

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ**

ЗАТВЕРДЖЕНО

Вченою радою
Інституту проблем кріобіології і
кріомедицини НАН України
протокол №2
від 17 лютого 2020 р.
Голова Вченої ради

Інституту проблем кріобіології і
кріомедицини НАН України
академік НАН України
А.М. Гольцев



ОСВІТНЬО-НАУКОВА ПРОГРАМА

(навчальний план)

ГАЛУЗЬ ЗНАНЬ **09 - БІОЛОГІЯ**

СПЕЦІАЛЬНІСТЬ **091 – БІОЛОГІЯ**

РІВЕНЬ ОСВІТИ **ТРЕТІЙ (ОСВІТНЬО-НАУКОВИЙ)**

ХАРКІВ - 2020

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ

Дисципліна 1. Кріобіологія в системі біологічних наук

Тема 1. Історія розвитку кріобіології.

Предмет, зміст та методи кріобіології. Місце кріобіології в системі біологічних наук. Методологічні аспекти кріобіології, значення її положень і концепцій в аналізі загальнобіологічних проблем. Розвиток кріобіології в Україні та за кордоном. Роль і значення кріобіології для розвитку системних дисциплін, використання досягнень кріобіології в медицині та народному господарстві. Роль вчених ІПКіК НАН України в становленні кріобіології: А.М. Білоус, В.І. Грищенко, В.О. Моїсєєв, М.С. Пушкар, А.М. Утевський, А.О. Цуцаєва.

(Нардід О.А.: лекції – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 8 год.)

Тема 2. Перспективи розвитку кріобіології.

(Гольцев А.М.: лекції – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 8 год.)

Тема 3. Основні принципи та норми біоетики в кріобіології.

Феномен біоетики: предмет, історія виникнення, проблеми, перспективи. Визначення поняття «біоетика». Співвідношення етики і біоетики, шлях від «Никомахової етики» Аристотеля до біоетики Поттера як «науки виживання людства». Виділення біоетики в самостійну дисципліну, концепція «небезпечного знання». Законодавчі документи, які регламентують виконання положень біоетики. Шляхи практичного втілення і виконання біоетичних концепцій (кафедри біоетики у ВИШах, комітети з біоетики, тощо). Біоетичні аспекти науково-дослідних робіт в кріобіології і кріомедицині.

(Компанієць А.М.: лекції – 2 год., самостійна робота – 8 год.)

Дисципліна 2. Теоретичні основи кріобіології.

Тема 1. Теорії зародження та росту кристалів. Фазові переходи першого та другого роду. Термодинамічні передумови процесу кристалізації. Механізми утворення зародків нової фази: гомогенне та гетерогенне зародкоутворення. Фактори, які впливають на зародкоутворення. Механізми росту кристалів. Типи дефектів кристалічної структури. Ріст кристалів двовимірними зародками. Нормальний та дислокаційний механізми росту. Вплив механізму росту та домішок на морфологію кристалів. Рідинні включення.

Тема 2. Фазові діаграми. Фазова рівновага у конденсованих системах. Закон рівноваги фаз (правило фаз Гіббса). Метод термічного аналізу. Діаграми стану двокомпонентних систем та принципи їх побудови.

Тема 3. Фазовий перехід у водних розчинах. Вода та її структура. Фізико-хімічні процеси при заморожуванні водних розчинів. Методи вивчення процесів зародкоутворення та росту кристалів льоду. Умови вітрифікації поза- та внутрішньоклітинної води. Основні методи вивчення фазових переходів у водних розчинах і біологічних системах.

(Кулешова Л.Г. лекції – 6 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 17 год.)

Тема 4. Кріопротектори.

Класифікація кріопротектрів; класи хімічних сполук, до яких вони належать; поняття кріопротекторної активності. Гіпотези, що пояснюють механізм кріозахисної дії кріопротекторів. Основні вимоги до кріопротекторів, фізико-хімічні властивості ефективних кріопротекторів. Сучасний стан проблеми пошуку нових кріопротекторів. Кріоконсерванти: принципи створення кріоконсервуючих розчинів для різних біоб'єктів. Комбіновані кріоконсерванти. Ефективність застосування кріопротекторів ендо- та екзоцелюлярної дії при різних режимах заморожування біоб'єктів.

(Гордієнко О.І.: лекції – 2 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 10 год.)

Тема 5. Проникність клітинних мембран для молекул води та кріопротекторів.

Зв'язок проникності клітинних мембран для молекул води та оптимальних режимів заморожування клітинних суспензій. Двохфакторна теорія кріопошкодження Мейзура. Проникність клітинних мембран для кріопротекторів, її роль у виборі протоколу кріоконсервування. Методи визначення проникності клітинних мембран. Визначення проникності мембран еритроцитів для води та електрично нейтральних речовин.

Тема 6. Температурозалежні зміни в біомембранах. Фазові переходи в ліпідній фазі.

Латеральне розділення мембранних компонентів при обводненні та зневодненні клітин. Види пружних деформацій клітинних мембран, ієрархія вільних енергій деформації різних типів. Механізми утворення макроскопічної пори в деформованій мембрані.

