

О механизме защиты криоконсервируемых биообъектов с помощью многокомпонентных криопротекторных растворов

А.И. ОСЕЦКИЙ, Т.М. ГУРИНА, А.Л. КИРИЛЮК, Н.В. РЕПИН

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

About Protection Mechanism of Cryopreserved Bioobjects with Multicomponent Cryoprotective Solutions

A.I. OSETSKY, T.M. GURINA, A.L. KIRILYUK, N.V. REPIN

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

Ингибирование механизмов повреждения криоконсервируемых биообъектов за счет использования композиций из различных криопротекторных веществ представляет собой весьма актуальное направление в криобиологических исследованиях. Однако до сих пор поиск оптимальных составов таких композиций носит чисто эмпирический характер, что снижает результативность данного подхода. В настоящей работе сделана попытка установить параметры, позволяющие целенаправленно подбирать ассортимент и процентное соотношение криопротекторных веществ при разработке технологий криоконсервирования. Особое внимание было уделено температурным интервалам вблизи температур стеклования T_g криопротекторных растворов, где такие композиции могут быть особенно эффективны. Это связано с тем, что в данных интервалах повреждение биосистем в основном происходит за счет пластической релаксации внутренних упругих напряжений различной природы. При этом наиболее сильно данные механизмы проявляются в области образования криоколлоидных фракций. Уменьшить действие за счет сокращения времени прохождения системы в этой области, т.е. за счет увеличения скорости охлаждения, очень сложно, так как после перехода через температуру T_g скорость охлаждения необходимо резко снижать. В то же время можно влиять на кинетику образования криоколлоидной фазы с помощью криопротекторных композиций, уменьшая тем самым действие иницируемых фазой механизмов повреждения. Для развития этого направления был проведен термопластический анализ замороженных водных растворов на основе глицерина и ДМСО, глицерина и ПЭО-1500, ДМСО и ПЭО-1500. Полученные результаты показали, что использование криопротекторных композиций позволяет существенно изменять кинетику образования и границы области существования криоколлоидной фазы на диаграмме состояний.

Данный подход расширяет экспериментальные возможности изучения процессов взаимодействия “вода-криопротектор” в условиях многокомпонентных систем и позволяет разработать принципы целенаправленного поиска оптимальных криопротекторных композиций.

Inhibition of mechanisms of damage of cryopreserved bioobjects due to application of compositions from different cryoprotective solutions represents highly topical concepts in cryobiological researches. However, by now the search of optimal compositions is of just empiric character, that reduces this approach efficiency. In this work the effort to establish the parameters, enabling purposefully select the range and percentage ratio of cryoprotective substances at developing of cryopreservation technologies has been done. A special attention has been given to the temperature intervals close to vitrification temperature T_g of cryoprotective solutions, where these compositions may be especially effective. This is associated with the fact, that in these intervals the biosystem damage generally takes place due to plastic relaxation of internal elastic stresses of different kind. Herewith these mechanisms are manifested very strongly in the range of formation of cryocolloidal fractions. To decrease the effect due to the reduction of system proceeding in this area, i.e. due to increasing of cooling rate, is very difficult, because after transition through temperature T_g the cooling rate is necessary to be sharply reduced.

At the same time one may affect formation kinetics of cryocolloidal phase with cryoprotective compositions, therefore decreasing the activity of the mechanisms of phase-triggered damage. For development of this direction the thermoplastic analysis of frozen aqueous solutions, based on glycerol and DMSO, glycerol and PEO-1500, DMSO and PEO-1500 was carried out. The obtained results have shown that application of cryoprotective compositions enables to significantly change the formation kinetics and region boundaries of cryocolloidal phase presence on state diagram.

This approach upgrades the experimental capacity of studying of water-cryoprotectant interaction under conditions of multicomponent systems and enables to develop the principles of goal-oriented search of optimal cryoprotective compositions.