

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

ДУНАЙ
Мария Валерьевна

**ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ЭЛЕКТРОПОРАЦИИ ДЛЯ ПЕРЕНОСА
МАКРОМОЛЕКУЛ В КЛЕТКИ ЛЕЙКОЗНЫХ МОДЕЛЬНЫХ ЛИНИЙ
ЧЕЛОВЕКА**

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Т.В. Романовская

Минск, 2020

РЕФЕРАТ

Дипломная работа, 41 страница, 1 таблица, 23 рисунка, 19 источников, из них 1 русскоязычных и 18 англоязычных.

Название работы: оптимизация условий электропорации для переноса макромолекул в клетки лейкозных модельных линий человека.

Объект исследования: клетки лейкозных модельных линий человека Jurkat и Kasumi-1.

Цель исследования: изучение электропорации лейкозных модельных линий человека и подбор параметров для максимальной эффективности переноса макромолекул и выживаемости клеток.

Методы исследования: субкультивирование клеток Jurkat и Kasumi-1, оценка жизнеспособности и концентрации клеток, определение апоптоза по деградации ДНК, электропорация, проточная цитометрия.

В ходе работы удалось оценить и сравнить эффективность электропорации клеток Jurkat и Kasumi-1. Было изучено пять режимов электропорации на приборе Nucleofector 2b (Amaxa Biosystems, Cologne, Germany), оптимальным по эффективности и выживаемости является режим X-001. В качестве буфера для электропорации было использовано два раствора: RPMI1640 и ЗР, последний показал наибольшую эффективность переноса и выживаемость клеток. Также использовалось четыре варианта соотношений количеств вектора и клеток, наибольшая эффективность переноса при электропорации была достигнута при использовании 3×10^6 клеток и 5 мкг вектора. Было доказано, что электропорация клеток линии Jurkat плазмидами длиной 4700 п. о. и 10209 п. о. малоэффективна, в отличии от использования плазмида длиной 3486 п. о., что свидетельствует об обратной зависимости эффективности электропорации от размера внедряемой конструкции в клетку.

Ключевые слова: Kasumi-1, Jurkat, трансфекция ДНК, электропорация.

ABSTRACT

Graduate work, 41 pages, 1 table, 23 figures, 19 sources, including 1 in Russian and 18 in English.

Title: optimization of electroporation conditions for macromolecule transfer into human leukemia cell lines.

Object of study: human leukemia cell lines Jurkat and Kasumi-1.

Objective: to study electroporation of human leukemia cell lines and select parameters for maximum macromolecule transfer efficiency and cell survival.

Research method: Jurkat and Kasumi-1 cell lines subculture, assessment of cell viability and concentration, determination of apoptosis by DNA degradation, electroporation, flow cytometry.

In the course of work, the efficiency of electroporation of Jurkat and Kasumi-1 cells was evaluated and compared. Five electroporation modes were studied on a Nucleofector 2b device (Amaxa Biosystems, Cologne, Germany); mode X-001 is optimal in terms of efficiency and cell survival. As a buffer for electroporation, two solutions were used: RPMI1640 and 3P, the latter showed the highest transfer efficiency and cell survival. Four variants of ratios of the amounts of the vector and the cells were also used; the highest transfer efficiency during electroporation was achieved using 3×10^6 cells and 5 μg of the vector. It was proved that electroporation of Jurkat cells with plasmids with a length of 4700 b. p. and 10209 b. p. is ineffective, in contrast to the use of a plasmid with a length of 3486 b. p., which indicates an inverse relationship between the efficiency of electroporation and the size of the introduced structure to the cell.

Keywords: Kasumi-1, Jurkat, DNA transfection, electroporation.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца, 41 старонка, 1 табліца, 23 малюнка, 19 крыніц, з іх 1 рускамоўны і 18 англамоўных.

Назва работы: аптымізацыя умоў электрапарацыі для пераносу макрамалекул ў клеткі лейкозных мадэльных ліній чалавека.

Аб'ект даследавання: клеткі лейкозных мадэльных ліній чалавека Jurkat і Kasumi-1.

Мэта даследавання: вывучэнне электрапарацыі лейкозных мадэльных ліній чалавека і падбор параметраў для максімальнай эфектыўнасці пераносу макрамалекул і выжывальнасці клетак.

Методы даследавання: субкультывіраванне клетак Jurkat і Kasumi-1, адзнака жыццяздольнасці і канцэнтрацыі клетак, вызначэнне апоптоза па дэградацыі ДНК, электрапарацыя, праточная цытаметрыя.

У ходзе працы атрымалася ацаніць і параўнаць эфектыўнасць электрапарацыі клетак Jurkat і Kasumi-1. Было вывучана пяць рэжымаў электрапарацыі на прыборы Nucleofector 2b (Amaxa Biosystems, Cologne, Germany), аптымальным па эфектыўнасці і выжывальнасці з'яўляецца рэжым X-001. У якасці буфера для электрапарацыі было выкарыстана два раствора: RPMI1640 і ЗР, апошні паказаў найбольшую эфектыўнасць пераносу і выжывальнасць клетак. Таксама выкарыстоўвалася чатыры варыянты суадносін колькасця вектара і клетак, найбольшая эфектыўнасць пераносу пры электрапарацыі была дасягнута пры выкарыстанні 3×10^6 клетак і 5 мкг вектара. Было доказана, што электропорация клетак лініі Jurkat плазмідамі даўжынёй 4700 п. а. і 10209 п. а. малаэфектыўная, у адрозненні ад выкарыстання плазміды даўжынёй 3486 п. а., што сведчыць аб зваротнай залежнасці эфектыўнасці электрапарацыі ад памеру укаранёной канструкцыі ў клетку.

Ключавыя слова: Kasumi-1, Jurkat, трансфекцыя ДНК, электрапарацыя.