(Гордієнко О.І.: лекції – 6 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 17 год.)

Тема 7. Основні чинники кріопошкодження клітин у зоні субнульових температур.

Роль механічного та осмотичного чинників у пошкодженні клітин при швидкому та повільному заморожуванні. Вивчення дії факторів кріопошкодження на клітини при використанні модельних підходів: гіпертонічний шок і гіпертонічний кріогемоліз.

(Гордієнко О.І.: лекції – 4 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 17 год.)

Тема 8. Фактори кріопошкодження клітин в умовах фазових переходів у циклі заморожування-відігрів.

1. Фізико-хімічні фактори кріоушкодження клітин в області доевтектичних температур („ефекти розчину”, кристалізаційний тиск, реологічний фактор, гідростатичний тиск у рідких включеннях у кристалічній структурі).

2. Вплив швидкості охолодження та переохолодження на збереженість клітин. Способи ініціювання процесу кристалізації.

3. Роль морфологічної структури позаклітинного льоду у кріоушкодженні клітин.

4. Механізм росту кристалів льоду у системах контактуючих клітин.

5. Фактори кріоушкодження клітин в області евтектичних та субевтектичних температур (кристалізація евтектики, термомеханічні напруги, деформаційна релаксація, електрична поляризація)

6. Девітрифікація як фактор ушкодження клітин на етапі відігріву.

7. Морфологічні проявлення ушкоджень біологічних об'єктів після циклу заморожування-відігріву.

Тема 9. Термодинамічні моделі й експериментальні методи визначення транспортних характеристик плазматичних мембран клітин в умовах позаклітинного

льодоутворення.

(Кулешова Л.Г.: лекції – 4 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 17 год.)

Дисципліна 3. Методи дослідження в кріобіології.

Тема 1. Морфологічні дослідження в кріобіології.

Морфологія клітин. Вплив охолодження на клітинні структури. Зміна морфології тканин і ультраструктури клітин під дією кріопротекторів та заморожування-відтавання. Поняття аутолізу, оборотності та необоротності пошкоджень. Смерть клітини, її ознаки.

(Рєпін М.В.: лекції – 4 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 10 год.)

Тема 2. Питання життєздатності в кріобіології.

Методи визначення життєздатності клітин після кріоконсервування. Вивчення життєздатності клітин методами вітального забарвлення за допомогою метаболічних тестів, культивування. Функція мітохондрій як тест на життєздатність. Основні етапи кріоконсервування та супутні їм чинники кріоушкодження. Швидке двоступінчасте заморожування як альтернатива повільному охолодженню з постійною швидкістю.

(Петренко О.Ю.: лекції – 2 год., самостійна робота – 16 год.)

Тема 3. Біофізичні методи дослідження в кріобіології.

Біофізичні методи та їх принципи, які використовуються для дослідження структурних змін біомакромолекул, білок-ліпідних комплексів та мембран при кріоконсервуванні. Вплив заморожування-відтавання на структурно-функціональні властивості макромолекул.

(Нардід О.А.: лекції – 4 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 10 год.)

Тема 4. Методи та підходи до визначення життєздатності та стану клітин у складі тканин після кріоконсервування та низькотемпературного зберігання.

Основні принципи визначення стану клітин у складі тканин. Проблеми оцінки структурно-функціонального стану клітин у складі тканин після кріоконсервування та низькотемпературного зберігання. Біохімічні, гістологічні, гістохімічні та імуногістохімічні методи оцінки структурної цілісності, життєздатності, метаболічної активності та апоптозу клітин у тканинах. Оцінка пошкоджуючої дії факторів кріоконсервування та гіпотермічного зберігання за вивільненням із тканин ферментів та інших активних речовин. Вибір протоколів гістохімічного й імуногістохімічного мічення залежно від типу тканин та об'єкту дослідження. Оцінка результатів гістохімічної та імуногістохімічної реакції. Морфологічні прояви некрозу й апоптозу клітин. Методичні підходи до вивчення некрозу та апоптозу в тканинах. Поняття морфометрії. Її види. Використання флуоресцентних барвників для визначення структурно-функціональних особливостей та метаболічного стану клітин у складі тканин.

(Божок Г.А.: лекції – 2 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 10 год.)

Тема 5. Використання методу проточної цитофлуориметрії у кріобіологічних дослідженнях.

Принцип методу, область використання, переваги методу, збір та аналіз результатів.

(Бабійчук Л.О. Зубов П.М.: лекції – 2 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 16 год.)

Дисципліна 4. Проблеми кріоконсервування крові та її компонентів.

Тема 1. Теоретичні основи кріоконсервування клітин донорської крові людини. Методи і технології кріоконсервування еритроцитів, тромбоцитів, лейкоцитів. Показники збереженості і функціональної повноцінності клітин після розморожування. Клінічне застосування кріоконсервованих клітин донорської крові людини: показання та протипоказання до трансфузії. Низькотемпературні банки донорської і аутологічної крові. Показання, протипоказання та переваги використання аутогемотрансфузій.

