

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

ГОЛУБЕВА
Инесса Романовна

ВЛИЯНИЕ Al^{3+} И НИЗКИХ УРОВНЕЙ pH
НА РОСТ, ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК НЕК 293

Аннотация дипломной работы

Научный руководитель:
старший преподаватель
А.А. Ветошкин

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.....	8
1.1 Культивирование клеточной линии НЕК 293	8
1.1.1 Методы культивирования	8
1.1.2 Параметры питательной среды для культивирования	10
1.2 Основные принципы криоконсервации и разморозки клеток НЕК 293	18
1.3 Определение жизнеспособности клеток НЕК 293.....	20
Глава 2 Материалы и методы.....	24
2.1 Объект исследования	24
2.2 Культивирование клеточной линии НЕК 293 <i>in vitro</i>	24
2.3 Определение жизнеспособности клеток НЕК 293 с помощью флуоресцентной микроскопии	26
2.4 Статистическая обработка данных.....	26
Глава 3 Результаты и обсуждение	28
3.1 Поддержание жизнеспособной культуры НЕК 293	28
3.2 Влияние Al^{3+} на морфологию и пролиферационную активность клеточной линии	29
3.3 Изменение жизнеспособности клеток НЕК 293 при введении соли Al^{3+} в среду выращивания.....	31
3.4 Влияние низких уровней pH на рост, развитие и морфологические характеристики клеток НЕК 293	33
Заключение	34
Список использованных источников	35

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 38 стр., 8 рис., 2 табл., 51 источн.

КЛЕТОЧНАЯ ЛИНИЯ НЕК 293, Al^{3+} , ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ, КУЛЬТИВИРОВАНИЕ, МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ, ПРОЛИФЕРАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ, PI.

Объект исследования: клеточная линия НЕК 293.

Цель работы: изучение эффекта действия Al^{3+} , а также низких уровней pH на рост, жизнеспособность и морфологические характеристики клеток НЕК 293.

Методы исследования: культивирование клеточной линии НЕК 293 *in vitro*, изучение влияния солей алюминия на морфологию и пролиферационную активность клеток, определение жизнеспособности клеток НЕК 293 с помощью флуоресцентной микроскопии.

Культивирование животных клеток *in vitro* достаточно актуальная тема в настоящее время, которая позволяет подробно изучить процессы, происходящие в клетке в ходе её жизнедеятельности. Объектом исследования была выбрана клеточная линия НЕК 293, поскольку процесс её культивирования достаточно прост и легко осуществим в лабораторных условиях. В качестве стресс-факторов выступали различные концентрации Al^{3+} (2 мМ, 4 мМ, 8 мМ) и низкие уровни pH питательной среды. В ходе эксперимента оценивалось их воздействие на морфологические характеристики клеток и пролиферационную активность с помощью прямого подсчёта числа мёртвых клеток и сопоставления площади колоний к общей площади поля зрения, а также определялась жизнеспособность клеток с помощью флуоресцентной микроскопии и зонда PI. Было выявлено, что при последовательном увеличении концентрации алюминия и понижении pH культуральной среды происходило снижение уровня жизнеспособных клеток и ослабление пролиферационной активности. Так при концентрации 2 мМ Al^{3+} число нежизнеспособных клеток увеличивалось в 2 раза, 4 мМ Al^{3+} – в 6 раз, 8 мМ Al^{3+} – в 8,5 раз относительно контроля. Также при 2 мМ Al^{3+} и 4 мМ Al^{3+} происходило уменьшение площади колоний относительно площади поля зрения на 18 % и на 25 % соответственно, а при 8 мМ Al^{3+} – на 57 % по сравнению с контролем. На основании полученных результатов был сделан вывод, что используемые стресс-факторы оказывают губительное действие на клеточную линию НЕК 293.

Таким образом, исследованиям данного рода необходимо уделять большое внимание, поскольку они могут способствовать развитию не только научной сферы, но и медицины и фармакологии.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 38 стар., 8 мал., 2 табл., 51 крын.

КЛЕТАЧНАЯ ЛІНІЯ НЕК 293, Al^{3+} , ЖЫЦЦЯЗДОЛЬНАСЦЬ,
КУЛЬТИВАВАННЕ, МАРФАЛАГІЧНЫЯ ХАРАКТАРЫСТЫКІ,
ПРАЛІФЕРАЦЫЙНАЯ АКТЫЎНАСЦЬ, PI.

Аб'ект даследавання: клетачная лінія НЕК 293.

Мэта работы: вывучэнне ефекту дзеяння Al^{3+} , а таксама нізкіх узроўняў pH на рост, жыццяздольнасць і марфалагічныя характарыстыкі клетак НЕК 293.

