

Новая микрофлюидная система на основе реотаксиса для отбора сперматозоидов

Научный руководитель – Кошелева Настасья Владимировна

Кузьминых Мария Александровна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра эмбриологии, Москва, Россия

E-mail: mariakuzmariaaaa@mail.ru

Кузьминых М. А.*, Голубчиков Д. О., Шпичка А. И., Христидис Я. И.

Институт регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины ФГА-ОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Согласно данным ВОЗ около 15% супружеских пар сталкиваются с проблемой бесплодия, из которых 50% связаны с мужским фактором. Для решения данной проблемы активно разрабатывают методы вспомогательных репродуктивных технологий, связанные с сортировкой сперматозоидов. Один из новых методов – это микрофлюидные устройства, позволяющие производить отбор сперматозоидов в условиях, наиболее приближенных к естественным. Принцип работы чипов основан на реотаксисе (свойстве сперматозоидов к движению против тока жидкости), что позволяет отбирать сперматозоиды по подвижности. При данном подходе сперматозоиды не подвергаются дополнительной нагрузке, что позволяет сохранить целостность ДНК и жизнеспособность клеток. Цель работы: изготовление и тестирование одноканального микрофлюидного чипа для отбора сперматозоидов на основе реотаксиса.

Для создания микрофлюидного чипа была сконструирована форма в программе Fusion 360, которая затем была изготовлена методом 3Д-печати. После печати форму заполняли ПДМС (полидиметилсилоксан), который после застывания извлекали и помещали на предметное стекло, предварительно обработав поверхности плазмой. Материалы, использованные при изготовлении чипов, были проверены на цитотоксичность тестом с Alamar blue и эмбриотоксичность тестом на хориоаллантоисной мембране куриных эмбрионов (САМ-тест).

В тесте на цитотоксичность использовали МСК человека, анализировали экстракты из ПДМС (Редалид 184, Россия) и фотополимерной смолы (Silicone-Compatible Model V2, Harz Labs, Россия), в качестве негативного контроля использовали раствор SDS. Установлено, что смола и ПДМС снижают жизнеспособность клеток (на $27,18 \pm 4,26\%$ и $30,09 \pm 4,90\%$) в высоких концентрациях экстракта (с $0,375$ г/мл и $0,75$ г/мл соответственно), но не влияют на жизнеспособность клеток в низких концентрациях, а, следовательно, подходят для использования в изготовлении чипов. САМ-тест проводили *in ovo* на эмбрионах *Gallus gallus*. На десятый день инкубации производили обсчет площади сосудистой сети по сравнению с седьмым днем: в контроле она выросла на $40,72 \pm 13,30\%$, в образцах с ПДМС выросла на $32,68 \pm 7,02\%$, в образцах со смолой - на $12,82 \pm 7,19\%$. Таким образом, поликапролактон и Редалид 184, используемые для 3Д-биопечати, не влияют на развитие эмбрионов *Gallus gallus*, но снижают интенсивность ангиогенеза в хориоаллантоисной мембране эмбрионов в 1,06 и 1,24 раз, соответственно.

Из ПДМС был изготовлен одноканальный чип (с двумя резервуарами, соединенными каналом) на основе реотаксиса. Были проведены тесты устройства с предобработанным

методом swim-up эякулятом и с растворами ПВП (поливинилпирролидон) в концентрациях 5% и 10%. По результатам построены траектории и обчислены скорости движения сперматозоидов. Показано, что подвижные сперматозоиды успешно преодолевают канал, а неподвижные клетки и дебрис остаются в начальном резервуаре. Также установлено, что сперматозоиды тяготеют к движению по стенке канала, что повторяет особенности движения сперматозоидов в женских половых путях.

Таким образом, был изготовлен и протестирован микрофлюидный чип, позволяющий выделить прогрессивно подвижные сперматозоиды из эякулята на основе реотаксиса. Чип позволит упростить и ускорить процесс отбора перспективных сперматозоидов для последующих процедур ВРТ.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 24-45-20007)