(Компанієць А.М.: лекції – 4 год., практичні – 8 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 20 год.)

Тема 2. Еритроцит – як модель для досліджень структурних і функціональних змін мембран в умовах кріоконсервування.

Механізми температурно-осмотичної стабілізації еритроцитів при охолодженні та заморожуванні у присутності непроникаючого кріопротектора. Безвідмивний спосіб кріоконсервування еритроцитів із кріопротектором ПЕО-1500.

(Бабийчук Л.А.: лекції – 2 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 20 год.)

Тема 3. Модифікація білків еритроцитів під впливом факторів кріоконсервування.

Модифікація інтегральних білків (Ca^{2+} -, Na^+ , K^+ - насоси, маркерні білки), ліпідного бішару (фазові переходи, асиметрія) та цитоскелетних білків еритроцитів під дією факторів кріоконсервування.

(Бабийчук Л.А.: лекції – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 16 год.)

Тема 4. Проблеми кріоконсервування кордової крові.

Кордова кров – джерело стовбурових гемопоетичних клітин. Особливості клітинного складу та компонентів плазми. Методи виділення, кріоконсервування і довгострокового зберігання клітин кордової крові. Комплексна оцінка структурно-функціонального стану клітин кордової крові.

(Бабийчук Л.А.: лекції – 2 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 16 год.)

Дисципліна 5. Загальні проблеми та конкретні підходи до кріоконсервування клітин і тканин.

Тема 1. Розробка протоколу низькотемпературного кріоконсервування. Загальні напрямки.

Загальна характеристика трьох основних способів заморожування біологічних об'єктів: повільне охолодження, швидке охолодження та вітрифікація. Особливості процедури відтавання біологічних об'єктів залежно від способу охолодження. Основні фізичні фактори, які впливають на ефективність протоколів заморожування-відтавання. Особливості розробки протоколів заморожування з урахування фізичних процесів, що відбуваються під час охолодження біологічних об'єктів. Особливості розробки протоколів відтавання з урахування фізичних процесів, які відбуваються під час охолодження біологічних об'єктів. Взаємозалежність протоколів заморожування-відтавання біоб'єктів у процесі низькотемпературного консервування. Приклади ефективного використання загального протоколу заморожування-відтавання для кріоконсервування біологічних об'єктів.

(Гуріна Т.М.: лекції – 4 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 15 год.)

Тема 2. Модифікація структурно-функціонального стану клітин після кріоконсервування.

Початковий стан як фактор, який визначає кріолабільність стовбурових клітин із різних джерел. Кріоконсервування як підхід до селекції гетерогенних клітинних суспензій (кістковий мозок, клітини фетальної печінки та плаценти). Кріоконсервування гемопоетичних і мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку дорослого організму та фетальної печінки. Кріочутливість фетальних нервових клітин. Модифікація структурно-функціонального статусу стовбурових елементів злоякісних пухлин після кровопливу.

(Гольцев А.М.: лекції – 2 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 15 год.)

Тема 3. Низькотемпературне зберігання стовбурових клітин та тканинної інженерних конструкцій.

Введення у проблему. Мета та завдання теми. Історія відкриття та дослідження стовбурових клітин (СК). Класифікація СК. Плюрипотентні стовбурові клітини (ПСК). Джерела ПСК. Ембріональні стовбурові клітини. Генетичні та поверхневі маркери. Властивості ембріональних СК. Індуковані ПСК. Визначення плюрипотентності в системах *in vitro* та *in vivo*. Збереження ПСК у недиференційованому стані. Мультипотентні стовбурові клітини. Трансплантація СК. Стовбурові клітини епідермісу. Клінічне використання СК епітелію шкіри. Мезодерма та мезенхімальні стовбурові клітини.

Кровотворення та стовбурові кровотвірні клітини (СКК). Підходи і методи до кріоконсервування СКК. Стовбурові клітини печінки. СК підшлункової залози. Клітинна терапія інсулінозалежного цукрового діабету.

Мультипотентні мезенхімальні стовбурові клітини (МСК). Фенотипові властивості та диференційний потенціал МСК. Стовбурові клітини та біотехнологія. Тканинна інженерія. Кріоконсервування МСК шляхом повільного охолодження. Кріоконсервування МСК шляхом вітрифікації. Гіпотермічне зберігання МСК. Низькотемпературне зберігання тканинної інженерних конструкцій. Проблеми регенеративної медицини.

(Петренко О.Ю. : лекції – 4 год., практичні – 3 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 20 год.)

Тема 4. Експериментальне обґрунтування застосування кріоконсервованих стовбурових клітин як основного складового компонента препаратів клітинної та тканинної терапії.

Клітини фетальної печінки в терапії експериментальних патологій: лікування ад'ювантного артриту, хвороби «трансплантат проти господаря» та генетично детермінованої онкопатології. Клітини плаценти при лікуванні ад'ювантного артриту. Лікування нейродегенеративних захворювань аутоімунної природи клітинами фетального мозку.

(Гольцев А.М.: лекції – 4 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 15 год.)

