

Сохранность клеток микроорганизмов после иммобилизации в различных гелях с последующим замораживанием до -70°C

Т.В. ДОРОФЕЕВА, О.В. ПИШКО

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Integrity of Microorganisms' Cells after Immobilization in Different Gels with Following Freezing Down to -70°C

T.V. DOROFEEVA, O.V. PISHKO

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

В связи с развитием современных биотехнологических производств возрос интерес к проблеме иммобилизации клеток микроорганизмов. Иммобилизованные клетки микроорганизмов-продуцентов биологически активных веществ имеют ряд преимуществ в технологических процессах перед свободными клетками – более высокую продуктивность, экономичность, биологическую безопасность, чистоту конечного продукта и др. Предполагается, что рядом преимуществ будут обладать и медицинские препараты иммобилизованных микроорганизмов. В зависимости от задач применяют три вида иммобилизации клеток микроорганизмов – на поверхности носителей, изоляция биологическими мембранами, в материале носителя. Последний способ иммобилизации, на наш взгляд, может представлять интерес и с точки зрения повышения сохранности микробных клеток в процессе хранения при различных температурах.

Цель работы – изучение сохранности микроорганизмов-эубиотиков после иммобилизации в различные гели и кратковременного замораживания до -70°C в этих гелях.

Объектом исследования были микроорганизмы *Saccharomyces cerevisiae*, *Bifidobacterium bifidum*, *Escherichia coli*, вегетативные формы *Bacillus subtilis*. Микроорганизмы включали в гели альгината кальция, каррагинана, агарозы, в предварительно полимеризованный линейный полиакриламид. Иммобилизацию клеток проводили в соответствии с методиками, описанными в руководстве под редакцией J. Woodward (1988). Клетки, иммобилизованные в блоках гелей объемом 5 мл, замораживали в пенициллиновых флаконах в парах азота при -70°C . Через 3-е суток отогревали на водяной бане при 37°C . Жизнеспособность микроорганизмов определяли по способности к колониеобразованию.

Было установлено, что иммобилизация в гелях альгината кальция, каррагинана и агарозы не приводит к гибели микробных клеток. Иммобилизация в полиакриламидном геле приводит к достоверной гибели части клеток. При замораживании до -70°C наиболее низкая выживаемость была также в образцах с полиакриламидным гелем.

Due to the development of contemporary biotechnological technologies the interest to the problem of microorganism cell immobilization has increased. Immobilized cells of microorganism-producers of biologically active substances have some advantages in technological processes if compared with 'free' cells, *i.e.* they are of higher productivity, cost effectiveness, biological safety, purity of final product *etc.* It is supposed that some advantages will be inherent to medical preparations of immobilized microorganisms. Depending on the tasks there are applied three types of microorganism cell immobilization: on a surface of carriers; isolation by biological membranes; on the carrier material. The latter, from our point of view, may be of interest as for increasing the integrity of microbial cells during storage at different temperatures.

The research aim was to study the integrity of microorganisms-eubiotics after immobilization into different gels and short-term freezing down to -70°C in these gels.

The research objects were microorganisms *Saccharomyces cerevisiae*, *Bifidobacterium bifidum*, *Escherichia coli* and vegetative forms of *Bacillus subtilis*. The microorganisms were introduced into gels of calcium alginate, carrageenan, agarose, into preliminary polymerized linear polyacrylamide. The cells were immobilized in the accordance with the methods described in the guidance edited by J. Woodward (1988). The cells immobilized in 5 ml gel blocks were frozen in penicillin flasks by placing into nitrogen vapors at -70°C . In 3 days they were thawed on water bath at 37°C . Viability of microorganisms was examined on the ability to colony formation.

It has been established that immobilization in gels of calcium alginate, carrageenan and agarose does not lead to the death of microbial cells. Immobilization in polyacrylamide gel results in significant death of the part of cells. During freezing down to -70°C the lowest survival was also in the samples with polyacrylamide gel.