

## Розподіл швидкості охолодження у циліндричних контейнерах різного розміру на етапі кристалізації суспензії *Saccharomyces cerevisiae*

В.В. МАРУШЕНКО<sup>1</sup>, І.П. ВИСЕКАНЦЕВ<sup>2</sup>, Є.О. ГОРДІЄНКО<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Національний технічний університет "ХПІ", м. Харків

<sup>2</sup> Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

## Cooling Rate Distribution in Cylinder Containers of Different Diameter at Crystallisation Stage of *Saccharomyces cerevisiae* Suspension

V.V. MARUSCHENKO<sup>1</sup>, I.P. VYSEKANTSEV<sup>2</sup>, E.O. GORDIENKO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> National Technical University "Kharkov Polytechnic Institute", Ukraine

<sup>2</sup> Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Одним з наріжних каменів сучасної теорії пошкодження клітинних суспензій при їх низькотемпературній консервації є двохфакторна теорія. Вона пояснює той факт, що збереженість усіх клітинних суспензій "кулоподібно" залежить від швидкості охолодження на етапі кристалізації. Але реально протягом заморожування клітинної суспензії у контейнері, що має порівняно великий розмір, поле швидкостей охолодження є неоднорідним. В різних точках зразка швидкість охолодження на етапі кристалізації є неоднаковою і змінюється у деяких межах. При цьому збереженість будь-якої клітини залежить від її положення у зразку: чим більшим є розкид швидкостей охолодження, тим меншою є збереженість клітин у зразку в цілому, оскільки при цьому більша частина клітин заморожується зі швидкістю, що відрізняється від оптимального значення. Слід також звернути увагу на те, що при заморожуванні біооб'єкта з використанням програмного заморожувача, як правило, вимірювач температури, по відхиленню показань якого від заданої програми здійснюється керування процесом охолодження, розташовується або на осі симетрії контейнера, або на зовнішній його поверхні. У обох випадках програма охолодження відхиляється від задалегідь заданої. Отже, при кріоконсервуванні зразків порівняно великого розміру всі режимні параметри заморожування змінюються в залежності від розташування клітини у зразку. При цьому неможливо реалізувати оптимальні умови заморожування для всіх клітин одночасно. У зв'язку з цим виникає проблема оптимізації умов заморожування біологічних об'єктів, які мають порівняно великі розміри, з урахуванням розкиду режимних параметрів охолодження для окремих клітин у зразку. Неоднорідність температурних полів та швидкостей охолодження в контейнері порівняно великого розміру з точки зору двохфакторної теорії кріопошкодження клітин неминуче приводить до зменшення збереженості біооб'єкта по мірі збільшення розміру зразка і швидкості охолодження. У роботі встановлено аналітичний вираз, який апроксимує поле температур суспензії *Saccharomyces cerevisiae* у фізіологічному розчині на етапі кристалізації в циліндричному контейнері в залежності від його діаметра і швидкості охолодження зовнішньої поверхні контейнера. Показано, що значна частина клітин перед початком кристалізації позаклітинного розчину досить довгий проміжок часу експонується при температурі кристалізації. Тому при розробці методу низькотемпературного консервування доцільно завчасно визначити резистентність клітин до гіпотермічного зберігання у відповідному кріозахисному середовищі.

One of the headstones in present theory of cell suspension damaging under the low temperature preservation is the two-factor theory. It explains the fact that the preservation of all cell suspensions depends in a "dome-like" way on the cooling rate at crystallisation stage. However actually, during cell suspension freezing in the container with relatively big size the range of cooling rates is heterogeneous. The cooling rate at crystallisation stage in the sample's different points is unequal and changes in some limits. At the same time the preservation of any cell depends on its location in the sample: the higher cooling rate dispersion is, the lower is cell preservation in the whole sample, since the majority of cells is frozen with the rate, different from the optimal value. Of note is also the fact, that under bioobject's freezing with a programmed freezer, the thermometer, by which indices' deviation from the fixed program the cooling processes is controlled, is generally placed either on the container's symmetry axis or on its external surface. In both cases the cooling program deviates from the preliminary fixed one. So, when cryopreserving the samples of relatively big size, the all operating freezing parameters are changed depending on the cell location in a sample. At the same time a simultaneous realisation of the optimal freezing conditions for all cells is impossible. Due to this fact the problem arises to optimise the freezing conditions for biological objects, having relatively big sizes, with taking into account the dispersion of cooling operating parameters for some cells in the sample. The heterogeneity of temperature ranges and cooling rates in the container with relatively big size from the point of view of two-factor theory of cell cryodamage inevitably results in bioobject's integrity decrease with an increase in sample's size and cooling rate. An analytical expression, approximating the temperature range of *Saccharomyces cerevisiae* suspension in physiological solution at crystallization stage in a cylinder container depending on its diameter and cooling rate of container's external surface, has been established in the research. The most of cells before beginning of extracellular solution crystallization was shown as exposed for quite a long time at crystallization temperature. Therefore when designing the method of low temperature preservation of expediency is a preliminary determination of cell resistance to hypothermic storage in the corresponding cryoprotective solution.