Тема 5. Низькотемпературне зберігання ендокринних тканин. Підготовка ендокринного матеріалу до низькотемпературного кріоконсервування. Розроблені методи кріоконсервування для ендокринного матеріалу, який отримано з наднирників, щитовидної залози, оваріальної тканини, підшлункової залози та сім'яників.

(Бондаренко Т.П.: лекції – 2 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 10 год.)

Тема 6. Проблема консервування нейральних клітин-попередників.

Нейральні клітини-попередники (визначення, властивості, роль, джерела, способи отримання та ідентифікації). Відмінність нейральних клітин-попередників (НКП) плодів і дорослих. Стовбурові ніша (мікрооточення) НКП. Роль стовбурової ніші у виживанні та регуляції поведінки НКП. Зміни стовбурової ніші НКП у процесі розвитку ссавців. Культивування НКП. Вплив культивування на властивості НКП та їх нащадків. Роль тривимірного мікрооточення у виживанні та функціонуванні НКП. Умови, необхідні для ефективного низькотемпературного консервування НКП. Гіпотермічне зберігання НКП у складі суспензій, нейросфер і тривимірних агрегатів. Кріоконсервування НКП у складі суспензій, нейросфер і тривимірних агрегатів. Проблеми оцінки результатів низькотемпературного консервування НКП.

(Сукач О.М.: лекції – 2 год., семінари – 1 год., самостійна робота – 10 год.)

Питання для самостійної підготовки

1. Будова і функції еритроцитів різних видів ссавців. Цитоскелет-мембранний комплекс еритроцитів людини. Видові особливості еритроцитів ссавців (склад цитоплазматичної мембрани, цитоскелету та цитоплазми).
2. Молярність, моляльність, осмолярність, осмоляльність. Осмотичний тиск. Принцип осмометрії. Ізотонічні, гіпотонічні та гіпертонічні розчини. Гематокрит.
3. Залежність гіпертонічного криогемолізу еритроцитів від швидкості охолодження, температурного діапазону, тонічності та рН середовища.
4. Методи отримання клітин із кісткового мозку, печінки, підшлункової залози.
5. Функції клітин печінки, підшлункової залози, шкіри.
6. Роль апоптозу і некрозу у кріобіології.
7. Методи оцінки структурно-функціонального стану клітин. Основні біохімічні маркери пошкодження клітин.
8. Поняття некрозу та апоптозу клітин.
9. Практичні питання гістохімії та імуногістохімії.
10. Підготовка тканин для проведення гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних досліджень.
11. Умови забору, зберігання, фіксації та приготування зрізів тканин для проведення подальших досліджень.
12. Гістометрія та каріоцитометрія.
13. Ядерно-цитоплазматичний індекс.
14. Основні флуоресцентні маркери цитоплазматичної мембрани, мітохондрій, ядер.
15. Субпопуляційний склад гетерогенних суспензій клітин різного походження.
16. Методи кріоконсервування клітин кісткового мозку, фетальної печінки, плаценти, фетальних нервових клітин.
17. Методи оцінки структурно-функціональних характеристик клітин після кріоконсервування.
18. Методи індукції експериментальних патологій (ад'ювантного артриту, хвороби «трансплантат проти господаря», алергічного енцефаломієліту). Основні ознаки розвитку цих патологій.
19. Структурно-функціональні особливості клітин фетального походження, які дозволяють застосовувати їх у терапії аутоімунних патологій в експерименті.
20. Методи оцінки гемопоетичної та імунної систем тварин з патологією до та після лікування.
21. Властивості, роль, джерела, способи отримання та ідентифікації НКП.
22. Стовбурова ніша НКП.
23. Роль тривимірного оточення в виживанні та регуляції функціонування НКП.
24. Умови, необхідні для ефективного низькотемпературного консервування НКП.
25. Вакцини та діагностікуми на основі мікроорганізмів, мікробні препарати та методи їх зберігання.
26. Методи нетривалого зберігання мікроорганізмів: субкультивування, зберігання під мінеральною олією, зберігання при субнульвих температурах, висушування на твердих носіях, зберігання за помірно низьких температур, висушування на носіях.

27. Методи тривалого зберігання мікроорганізмів: L-висушування, ліофілізація, кріоконсервування.
28. Застосування методів тривалого зберігання мікроорганізмів у біотехнологічних виробництвах.
29. Вплив морфофункціонального стану, пов'язаного з віком періодичної культури, на кріорезистентність бактерій.
30. Сигнальні системи, які регулюють проліферацію та диференціювання стовбурових клітин. СК скелетних м'язів: локалізація, властивості.
31. Функціональні методи ідентифікації СКК.
32. Ендотеліальні клітини-попередники та їх роль у формуванні кровоносних судин.
33. Штучна печінка на основі стовбурових і диференційованих клітин.
34. Генна терапія і стовбурові клітини з точки зору кріобіолога.
35. Кріопротектори та компоненти захисних середовищ, які використовують під час кріоконсервування та ліофілізації бактерій, грибів, вірусів.
36. Які структурні елементи клітин впливають на кріорезистентність грампозитивних і грамнегативних бактерій.
37. Міжнародне та українське патентне законодавство про депонування мікроорганізмів та іншого біологічного матеріалу.
38. Найбільш відомі колекції мікроорганізмів.
39. Етапи технології кріоконсервування мікроорганізмів.
40. Етапи технології ліофілізації мікроорганізмів.
41. Етапи технології L-висушування мікроорганізмів.
42. Вплив складу ростових середовищ та аерації на чутливість мікробних клітин до заморожування, ліофілізації, L-висушування.
43. Значення кріоконсервації для збереження генетичного різноманіття рослинного світу.
44. Біотехнологія об'єктів рослинного походження. Особливість рослинних клітин як об'єкта кріоконсервування.
45. Способи оцінки життєздатності об'єктів рослинного походження після розморожування.
46. Основні уявлення про стійкість рослин до несприятливих умов навколишнього середовища.

