

**Эффективность консервации в жидком азоте микробиоты кишечника человека в зависимости от состава криозащитной среды**

**Научный руководитель – Фесенко Евгений Евгеньевич**

**Заломова Любовь Вячеславовна**

*Аспирант*

Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*E-mail: zalomova.91@mail.ru*

В докладе рассматривается влияние различных протекторов на эффективность криоконсервации микробиоты кишечника человека в жидком азоте. Исследовали криозащитные свойства таких агентов, как ДМСО, глицерин, этиленгликоль и желатин. В ходе экспериментальной работы мы выдвинули гипотезу о возможном положительном действии гелия на выживаемость симбиотических бактериальных сообществ после криоконсервации в жидком азоте. Предпосылками к изучению влияния газовых криопротекторов, в частности гелия, на сохранность кишечной микрофлоры после криоконсервации послужили наши исследования на перевиваемых линиях клеток HeLa и L929 [1].

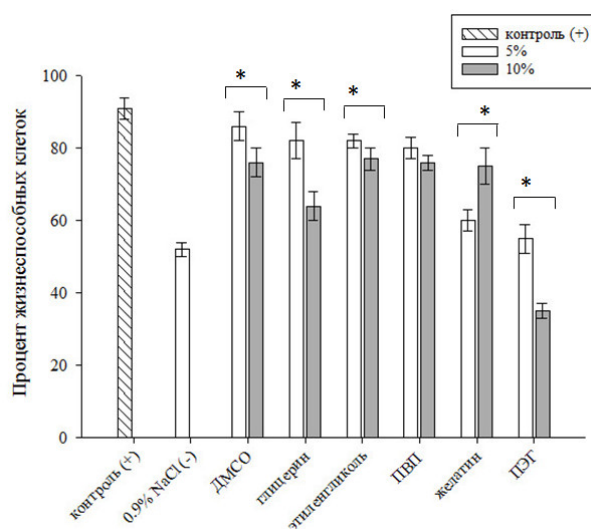
Методом флуоресцентного анализа было показано, что  $50 \pm 3.0\%$  бактерий, входящих в состав, остаются жизнеспособными при замораживании в солевом растворе  $0.9\%$  NaCl без использования криопротекторов. Максимальная выживаемость бактерий достигается под защитой  $5\%$  раствора ДМСО -  $86 \pm 4.0\%$  выживших клеток. При повышении концентрации криопротекторов с  $5\%$  до  $10\%$ , за исключением желатина, достоверно снижалась жизнеспособность клеток после размораживания. Результаты исследования зависимости токсичности от концентрации криопротекторов и времени эквilibрации демонстрируют достоверное снижение процента жизнеспособности бактерий при повышении концентрации ДМСО, глицерина и этиленгликоля с  $5$  до  $10\%$  в условиях эквilibрации вместе с микроорганизмами при температуре  $20^\circ\text{C}$  [2, 3, 4]. Предложенная нами гипотеза с применением гелия для защиты микробных клеток, получила подтверждение только по микроскопическим исследованиям.

Работа поддержана грантом № 19-34-90187 Российского Фонда Фундаментальных Исследований.

**Источники и литература**

- 1) Уграицкая С.В., Шишова Н.В., Гагаринский Е.Л., Швирст, Н.Э., Каурова С.А., Гольтяев М.В., Заломова Л.В., Ковтун А.Л., Фесенко Е.Е. (мл) Влияние гелия на криоконсервацию клеток линий HeLa и L929 // Жур. Биофизика, (2018), т.63, вып.3, С. 510-517.
- 2) Fuller B.J. Cryoprotectants: the essential antifreezes to protect life in the frozen state // CryoLetters, 2004, V. 25, P. 375–388
- 3) Hasan M., Fayter A.E.R., Gibson M.I., Ice Recrystallization Inhibiting Polymers Enable Glycerol-Free Cryopreservation of Microorganisms // Biomacromolecules, 2018, P. 1-28.
- 4) Hubalek, Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms // Cryobiology, 2003, 46, 205–229.

**Иллюстрации**



**Рис. 1.** Жизнеспособность микробиоты кишечника человека после криоконсервации (температура – минус 196°С, срок хранения – 96 часов) с проникающими и непроникающими криопротекторами, приготовленными на основе 0.9% NaCl (n=30). \*- достоверность различий жизнеспособности микробиоты кишечника при использовании ДМСО, глицерина, этиленгликоля, желатина и ПЭГ в различных концентрациях: 5 и 10% ( $P < 0.05$ ), согласно непараметрическому критерию оценки достоверности результатов Манна-Уитни.