Метады даследавання: культываванне клетачнай лініі НЕК 293 *in vitro*, вывучэнне ўплыву соляў алюмінія на марфалогію і праліферацыйную актыўнасць клетак, вызначэнне жыццяздольнасці клетак НЕК 293 з дапамогай флуарэсцэнтнай мікраскапіі.

Культываванне жывёльных клетак *in vitro* дастаткова актуальная тэма ў цяперашні час, якая дазваляе падрабязна вывучыць працэсы, якія адбываюцца ў клетцы падчас яе жыццядзейнасці. Аб'ектам даследавання была абрана клеткавая лінія НЕК 293, паколькі працэс яе культывавання досыць просты і лёгка здзяйсняльны ў лабараторных умовах. У якасці стрэс-фактараў выступалі розныя канцэнтрацыі Al^{3+} (2 мМ, 4 мМ, 8 мМ) і нізкія ўзроўні pH пажыўнага асяроддзя. У ходзе эксперыменту адзначалася іх уздзеянне на марфалагічныя характарыстыкі клетак і праліферацыйную актыўнасць з дапамогай прамога падліку колькасці мёртвых клетак і супастаўлення плошчы калоній да агульнай плошчы поля зроку, а таксама вызначалася жыццяздольнасць клетак з дапамогай флуарэсцэнтнай мікраскапіі і зонда PI. Было выяўлена, што пры паслядоўным павелічэнні канцэнтрацыі алюмінія і паніжэнні pH пажыўнага асяроддзя адбывалася зніжэнне ўзроўня жыццяздольных клетак і паслабленне праліферацыйнай актыўнасці. Так пры канцэнтрацыі 2 мМ Al^{3+} лік нежыццяздольных клетак павялічвалася ў 2 разы, 4 мМ Al^{3+} – у 6 разоў, 8 мМ Al^{3+} – у 8,5 разоў адносна кантролю. Таксама пры 2 мМ Al^{3+} і 4 мМ Al^{3+} адбывалася памяншэнне плошчы калоній адносна плошчы поля зроку на 18% і на 25% адпаведна, а пры 8 мМ Al^{3+} – на 57% у параўнанні з кантролем. На падставе атрыманых вынікаў была зроблена выснова, што выкарыстаныя стрэс-фактары аказваюць пагібельнае дзеянне на клетачную лінію НЕК 293.

Такім чынам, даследаванням дадзенага роду неабходна надаваць вялікую ўвагу, паколькі яны могуць спрыяць развіццю не толькі навуковай сферы, але і медыцыны і фармакалогіі.

ABSTRACT

Graduate work 38 pages, 8 figures, 2 tables, 51 sources.

HEK 293 CELL LINE, Al^{3+} , VIABILITY, CULTIVATION, MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS, PROLIFERATIVE ACTIVITY, PI.

Research object: HEK 293 cell line.

Work purpose: studying the effect of Al^{3+} and low pH levels on the growth, viability and morphological characteristics of HEK 293 cells.

Research techniques: cultivation of the HEK 293 cell line *in vitro*, studying the effect of aluminum salts on the morphology and proliferative activity of cells, determination of the viability of HEK 293 cells using fluorescence microscopy.

The cultivation of animal cells *in vitro* is a rather relevant topic nowadays, which allows to study in detail the processes occurring in the cell during its life. Research object were the cell line HEK 293 because the process of its cultivation is quite simple and easy to implement in the laboratory. Various concentrations of Al^{3+} (2 mM, 4 mM, 8 mM) and low pH levels of the nutrient medium were used as stress factors. In the course of the experiment, their effect on the morphological characteristics and proliferation activity of cells was assessed by directly counting the number of dead cells and comparing the area of colonies to the total area of the field of view, and also the viability of cells was determined using fluorescence microscopy and a PI probe. It was found that with a sequential increase in the concentration of aluminum and a decrease in the pH of the culture medium, there was a decrease in the level of viable cells and a decrease in proliferation activity. Thus, at a concentration of 2 mM Al^{3+} , the number of non-viable cells increased by 2 times, 4 mM Al^{3+} – 6 times, 8 mM Al^{3+} – 8.5 times relative to the control. Also, at 2 mM Al^{3+} and 4 mM Al^{3+} , there was a decrease in the area of colonies relative to the area of the field of view by 18% and 25%, respectively, and at 8 mM Al^{3+} – by 57% compared to the control. Based on the results obtained it was concluded that the stress factors used have a detrimental effect on the HEK 293 cell line.

Thus, studies of this kind need to be given great attention, since they can contribute to the development of not only the scientific field, but also medicine and pharmacology.