позистора складають 284-192 кОм, а в чашці Петри із середовищем – 272-178 кОм, відповідно.

Запропонований спосіб опосередкованого виміру температури був також апробований за умов її зміни. Позистор кріпився усередині заморожувача в безпосередній близькості від пробірки з середовищем. А далі, як у попередньому досліді, визначали регресійні рівняння, які зв'язують показання позистора з температурою усередині пробірки при різних швидкостях охолодження. Точність визначення температури склала 2,5 °С за умови, що швидкість заморожування не перевищує 1 °С/хв.

Даний метод дозволяє зводити вплив багатьох фізичних факторів, які не враховуються, до одного, що реєструється. Це робить процес контролю та підтримки температури більш технологічним порівняно з існуючими аналогами.

УДК 591.15.16

Л.В.ГОРБУНОВ, Т.С.АНТОНЕНКО

ПОШУК ОПТИМАЛЬНОГО ХАРАКТЕРУ РЕЖИМУ ЗАМОРОЖУВАННЯ ЕМБРІОНІВ ССАВЦІВ

Харківський біотехнологічний центр УААН

Для вирішення біотехнологічних завдань необхідно заморожувати з різними швидкостями різноманітні типи статевих клітин та ембріонів. Оскільки способи кріоконсервації через пасивне охолодження є більш технологічними порівняно з програмними пристроями, то виникає необхідність розробки нового типу заморожувача, заснованого на пасивному остиганні термоблока зі змінним характерним часом теплообміну.

Метод кріоконсервації з використанням повільних швидкостей заморожування, дозволяє одержати рівень збереженості ембріонів великої рогатої худоби біля 90%, при цьому величина середньої швидкості заморожування складає 0,3 ^{0}С/хв. Характер зміни швидкостей у діапазоні від -5 до -25 ^{0}С при використанні різноманітних методів заморожування, в окремих випадках значно відрізняються. При порівнянні величин швидкостей охолодження в заданому температурному діапазоні з величинами середньої швидкості, спостерігаємо такі розходження в поданих значеннях: 78% при заморожуванні в соломинах для посудини Д'юара Х-34А, 26% – для посудини Д'юара Х-34Б і 17% для пробірок Уленгута, але для заморожувача ЗЭМ4-0%. Тоді як рівні збереженості ембріонів при заморожуванні з вищевказаними швидкостями, які мають різний характер, складають 90%; 92,03%; 89,62% і 87,7%, відповідно, тобто приблизно однакові (М.Д.Безуглий,1995; Л.В.Горбунов, 1996). Це свідчить про те, що одну й ту саму величину середньої швидкості заморожування, яка забезпечує дегідратацію біооб'єкта, можна реалізувати різними способами. Очевидно, що характер зміни швидкості заморожування у встановленому діапазоні температур (-5÷ -25^{0}С) має своє оптимальне значення при однаковій середній швидкості заморожування (0,3^{0}С/хв) для ембріонів великої рогатої худоби. Отже, максимальний рівень збереження деконсе-

рвованих ембріонів ссавців можливо одержати за допомогою реалізації режимів заморожування-відтавання, заданих не тільки оптимальними швидкостями теплообміну, але й оптимальним характером їхньої зміни.

Зміна характеру режимів заморожування можлива шляхом застосування соломин (пробірок Уленгута) з ембріонами в попередньо охолоджений термоблок, настроєний на кінцеву температуру заморожування -30±2^{0}С, на заданий проміжок часу. Після витримки термоблока в горловині посудини Д'юара 0; 20; 40 і 60 хвилин для соломинок (пробірок Уленгута) одержуємо такі швидкості заморожування: 0,4; 1,4; 2,0 і 3,3^{0}С/хв (0,3; 0,8; 1,1 і 2,0^{0}С/хв), відповідно. Оскільки зміна характеру режиму заморожування може мати своє оптимальне значення, нами апробований прискорений режим заморожування, при якому величина поточної швидкості у встановленому температурному діапазоні в 14 разів перевищує середню швидкість заморожування. При цьому рівень збереженості деконсервованих ембріонів миші складає 88,5% (n=26). Розраховуємо, що встановлення оптимального діапазону зміни характеру режиму заморожування-відтавання дасть можливість реалізувати більш технологічні методи кріоконсервації статевих клітин та ембріонів ссавців.

Таким чином, для розробки нових технологій кріоконсервації необхідно використовувати пристрої, що дозволяють реалізувати широкий спектр швидкостей та різні характери їх зміни.

УДК 57.043:57.08

Л.В.ГОРБУНОВ, О.Д.БУГРОВ, Н.І.ГОРБУНОВА

ОЦІНКА ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ЕМБРІОНІВ ССАВЦІВ

Харківський біотехнологічний центр УААН

Необхідною умовою проведення трансплантації як нативних, так і деконсервованих ембріонів ссавців є об'єктивна оцінка їх життєздатності. Загальновідомо, що критерієм цілості деконсервованих ембріонів можливо вважати успішну трансплантацію їх реципієнтам (А.Я.Шихов, Н.І.Сергєєв, 1982). Традиційний візуальний спосіб визначення життєздатності ембріонів приймає за 100% рівень життєздатності навіть такий стан ембріонів, коли їх оцінюють за якістю як гарні, хоч в даному випадку далеко не всі його бластомери повноцінно життєздатні.

Метою даної роботи є створення кількісного методу оцінки життєздатності ембріонів на різних етапах проведення біотехнологічних операцій.

Припускаємо, що поняття "100% життєздатність" має відповідати 100% повноцінності бластомерів, які входять до складу самого ембріону, що можливо тільки для ембріонів відмінної якості. П.І.Кауффольд (П.І.Кауффольд та співавт., 1990) показав, що класи здатності ембріонів до розвитку, які оцінювали за часткою здатних до розвитку ембріонів, складають 85% для ембріонів відмінної та гарної якості, 70% – для близьких до нормальних, 30% – для ембріонів з незначними змінами та 5% – для ембріонів поганої якості. У цьому випадку при проведенні оцінки рівня життєздатності ембріонів (S), що мають різну якість, яку визначають візуально за відсотком цілості клітин, ми запропонували використовувати формулу оцінки середньої зваженої: