

## ... КРІОБІОЛОГІЯ ...

УДК: 577.352.4

### Коефіцієнти проникності мембран дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* для води і кріопротекторів

О.В.Сакун, І.Ф.Коваленко, А.Ю.Сіренко, І.П.Висеканцев, О.В.Давидова, Є.О.Гордієнко, О.І.Гордієнко

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (Харків, Україна)*

Визначені біофізичні параметри клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*: осмотично неактивний об'єм, коефіцієнти фільтрації в середовищах з кріопротекторами (гліцерин, 1,2-пропандіол та диметилсульфоксид) та коефіцієнти проникності для цих кріопротекторів. Для визначення цих параметрів використовували удосконалені рівняння масопереносу крізь мембрани клітин, отримані у наближенні лінійної термодинаміки необоротних процесів. На відміну від системи рівнянь Кедем-Качальського, в отриманій нами системі диференціальних рівнянь коефіцієнт проникності мембрани  $k_s$  щодо  $s$ -тої розчиненої речовини не залежить від складу поза- та внутрішньоклітинного середовищ, а також відсутня величина середньологарифмічної концентрації.

Ключові слова: *рівняння масопереносу, проникність, кріопротектори, Saccharomyces cerevisiae.*

#### Вступ

Заморожування-відтаювання залишається головним методом консервування клітин. Розуміння осмотичної поведінки клітин і транспортних властивостей мембрани обов'язкове для кріобіологічних досліджень і розробки специфічних для конкретних видів клітин оптимальних умов кріоконсервування (Dumont et al., 2004). Кріоконсервування клітин вимагає оптимізації для кожного виду. Крім того, кожний вид клітин має свій власний протокол заморожування. Численні дослідники робили спроби розробити методи, що дають 100% збереженість різнотипних зразків клітин (Albrecht et al., 1973; Dumont et al., 2003), але деякі мікроорганізми все ще не можуть консервуватись за допомогою заморожування.

Процес заморожування-відтаювання викликає подвійний стрес для клітин, а саме термічний і гіперосмотичний стреси, які діють одночасно при охолодженні (Morris et al., 1988; Muldrew, McGann, 1990). Чим нижче температура середовища, тим більше концентрація незамороженого розчину і тим більша втрата внутрішньоклітинної води. Цей масоперенос обмежується гідравлічною проникністю ( $L_p$ ) мембрани клітини. Коли суспензія клітин охолоджується нижче точки замерзання, клітини і оточуюче їх середовище спочатку залишаються у незамороженому стані внаслідок переохолодження. Оскільки більш ефективні джерела утворення зародків льоду знаходяться у позаклітинному середовищі, лід спочатку формується в позаклітинному розчині між  $-2$  і  $-15^\circ\text{C}$ , тоді як внутрішньоклітинний розчин залишається переохолодженим, внаслідок того, що мембрана клітини запобігає проростанню льоду в клітину (Mazur, 1966). Переохолоджена внутрішньоклітинна вода, таким чином, має вищий хімічний потенціал, ніж вода в частково замерзломому позаклітинному розчині, який знаходиться в рівновазі з фазою льоду. Хімічна рівновага може досягатися або витіканням води з клітин, або утворенням внутрішньоклітинного льоду. Спосіб, за допомогою якого досягається рівновага, є функцією швидкості охолодження клітин відносно здатності до виходу води з клітини назовні. Кількість води, яка повинна вийти, щоб відновити хімічну рівновагу, залежатиме від початкової осмотичності внутрішньоклітинного розчину і кінцевої температури суспензії клітин. Чи вийде ця кількість води з клітини, залежить перш за все від проникності плазматичної мембрани, площі поверхні, доступної для виходу води і швидкості охолодження. Якщо вихідний потік не є адекватним, що є звичайно у випадку високих швидкостей охолодження, то теплообмін буде домінувати над масообміном, і буде мати місце мале обезводнення клітин, або воно буде відсутнє. Внутрішньоклітинний розчин, таким чином, стане надмірно переохолодженим, і внутрішньоклітинний лід буде формуватись за більш низьких температур. Якщо вихід води є адекватним, що має місце зазвичай при більш повільних швидкостях охолодження, то масоперенос буде превалювати над

теплопереносом, і клітини будуть зневоднюватись. Спочатку клітини уникнуть внутрішньоклітинної кристалізації, оскільки як внутрішньоклітинний, так і позаклітинний розчини стануть більш сконцентрованими і урівноваженими. Проте кінець кінцем при більш низьких температурах внутрішньоклітинний та позаклітинний розчини цілком затвердіють внаслідок формування евтектичної суміші, а не льоду.

Іншим важливим для кріобіології видом проникності клітинних мембран є проникність для кріопротекторів. Від значення проникності плазматичної мембрани для молекул кріопротекторів залежать умови еквілібрації клітин у кріопротекторному середовищі до початку охолодження, а також умови відмивання клітин від кріопротектора після розморожування. Зазвичай проникність клітинних мембран для кріопротекторів є пасивною проникністю (Гордієнко та ін., 2002). Якщо ж кріопротектор є суб'єктом метаболізму клітини, як у випадку гліцерину для клітин *Saccharomyces cerevisiae*, можуть існувати спеціальні механізми транспорту для молекул цієї речовини (канали або переносники) (Tanghe et al., 2004; Meuyrial et al., 2001; Andre et al., 1991). Пасивна проникність мембрани для конкретної речовини визначається фізико-хімічними властивостями молекул цієї речовини, які впливають на їх можливу взаємодію з макромолекулами мембрани. Наприклад, для багатьох речовин показано, що між величинами проникності для них і коефіцієнтами їх розподілу між гідрофобною фазою і водою існує залежність, близька до прямої пропорційності. Це свідчить про проникання цих речовин крізь ліпідний бішар мембрани. У той же час відомо, що малі гідрофільні молекули, такі як сечовина, етиленгліколь і, у першу чергу, вода, легко проникають крізь мембрани деяких клітин. Проникність плазматичних мембран для полярних гідрофільних молекул має сильну залежність від їх розміру (Gordienko et al., 2004).

Метою роботи було визначення коефіцієнтів проникності клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* для води і кріопротекторів, що часто використовуються при кріоконсеруванні клітинних суспензій. Для дослідження були вибрані гліцерин, 1,2-пропандіол (1,2-ПД) та диметилсульфоксид (ДМСО).

### Матеріали і методи

Клітини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* вирощували на скошеному сусло-агаровому середовищі при 22°C на протязі 48 годин. Культура дріжджів на цьому етапі знаходиться у стаціонарній фазі росту. Клітини змивали з агарової підлоги фізіологічним розчином та використовували в експерименті.

Коефіцієнт фільтрації та коефіцієнти проникності мембран дріжджів для кріопротекторів визначали вольюмометричним методом (Stein, 1967). Клітини вміщували у бінарний розчин (0,15 М NaCl – 1 М кріопротектор), об'єм якого на порядок перевищував початковий об'єм клітинної суспензії. Досліджували кінетику зміни розмірів клітин у розчинах трьох кріопротекторів (гліцерин, 1,2-ПД, ДМСО) при температурі 25°C за допомогою мікроскопа Axio Observer Z1 (масляно-імерсійний об'єктив ×63). Об'єм клітин апроксимували об'ємом розтягнутого еліпсоїда обертання. Лінійні розміри клітин (довжину великої та малої осі еліпсоїда) у різних часових точках визначали за допомогою програми AxioVision Rel. 4.6. Експериментально визначені часові залежності об'єму клітин при їх контакті з гіпертонічними розчинами кріопротекторів апроксимували чисельними рішеннями системи нелінійних рівнянь, що описують цю залежність у наближенні лінійної термодинаміки необоротних процесів (Гордієнко, Пушкар, 1994).

