



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт автоматики и электрометрии
Сибирского отделения Российской академии наук
(ИАиЭ СО РАН)

26 декабря 2017 г.

Пресс-релиз

Сибирские учёные изучили фазовое состояние липидов в замораживаемых преимплантационных эмбрионах мыши

Исследуя процессы замораживания эмбрионов ранних стадий, сотрудники [Института автоматики и электрометрии СО РАН](#) и [ФИЦ Института цитологии и генетики СО РАН](#) изучили, как меняется фазовое состояние липидов преимплантационных эмбрионов мыши, замораживаемых при криоконсервации. Статья [«Raman spectroscopy reveals the lipid phase transition in preimplantation mouse embryos during freezing»](#), посвящённая этим исследованиям, опубликована в декабрьском выпуске журнала **Archives of Biochemistry and Biophysics** (ИФ 3.165) [1].

Криоконсервация – технология сохранения биологических объектов путём их охлаждения до криогенных температур. Этот подход, в частности, используется в задачах сохранения генетического материала. Семя, яйцеклетки и преимплантационные эмбрионы замораживаются с целью сохранения линий лабораторных животных, племенных пород скота, а также генетического материала вымирающих видов животных.

При криоконсервации очень важно, чтобы биологический материал не был повреждён на этапах замораживания и последующего отогрева. Процедуры замораживания и размораживания клеток проводятся по протоколам, обеспечивающим высокой процент выживания клеток после размораживания с учётом видовых особенностей. В настоящее время далеко не для всех видов животных разработаны соответствующие протоколы криоконсервации. Ситуация осложняется тем, что разработка этих протоколов, как правило, проводится эмпирическим путём. Такой подход к развитию методов криоконсервации оказывается особенно затруднителен в условиях ограниченного количества доступного материала. Для увеличения эффективности протоколов замораживания/отогрева необходимо расширять знания о том, что происходит с клетками при замораживании.

Особую роль при описании состояния замораживаемой клетки играют биофизические факторы, лежащие в основе нормальной работы клетки в физиологических условиях. Одним из таких факторов, нуждающимся в исследовании, является фазовое состояние липидов. Фазовый переход липидов из неупорядоченного в упорядоченное состояние приводит к тому, что липидные структуры становятся более жёсткими, снижаются скорость диффузии внутри них и пропускная способность мембран клетки, нарушается работа мембранных белков. Предполагается, что последствия фазового перехода липидов зависят от того, при какой температуре он происходит.

Для исследования фазового состояния липидов в замораживаемых клетках сотрудники ИАиЭ СО РАН и ИЦиГ СО РАН предложили использовать метод комбинационного рассеяния света (когда исследуется взаимодействие биологических веществ клетки и лазерного излучения) и продемонстрировали на преимплантационных эмбрионах мыши возможности этого подхода. Предложенный метод является бесконтактным и может быть использован без вмешательства в процесс замораживания клеток. Суть метода заключается в изучении эволюции линий комбинационного



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт автоматики и электрометрии
Сибирского отделения Российской академии наук
(ИАиЭ СО РАН)

рассеяния света, относящихся к колебаниям CH_2 -групп (которые входят в состав липидов). При фазовом переходе липидов в упорядоченное состояние происходит изменение соотношения между интенсивностями этих линий.

