

На основе модели теплообмена определены оптимальные параметры устройства для замораживания меристемальных клеток культурных растений со скоростями $0,01 \div 4^\circ\text{C}/\text{мин}$. Устройство для криоконсервирования биологических объектов растительного и животного происхождения состоит из сосуда Дьюара и термоблока, который установлен в его горловине и может изменять глубину погружения относительно верхнего края горловины. Термоблок изготовлен в форме цилиндра из нержавеющей стали, имеет пустотелую оболочку, дополнительные отверстия, что позволяет реализовать широкий диапазон скоростей ($10 \div 50^\circ\text{C}/\text{мин}$) и ускорений ($+1000 \div -2000^\circ\text{C}/\text{мин}^2$) процесса замораживания с минимальным градиентом температуры $1^\circ\text{C}/\text{см}$ по оси внутренней части термоблока. Масса термоблока относительно мала ($\approx 0,2$ кг), что позволяет экономно расходовать хладагент при замораживании ($\approx 0,07$ кг). Применение данного устройства на основе транспортного сосуда Дьюара X-5 создает возможность осуществления процесса замораживания биообъекта как в лабораторных, так и полевых условиях.

Таким образом, разработанное устройство обеспечивает оптимальный режим замораживания биообъекта за счет вариации характера скорости охлаждения изменением давления воздуха ($0,01 \div 3$ атм) между стенками термоблока в горловине сосудов Дьюара X-5, X-34 и X-35.

with $0,01 \div 4^\circ\text{C}/\text{мин}$ were determined. Device for cryopreservation of biological objects of plant and animal origin consists of Dewar vessel and thermoblock, which is mounted in its neck and can change the immersion depth towards an upper neck edge. Thermoblock is manufactured in stainless steel cylinder-like form, it has a hollow case and additional holes, allowing to realise a wide range of rates ($10 \div 50^\circ\text{C}/\text{мин}$) and accelerations ($1000-2000^\circ\text{C}/\text{мин}^2$) of freezing process with $1^\circ\text{C}/\text{см}$ temperature gradient by thermoblock internal part axis. Thermoblock weight is relatively low (≈ 0.2 kg), that enables economical consumption of cool agent during freezing ($\approx 0.07\text{kg}$). Application of this device basing on X-5 Dewar vessel provides the possibility to realise cooling process of biological material under both laboratory and field conditions.

Thus, the designed device provides an optimal regimen for bioobject freezing due to varying the character of cooling rate by changing air pressure ($0,01 \div 3$ atm) between thermoblock walls in Dewar vessel neck: X-5, X-34 and X-35.

Криоконсервирование культуры эмбриональных фибробластов человека.

В.В. Парфенова, Т.Ф. Петренко, Н.А. Волкова, Е.И. Гончарук
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Cryopreservation of Human Embryonic Fibroblast Culture

V.V. PARFENOVA, T.F. PETRENKO, N.A. VOLKOVA, E.I. GONCHARUK
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

В криобиологической практике для криоконсервирования эмбриональных клеток и тканей наиболее широко применяется диметилсульфоксид (ДМСО), который наряду с защитными свойствами проявляет токсическое действие на клетки, что требует его удаления из среды после оттаивания.

В то же время такие криопротекторы, как 1,2-пропанediол (1,2-ПД) и оксиэтилированный глицерин (ОЭГ) в небольших концентрациях не оказывают токсического действия на клетки и могут быть использованы для их криоконсервирования.

Цель работы – изучение криозащитных свойств ОЭГ, 1,2-ПД и эмбриональной сыворотки (ЭС) крупного рогатого скота. Исследования были проведены на клетках 5-го пассажа культуры эмбриональных фибробластов человека. Контролем служили пробы, замороженные под защитой 10%-го раствора ДМСО. При этом сохранилось $87,8 \pm 3,3\%$ жизнеспособных клеток. При культивировании отогретых образцов отмечали активную пролиферацию клеток с образованием монослоя на 4-5-е сутки.

Установлено, что при замораживании клеток под защитой 5%-го раствора 1,2-ПД количество жизнеспособных

Dimethyl sulfoxide (DMSO) is the most widely applied in cryobiology for embryonic cell and tissue cryopreservation. But along with its high protective properties it is toxic for cells and requires to be removed out of cryopreservation medium after sample thawing.

At the same time such cryoprotectants as 1,2-propanediol (1,2-PD) and oxyethylated glycerol (OEG) in low concentrations do not cause a toxic effect on cells and can be used for human embryonic fibroblast culture cryopreservation.

The work was aimed to studying cryoprotective properties of OEG, 1,2-PD and cattle embryonic serum (ES). Research was carried-out in the 5th passage human embryonic fibroblast culture cells. Samples, frozen under 10% DMSO protection were the control. At the same time $87.8 \pm 3.3\%$ of viable cells were kept. Herewith $87.7 \pm 3.3\%$ viable cells were kept. When culturing thawed samples an active cell proliferation with monolayer formation to 4-5th day was noted.