### Результати

#### Удосконалення рівнянь масопереносу

У більшості робіт для аналізу і трактування результатів дослідження процесів масопереносу між клітинами, що суспендовані у багатокомпонентному розчині, та оточуючим середовищем використовуються рівняння Кедем-Качальського (Kedem, Katchalsky, 1958). Ці рівняння мають три суттєвих недоліки. По-перше, вони отримані за припущення, що об'ємною часткою розчинених речовин у внутрішньоклітинному і позаклітинному розчинах можна знехтувати. Для описання процесів масопереносу в біологічних суспензіях ця вимога є надмірно жорсткою, оскільки клітини містять великі макромолекули та ізольовані компартменти, які, створюючи відносно невеликий осмотичний тиск, займають суттєву частку об'єму клітини. По-друге, коефіцієнт проникності, що фігурує у рівняннях Кедем-Качальського, залежить від складу поза- та внутрішньоклітинного розчину і, отже, не може служити об'єктивною характеристикою власне мембрани як такої, змінюючись в залежності від умов експерименту. По-третє, указані рівняння містять так звану середньологарифмічну концентрацію, яка ускладнює аналіз результатів розрахунків за ними.

Нами у наближенні лінійної термодинаміки необоротних процесів отримані нелінійні рівняння, які узагальнюють рівняння Кедем-Качальського і переходять в них в граничному випадку, коли об'ємні частки розчинених речовин стають такими малими, що ними можна знехтувати. У випадку, коли через мембрану проникають тільки молекули розчинника, тобто води, і однієї (s-тої) з розчинених в n-компонентному розчині речовин, указані рівняння мають вигляд:

$$\frac{dy}{dt} = -\frac{1}{\tau_w} \left[ \sigma_s \Delta \hat{\pi}_s + \frac{1 + \sigma_s \hat{\pi}_s^{\text{in}}}{1 + \hat{\pi}_s^{\text{in}}} \sum_{k=1(k \neq w, s)}^n \Delta \hat{\pi}_k \right] \quad (1)$$

$$\frac{d\hat{\pi}_s^{\text{in}}}{dt} = -\frac{\sigma_s (1 + \hat{\pi}_s^{\text{in}}) \hat{\pi}_s^{\text{in}}}{(y - \alpha)} \frac{dy}{dt} + \frac{1 (1 + \hat{\pi}_s^{\text{in}}) \hat{\pi}_s^{\text{in}}}{\tau_s (y - \alpha)} \left( \Delta \hat{\pi}_s + \frac{\hat{\pi}_s^{\text{in}}}{1 + \hat{\pi}_s^{\text{in}}} \sum_{k=1(k \neq w, s)}^n \Delta \hat{\pi}_k \right) \quad (2)$$

$$\hat{\pi}_k^{\text{in}} = \hat{\pi}_{k0}^{\text{in}} \frac{(1 + \hat{\pi}_s^{\text{in}})(1 - \alpha)}{(1 + \hat{\pi}_{s0}^{\text{in}})(y - \alpha)} \quad (3)$$

де  $t$  – час;  $y = V/V_0$  – відносний об'єм клітини;  $V$  – поточний об'єм клітини;  $V_0$  – початкове значення об'єму клітини;  $\sigma_s$  – коефіцієнт відбиття клітинної мембрани щодо проникаючої крізь неї розчиненої речовини;  $\alpha$  – об'ємна частка не проникаючих крізь клітинну мембрану речовин усередині клітини;  $\tau_w = \left( \frac{S}{V_0} L_p \frac{RT}{v_s} \right)^{-1}$ ,  $\tau_s = \left( \frac{S}{V_0} k_s \right)^{-1}$  – величини, що мають розмірність часу;  $S$  – площа поверхні клітинної мембрани;  $L_p$  – коефіцієнт фільтрації клітинної мембрани;  $R$  – універсальна газова константа;  $T$  – абсолютна температура;  $v_s$  – парціальний молярний об'єм проникаючої крізь мембрану клітин розчиненої речовини;  $k_s$  – коефіцієнт проникності клітинної мембрани щодо проникаючої крізь неї розчиненої речовини;  $\hat{\pi}_k = \frac{\pi_k v_s}{RT}$  – приведений осмотичний тиск k-тої

розчиненої речовини;  $\Delta \hat{\pi}_s$  і  $\Delta \hat{\pi}_k$  – трансмембранний перепад приведенного осмотичного тиску проникаючої і не проникаючої крізь клітинну мембрану речовин відповідно. Нижні індекси  $s$  і  $w$  позначають величини, що відносяться відповідно до розчиненої речовини і розчинника.

На відміну від системи рівнянь Кедем-Качальського, в отриманій нами системі диференціальних рівнянь коефіцієнт проникності мембрани  $k_s$  щодо s-тої розчиненої речовини не залежить від складу позаклітинного та внутрішньоклітинного середовищ, а також відсутня середньологарифмічна концентрація. За умови малих об'ємних концентрацій розчинених речовин, якими можна знехтувати порівняно з одиницею, система рівнянь (1)–(3) збігається з рівняннями Кедем-Качальського.

#### **Визначення осмотично неактивного об'єму для клітин *Saccharomyces cerevisiae***

У випадку однокомпонентного розчину непроникаючої (k-тої) речовини рівняння (1), що описує поведінку клітинного об'єму, набуває вигляду:

$$\frac{dy}{dt} = \frac{1}{\tau_w} \left[ \hat{\pi}_{k0}^{\text{in}} \frac{(1 - \alpha)}{(y - \alpha)} - \hat{\pi}_k^{\text{out}} \right]$$

При  $t \rightarrow \infty$  отримуємо  $1 - \alpha = \frac{\hat{\pi}_k^{\text{out}}}{\hat{\pi}_{k0}^{\text{in}}} (y_\infty - \alpha)$ , або

$$y_{\infty} = \alpha + \frac{\hat{\pi}_{k0}^{in}(1-\alpha)}{\hat{\pi}_k^{out}} = \alpha + (1-\alpha)X \tag{4}$$

де  $X = \frac{\hat{\pi}_{k0}^{in}}{\hat{\pi}_k^{out}}$ .

Експериментально визначені значення розмірів клітин *Saccharomyces cerevisiae* у розчинах непроникаючої речовини (хлорид натрію) та характеристики розчинів подані в табл. 1, залежність відносного об'єму клітин від оберненого приведенного осмотичного тиску – на рис. 1.

Таблиця 1.

Експериментально визначені розміри клітин *Saccharomyces cerevisiae* у розчинах хлориду натрію різних концентрацій та осмотичні характеристики розчинів

Концентрація NaCl, М	Довжина осей клітин, мкм (a>b)		Об'єм клітин в суспензії, мкм <sup>3</sup>	Відносний об'єм клітин $y=V/V_{ф.р.}$	Осмотичний тиск розчину, мОсм $\pi^{out}$	Приведений осмотичний тиск $\frac{\pi_k^{out}}{\pi_{k0}^{in}}$	$X = \frac{\hat{\pi}_{k0}^{in}}{\hat{\pi}_k^{out}}$
	a	b					
0,15	5,77±0,6	4,62±0,5	64,45226	1	277	1	1
0,25	5,2±0,8	3,91±0,7	41,60402	0,645	463	1,67148	0,6
0,5	4,57±0,8	3,49±0,4	29,13033	0,452	921	3,32491	0,3
1	4,62±0,8	3,43±0,6	28,44518	0,44	1846	6,66426	0,15