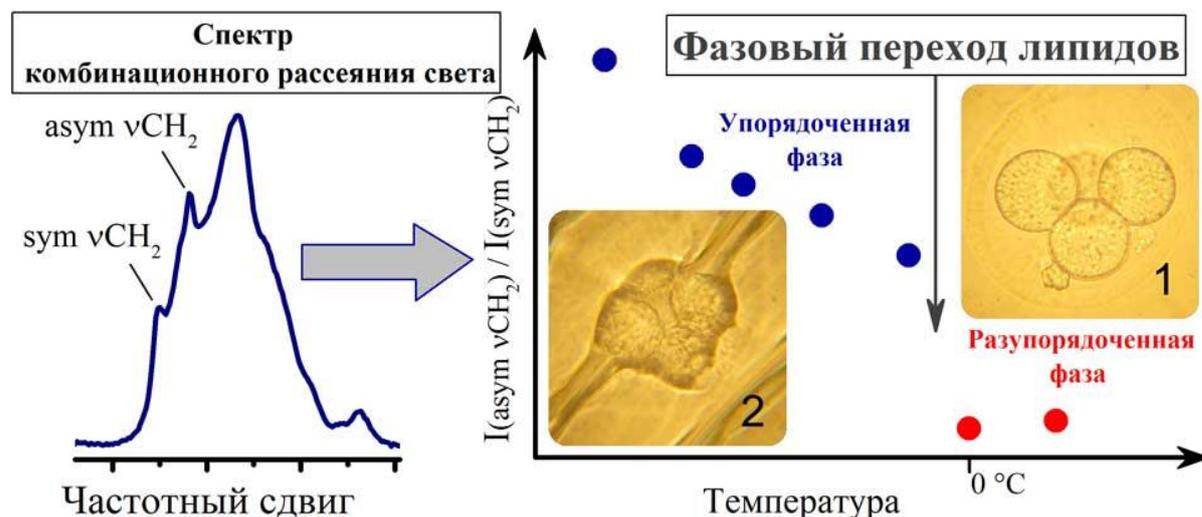


Рис. 1. Способ определения фазового состояния липидов в замораживаемых эмбрионах. Отношение интенсивностей линий CH_2 -групп (слева) может быть использовано для определения фазового состояния липидов. Исследование спектров комбинационного рассеяния света на разных температурах позволяет обнаружить момент фазового перехода (справа). На вставках показаны микрофотографии эмбриона мыши перед охлаждением (1) и в замороженном состоянии (2).

Сибирскими учёными впервые на живых эмбрионах изучено фазовое состояние липидных структур в широком температурном диапазоне от -120 до $+10$ °C. Установлено, что в замораживаемых эмбрионах мыши фазовый переход липидов происходит в интервале температур от -7 до 0 °C. При температурах ниже фазового перехода свойства липидных структур меняются, что приводит к нарушениям биологических процессов, протекающих в эмбрионах. В случае эмбрионов мыши температура фазового перехода оказалась достаточно низкой. Существует эмпирическое правило: чем выше температура фазового перехода в клетках, тем клетки должны быть более чувствительны к охлаждению. Низкая температура фазового перехода в эмбрионах мыши объясняет их способность успешно переносить замораживание и отогрев при криоконсервации.

В настоящее время уже существуют протоколы для замораживания преимплантационных эмбрионов мыши. В ИЦиГ СО РАН создан криобанк, в котором в замороженном состоянии хранятся десятки линий лабораторных мышей и крыс. Несмотря на это, даже для эмбрионов тех видов, для которых разработаны протоколы криоконсервации, многие биофизические аспекты замораживания остаются слабо изученными. Разработанный подход для исследования фазовых переходов липидов в одиночных клетках позволит лучше разобраться в этих процессах и будет применяться в дальнейшем при изучении фазовых переходов при замораживании других, более редких и актуальных образцов. Полученные данные о фазовом переходе в эмбрионах мыши позволят провести сравнение характеристик фазовых переходов липидов в яйцеклетках и



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт автоматики и электрометрии
Сибирского отделения Российской академии наук
(ИАиЭ СО РАН)

эмбрионах, которые успешно переносят замораживание, и тех, для которых криоконсервация сейчас проблематична.

Клетка – сложное образование. Помимо липидов она содержит белки, углеводы и другие элементы. Каждый из компонентов при замораживании ведёт себя по-разному. Поэтому изучения только фазового перехода липидов недостаточно для формирования протокола. Задача учёных – понять, какие компоненты сильнее влияют на выживаемость клетки в процессе замораживания. Нужно дальнейшее изучение клеточных компонентов для более эффективного выстраивания протокола.

[1] Okotrub K.A., Amstislavsky S.Y., Surovtsev N.V. "Raman spectroscopy reveals the lipid phase transition in preimplantation mouse embryos during freezing"
Archives of Biochemistry and Biophysics 635:37-43 (2017). DOI: [10.1016/j.abb.2017.10.001](https://doi.org/10.1016/j.abb.2017.10.001)

Пресс-релиз на сайте ИАиЭ СО РАН:

https://iae.nsk.su/images/stories/0_News/2017/171226-Lipidy-pri-zamorajivanii-embrionov.pdf