

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

ЕВТЮХИНА
Полина Дмитриевна

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

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
старший преподаватель
Ветошкин Алексей Андреевич

Допущена к защите
«__»_____2021 г.
Зав. кафедрой клеточной биологии
и биоинженерии растений,
кандидат биологических наук, доцент
доцент И.И. Смолич

Минск, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений	3
Реферат	4
Рэферат	5
Abstract	6
Введение.....	7
Глава 1 Обзор литературы.....	9
1.1 Способы культивирования клеток животных и человека. Культивирование НЕК 293	9
1.2 Классификация питательных сред для культивирования клеток млекопитающих.....	12
1.3 Физико-химические параметры сред для культивирования клеток человека. Питательные среды для выращивания НЕК 293.....	13
1.4 Оборудование	19
1.5 Криоконсервация и разморозка клеток НЕК 293.....	20
1.6 Влияние ионов магния на метаболизм клеток	22
1.7 Методы определения жизнеспособности клеток.....	26
Глава 2 Материалы и методы исследований.....	29
2.1 Протокол культивирования и заморозки клеточной линии НЕК 293	29
2.1.3 Криоконсервации	31
2.2 Внесение солей	32
2.3 Микроскопия	32
Глава 3 Результаты исследований	34
3.1 Влияние ионов Mg^{2+} на пролиферацию и морфологию клеток НЕК 293 ..	34
3.2 Влияние ионов Mg^{2+} на жизнеспособность клеток НЕК 293	36
Заключение	39
Список использованных источников	41

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 44 с., 9 рис., 47 источников.

Ключевые слова: КУЛЬТИВИРОВАНИЕ, НЕК 293, ВЛИЯНИЕ, ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ.

Объект исследования: клеточная линия НЕК 293.

Цель: изучение влияния ионов Mg^{2+} на культивирование НЕК 293.

Предмет исследования: реакция клеточной линии НЕК 293 на внесение в питательную среду солей магния.

Исследовано влияние повышенных концентраций ионов Mg^{2+} в среде для культивирования НЕК 293. Было выявлено, что изменение концентрации ионов Mg^{2+} , влияет на морфологию, рост, пролиферацию и жизнеспособность клеточной культуры НЕК 293. При повышении концентрации ионов клетки изменяли цвет и форму, становясь более округлыми. С увеличением концентрации Mg^{2+} уменьшалась площадь поверхности монослоя, клетки становились более разобщенными. Снижение пролиферативной активности клеток строго коррелировало с повышением концентрации ионов Mg^{2+} в питательной среде. Среднее значение отношения площади колоний клеток к площади поверхности составило: контроль – 0,68%; 1,5 мМ Mg^{2+} – 0,558%; 2,0 мМ Mg^{2+} – 0,51%; 2,5 мМ Mg^{2+} – 0,47%. С повышением концентрации ионов Mg^{2+} в питательной среде увеличивалось и доля нежизнеспособных клеток в области зрения микроскопа. Среднее значение доли мёртвых клеток от живых: контроль – 1,06%; 1,5 мМ Mg^{2+} – 1,56%; 2,0 мМ Mg^{2+} – 1,92%; 2,5 мМ Mg^{2+} – 2,85%. Хотя обнаруженные нами сдвиги в пролиферации и жизнеспособности клеток имели не большие значения, но при повышении концентрации ионов магния процент жизнеспособных клеток и площадь поверхности монослоя всё же уменьшалась, из чего можно сделать вывод, что повышенные концентрации ионов магния всё же негативно влияют на культивирование клеток НЕК 293. Данный эффект был опосредован недостатком ионов Ca^{2+} , которые являются антагонистами ионов магния. Ионы кальция играют ключевую роль в таких процессах, как транскрипция, дифференцировка и пролиферация клеток.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 44 с., 9 мал., 47 крыніц.

Ключавыя словы: КУЛЬТЫВАВАННЕ, НЕК 293, УПЛЫЎ, ЖЫЦЦЯЗДОЛЬНАСЦЬ.

Аб'ект даследавання: клеткавая лінія НЕК 293.

Мэта: выяўленне ўплыву іёнаў Mg^{2+} на культываванне НЕК 293.

Прадмет даследавання: рэакцыя клеткавай лініі НЕК 293 на ўнясенне ў пажыўнае асяроддзе соляў магнію.