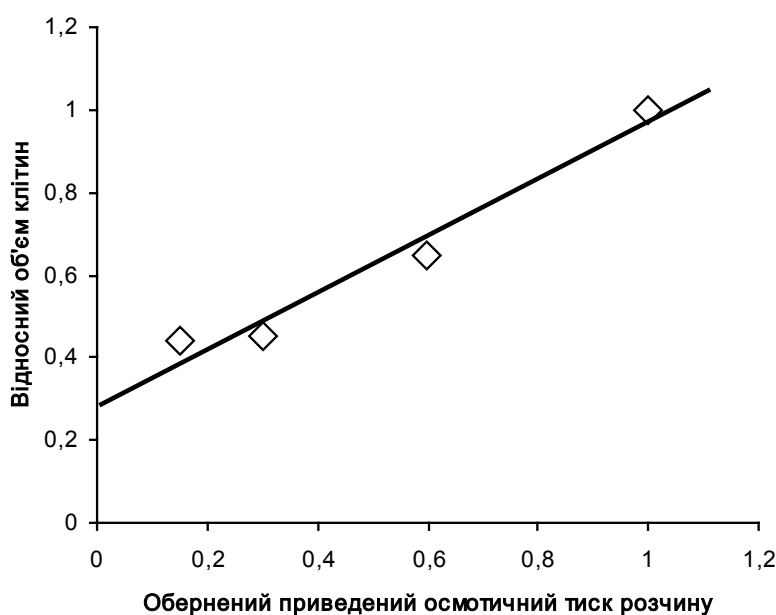


Рис. 1. Залежність асимптотичного (при  $t \gg \tau_w$ ) відносного об'єму клітин ( $y_{\infty}$ ) від оберненого осмотичного тиску розчину хлориду натрію ( $X$ )

Для визначення осмотично неактивного об'єму клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* експериментальні дані апроксимували рівнянням (4) методом найменших квадратів. Умова мінімального відхилення експериментальних точок від лінійної залежності (4) має вигляд:

$$\begin{aligned} & [0,645 - \alpha - (1 - \alpha)x_{0,25M}]^2 + [0,452 - \alpha - (1 - \alpha)x_{0,5M}]^2 + \\ & + [0,44 - \alpha - (1 - \alpha)x_{1M}]^2 = \min \end{aligned} \quad (5)$$

Диференціюючи по  $\alpha$ , отримуємо

$$\begin{aligned} & 2[0,645 - \alpha - (1 - \alpha)x_{0,25M}](x_{0,25M} - 1) + 2[0,452 - \alpha - (1 - \alpha)x_{0,5M}](x_{0,5M} - 1) + \\ & + 2[0,44 - \alpha - (1 - \alpha)x_{1M}](x_{1M} - 1) = 0 \end{aligned} \quad (6)$$

Підставляючи у отримане рівняння значення  $x$ , які відповідають різним концентраціям (0,25, 0,5 та 1 М) розчинів хлориду натрію (табл. 1), отримуємо значення осмотично неактивного об'єму для клітин *Saccharomyces cerevisiae*  $\alpha=0,27$  (перетин апроксимованої прямої з віссю ординат на рис. 1).

**Визначення коефіцієнта фільтрації  $L_p$  та коефіцієнтів проникності для кріопротекторів  $K_{кр}$ .**

Для визначення коефіцієнта фільтрації  $L_p$  та коефіцієнтів проникності клітинних мембран для кріопротекторів експериментально визначені часові залежності об'єму клітин при їх контакт з гіпертонічними розчинами кріопротекторів апроксимували рішеннями системи рівнянь (1)–(3) (рис. 2).

