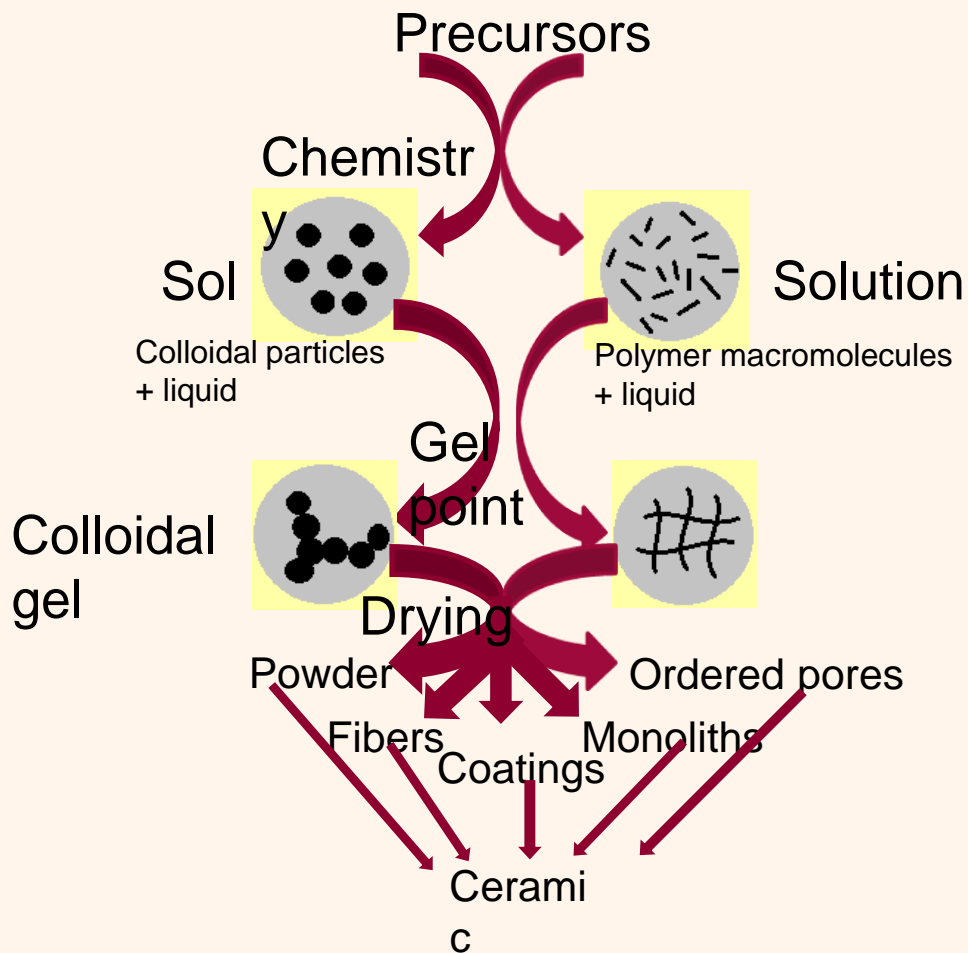


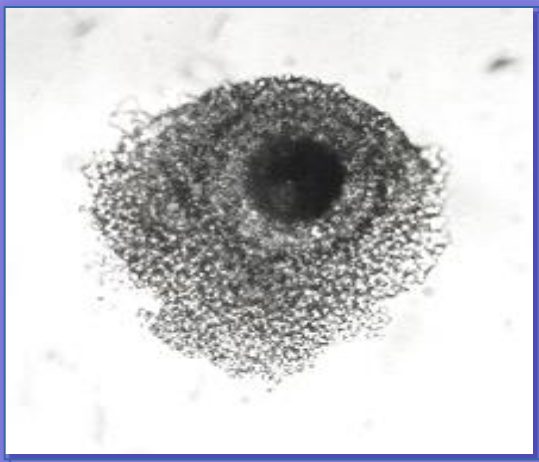
Хроматин ооцитов свиней на стадии телофаза – метафаза II

Влияние наночастиц высокодисперсного кремнезема на созревание *in vitro* нативных и девитрифицированных ооцитов свиней (время культивирования — 44 часа, n ооцитов — 267, в 3–5 повторностях)



# Postovsky Institute of Organic Synthesis, Russian Academy of Sciences (Ural Branch), Ekaterinburg, Russia





Компактный кумулюс



**Влияние наночастиц высокодисперсного кремнезема и диметилглицеролата кремния (ДМГК) на развитие доимплантационных эмбрионов *BosTaurus* (n ооцитов – 461; повторностей – 3)**

| Группа экспериментов | n ооцитов | n (%)бластоцист      |
|----------------------|-----------|----------------------|
| Контроль             | 199       | 55 (28) <sup>a</sup> |
| Контроль + нВДК      | 112       | 44 (39) <sup>b</sup> |
| Контроль +0,2% ДМГК  | 99        | 28 (28) <sup>a</sup> |
| Контроль +0,4% ДМГК  | 51        | 13 (25) <sup>a</sup> |

**Контроль – среда созревания ооцитов: ТС-199 с глутамаксом-1+10% ФБС +β-эстрадиол + ФСГ. <sup>a:b</sup>P<0.05(X<sup>2</sup>-test)**

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ

