

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

ВЕРХОЛЕВСКИЙ
Юлиан Владимирович

ДНК-ЦИТОМЕТРИЯ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ VINCA MINOR L.

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент С.В. Глушен

Минск, 2014

РЕФЕРАТ

ДНК-цитометрия суспензионной культуры *Vinca minor* L.

Дипломная работа: 50 страниц, 14 рисунков, 2 таблицы, 36 источников

ЦИТОМЕТРИЯ, СУСПЕНЗИОННАЯ КУЛЬТУРА, *VINCAMINOR*, ДНК, КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ

Vinca minor L. (барвинок малый) – ценное лекарственное растение, источник фармакологически активных алкалоидов.

В настоящей работе рассматриваются аспекты ДНК-цитометрии суспензионной культуры *V. minor*. Мы применяли метод статической ДНК-цитометрии. Целью работы была оценка возможностей использования ДНК-цитометрии клеток растущей суспензионной культуры для характеристики различных фаз роста.

Из клеток культуры, находящейся в той или иной фазе ростового цикла, выделяли ядра, окрашивали бромидом этидия. Для проведения цитометрии использовали флуоресцентный микроскоп, оснащённый цифровой фотокамерой. Полученные снимки подвергали анализу с использованием специального программного обеспечения, получали гистограммы распределения ядер клеток культуры по интегральной плотности яркости флуоресценции.

В результате проделанной работы была разработана методика, позволяющая характеризовать фазы ростового цикла суспензионной культуры растительных клеток и клеточную кинетику. Также к ходу работы было установлено, что суспензионная культура *V. minor* демонстрирует высокую степень полиплоидизации.

Был сделан вывод об эффективности метода статической цитометрии для анализа кинетики роста культивируемых растительных клеток. Можно рекомендовать использование метода ДНК-цитометрии для определения либо подтверждения фазы роста суспензионной культуры.

Автор работы подтверждает, что приведённый в ней экспериментально-аналитический материал правильно и объективно отражает состояние исследуемого вопроса, а все заимствованные из литературных и других источников теоретические, методологические и методические положения и концепции сопровождаются ссылками на авторов.

РЭФЕРАТ

ДНК-цытаметрыя суспензіённай культуры *VincaminorL*.

Дыпломная работа: 50 старонак, 14 малюнкаў, 2 табліцы, 36 крыніц

ЦЫТАМЕТРЫЯ, СУСПЕНЗІЁННАЯ КУЛЬТУРА, *VINCAMINOR*, ДНК, КЛІТАЧНЫ ЦЫКЛ

VincaminorL. (барвенак малы) – гэта каштоўная лекавая расліна, крыніца фармакалагічна актыўных алкалоідаў.

У рабоце разглядаюцца аспекты ДНК-цытаметрыі суспензіённай культуры *V. minor*. Мы прымянялі метады статычнай ДНК-цытаметрыі. Мэтай дадзенай работы была ацэнка магчымасцей выкарыстання ДНК-цытаметрыі клетак суспензіённай культуры падчас росту дзеля характарыстыкі розных фаз росту.

З клетак культуры, якая знаходзілася ў той ці іншай фазе росту, выдзялялі ядра, афарбоўвалі брамідам этыдыя. Для правядзення цытаметрыі выкарыстоўвалі флюарэсцэнтны мікраскоп, аснашчаны лічбавай фотакамерай. Атрыманыя здымкі аналізавалі з выкарыстаннем спецыяльнага праграмнага забеспячэння, атрымлівалі гістаграмы размеркавання ядзер клетак культуры па інтэгральнай шчыльнасці яркасці флюарэсцэнцыі.

У выніку праведзенай работы была распрацавана методыка, якая дазваляе характарызаваць фазы роставага цыкла суспензіённай культуры раслінных клетак і клетачную кінэтыку. Таксама падчас работы было высветлена, што суспензіённая культура *V. minor* дэманструе высокую ступень паліплаідызацыі.

Быў зроблен вынік аб эфектыўнасці метада статычнай цытаметрыі для аналізу кінэтыкі росту культывуемых раслінных клетак. Можна рэкамендаваць выкарыстанне метада ДНК-цытаметрыі для вызначэння або пацвярджэння фазы росту суспензіённай культуры.

Аўтар работы пацвярджае, што прыведзены ў ёй эксперыментальна-аналітычны матэрыял правільна і аб'ектыўна адлюстроўвае стан доследнага пытання, а ўсе запазычаныя з літаратурных і іншых крыніц тэрэтычныя, метадалагічныя і метадычныя палажэнні і канцэпцыі суправаджаюцца спасылкамі на аўтараў.

ABSTRACT

DNA cytometry of *Vinca minor* L. suspension culture

Diploma work: 50 pages, 14 figures, 2 tables, 36 sources

CYTOMETRY, SUSPENSION CULTURE, *VINCA MINOR*, DNA, CELL CYCLE

Vinca minor L. (Lesser Periwinkle) is valuable medicinal plant, source of pharmacologically active alkaloids.

Aspects of *V. minor* suspension culture DNA cytometry are considered in the present work. We applied static DNA cytometry assay. The objective of this work was evaluating of growing suspension culture cells DNA cytometry use for different growth phases characterization.

Nuclei isolation and ethidium bromide staining was conducted for culture cells from certain growth phase. We used fluorescent microscope equipped with digital camera for cytometry. Derived images was undergone by analysis with the special software resulting in plotting of culture cells' nuclei distribution histograms according to their fluorescence brightness integral density.

As a result of accomplished work the procedure allowing to characterize plant cell suspension culture growth cycle phases was developed. Also there was established that *V. minor* suspension culture displays high level of polyploidization.

There was concluded about efficiency of the static cytometry assay for cultivated plant cells growth kinetics analysis. We can recommend exploitation of DNA cytometry technique for detection or confirmation of suspension culture growth phase.

Author of the work confirms that given experimental and analytical material correctly and objectively reflects a state of issue under study. All of the theoretical, methodological and procedural propositions and concepts taken from literary and other sources are accompanied by references to the authors.