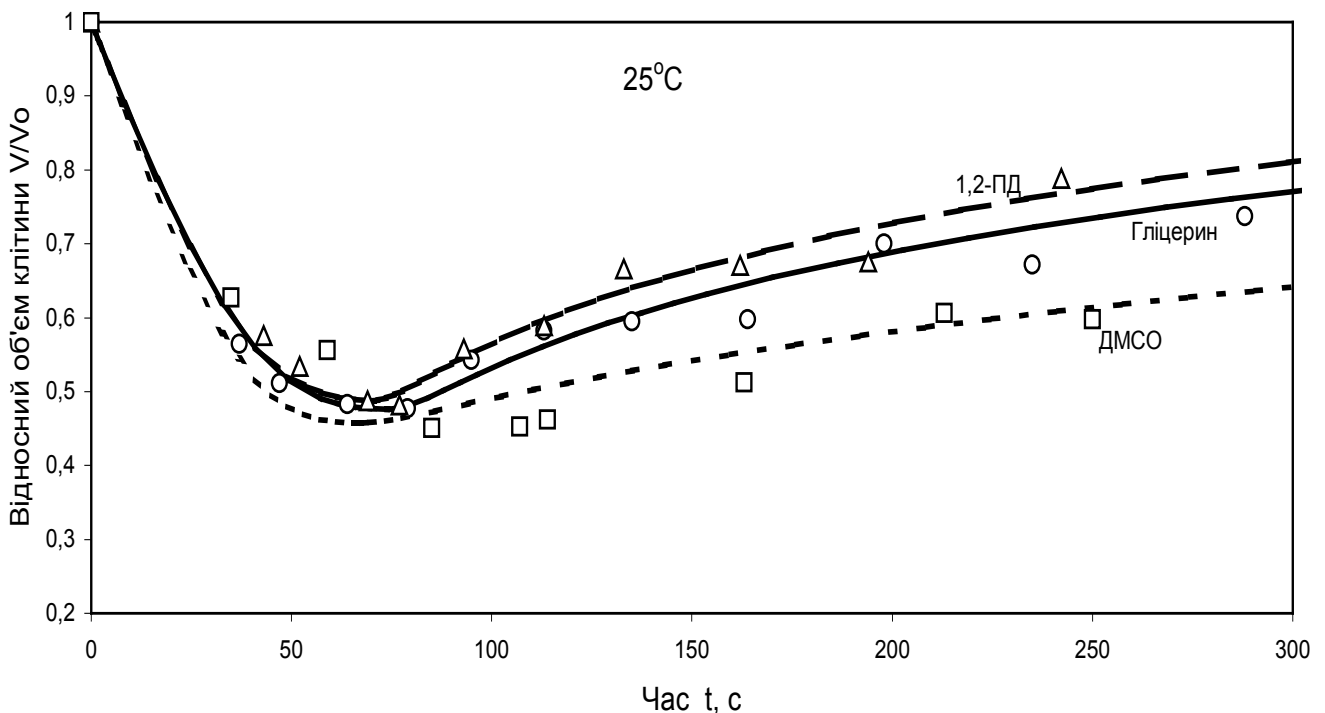


Рис. 2. Експериментальні (точки) та теоретичні (суцільні лінії) залежності відносного об'єму клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* від часу експозиції в гіпертонічних розчинах кріопротекторів

Коефіцієнт фільтрації ( $L_p$ ) і коефіцієнти проникності (К) мембран дріжджів для криопротекторів отримували шляхом оптимальної апроксимації експериментальних точок теоретичними кривими, тобто рішеннями системи рівнянь (1)–(3) (табл. 2).

Таблиця 2.

**Коефіцієнти фільтрації та коефіцієнти проникності для криопротекторів клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae***

Склад середовища	Коефіцієнт фільтрації, $L_p \times 10^{14}$ , м <sup>3</sup> /н·с	Коефіцієнт проникності для криопротектора, $K \cdot 10^8$ , м/с
Гліцерин-вода-NaCl	0,9±0,18	0,74±0,12
1,2-ПД-вода-NaCl	1,03±0,14	0,7±0,2
ДМСО-вода-NaCl	0,92±0,2	0,58±0,4

### Обговорення

Результати показали, що коефіцієнти фільтрації, визначені в середовищах з різними проникаючими речовинами, практично збігаються для середовищ з гліцерином та ДМСО і є вірогідно більшими в середовищі з 1,2-пропандіолом. Це свідчить про можливу негативну дію 1,2-ПД на мембрани клітин, що призводить до зміни такої важливої характеристики, як коефіцієнт фільтрації. Вплив 1,2-ПД на стан плазматичних мембрани був відмічений також і для ооцитів миші (Huang et al., 2006).

