

ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ТОТИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК ХОЛОДНОКРОВНЫХ *IN VIVO* И *IN VITRO* ПРИ ЗАМОРАЖИВАНИИ

Мельникова Е.В.

Институт биофизики клетки РАН, Россия, 142290, г. Пущино, Институтская, 3,
emelnikova@icb.psn.ru

Замораживание тотипотентных клеток и ранних зародышей холоднокровных для решения задач криоконсервации требует оценки сохранения жизнеспособности этих клеток на различных этапах данного процесса. Возможность получить оценку сохранения целостности мембраны клетки и оболочки зародыша, активности их дегидрогеназ и состояния хроматина клеток зародышей *in vivo* и *in vitro* дает использование флуоресцентных красителей - АНС, ФДА, ДАПИ, ЭБ и Hoechst.

В данной работе методом последовательного флуорохромирования АНС(313 Д) и ФДА(413Д) было исследовано состояние зародышевых клеток травяной лягушки *Rana temporaria in vitro*. Показано, что этот метод дает возможность проследить динамику состояния барьерной функции клеток и степень сохранения дегидрогеназной активности их цитоплазмы при замораживании-оттаивании. Далее мы исследовали состояние тех же зародышевых клеток *in vivo* в процессе повышения проницаемости зародышевых оболочек ультразвуком. Результаты показали, что при щадящем действии ультразвука дегидрогеназная активность тотипотентных клеток в зародыше сохраняется.

Проведенные исследования показывают, что метод двойного флуорохромирования достаточно эффективен для оценки состояния тотипотентных клеток и выбора условий их замораживания-оттаивания, а полученные оценки повреждений могут быть полезными для моделирования процессов, протекающих в клетке при замораживании.