Даследавана ўплыў павышаных канцэнтрацый іёнаў Mg^{2+} у асяроддзі для культывавання НЕК 293. Было выяўлена, што змяненне канцэнтрацыі іёнаў Mg^{2+} , уплывае на марфалогію, рост, праліферацыі і жыццяздольнасць клетачнай культуры НЕК 293. Пры павышэнні канцэнтрацыі іёнаў клеткі ізмнялі колер і форму, становячыся больш круглявымі. З павелічэннем канцэнтрацыі Mg^{2+} памяншалася плошчу паверхні монослоя, клеткі становіліся больш раз'яднанымі. Зніжэнне праліфератыўнай актыўнасці клетак строга карэлявалі з павышэннем канцэнтрацыі іёнаў Mg^{2+} ў пажыўным асяроддзі.. Сярэдняе значэнне адносін плошчы калоній клетак да плошчы паверхні складала: кантроль 0,68%; 1,5 мМ Mg^{2+} 0,558%; 2,0 мМ Mg^{2+} 0,51%; 2,5 мМ Mg^{2+} – 0,47%. З павышэннем канцэнтрацыі іёнаў Mg^{2+} у пажыўным асяроддзі павялічвалася і доля нежыццяздольных клетак у поле зроку мікраскопа Сярэдняе значэнне долі мёртвых клетак ад жывых: кантроль 1,06%; 1,5 мМ Mg^{2+} 1,56%; 2,0 мМ Mg^{2+} 1,92%; 2,5 мМ Mg^{2+} – 2,85%. Хоць выяўленыя намі зрухі ў праліферацыі і жыццяздольнасці клетак мелі не вялікія значэння, але пры павышэнне канцэнтрацыі іёнаў адсотак жыццяздольных клетак і плошча паверхні монослоя ўсё ж памяншалася, з чаго можна зрабіць выснову, што павышаныя канцэнтрацыі іёнаў магнію ўсё ж негатыўна ўплываюць на культываванне клетак НЕК 293. Дадзены эфект быў апасродкаваны недахопам іёнаў Ca^{2+} , якія з'яўляюцца антаганістамі іёнаў магнію. Іены калыцыя адыгрываць галоўную ролю ў такіх працэсах, як транскрыпцыя, дыферэнцоўка і праліферацыя клетак.

ABSTRACT

Diploma thesis 44 p., 9 fig., 47 sources.

Key words: CULTIVATION, HEK 293, INFLUENCE, VIABILITY.

Object of research: cell line HEK 293.

Purpose: to study the effect of Mg^{2+} ions on the cultivation of HEK 293.

Subject of the study: the reaction of the HEK 293 cell line to the introduction of magnesium salts into the nutrient medium.

The effect of increased concentrations of Mg^{2+} ions in the culture medium of HEK 293 was studied. It was found that changes in the concentration of Mg^{2+} ions affect the morphology, growth, proliferation and viability of the cell culture of HEK 293. As the ion concentration increased, the cells changed color and shape, becoming more rounded. With an increase in the concentration of Mg^{2+} , the surface area of the monolayer decreased, and the cells became more dissociated. A decrease in the proliferative activity of cells was strongly correlated with an increase in the concentration of Mg^{2+} ions in the nutrient medium. The average value of the ratio of the cell colony area to the surface area was: control-0.68%; 1.5 mM Mg^{2+} - 0.558%; 2.0 mM Mg^{2+} - 0.51%; 2.5 mM Mg^{2+} - 0.47%. With an increase in the concentration of Mg^{2+} ions in the nutrient medium, the proportion of non-viable cells in the field of view of the microscope also increased. The average value of the proportion of dead cells from living: control-1.06%; 1.5 mM Mg^{2+} - 1.56%; 2.0 mM Mg^{2+} - 1.92%; 2.5 mM Mg^{2+} - 2.85%. Although the shifts in cell proliferation and viability that we found were not of great importance, the percentage of viable cells and the monolayer surface area decreased with an increase in the concentration of magnesium ions, from which we can conclude that increased concentrations of magnesium ions still negatively affect the cultivation of HEK 293 cells. This effect was mediated by a lack of Ca^{2+} ions, which are antagonists of magnesium ions. Calcium ions play a major role in processes such as transcription, differentiation, and cell proliferation.