Коефіцієнти проникності для всіх досліджених криопротекторів вірогідно не відрізняються. Якщо порівнювати проникність мембран дріжджів з проникністю мембран еритроцитів людини, то для останніх проникність для гліцерину є значно меншою, ніж проникність для 1,2-ПД та ДМСО. Така різниця у випадку еритроцитів людини пояснюється різними розмірами молекул та ступенем їх гідрофобності або гідрофільності. Показано, що гліцерин не проникає крізь мембрани еритроцитів людини гідрофільними каналами, які є шляхом проникання для молекул води (Гордієнко, 2005). З іншого боку, відомо, що гліцерин є суб'єктом метаболізму дріжджових клітин, а їх мембрани мають спеціалізовані канали транспорту гліцерину і води (Tanghe et al., 2004; Meyrial et al., 2001; Andre et al., 1991). Молекула 1,2-ПД відрізняється присутністю метильної групи замість третьої гідроксильної групи в молекулі гліцерину. Це надає молекулі 1,2-ПД більшу гідрофобність, що відбивається на коефіцієнті розподілу цієї речовини між гідрофобною фазою і водою, який на порядок перевищує такий для гліцерину (0,076 і 0,005 відповідно). В той же час, розміри молекули 1,2-ПД є значно меншими порівняно з молекулами гліцерину (Гордієнко, 2005). Отже, цілком можливо, що 1,2-ПД може проникати крізь мембрани дріжджових клітин тими ж каналами, що і гліцерин. Проте, фізико-хімічні властивості молекул 1,2-ПД, що відрізняються від таких для гліцерину, можуть впливати на стан гліцеринових каналів та їх проникність для молекул води. Існування такого впливу може підтвердити значення енергії активації проникання молекул води у середовищі з 1,2-ПД.

Гідрофобність молекул ДМСО є суттєво вищою порівняно як з молекулами гліцерину, так і 1,2-ПД. Коефіцієнт розподілу для даної речовини становить 0,25 (Шевченко и др., 2004), що надає можливість молекулам ДМСО з більшою вірогідністю проникати крізь ліпідний бішар. Це повинно приводити до збільшення енергії активації для проникання молекул цієї речовини крізь мембрану, оскільки саме проникність крізь ліпідний бішар має суттєво більшу енергію активації.

Отже, для подальшого з'ясування можливих механізмів проникання криопротекторів крізь мембрани дріжджових клітин та їх впливу на стан мембрани необхідно вивчити залежність процесів проникання від температури та визначити енергії активації цих процесів.

### Список літератури

- Гордиенко Е.А., Пушкаръ Н.С. Физические основы низкотемпературного консервирования клеточных суспензий. – К.: Наукова думка, 1994. – 143с.  
Гордієнко О.І. Механізми пасивної проникності до неелектролітів та індекс сферичності еритроцитів людини. Дис. ... д-ра фіз.-мат. наук. – Х., 2005. – 277с.

