

## Применение пектина ряски малой лемнана для консервирования лейкоцитов при $-20^{\circ}\text{C}$

О.Н. СОЛОМИНА, Е.П. СВЕДЕНЦОВ, В.В. ГОЛОВЧЕНКО, О.О. ЗАЙЦЕВА, Т.В. ТУМАНОВА, Г.А. НИКУЛИНА  
Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар

### Application of Lemnan Duckweed Pectin for Leukocyte Preservation at $-20^{\circ}\text{C}$

O.N. SOLOMINA, E.P. SVEDENTSOV, V.V. GOLOVCHENKO, O.O. ZAYTSEVA, T.V. TUMANOVA, G.A. NIKULINA  
Institute of Physiology of Komi Scientific Center of Ural Division  
of Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

Углеводы – известный класс органических веществ, широко используемых для консервирования клеток компонент различных защитных сред. У данных веществ отмечено наличие слабых протекторных свойств. Показано [Оводова Р.Г. и соавт., 2000], что выделенный из свежесобранного водного растения ряски малой *Lemna minor* L. пектиновый полисахарид лемнан характеризуется высокой способностью к образованию вязких водных растворов и к гелеобразованию. В литературе отсутствуют сведения об изучении криозащитных свойств у растительных полисахаридов.

Цель данной работы – исследование морфологических и функциональных показателей лейкоцитов, подвергнутых замораживанию до  $-20^{\circ}\text{C}$  и хранению в течение суток под защитой криоконсерванта, содержащего пектин ряски малой лемнан.

Объектом исследования служил концентрат лейкоцитов, выделенный из цельной донорской крови путем цитафереза. Среднее количество биообъекта составляло  $15,52 \pm 4,25$  мл. Лейкоциты смешивали в соотношении 1:1 в пластиковом контейнере “Компопласт 300” с криоконсервантом, содержащим глицерин (в конечной концентрации 3,5%), пектин лемнан и трилон В. Для “выравнивания” рН раствора использовали гидроксид натрия (следы). Смесь выдерживали в течение 20 мин при комнатной температуре и замораживали по экспоненциальной программе в спиртовой (96°) ванне камеры электроморозильника “Криостат”, охлажденной до  $-20^{\circ}\text{C}$  в течение 15 мин. Быстрое размораживание лейкоконцентрата осуществляли через сутки в 20-литровой водяной ванне, нагретой до  $38^{\circ}\text{C}$  в течение 35–45 с (в зависимости от объема биообъекта) при интенсивном покачивании контейнера.

Результаты исследований ( $n=11$ ;  $M \pm y$ ) показали, что через сутки хранения биообъекта при  $-20^{\circ}\text{C}$  сохраняется  $87,4 \pm 10,9\%$  (от исходного уровня) клеток, из них у  $78,8 \pm 6,2\%$  плазматическая мембрана устойчива к эозину. Сохранность гранулоцитов составляет  $54,0 \pm 7,0\%$ , а  $82,5 \pm 17,7\%$  отогретых нейтрофилов способны фагоцитировать частицы латекса.

Таким образом, растительный полисахарид лемнан способствует сохранению ядерных клеток крови, подвергнутых замораживанию до  $-20^{\circ}\text{C}$  и хранению в течение суток.

*Авторы благодарят Российский фонд фундаментальных исследований за оказанную финансовую поддержку при выполнении данного этапа исследования (грант РФФИ 08-04-01423).*

Carbohydrates are the known class of organic substances, widely applied in cell preservation as the components of different protective media. These substances demonstrate low protective properties. It has been shown [Ovodova R.G. et al., 2000], that the pectic polysaccharide lemnan, isolated from freshly-collected duckweed *Lemna minor* L. aqueous plant, is characterized by a high capability for viscous aqueous solutions and gel formations. There is no information in literature about studying the cryoprotective properties in plant polysaccharides.

This research was aimed to investigate the morphological and functional indices in leukocytes, underwent freezing down to  $-20^{\circ}\text{C}$  and one day's storage under protection of cryopreservative, containing lemnan duckweed pectin.

The research object was the leukocyte concentrate, isolated from the whole donor blood by cytapheresis. An average number of bioobject was  $15.52 \pm 4.25$  ml. Leukocytes were mixed in 1:1 ratio into the “Kompoplast 300” plastic containers with the cryopreservative, containing glycerol (in 3.5% final concentration), lemnan pectin and trilon B. We used the sodium hydroxide (traces) for solution pH “leveling”. The mixture was exposed for 20 min at room temperature and frozen by exponential program in alcohol (96°) bath of “Cryostat” electrofreezer chamber, cooled down to  $-20^{\circ}\text{C}$  within 15 min. Leukoconcentrate was rapidly frozen-thawed a day later in 20 l water bath, heated up to  $38^{\circ}\text{C}$  for 35–45 sec (depending on bioobject's size) under intensive container shaking.

The research results ( $n=11$ ;  $M \pm y$ ) have demonstrated, that following one day of bioobject storage at  $-20^{\circ}\text{C}$  there are preserved  $87.4 \pm 10.9\%$  cells (of initial level), in  $78.8 \pm 6.2\%$  of them the plasmatic membrane is eosin-resistant. Granulocyte integrity was  $54.0 \pm 7.0\%$ ,  $82.5 \pm 17.7\%$  of thawed neutrophils are capable for latex particle phagocytosis.

Thus, the lemnan plant polysaccharide contributes to the integrity in blood nuclear cells, underwent freezing down to  $-20^{\circ}\text{C}$  and 1 day's storage.

*The authors are gratitude to the Russian Foundation for Basic Research for rendered financial support during this research step performance (grant RFFBR 08-04-01423).*