

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений**

САВИН
Кирилл Александрович

**ВЛИЯНИЕ ИОНОВ Ca^{2+} И Mg^{2+} НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК
НЕК 293**

Аннотация дипломной работы

Научный руководитель:
старший преподаватель
Ветошкин А. А.

Допущена к защите

«__»_____2021 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений
кандидат биологических наук, доцент И.И. Смолич

Минск, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений	3
Реферат	4
Введение.....	7
Глава 1 Обзор литературы.....	9
1.1 Роль кальция в клетке	9
1.2 Роль магния в клетке	15
Глава 2 Материалы и методы.....	20
2.1 Способ культивирования.....	20
2.2 Асептика.....	20
2.3 Методы	21
2.3.1 Разморозка клеток.....	21
2.3.2 Субкультивирование	22
2.3.3 Криоконсервация	23
2.4 Питательная среда.....	23
2.4.1 Состав питательной среды	23
2.4.2 Буферная система и pH	25
2.4.3 Соли.....	26
2.4.4 Сыворотка	26
2.4.5 Аминокислоты.....	28
2.4.6 Антибиотик.....	28
2.5 Добавление солей Ca^{2+} и Mg^{2+}	28
2.6 Микроскопия	29
Глава 3 Результаты исследований и их обсуждение	31
3.1 Влияние Ca^{2+} на клетки	31
3.2 Влияние Mg^{2+} на клетки	35
3.3 Обсуждение результатов.....	39
Заключение	41
Список использованных источников	42

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода;
АТФ – аденозинтрифосфат;
ДМСО – диметилсульфоксид;
ЗКГ – запрограммированная клеточная гибель;
ЭПР – эндоплазматический ретикулум;
цАМФ – циклический аденозинмонофосфат;
PI – пропидий иодид;
DMEM – модифицированная по Дюльбекко минимальная среда Игла;
RPMI 1640 – модификация разработанной в онкологическом центре
Розуэлл-Парк среды;
FBS – фетальная бычья сыворотка;
PBS – натрий-фосфатный буферный раствор.

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 44 страницы, 9 рисунков, 3 таблицы, 42 источника.

Ключевые слова: НЕК 293, Ca^{2+} , Mg^{2+} .

Цель работы: изучить влияние ионов кальция и магния на рост клеток НЕК 293 в культуре.

Клетки культивировали в среде DMEM в инкубаторе при 37°C и 5 % содержания CO_2 . Соли кальция и магния добавляли на 2 сутки культивирования, результат регистрировали на 3 сутки культивирования. Регистрацию результатов проводили на световом и флуоресцентном микроскопах. Для обнаружения мертвых клеток на флуоресцентном микроскопе их в течении 10 минут окрашивали пропидий иодидом.

Было показано уменьшение жизнеспособности клеток с увеличением концентрации соли кальция и магния в среде. Занимаемая клетками в контроле площадь составляет $92,28 \pm 1,46$ % для кальция и $91,97 \pm 1,39$ % для магния. При 2 mM кальция площадь колоний составляла $80,87 \pm 4,77$ %. При 2,5 mM кальция клетки занимали $63,91 \pm 3,91$ % площади. При 3 mM кальция на клетки приходилось $44,31 \pm 3,29$ % площади. В 1,5 mM магния клетки занимают $77,4 \pm 4,54$ % площади, в 2 mM магния клетки занимали $45,61 \pm 5,81$ % площади, в 2,5 mM магния на клетки приходилось $4,97 \pm 0,16$ % площади.

В контроле процент мертвых клеток составил $1,01 \pm 0,07$ %. В 2 mM кальция на мертвые клетки приходится $2,87 \pm 0,17$ %, в 2,5 mM кальция – $4,93 \pm 0,15$ %, в 3 mM кальция – $6,97 \pm 0,21$ %. В 1,5 mM магния процент мертвых клеток равен $2,94 \pm 0,15$ %, в 2 mM магния $5,06 \pm 0,18$ % клеток мертвы, в 2,5 mM магния на мертвые клетки приходится $83,52 \pm 1,66$ %.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 44 старонка, 9 ілюстрацый, 3 табліцы, 42 выкарыстаныя крыніцы.