- Гордієнко О.І., Гордієнко Є.О., Ліннік Т.П., Компанієць А.М. Механізми проникання криопротекторів крізь мембрани еритроцитів // Пробл. криобиол. – 2002. – №4. – С. 9–15.
- Шевченко Н.А., Стрибуль Т.Ф., Розанов Л.Ф. Действие многоатомных спиртов, амидов и ДМСО на сохранность меристем винограда и картофеля // Пробл. криобиол. – 2004. – №3. – С. 79–85.
- Albrecht R.M., Orndorff G.R., MacKenzie A.P. Survival of certain microorganisms subjected to rapid and very rapid freezing on membrane filters // Cryobiology. – 1973. – Vol.10. – P. 233–239.
- Andre L., Hemming A., Adler L. Osmoregulation in *Saccharomyces cerevisiae*. Studies on the osmotic induction of glycerol production and glycerol 3-phosphate dehydrogenase (NAD+) // FEBS Letters. – 1991. – Vol.286, № 1–2. – P. 13–17.
- Dumont F., Marechal P.A., Gervais P. Cell size and water permeability as determining factors for cell viability after freezing at different cooling rates // Appl. Environ. Microbiol. – 2004. – Vol.70, №1. – P. 268–272.
- Dumont F., Marechal P.A., Gervais P. Influence of cooling rate on *Saccharomyces cerevisiae* destruction during freezing: unexpected viability at ultra-rapid cooling rates // Cryobiology. – 2003. – Vol.46. – P. 33–42.
- Gordienko O.I., Linnik T.P., Gordienko E.O. Erythrocyte membrane permeability for a series of diols // Bioelectrochemistry. – 2004. – Vol.62, №2. – P. 115–118.
- Huang J.Y.J., Chen H.-Y., Tan S.L., Chian R.-C. Effects of osmotic stress and cryoprotectant toxicity on mouse oocyte fertilization and subsequent embryonic development // Cell Preserv. Technol. – 2006. – Vol.4, №3. – P. 149–160.
- Kedem O., Katchalsky A. Thermodynamic analysis of the permeability of biological membranes to non-electrolytes // BBA. – 1958. – Vol.27. – P. 229–246.
- Mazur P. Theoretical and experimental effects of cooling and warming velocity on the survival of frozen and thawed cells // Cryobiology. – 1966. – Vol.2. – P. 181–192.
- Meyrial V., Laize V., Gobin R. et al. Existence of a tightly regulated water channel in *Saccharomyces cerevisiae* // Eur. J. Biochem. – 2001. – Vol.268. – P. 334–343.
- Morris G.J., Coulson G.E., Clarke K.-J. Freezing injury in *Saccharomyces cerevisiae*: the effect of growth conditions // Cryobiology. – 1988. – Vol.25. – P. 471–482.
- Muldrew K., McGann L.E. Mechanisms of intracellular ice formation // Biophys. J. – 1990. – Vol.57. – P. 525–532.
- Stein W.D. The movement of molecules across cell membranes. – New York: Academic Press, 1967. – P. 38–72.
- Tanghe A., Van Dijck P., Colavizza D., Thevelein J.M. Aquaporin-mediated improvement of freeze tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* is restricted to rapid freezing conditions // Appl. Environ. Microbiol. – 2004. – Vol.70, №6. – P. 3377–3382.

#### **Коефіцієнти проникності мембран дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* для води і криопротекторів**

**А.В.Сакун, И.Ф.Коваленко, А.Ю.Сиренко, И.П.Высеканцев, Е.В.Давыдова, Е.А.Гордиенко, О.И.Гордиенко**

Определены биофизические параметры клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*: осмотически неактивный объем, коэффициент фильтрации в средах с криопротекторами (глицерин, 1,2-пропандиол, диметилсульфоксид) и коэффициенты проникновения для этих криопротекторов. Для определения этих параметров использовали усовершенствованные уравнения массопереноса через мембраны клеток, полученные в приближении линейной термодинамики необратимых процессов. В отличие от системы уравнений Кедем-Качальского, в полученной нами системе дифференциальных уравнений коэффициент проникновения мембраны  $k_s$  для  $s$ -ого растворенного вещества не зависит от состава вне- и внутриклеточной среды, а также отсутствует величина среднелогарифмической концентрации.

Ключевые слова: *уравнения массопереноса, проникновение, криопротекторы, Saccharomyces cerevisiae.*

**Membrane permeability coefficients of yeast *Saccharomyces cerevisiae* to water and cryoprotectants****O.V.Sakun, I.F.Kovalenko, A.Yu.Sirenko, I.P.Vysekantsev, O.V.Davydova, E.O.Gordiyenko, O.I.Gordiyenko**

The biophysical parameters of yeast cell *Saccharomyces cerevisiae* (osmotically inactive volume, filtration coefficients in the cryoprotectant containing media and permeability coefficients for the cryoprotectants glycerol, 1,2-propane diol, dimethyl sulfoxide) were determined. For determination of the parameters the improved equations of mass transfer via cell membranes were used. The equations are based on the approach of linear thermodynamics of irreversible processes. In our differential equation system unlike the Kedem-Katchalsky one the membrane permeability coefficient for s-kind solute  $k_s$  doesn't depend on the composition of the extra- and intracellular media, and as well the mean logarithmic value of concentration is absent.

Key words: *equations of mass transfer, permeability, cryoprotectants, Saccharomyces cerevisiae.*

---

**Представлено: В.Г.Кнігавком**

**Рекомендовано до друку: Є.Е.Перським**