

Применение растворов наноразмерных частиц диоксида церия и ортованадата гадолиния для гипотермического хранения культуры клеток *Spirulina platensis*

М.П. Гречишникова¹, М.А. Голояд², О.В. Липина², О.В. Фалько², В.В. Чижевский²

¹Харьковский национальный педагогический университет им. Г.С. Сковороды, г. Харьков

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Application of Solutions of Cerium Dioxide and Gadolinium Orthovanadate Nanosized Particles in Hypothermic Storage of *Spirulina platensis* Cell Culture

M.P. Hrechyshnikova¹, M.A. Goloyad², O.V. Lipina², O.V. Falko², V.V. Chizhevsky²

¹H.S. Skovoroda Kharkiv National Pedagogical University, Kharkiv, Ukraine

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Хранение биообъектов при низких положительных температурах имеет ряд преимуществ: относительная простота технологических процедур, отсутствие дорогостоящего криогенного оборудования и расходных материалов. Подобные технологии низкотемпературного хранения могут быть востребованы в пищевой промышленности и фарминдустрии.

Известно, что хранение биологического материала в условиях низких положительных температур сопровождается окислительно-восстановительными реакциями и появлением активных форм кислорода (АФК). Как правило, неконтролируемое образование АФК приводит к глубоким повреждениям биомолекул, мембран и некрозу тканей [A. Kasperska, 2004].

В этой связи актуальным является поиск веществ, способных защитить биологические образцы от окислительного стресса в процессе гипотермического хранения. К веществам, обеспечивающим высокую антиоксидантную защиту, можно отнести нанокристаллические соединения из группы лантаноидов, в частности диоксид церия [А.Б. Щербakov и соавт., 2011] и ортованадат гадолиния [В.П. Кошевой с соавт., 2014].

Цель работы – исследование протекторных свойств водных растворов, содержащих наночастицы диоксида церия и ортованадата гадолиния для хранения культуры клеток *Spirulina platensis* в условиях низких положительных температур (6...8°C).

Клетки *S. platensis* отмывали от ростовой среды дистиллированной водой и хранили в водных гипотонических растворах диоксида церия (0,2; 0,02; и 0,002 г/л) и аналогичных растворах ортованадата гадолиния при температуре 6...8°C в бытовом холодильнике. Размер частиц диоксида церия составлял 2 нм, ортованадата гадолиния – 20 нм. Контролем являлась суспензия клеток *S. platensis* оценивали методом витального дифференциального окрашивания с последующим подсчетом мертвых и живых клеток.

Результаты исследований показали, что после трех недель гипотермического хранения в растворе диоксида церия с концентрацией 0,02 г/л жизнеспособными осталось 80–90% клеток *S. platensis*, а в образцах, содержащих диоксид церия и ортованадат гадолиния, – не более 10%. В образцах без наночастиц живых клеток не обнаружено.

Таким образом, водные растворы диоксида церия могут использоваться для низкотемпературного хранения культуры клеток *S. platensis* при положительных температурах.

The storage of biological objects at low positive temperatures has several advantages, *i. e.* relative simplicity of technological procedures, the absence of expensive cryogenic equipment and consumables. Such a low-temperature storage technologies can be in demand in food and pharmaceutical industry.

It is known that the storage of biological samples under low positive temperatures is accompanied with oxidation-reduction reactions and appearance of reactive oxygen species (ROS). As a rule, uncontrolled ROS formation leads to deep damage of biomacromolecules, membranes and necrosis of tissues [A. Kasperska, 2004]. In this regard, the search for the substances capable of protecting biological samples against an oxidative stress during hypothermic storage is relevant. The substances with high antioxidant potential include among others nanocrystalline compounds from the group of lanthanides, in particular cerium dioxide [A.B. Shcherbakov *et al.*, 2011] and gadolinium orthovanadate [V.P. Koshevoy *et al.*, 2014].

The research aim was to investigate the protective properties of aqueous solutions containing cerium dioxide and gadolinium orthovanadate nanoparticles to store the *Spirulina platensis* cells at low positive temperatures (6...8°C).

S. platensis cells were washed from the growth medium with a distilled water and stored in aqueous hypotonic solutions of cerium dioxide (0.2, 0.02 and 0.002 g/l) and the similar solutions of gadolinium orthovanadate at 6...8°C in a household refrigerator. The cerium dioxide particles were 2 nm-sized and those of gadolinium orthovanadate were of 20 nm. The suspension of *S. platensis* cells in a distilled water served as a control. The survival rate of *S. platensis* cells was evaluated using the vital differential staining method followed by the counting of dead and live cells.

The findings demonstrated that after three weeks of hypothermic storage in the cerium dioxide solution with a concentration of 0.02 g/l 80–90% of *S. platensis* cells remained viable, while the samples containing cerium dioxide and gadolinium orthovanadate not more than 10% were viable. No live cells have been found in the sample without nanoparticles.

Thus, the aqueous solutions of cerium dioxide can be used for low temperature storage of *S. platensis* cell culture at positive temperatures.