План семінарів

1. Консервування іммобілізованих мікроорганізмів.
 2. Різні режими кріоконсервування як спосіб селекції клітин з ендокринних тканин.
 3. Гіпотермічне зберігання оваріальної тканини та її властивості в умовах *in vitro* та *in vivo*.
 4. Методи оцінки стану кріоконсервованого ендокринного матеріалу.
 5. FRET-технологія як сучасний засіб оцінки функціонального стану поодиноких гормон продукуючих клітин у реальному відрізку часу.
 6. Можливості покращення функціональних характеристик розмороженої сперми.
 7. Реабілітація сперми – насичення киснем, використання різних сольових середовищ, нові методи запліднення розмороженою спермою.
 8. Біохімічні механізми гібернації у тварин.
- Місце проведення: бібліотека інституту.

План самостійної роботи

1. Середовища та методи культивування бактерій і грибів.
2. Використання люмінесцентної мікроскопії для оцінки збереженості мікробних клітин.
3. Бактеріофаги: будова, культивування, методи оцінки життєздатності.
4. Існуючі методи тривалого зберігання бактеріофагів.
5. Вплив температури та залишкової вологості на життєздатність ліофілізованих мікроорганізмів.
6. Метод «прискороного» зберігання.
7. Репарація пошкоджень мікробних клітин після кріоконсервування та ліофілізації.
8. Дослідження аклімації жуків *Tenebrio molitor* (борошняний хрущак) із метою підвищення їх стійкості до переохолодження.
9. Вивчення впливу інгібітору синтезу білка (циклогексїміда) на стійкість борошняного хрущака до переохолодження.
10. Дослідження показників перекисного окислення ліпідів як маркеру холодової аклімації за даними накопичення МДА.

Практичні заняття

1. Методи оцінки функціональних характеристик репродуктивних клітин та ембріонів. (Оцінка рухливості сперматозоїдів та запліднюючої здатності. Запліднення яйцеклітин кріоконсервованою спермою. Експрес метод визначення кріоушкоджень геному сперматозоїдів.
2. Методи склування ембріонів та інших організмів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Актуальные проблемы криобиологии / Под ред. А.Н. Гольцева. – Харьков: ИПКиК НАН Украины, 2012. – 767 с.
2. Белоус А.М. Замораживание и криопротекция / [А.М. Белоус, Е.А. Гордиенко., Л.Ф. Розанов]. – М.: Высш. шк., 1987. – 90 с.
3. Белоус А.М. Криобиология / А.М. Белоус, В.И. Грищенко. – К.: Наукова думка, 1984. – 431 с.
4. Белоус А.М. Криоконсервирование репродуктивных клеток / [А.М. Белоус, В.И. Грищенко, Ю.С. Паращук]. – К.: Наукова думка, 1983. – 240 с.
5. Белоус А.М. Структурные изменения биологических мембран при охлаждении / [А.М. Белоус, В.А. Бондаренко]. – К.: Наукова думка, 1982. – 255 с.
6. Бугров А.Д. Криоповреждения и криозащита спермиев быков при глубоком замораживании. – Харьков. Изд-во «НТМТ». – 2010. – 319 с.
7. Влияние криопротекторов на биологические системы / [Т.Н. Юрченко, В.Ф. Козлова, Б.А. Скорняков и др.]. – К.: Наукова думка, 1989. – 240 с.
8. 3. Гахова Э.Н. Генетический криобанк как способ сохранения биоразнообразия водных позвоночных // Биофизика живой клетки. –1994. –Т. 6. –С. 21–27
9. Гольцев А.М, Бондарович М.О, Кузьяков А.В., и др. Визначення стану Т-клітинної ланки імунітету і вмісту стовбурових ракових клітин як критерій оцінки ефективності превентивної терапії раку молочної залози кріоконсервованими клітинами фетальної печінки // Пробл. криобиологии и криомедицины. – 2014. – Т.24, №3. – С. 238–248
10. Гольцев А.Н., Сафранчук О.В., Бондарович М.О. та ін. Зміна кріолабільності стовбурових пухлинних клітин залежно від фази росту аденокарциноми // Фізіол. Журн. – 2011. – Т. 57, №4. – С. 68–76.
11. Гордієнко Є.О. Фізика біомембран / [Є.О. Гордієнко, В.В. Товстяк]. – К.: Наукова думка, 2009. – 269 с.
12. Гордиенко Е.А., Пушкарь Н.С. Физические основы низкотемпературного консервирования клеточных суспензий. К.: Наукова думка, 1994.
13. Гордієнко Є.О., Товстяк В.В. Фізика біомембран (підручник). К.: Наукова думка, 2009.
14. O.I. Gordiyenko, S.Ye Kovalenko., I.F. Kovalenko, V.V. Ogurtsova and A.F. Todrin Theoretical estimation of the optimum cooling rate of a cell suspension at linear freezing modes based on a two factor theory of cryodamage // CryoLetters. – 2018. - V. - 39 (6). - P. 380-385.
15. О.І. Гордієнко, С.Є. Коваленко, І.Ф. Коваленко Механізми проникання гліцерину крізь мембрани еритроцитів людини // Проблеми криобиологии.-2012.-Т. 22, №4.-С. 389-397.
16. Гулевский А.К. Барьерные свойства биомембран при низких температурах / [А.К. Гулевский., В.А. Бондаренко, А.М. Белоус]. – К.: Наукова думка, 1988. – 207 с.
17. Зацепина Г. Н. Физические свойства и структура воды. – М.: Изд-во МГУ, 1998. – 184 с.
18. Криобиология и биотехнология / [А.А. Цуцаева, В.Г. Попов, К.М. Сытник и др.; Под ред. А.А. Цуцаевой] – К.: Наукова думка, 1987. – 216 с.

