

взаємодії, що тримають обидва ланцюги разом, послаблюються і розриваються. При цьому відбувається розходження ланцюгів – так звана денатурація або плавлення ДНК.

Температура плавлення ($T_{пл}$) – це температура, за якої денатурується 50% усієї ДНК. $T_{пл}$ залежить від змісту Г=Ц пар у молекулі ДНК. За літературними даними, у ссавців, у тому числі і людини, $T_{пл}$ ДНК складає 87°C. Головні фактори, що впливають на $T_{пл}$: рН, іонна сила, органічні розчинники, наявність неспарених основ: 1% неспарених основ знижує $T_{пл}$ на 1°C.

Поглинання світла молекулами ДНК. Спектр поглинання всієї ДНК повинен бути усередненням по спектрах нуклеотидів, що входять до її складу. Азотисті сполуки (та відповідні нуклеотиди), що входять до складу ДНК, мають властивість поглинати ультрафіолетове світло при 260 нм.

Отже, з вищесказаного стає зрозумілим, що ДНК-код досить схильний до пошкодження. Насправді, за оцінками, щодня в кожній з наших клітин відбуваються десятки тисяч пошкоджень ДНК. При цьому клітини ДНК мають спеціалізовані білки, які здатні виявляти та відновлювати багато випадків пошкодження ДНК. У разі припинення дії шкідливого фактору структура і функції ДНК можуть відновлюватися (ренатурація). Найбільш важливими трьома факторами вдалої ренатурації є наступні:

- Температура. Найкращою вважається температура десь на 25°C нижче точки температури кипіння. Це дозволяє припустити, що швидке охолодження одразу після денатурації здатне припинити ренатурацію. Дійсно, така процедура має місце у біохімічній практиці: гарячі проби з денатурованою ДНК одразу ж занурюють у лід, така методика називається гасінням ДНК.

- Концентрація ДНК. У певних межах, чим вищою є концентрація ДНК, тим з більшою швидкістю відбудеться ренатурація.

- Час, відведений на ренатурацію. Чим більшим є цей час, тим більша частина молекул ДНК ренатурує.

Якщо зміни незворотні, молекула разом з інформацією, яку вона містить, припиняє існування. Цей процес називається деструкцією.

Висновки. ДНК – це полімер з незвичайними фізичними властивостями, які часом суперечать один одному. Фізичні властивості ДНК зумовлюють її біологічні функції як носія спадкової інформації та лежать в основі всіх молекулярних процесів, до яких залучена ДНК. Фізичні властивості ДНК широко використовуються клітинами для виконання основних функцій, необхідних для життя, включаючи зберігання інформації, реплікацію та відновлення цієї інформації, а також регулювання способу вираження цієї інформації.

ПРОБЛЕМИ КРІОБІОЛОГІЇ ТА КРІОБІОФІЗИКИ У ХХІ СТОРІЧЧІ

Мекленбурцев О. Д.

Науковий керівник: Баранник М. О.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

meklenbyrcev@gmail.com

Вступ. В останні десятиріччя в Україні спостерігається тенденція до депопуляції, що спричинено, зокрема, падінням народжуваності. Кріоконсервування гамет і ембріонів є

важливим аспектом допоміжних репродуктивних технологій, які зараз стрімко розвиваються у світі. Науково-технічний прогрес у біології та медицині і насамперед розвиток репродуктивної кріобіології дають змогу на практиці забезпечити високу якість заморожено-відігрітих гамет і ембріонів для збереження генофонду.

Мета дослідження. Метою цієї роботи є вивчення сучасних досягнень та проблем у галузях кріобіології та кріобіофізики.

Матеріали та методи. Збір та аналіз наукової літератури з кріобіології та кріобіофізики.

Результати дослідження. Кріобіологія та кріомедицина – порівняно молоді галузі науки, які сформувалися близько 70 років тому і предметом вивчення яких є низька температура на об'єктах тваринного та рослинного походження. Розвитку кріобіології та кріомедицини сприяли фундаментальні дослідження в області фізики низьких температур, біології, медицини, хімії, а також розробки нових біотехнологій, кріогенного обладнання. Розвиток цих галузей став неможливим без розвитку галузі кріобіофізики, що займається вивченням молекулярних механізмів кріопошкодження та кріозахисту біологічних систем різного рівня організації.

Основною метою консервування клітин при низьких температурах та в умовах гіпотермії є збільшення термінів збереження їх життєздатності *in vitro* шляхом зниження швидкостей біохімічних реакцій. Консервування є важливою ланкою у вирішенні низки найважливіших медичних, екологічних та господарських проблем. До цих проблемам відносяться:

- тканинна та клітинна терапія, трансплантація органів, імплантація ембріонів та штучне запліднення;
- збереження генофонду рідкісних та зникаючих видів тварин та рослин;
- селекція та відтворення цінних та високопродуктивних порід тварин та сортів рослин;
- зберігання цінних штамів мікроорганізмів, клітинних культур тощо.