During cell freezing under 5% 1,2-PD protection the amount of viable cells was established to make $87.0 \pm 3.5\%$. An increase in 1,2-PD concentration in freezing medium up

собных клеток составило $87 \pm 3\%$. Увеличение концентрации 1,2-ПД в среде замораживания до 10 и 15% не привело к повышению количества жизнеспособных клеток и составило $86,1 \pm 2,1$ и $87,6 \pm 3,1\%$ соответственно, что достоверно не отличалось от показателей жизнеспособности при использовании 5%-й концентрации 1,2-ПД, а также от контроля. При культивировании клетки сохраняли способность к пролиферации, но образование монослоя происходило на 3-4 суток позже.

При криоконсервировании клеток с 5, 10 и 15%-м раствором ОЭГ были получены низкие показатели жизнеспособности, составившие $4,1 \pm 2,0$, 17 ± 2 и $23,2 \pm 2,0\%$ соответственно. После отогрева клетки теряли способность к адгезии и дальнейшей пролиферации.

Использование среды консервирования, содержащей ЭС в концентрациях 20 и 50% (без дополнительного использования криопротекторов), сохраняло соответственно $33,1 \pm 4,0$ и $55,8 \pm 5,0\%$ жизнеспособных клеток. При полной замене среды консервирования на сыворотку показатель жизнеспособности не отличался от контроля и составил $88,2 \pm 3,0\%$. При культивировании клеток, замороженных в среде с 50 и 100%-й сывороткой, формирование монослоя наступало соответственно на 5 и 3 суток позже, чем в контроле.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения 1,2-ПД и ЭС в качестве криопротекторов для замораживания культуры эмбриональных фибробластов человека.

to 10 and 15% did not result in the augmentation of viable cell number and made 86.1 ± 2.1 and $87.6 \pm 3.1\%$, correspondingly, that did not statistically and significantly differ from viable indices when using 1,2-PD 5% concentration, and on the control as well. During culturing cells kept the capability to proliferation, but monolayer formation occurred 3-4 days later.

When culturing cells with 5, 10 and 15% OEG concentration there were obtained low indices of viability, making 4.1 ± 2.0 , 17 ± 2 and $23.2 \pm 2.2\%$, correspondingly. After thawing cells lost the capability to adhesion and further proliferation.

Usage of ES-contained cells cryopreservation medium in 20 and 50% concentrations (without additional cryoprotectant) enabled preservation of 33.1 ± 2.2 and $55.8 \pm 3.0\%$ of viable cells, correspondingly. At a complete replacement of preservation medium for serum the viability index did not differ from the control and made $88.2 \pm 3.1\%$.

When culturing cells, frozen in the medium with 50 and 100% serum, monolayer formation occurred 5 and 3 days later, than in the control, correspondingly.

The results obtained testify to the possibility of 1,2-PD and ES application as cryoprotectants for freezing human embryonic fibroblast culture.

Пептидный состав экстракта нативной и травмированной кожи крыс

Е. О. Богатырева, С.Е. Гальченко

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Peptide Composition of Native and Injured Rat Skin Extract

E.O. BOGATYREVA, S.E. GALCHENKO

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Разработка новых высокоэффективных лекарственных препаратов, в том числе и для лечения ран кожи, продолжает оставаться актуальной задачей. В последнее время все больше внимания уделяется изучению регуляторных пептидов и тканевых экстрактов, стимулирующих процессы репарации и регенерации в соответствующих органах. Известно, что молекулярно-массовое распределение пептидов в водно-солевых экстрактах зависит от органа и возраста животного. Однако не было изучено, как изменяется спектр пептидов при той или иной патологии.

Цель работы – изучить пептидный состав экстрактов нативной и механически поврежденной кожи. Были использованы водно-солевые экстракты фрагментов кожи крыс линии Вистар, освобожденные от термолabile белков. Масса животных составляла 180-200 г. Три параллельные резаные раны глубиной 2 мм, длиной 10 мм наносили с интервалом 5 мм на предварительно эпилированную кожу в области спины.

Для определения молекулярно-массового распределения низкомолекулярных фракций экстрактов, которые включают пептиды и другие органические соединения, применяли гель-проникающую хроматографию. Перед

Development of new high-efficient medicines, including those for skin wound treatment, is still an actual task. Recently much more attention is paid to studying regulatory peptides and tissue extracts, stimulating reparation and regeneration processes in corresponding organs. Molecular and mass peptide distribution in water-salt extracts are known to depend on organ and age of an animal. However the change in peptide spectrum at this or that pathology was not studied yet.

The work was aimed to study peptide composition of native and mechanically damaged skin extracts.

We used water-salt extracts of Wistar rat skin fragments free of thermolabile proteins. Animal weight made 180-200 g. Three parallel incised wounds with 2 mm depth and 10 mm length were made at 5 mm distance from each other on preliminarily epilated skin in back area.

In order to determine molecular-mass distribution of low molecular extract fractions, comprising peptides and other organic compounds, we applied gel-penetrating chromatography. Before this procedure extracts were passed through "Millipore" filter with 0.45 mm pore diameter.

Wound as tissue defect occurs due to mechanical injury of integuments and deeper tissues, is a strong stimulus,