19. Крיוконсервирование клеточных суспензий / [А.А. Цуцаева, В.А. Аграненко, Л.И. Федорова и др.; Под ред. А.А. Цуцаевой]. – К.: Наукова думка, 1983. – 240 с.
20. Криопротекторы / [Н.С. Пушкаръ, М.И. Шраго, А.М. Белоус, Ю.В. Калугин]. – К.: Наукова думка, 1978. – 204 с.
21. Луценко Е.Д. Популяционный состав и функциональный потенциал клеток плаценты, криоконсервированной в различных режимах // Світ медицини та біології. – Т 5, № 1–3. – С.105–109.
22. Обладнання низькотемпературного банку біологічних об'єктів та умови довгострокового зберігання біологічних об'єктів у низькотемпературному банку: метод, рекомендації / [В.І. Грищенко, І.П. Висеканцев, О.С. Прокопюк та ін.]. – Харків: ШКіК НАН України, 2004. – 14 с.
23. Петренко А.Ю. Стволовые клетки. Свойства и перспективы клинического применения: монография / [А.Ю. Петренко, Ю.А. Хунов, З.Н. Иванов]. – Луганск: "ООО Пресс-экспресс", 2011. – 368 с.
24. Плацента: криоконсервирование, структура, свойства, перспективы клинического применения / Под ред. В.И. Грищенко, Т.Н. Юрченко. – Харьков, 2011. – 292 с.
25. Пушкаръ Н.С. Введение в криобиологию / [Н.С. Пушкаръ, А.М. Белоус]. – К.: Наукова думка, 1975. – 342 с.
26. Вода и водные растворы при температуре ниже 0°C / [под ред. Ф. Франкса]. – К.: Наук. думка, 1985. – 388 с.
27. Фуллер Б. Криоконсервирование для создания банка клеток: современные концепции на рубеже XXI столетия / Б. Фуллер, К. Грин, В.И. Грищенко // Проблемы криобиологии. – 2003. – № 2. – С. 62–83.
28. Шестак Я. Теория термического анализа: Физико-химические свойства твердых неорганических веществ / пер. с англ. И. В. Архангельского, Ю.Г. Метлина, Т.И. Щербак. – М.: Мир, 1987. – 456 с.
29. Goltsev A.N., Lutsenko E.D., Dubrava T.G. et al. The importance of myelotransplant component content in the manifestation of cryopreserved haemopoietic precursors functional activity. 2. Adequate methods for assessing the role of adhesive cells. // CryoLetters. – 1996. – Vol.17, №3. – P. 195–200.
30. Goltsev AN, Ostankova LV, Lutsenko ED, Dubrava TG. The importance of myelotransplant component content in the manifestation of cryopreserved hematopoietic precursors functional-activity. 1. The assessment of bone-marrow adhesive cells role // CryoLetters. – Vol.15, №4. – P. 203–208.
31. Mammalian Cell Viability. Methods and Protocols. Editors: Martin J. Stoddart. ISBN: 978-1-61779-107-9 (Print) 978-1-61779-108-6 (Online).
32. Cryopreservation and freeze-drying protocols : [edited by J. G. Day, G. N. Stacey. – 2nd ed.] . – Totowa, New Jersey : Humana Press Inc., 2007. – 348 p. – (Methods in molecular biology : series editor J. M. Walker).
33. Franks F. The properties of aqueous solution at subzero temperature. In water: a comprehensive treatise / Felix Franks. – New York : Plenum Press, 1982. – Vol. 7. – P. 215–338.