У процесі кріоконсервування кріооб'єкт піддається багатофакторному впливу. Для зручності аналізу факторів, що впливають на збереження клітин, процес кріоконсервування умовно розбивають на кілька етапів:

1. Забір матеріалу - вилучення біооб'єкта з фізіологічної системи та занурення його в псевдофізіологічне середовище (фізіологічний розчин). Процедура вилучення клітин, тканин та органів з організму супроводжується помірною (+20°C) або глибокою (0÷4°C) гіпотермією.
2. Заміщення «фізіологічного» розчину кріозахисним (зазвичай гіпертонічним) та експозиція в ньому клітин.
3. Охолодження біооб'єкта в контейнері: до початку фазового переходу «вода-лід»; у зоні фазового переходу; до температури холодоагенту.
4. Зберігання у замороженому стані.
5. Відігрів до позитивної температури.
6. Заміна середовища кріоконсервування «фізіологічним середовищем».

Зберігання у замороженому стані. Як холодоагенти зазвичай використовують тверду вуглекислоту (-79°C) або рідкий азот (-196°C). Використання рідкого гелію хоч і можливо, але пов'язане із значними складнощами. Зберігання в рідкому азоті протягом десятків років не впливає на життєздатність занурених до нього біооб'єктів. Зменшення зберігання на цьому етапі може бути обумовлене періодичними зниженнями рівня азоту в результаті випаровування та періодичним попаданням зразків у пари азоту. Зберігання при температурах -10÷ -20°C широко застосовується для зберігання біологічних препаратів, зокрема білкового

походження. Застосування такого зберігання для клітин вимагає застосування кріозахисних середовищ і може бути тривалим.

Досягнення в галузі кріоконсервування репродуктивних клітин та ембріонів пов'язані з відкриттям і подальшим розвитком уявлень про захисні речовини — кріопротектори. До кріопротекторів належать компоненти синтетичних середовищ, які відіграють роль стабілізаторів води та сприяють запобіганню або зменшенню змін, що настають при заморожуванні біологічних об'єктів. Відповідно до характеру взаємодії з біологічними об'єктами, кріопротектори поділяють на ендоцелюлярні (ДМСО, 1,2-пропандіол, етиленгліколь, гліцерин) та екзоцелюлярні (сахароза, глюкоза, амід, фікол, протейни та ліпопротейни). Ендоцелюлярні, або проникаючі, кріопротектори знижують точку замерзання розчину, взаємодіють з мембранними структурами клітини, запобігають високій концентрації внутрішньо- та позаклітинних електролітів. Непроникаючі кріопротектори збільшують осмотичний градієнт, завдяки якому відбувається дегідратація клітини перед процедурою охолодження. Крім того, механізм дії екзоцелюлярних кріопротекторів пояснюється здатністю зв'язування значної частини вільної води та зменшенням пошкоджень кристалами льоду.

Є кілька основних способів глибокого заморожування: повільне, швидке охолодження та надшвидке (методом вітрифікації). Швидкість охолодження залежить від складу і проникності клітинної мембрани для води, співвідношення об'єму клітини і площі її поверхні та від різниці осмотичного тиску по обидва боки мембрани. Стандартним методом кріоконсервування гамет та ембріонів людини залишається метод повільного охолодження за спеціальними програмами з використанням, як правило, проникаючих кріопротекторів.

В останні декілька десятиріч набула розвитку галузь кріоніка, що являє собою практику збереження тіла або голови/мозку людини в стані глибокого охолодження з метою її відновлення і при необхідності - лікування (у тому числі, і від наслідків старіння) в майбутньому, коли досягнення медицини та інших технологій це дозволять. Сучасні технології надшвидкого кріоконсервування з використанням висококонцентрованих кріопротекторів забезпечують повну функціональність клітин після розморожування у 95% випадків. Наразі методи консервування окремих клітин (наприклад ооцитів) масово використовуються в багатьох країнах світу. При кріоконсервуванні цілих органів постійною проблемою є дегідратація клітин та утворення внутрішньоклітинного льоду через неможливість доставити кріопротектор до всіх клітин одночасно та в однаковому об'ємі, також це майже унеможливорює стабільне зниження температури, що є стовпом кріоконсервування. В наслідок цих вад при збільшенні кількості клітин складність успішного кріоконсервування збільшується експоненційно, тому його здебільшого використовують для збереження й пересадки тканин цього органу, а не самого органу. Наразі не існує прикладів успішного розконсервування цілих організмів теплокровних тварин (таких як ссавці й птахи).

Висновки. Відкритим залишається ще цілий спектр питань впливу факторів кріоконсервування на морфофункціональні характеристики ембріонів людини. Зокрема, не отримано переконливих доказів безпеки процедури кріоконсервування, тривалого зберігання і відігріву для генетичного апарату ембріонів людини. Кріобіологія належить до тих галузей сучасної науки, які за останні роки досягли значних успіхів і сьогодні демонструють вражаючі практичні результати. Перспективність нових досліджень у галузі збереження генетичного ресурсу людини і поява нових біотехнологій дають можливість застосовувати на практиці методи сучасної кріобіології для збереження генофонду нації.