

# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

**Державний обліковий номер:** 0419U002264

**Особливі позначки:** відкрита

**Дата реєстрації:** 26-04-2019

**Статус:** Захищена

**Реквізити наказу МОН / наказу закладу:**



## II. Відомості про здобувача

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Пономарьова Вікторія Леонідівна

2. Ponomarova Viktoriia L.

**Кваліфікація:**

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Вид дисертації:** кандидат наук

**Аспірантура/Докторантура:** так

**Шифр наукової спеціальності:** 03.00.19

**Назва наукової спеціальності:** Кріобіологія

**Галузь / галузі знань:** Не застосовується

**Освітньо-наукова програма зі спеціальності:** Не застосовується

**Дата захисту:** 23-04-2019

**Спеціальність за освітою:** промислова біотехнологія

**Місце роботи здобувача:** Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України

**Код за ЄДРПОУ:** 03534630

**Місцезнаходження:** вул. Переяславська, 23, м. Харків, Харківський р-н., Харківська обл., 61016, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **III. Відомості про організацію, де відбувся захист**

**Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради):** Д 64.242.01

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України

**Код за ЄДРПОУ:** 03534630

**Місцезнаходження:** вул. Переяславська, 23, м. Харків, Харківський р-н., Харківська обл., 61016, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію**

**Повне найменування юридичної особи:** Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України

**Код за ЄДРПОУ:** 03534630

**Місцезнаходження:** вул. Переяславська, 23, м. Харків, Харківський р-н., Харківська обл., 61016, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Національна академія наук України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **V. Відомості про дисертацію**

**Мова дисертації:**

**Коди тематичних рубрик:** 34.15.19, 34.03.33

**Тема дисертації:**

1. Збереженість іммобілізованих в альгінатному гелі дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* після консервування за низьких температур
2. Preservation of *Saccharomyces cerevisiae* yeast immobilized in alginate gels after preservation at low temperatures

**Реферат:**

1. Об'єкт дослідження – вплив факторів низькотемпературного консервування та зберігання на життєздатність, структурно-функціональний стан і біологічні властивості вільних та іммобілізованих в альгінатному гелі дріжджів *S. cerevisiae*. Мета роботи – дослідити вплив умов консервування за низьких температур на життєздатність та структурно-функціональний стан дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, іммобілізованих у гелі альгінату натрію. Методи: мікробіологічні; спектрофотометричний; електронного парамагнітного резонансу; проточної цитофлуориметрії; конфокальної мікроскопії; кріобіологічні; кріомікроскопії; рідинної хроматографії; методи статистичної обробки результатів. Теоретичні і практичні результати, наукова новизна: Життєздатність іммобілізованих у носіях із гелю альгінату натрію клітин дріжджів *S. cerevisiae* залежить від швидкості охолодження. Охолодження зі швидкістю 1–5 град/хв до –40 пС та з подальшим зануренням зразків у рідкий азот дозволяє зберегти вихідну життєздатність іммобілізованих

дріжджів без додаткового захисту кріопротекторами. Встановлено, що кріопротекторна дія розчинів альгінату натрію пов'язана з утворенням під час заморожування високов'язкого міжклітинного середовища, яке захищає клітини від ушкодження кристалами льоду і фізико-хімічними чинниками, пов'язаними з кристалоутворенням. Водночас процес іммобілізації в альгінатному гелі та подальше охолодження дріжджових клітин ініціюють помірне генерування АФК, концентрація яких перевищує значення контролю в 3 рази. Це сприяє підвищенню метаболічної активності дріжджових клітин і активує репаративні процеси в них. Термоіндукція внутрішньоклітинного синтезу трегалози клітинами *S. cerevisiae* перед іммобілізацією значно підвищує їх кріорезистентність і життєздатність після кріоконсервування із застосуванням швидкого неконтрольованого заморожування безпосереднім зануренням зразків в рідкий азот, що дозволило розробити протокол кріоконсервування іммобілізованих клітин дріжджів без використання кріопротекторів та спеціального кріогенного устаткування. Вперше розроблено протоколи кріоконсервування іммобілізованих клітин *S. cerevisiae* із використанням повільного програмного охолодження та із неконтрольованими швидкостями охолодження шляхом занурення у рідкий азот зразків клітин після попередньої термоіндукції синтезу трегалози. Вперше встановлено, що після кріоконсервування на відміну від вільних, в іммобілізованих дріжджових клітинах зберігаються вихідні характеристики дихальної активності, в меншій кількості утворюються АФК та виникають летальні ушкодження. Технологічні показники також перевищують аналогічні показники вільних клітин. Практичне значення: Розроблений і апробований протокол кріоконсервування дріжджів *S. cerevisiae*, іммобілізованих в альгінатному гелі, може бути рекомендований для кріоконсервування дріжджів без використання кріопротекторів в національних та відомчих колекціях і банках мікроорганізмів, а також для зберігання стартових культур. Сфера використання: у біотехнологічних виробництвах, харчовій, хлібопекарській промисловості та виноробстві.

