

Актуальними є дослідження про впровадження в біотехнологічний процес виробництва ліпаз мікроорганізмів, що здатні бути активними в екстремальних умовах. Бактерії родів *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Fusarium*, *Pseudomonas* продукують ліпази, що здатні бути активними, витримуючи лужне середовище рН 9...10, а також при низьких температурах – від 2 до 10 °С, та високих температурах – від 50 до 60 °С [5].

З метою підвищення активності та специфічності ферментів вже використовують методи генної інженерії. Це потенційна можливість створити продуценти, які будуть синтезувати високоспецифічні активні ліпази, можливо, у збільшеній кількості. Вже проведено клонування та експресію генів видів *Rhizopus*, *Geotrichum candidum*, *Thermomyces lanuginosa* та в дріжджах *Pichia pastoris* [4].

Виділення та очищення подібних ферментних препаратів потребує особливої уваги, адже для більш глибокого вивчення та безпечного використання в різних галузях промисловості необхідно отримувати їх в чистому вигляді. Очищення проводять на трьох різних рівнях – біотехнологічному, фізико-хімічному і тонкому хімічному. Така схема очищення мікробних ліпаз має специфіку – кількість послідовних стадій та способи елюювання [3].

Нові розробки у біотехнології виготовлення ферментативних препаратів ліпаз розвивають потенціал для розширення діапазону їхнього використання у різних галузях біотехнологічної, олієжирової, харчової промисловості тощо. Обробка або модифікація продуцентів, із застосуванням удосконалених наявних технологій та розробки нових, дозволить спростити процес виробництва препаратів ліпаз та розширити їх сферу застосування для отримання нових продуктів та удосконалення властивостей вже існуючих.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Cao, Yu., Li, X., Xiong, J., Wang, L., Yan, L.-T., Ge, J. (2019). Investigating the origin of high efficiency in confined multienzyme catalysis, *Nanoscale*, 10.1039/C9NR07381G, 11, 45, 22108-22117.
2. Кір'янова, Е. С., Сахно, Ю. С., Яманбаєва, С. К. (2018). Використання ферментів в технології олієжирових продуктів. *Харчова наука та технологія*, 3, 45-50.
3. Арі Р. Ю. (1979). *Очищення, фізико-хімічні та каталітичні властивості мікробних ліпаз*. Латвія: Вентана-Граф.
4. Ghosh, S., Basu, S., Ganguly, S. A (2010). Comparative study of lipase production by *Aspergillus niger* and *Penicillium oxalicum* using different carbon sources. *Journal of Basic Microbiology*, 50, 6, 545-551.
5. Priya, S., Vinithkumar, S., Babu, M., Thangaradjou, M. (2012). Production and purification of lipase from *Pseudomonas putida* and its application in biodiesel production. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2, 2, 185-193.

#### КРІОКОНСЕРВАЦІЯ СПЕРМАТОЗОЇДІВ, ООЦИТІВ ТА ЕМБРІОНІВ

К.І. Сутиріна, О.В. Щербак

Державний біотехнологічний університет

Кріоконсервація – це застосування криогенних температур з метою збереження біологічного матеріалу для його подальшого використання. Наразі цей метод відіграє важливу роль в кріомедицині. Тому, що зараз багато людей страждають на безпліддя, онкологічні захворювання тощо. Наразі приблизно 10–15% пар у всьому світі мають певну форму безпліддя, а проблеми зі спермою у цих парах становлять близько 50% .

Кріоконсервація дає можливість зберігати різноманітний біологічний матеріал, у т.ч ооцити та ембріони, певний час, поки людина проходить лікування. А потім використати його у різноманітних допоміжних репродуктивних технологіях.

Наразі використовують два види кріоконсервації: повільне заморожування та вітрифікацію. Техніка повільного заморожування полягає в поступовому охолодженні протягом 2–4 годин в два або три етапи, вручну або автоматично з використанням спеціального обладнання – заморожувача. Ефективність даного виду заморожування на сьогоднішній день не є достатньою для успішного збереження яйцеклітин і ембріонів. В основному цей метод кріоконсервації використовують для заморожування сперматозоїдів. Вітрифікація – це метод надшвидкого заморожування. Вона заснована на використанні кріопротекторів високої концентрації та миттєвому зниженні температури до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Для кріоконсервації ооцитів та ембріонів, як правило, використовують саме цей метод заморожування. Ефективність вітрифікації ембріонів досягає 99%, що є безумовно високим показником. Тобто для ооцитів та ембріонів тварин та людини цей метод є найбільш ефективним.

До кріопротекторів належать компоненти синтетичних середовищ, які відіграють роль стабілізаторів води та сприяють запобіганню або зменшенню змін, що настають при заморожуванні біологічних об'єктів. Кріопротектори поділяють на: ендоцелюлярні (ДМСО, 1,2-пропандіол, етиленгліколь, гліцерин) та екзоцелюлярні (сахароза, глюкоза, амід, фікол, протеїни та ліпопротеїни).

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.

Основними показниками для застосування кріоконсервації сперматозоїдів є: ускладнення хронічних захворювань сечостатевої системи; початок терапії злоякісних новоутворень; хірургічне втручання на органи репродуктивної системи, а також при наявності високого ризику травмування зовнішніх статевих органів.

Першим етапом кріоконсервації сперми є забір біологічного матеріалу. Перед початком мікроскопічного дослідження біологічний матеріал потрібно витримати у термостат ( $36,6^{\circ}\text{C}$ ) для розрідження. Після чого проводять оцінку еякулята. Оцінюють на відповідність морфологічним ознакам сперматозоїдів, їх рухливість, в'язкість еякуляту, вміст лейкоцитів тощо. Після оцінки, якщо еякулят відповідає стандарту, його заморожують. Для цього до еякуляту додають кріопротектор у складі спеціального середовища. Потім проводять повторну оцінку, та розливають до спеціальних кріопробірок. Після чого переносять до холодильнику на 5 хв., щоб знизити стрес еякуляту. Коли еякулят пройшов стадію адаптації до холоду, його можна занурювати до посудини Дюара, де знаходиться рідкий азот (температура  $-196^{\circ}\text{C}$ ).

Для заморожування сперми людини були досліджені два середовища: Sperm Freezing Medium та Sperm Freeze SF1. Кращий результат по зберіганню виживання та цілісності сперматозоїдів був при використанні Sperm Freezing Medium. Середовище містить гліцерин і сахарозу в якості кріозахисних агентів, гліцин, який покращує рухливість сперматозоїдів після відтаювання, SSR (синтетичний замінник сироватки) з інсуліном, який сприяє виживанню. Також, середовище не містить яєчного жовтку.

Таким чином, кріоконсервація має грандіозні перспективи для застосування як в подоланні наслідків хіміотерапії, так і в галузі репродуктивної медицини.