Ключавыя словы: НЕК 293, Ca^{2+} , Mg^{2+} .

Мэта работы: усталяванне уплыва іёнаў кальцыя і магнія на рост клетак НЕК 293 у культуры.

Клеткі культывіравалі ў DMEM у інкубаторы пры 37°C і 5 % CO_2 . Солі кальцыя і магнія дадавалі на 2 суткі культывіравання, вынік рэгістравалі на 3 суткі культывіравання. Рэгістрацыю вынікаў праводзілі на светлавым і флуорэсцентным мікраскопах. Для выяўлення мёртвых клетак на флуорэсцентным мікраскопе іх 10 хвілін афарбоўвалі пропідй іодідам.

Было паказана памяншэнне жыццяздольнасці клетак з павелічэннем канцэнтрацыі солі ў асяроддзі. Займаемая клеткамі ў кантролі плошча складае $92,28 \pm 1,46$ % для кальцыя і $91,97 \pm 1,39$ % для магнію. Пры 2 мМ кальцыя плошчу калоній складала $80,87 \pm 4,77$ %. Пры 2,5 мМ кальцыя клеткі займалі $63,91 \pm 3,91$ % плошчы. Пры 3 мМ кальцыя на клеткі прыходзілася $44,31 \pm 3,29$ % плошчы. У 1,5 мМ магнію клеткі займаюць $77,4 \pm 4,54$ % плошчы, у 2 мМ магнію клеткі займалі $45,61 \pm 5,81$ % плошчы, у 2,5 мМ магнію на клеткі прыходзілася $4,97 \pm 0,16$ % плошчы.

У кантролі працэнт мёртвых клетак склаў $1,01 \pm 0,07$ %. У 2 мМ кальцыя на мёртвыя клеткі даводзіцца $2,87 \pm 0,17$ %, у 2,5 мМ кальцыя - $4,93 \pm 0,15$ %, у 3 мМ кальцыя - $6,97 \pm 0,21$ %. У 1,5 мМ магнію працэнт мёртвых клетак роўны $2,94 \pm 0,15$ %, у 2 мМ магнію $5,06 \pm 0,18$ % клетак мёртвыя, у 2,5 мМ магнію на мёртвыя клеткі прыходзіцца 83, 52 ± 1 , 66 %.

ABSTRACT

Thesis contents: 44 pages, 9 figures, 4 tables, 42 sources.

Keywords: HEK 293, Ca^{2+} , Mg^{2+} .

The cells were cultured in DMEM medium in an incubator at 37°C and 5 % CO_2 content. Calcium and magnesium salt were added for 2 days of cultivation, the result was recorded for 3 days of cultivation. The results were recorded on light and fluorescent microscopes. To detected dead cells on a fluorescence microscope? They were stained with propidium iodide for 10 minutes.

A decrease in cell viability with an increase in salt concentration in the medium has been shown. The area occupied by cells in the control is 92.28 ± 1.46 % for calcium and 91.97 ± 1.39 % for magnesium. At 2 mM calcium, the area of colonies was 80.87 ± 1.77 %. At 2.5 mM calcium, the cells occupied 63.91 ± 3.91 % of the area. At 3 mM calcium, cells accounted for 44.31 ± 3.29 % of the area. In 1.5 mM magnesium, the cells occupy 77.4 ± 4.54 % of the area, in 2 mM magnesium, the cells occupied 45.61 ± 5.81 % of the area, in 2.5 mM magnesium, the cells accounted for 4.97 ± 0.16 % of the area.

In the control, the percentage of dead cells was 1.01 ± 0.07 %. In 2 mM calcium, dead cells account for 2.87 ± 0.17 %, in 2.5 mM calcium - 4.93 ± 0.15 %, in 3 mM calcium - 6.97 ± 0.21 %. In 1.5 mM magnesium, the percentage of dead cells is 2.94 ± 0.15 %, in 2 mM magnesium 5.06 ± 0.18 % of the cells are dead, in 2.5 mM magnesium, dead cells are $83.52 \pm 1, 66$ %.