2. The object of the research is the influence of factors of low-temperature preservation and storage on viability, structural-functional state and biological properties of free and immobilized in alginate gel yeast *S. cerevisiae*. The purpose of the work is to investigate the influence of conservation conditions at low temperatures on the viability and structural and functional state of yeast *Saccharomyces cerevisiae*, immobilized in sodium alginate gel. Methods: microbiological; spectrophotometric; electron paramagnetic resonance; flow cytometry; confocal microscopy; cryobiological; cryomicroscopy; liquid chromatography; methods of statistical processing of results. Theoretical and practical results, scientific novelty: The viability of immobilized *S. cerevisiae* hyaluronium sodium alginate in the carriers of sodium alginate secretion depends on the cooling rate. Cooling at a rate of 1-5 deg / min to -40 °C and subsequent immersion of samples in liquid nitrogen can maintain the initial viability of immobilized yeast without additional protection by cryoprotectants. It has been established that the cryoprotective effect of solutions of sodium alginate is associated with the formation during the freezing of a highly viscous intercellular medium, which protects cells from damage by ice crystals and physical and chemical factors associated with crystalline formation. At the same time, the process of immobilization in alginate gel and further cooling of yeast cells initiates a moderate generation of AFC, the concentration of which exceeds the control value by 3 times. It promotes the increase of metabolic activity of yeast cells and activates the reparative processes in them. Thermoinduction of intracellular synthesis of trehalose by *S. cerevisiae* cells before immobilization significantly increases their cryostability and viability after cryopreservation using rapid uncontrolled freezing by direct immersion of samples in liquid nitrogen, which allowed developing a protocol for cryopreservation of immobilized yeast cells without the use of cryoprotectants and special cryogenic equipment. Protocols for cryopreservation of immobilized cells were developed for the first time *S. cerevisiae* using slow program cooling and uncontrolled cooling

**Державний реєстраційний номер ДіР:**

**Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:**

**Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:**

**Підсумки дослідження:**

**Публікації:**

**Наукова (науково-технічна) продукція:**

**Соціально-економічна спрямованість:**

**Охоронні документи на ОПІВ:**

**Впровадження результатів дисертації:**

**Зв'язок з науковими темами:**

## **VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Висеканцев Ігор Павлович

2. Vysekantsev Igor P.

**Кваліфікація:** к. мед. н., 03.00.19

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

## **VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів**

**Офіційні опоненти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Божков Анатолій Іванович

2. Bozhkov Anatoliy I.

**Кваліфікація:** д. б. н., 03.00.04

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Жегунов Геннадій Федорович

2. Zhegunov Gennadiy F.

**Кваліфікація:** д. б. н., 03.00.19

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Рецензенти**

## **VIII. Заключні відомості**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
голови ради**

Гольцев Анатолій Миколайович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
головуючого на засіданні**

Гольцев Анатолій Миколайович

**Відповідальний за підготовку  
облікових документів**

**Реєстратор**

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є  
відповідальним за реєстрацію наукової  
діяльності**



Юрченко Т.А.