Допоміжна література

1. Бойчук Н.В., Исламов Р.Р., Кузнецов С.Л. [и др.]. Гистология: Атлас для практических занятий: учебное пособие. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 160 с.
2. Луппа Н. Гистохимия. – М.: «Мир», 1979. – 400 с.

3. Гольцев А.Н., Гурина Т.М., Бабенко Т.Н., Останков М.В. Влияние различных режимов криоконсервирования на некоторые характеристики эмбриональных нервных клеток // Проблемы криобиологии. – 2003. – № 1. – С. 46 – 50.
4. Гольцев А.Н., Ямпольская Е.Е., Дубрава Т.Г. Идентификация фенотипических характеристик и оценка влияния различных режимов криоконсервирования на функциональный потенциал клеток фетальной печени // Вестник ХНУ, серия: Биология. – 2006. – Вып.4, № 748. – С.121 – 127.
5. Полак Дж., Ван Норден С. Введение в иммуногистохимию: современные методы и проблемы. – М., «Мир». – 1987. – С. 9–22.
6. Baust J.J., Baust J.M. *Advances in Biopreservation*. CRC Press, 2006, 426 p.
7. *Current Protocols in Cell Biology*. Online ISBN: 9780471143031 DOI: 10.1002/0471143030.
8. Guiberta E.E., Petrenko A.Yu., Balabana C.L. et al. *Organ Preservation: Current Concepts and New Strategies for the Next Decade* // *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. – 2011. – Vol. 38. –P.125–142.
9. Klein R. *Biological Principles of Tissue Banking*. – Pergamon Press, 1982. – 264 p.
10. *Life in the Frozen State* / ed. By B.J. Fuller, N. Lane, E.E. Benson. – Boca Raton, CRC Press, 2004. – 672 p.
11. *Regenerative medicine and cell therapy* / Н. Baharvand, N. Aghdami, Editors. – Humana Press. – 2013. – 316 p.
12. *Regenerative Medicine*, Terese Winslow, 2006.
13. Rettig W., B. Strehmel, S. Schrader, H.Seifert *Applied Fluorescence in Chemistry, Biology and Medicine*. – 1998. – Springer Verlag. – 562 p.
14. *Stem cells. Handbook of Experimental Pharmacology*. – Vol. 174, Springer, 2004.
15. Ehrerstein G. W. *Thermal analysis of plastics: theory and practice* / G. W. Ehrerstein, G. Riedl, P. Trawiel. – Munich : Hanser Gardner Publications, Inc., 2004. – 368 p.

Інформаційні ресурси

1. Підручники, наукові монографії, обзори на сайті – www.molbiol.ru.
2. Наукові видання з біохімії, хімії та суміжних наук – www.chemport.org.
3. Інформаційна база наукових статей – www.ncbi.nlm.nih.gov.
4. Інформаційна база Scopus – <http://www.scopus.com>.

ДИСЦИПЛІНИ ЗА ВІЛЬНИМ ВИБОРОМ АСПІРАНТА

Дисципліна 1. Технології низькотемпературного консервування

Тема 1. Способи збереження біо'об'єктів при низьких температурах.

Закон Арреніуса та основні принципи кріоконсервування біо'об'єктів, які з нього витікають. Особливості переходу біо'об'єктів, що кріоконсервуються у твердофазний стан, які обумовлені кріопротекторними речовинами. Класифікація механізмів пошкодження біо'об'єктів, що кріоконсервуються та оптимальні режими їх охолодження (нагріву) для інгібування цих механізмів. Кріосублімаційна сушка (ліофілізація) як спосіб довгострокової консервації біосистем.

(**Осецький О.І.:** лекції – 2 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 20 год.).

Тема 2. Кріоапаратура для низькотемпературного консервування. Способи реалізації оптимальних (східчастих) режимів охолодження (нагріву) кріоконсервування біооб'єктів та їх апаратурне забезпечення. Методи реалізації швидких та надшвидких швидкостей охолодження. Сучасні методи контролю і управління у технологіях кріоконсервування біо'об'єктів. Заморожувачі. Розморозувачі. Сховища. Контейнери. (**Осецький О.І.:** лекції – 2 год., практичні – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 20 год.).

Тема 3. Технологічний процес сублімаційної сушки. Апаратура та обладнання для ліофілізації Холодоагенти. Основні принципи ліофілізації. Ліофілізація як спосіб підготовки бактеріальних препаратів до тривалого збереження. Основні етапи. Сутність фізичного процесу. Чинники, що впливають на збереження ліофілізованих клітин. Вплив висушування на ліпідний бішар. Принципи і способи захисту структури мембран при ліофілізації (**Осецький О.І.:** лекції – 4 год., практичні – 18 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 20 год.).

Тема 4. Низькотемпературні банки біологічних об'єктів.

Методи для визначення ступеня збереження клітин в умовах низькотемпературного банку. Особливості консервування та кріоконсервування тканинних трансплантатів на прикладі плаценти.

(**Прокопюк О.С.:** лекції – 2 год., практичні – 6 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 20 год.)

Тема 5. Кріобанки кордової крові – стан, проблеми та перспективи розвитку.

