

## Исследование влияния режимов замораживания и конечных температур хранения на белки сыворотки кордовой крови

Э.О. НАРДИД, Е.Д. РОЗАНОВА, А.В. ЗИНЧЕНКО, Л.В. ЦЫМБАЛ, О.А. НАРДИД, Е.И. НАУМЕНКО  
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

### Investigation of Effect of Freezing Regimens and Final Storage Temperatures on Cord Blood Serum Proteins

E.O. NARDID, E.D. ROZANOVA, A.V. ZINCHENKO, L.V. TSYMBAL, O.A. NARDID, E.I. NAUMENKO  
*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine  
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine*

Сыворотка кордовой крови (СКК), а также препараты, получаемые на ее основе, все шире используются при лечении ряда патологических состояний. При этом повышается эффективность лечения заболеваний, вызванных снижением функции различных систем организма, в том числе иммунной и гормональной. Низкотемпературное консервирование может стать одним из наиболее надежных способов длительного и полноценного хранения СКК. Однако использование этого подхода требует обоснованного выбора определенных режимов охлаждения и конечных температур хранения.

Цель работы – изучение влияния режимов замораживания и конечных температур хранения на конформацию и агрегационные свойства белков СКК методами ЭПР, микрокалориметрии и гель-хроматографии.

Методом ЭПР спиновых зондов показано, что режимы замораживания со скоростью 1–2°C/мин до –20 или –80°C являются неблагоприятными и вызывают нарушение конформации биомакромолекул, имеющее характер “разрыхления” поверхностных полипептидных цепей. Микрокалориметрические исследования СКК подтверждают такие нарушения конформации. Установлено, что после подобных режимов замораживания первая стадия тепловой денатурации альбумина, являющаяся доминантной и соответствующей плавлению участков белка, не связанных с жирными кислотами, происходит при более низкой температуре. Кроме того, проведенные исследования свидетельствуют, что после замораживания СКК с низкими скоростями наблюдается увеличение содержания высокомолекулярных и уменьшение низкомолекулярных фракций белков, что объясняется агрегацией биомакромолекул сыворотки. Основной вклад в этот процесс вносят сывороточный альбумин и иммуноглобулины. Установлено, что быстрое замораживание (со скоростью 300–400°C/мин) оказывает более щадящие воздействия на сывороточные белки. Такое замораживание не оказывает влияния на результаты гель-хроматографии, на кривые теплопоглощения СКК и на вид электрофореграмм.

Полученные данные позволяют высказать предположения о механизмах криоагрегации белков сыворотки.

Serum of cord blood (SCB) and preparations derived from it are used widely during treatment of pathologic conditions. Herewith the efficiency of diseases' treatment triggered by reducing the function of different systems of organism including immunologic and hormonal, increases. The low-temperature storage may be one of the most valid methods of long-term and integral storage of SCB. However, the application of this approach requires the reasonable selection of certain regimens of cooling and final temperature storage.

The research aim was to study the regimens of freezing and final temperature storage effect on conformation and aggregative properties of SCB proteins by EPR, microcalorimetry and gel-chromatography.

It has been shown by EPR method of spin probes that freezing regimens with 1–2°C/min rate down to –20°C or up to –80°C are unfavourable and trigger the disorder of biomacromolecules conformation, having a character of “decondensation” of superficial polypeptide chains. Microcalorimetric studies of SCB confirm these disorders. It has been established that after similar regimens of freezing the first stage of thermal denaturation of albumin, which is equal to melting of protein regions, not associated with fatty acids takes place at lower temperature. Besides, the carried out researches testify to the fact, that after freezing of SCB with low rates the increase of the content of high molecular and decrease of low molecular protein fractions are observed, that is due to aggregation of biomacromolecules' serum. The serum albumin and immunoglobulin carry dominantly contribute to this process. It has been established that rapid freezing (with 300–400°C/min) has more reduced impact on serum proteins. This freezing has no effect on gel-chromatography results, curves of thermal absorption of SCB and appearance of electrophoregrams.

The obtained data enable to suggest about the mechanisms of serum protein cryoaggregation.