Передумови для розвитку системи кріобанків кордової крові (КК). Види кріобанків КК. Функціонування комерційних і донорських кріобанків КК. Гарантії якості. Перспективи застосування кріоконсервованої кордової крові.

(**Кудокоцева О.В.:** лекції – 2 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 20 год.)

Дисципліна 2. Роль кріобіології в збереженні біологічного різноманіття та генофонду біологічних видів.

Тема 1. Кріоконсервування як спосіб збереження генетичних ресурсів.

Перспективи використання кріоконсервування для селективної елімінації визначених клітинних популяцій у гетерогенних суспензіях. Методичні підходи до кріоконсервування яйцеклітин і ембріонів людини, ссавців, птахів, риб, сперми та яєць комах. Основи

поліфакторної природи кріорезистентності сперматозоїдів риб з різних екологічних ніш. Кріоконсервування сперматозоїдів, ембріонів риб та інших хребетних, а також комах. Переваги та недоліки окремих методів кріоконсервування.

Петрушко М.П.: лекції – 6 год., практичні – 8 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 30 год.).

Тема 2. Методи кріобіології в репродуктивній медицині.

Кріоконсервування чоловічих статевих клітин. Проблема кріоконсервування жіночих статевих клітин. Методи зберігання доімплантаційних ембріонів людини. Кріоконсервування тестикулярної та оваріальної тканини. Історія розробки та впровадження в клініку програм запліднення *in vitro*.

(Петрушко М.П.: лекції – 6 год., практичні – 6 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 30 год.).

Тема 3. Методи тривалого зберігання мікроорганізмів.

Класифікація мікроорганізмів. будова бактерій, грибів, найпростіших, вірусів. Методи тривалого зберігання мікроорганізмів: субкультивування, під мінеральною олією, зберігання при субнульових та помірно низьких температурах, висушування на твердих носіях. Кріоконсервування бактерій, грибів, вірусів. Ліофілізація бактерій, грибів, вірусів. L-висушування бактерій, грибів, вірусів.

(Висеканцев І.П.: лекції – 4 год., практичні – 4 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 30 год.).

Тема 4. Кріоконсервування рослинних об'єктів (насіння, пилку, меристеми).

Необхідність та способи збереження генетичних ресурсів рослин. Об'єкти дослідження фітокріобіології. Особливість кріоконсервування ортодоксального та рекальцетратного насіння. Збереження пилку сільськогосподарських рослин для потреб селекціонерів. Особливості кріоконсервування об'єктів рослинного походження у вигляді суспензії клітин, тканин та органів. Способи підготовки калюсу та меристем до кріоконсервування. Кріопротектори та режими кріоконсервування. Морозостійкість деревовидних рослин в умовах клімату України.

(Розанов Л.Ф.: лекції – 4 год., практичні – 4 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 30 год.).

Дисципліна 3. Природний та штучний гіпобіоз

Тема 1. Анабіоз та гіпобіоз у природі.

Поняття анабіозу та гіпобіозу у природі в різних класах тварин. Механізми, біологічне значення анабіозу та гіпобіозу, а також їх практичне впровадження в медицині.

(Гулевський О.К.: лекції – 6 год., практичні – 6 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 30 год.).

Тема 2. Природний та штучний гіпометаболізм ссавців.

Основи підтримки температурного гомеостазу. Стратегії відповіді організму на холодний плив. Адаптація ссавців до холоду. Гібернація ссавців. Зимові сплячка ведмедів. Денний торпор. Сон. Фактори, які впливають на розвиток, підтримку та вихід із гіпометаболічних станів. Штучні гіпометаболічні стани – шляхи досягнення, перспективи використання.

(Шилю О.В. : лекції – 4 год., практичні – 8 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 30 год.).

Тема 3. Природні та штучні гіпометаболічні стани. Ензиматичні, гематологічні та морфологічні особливості.

Холод як адаптогенний фактор. Природний гіпометаболізм. Штучний гіпометаболізм. Засоби досягнення, ризику та перспективи. Особливості функціонування ензиматичних систем при гіпометаболізмі (зокрема реакції обмеженого протеолізу).

Стан системи крові (еритроцити, лейкоцити) при гіпометаболізмі. Морфологія областей ЦНС та периферичних органів при гіпометаболізмі.

(**Ломако В.В.:** лекції – 2 год., практичні – 4 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 30 год.)

Тема 4. Проблеми і перспективи гіпотермічного зберігання клітин та органів.

Гіпотермія – загальнобіологічний сенс. Гіпотермія як спосіб зберігання клітин, тканин та ізольованих органів. Особливості перебігу холодової ішемії. Зв'язок між рівнем метаболізму та стійкістю органів до ішемії. Механізми ішемічно-реперфузійних пошкоджень при гіпотермічному зберіганні та після повернення до фізіологічних умов. Шляхи попередження цих пошкоджень. Розчини консервування – загальні принципи створення, приклади. Сучасні досягнення та перспективи у галузі зберігання ізольованих органів.

(**Черкашина Д.В.:** лекції – 4 год., практичні – 6 год., семінари – 2 год., самостійна робота – 30 год.)