

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики**

АВСЕЕНКО
Владислав Дмитриевич

**ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ОПУХОЛЕВЫХ
ЭКЗОСОМ ИЗ КУЛЬТУР КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ
ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
Т.М. Дорошенко

Минск, 2022

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 49 с., 7 рис., 4 таблицы, 35 источников.

Ключевые слова: ГЛИОБЛАСТОМА, ЭКЗОСОМЫ, ПОВЕРХНОСТНЫЕ МАРКЕРЫ, ГОЛОВНОЙ МОЗГ, СУБКУЛЬТИВИРОВАНИЕ.

Объект исследования: культуры опухолевых клеток человека: линия глиобластомы HROG04; линия рака шейки матки HeLa; первичные культуры, полученные из операционного материала пациентов с диагнозом глиобластома в ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова».

Цель работы: освоить методы выделения и иммунофенотипирования экзосом, полученных из культур клеточных линий глиобластомы человека.

Методы исследования: физический и ферментативный методы disaggregation тканей, магнитная сепарация, проточная цитофлуориметрия.

Полученные результаты: Были получены 8 первичных культур клеток глиобластомы человека, а также осуществлено сравнение эффективности различных методов получения первичных культур опухолевых клеток глиобластом человека. Наиболее эффективным методом оказалась ферментативная диссоциация тканей. Были оценены параметры роста перевиваемой клеточной линии глиобластомы человека HROG04 для определения стандартных характеристик роста культуры глиобластомы человека и использования их в качестве референсных. Была дана иммунофенотипическая характеристика первичных культур опухолевых клеток глиобластомы, которая подтвердила глиальное происхождение исследуемых культур. Обнаружить стволовые опухолевые клетки, экспрессирующие маркеры CD133 и CD34, удалось только в одном образце, что подтверждает гипотезу влияния метода выделения клеток на популяционный состав культуры. Был освоен метод магнитной сепарации и с помощью него получены экзосомы из первичных культур клеток глиобластомы человека и линии рака шейки матки HeLa. Была дана иммунофенотипическая характеристика полученных экзосом, которая показала, в целом, различия между экзосомами разных линий опухолевых клеток.

РЕФЕРАТ

Дыпломная праца 49 с., 7 мал., 4 табліцы, 35 крыніц.

Ключавыя словы: ГЛІЯБЛАСТОМА, ЭКЗАСОМЫ, ПАВЯРХОЎНЫЯ МАРКЕРЫ, ГАЛАЎНЫ МОЗГ, СУБКУЛЬТЫВІРАВАННЕ.

Аб'ект даследавання: культуры пухлінавых клетак чалавека: лінія гліябластомы HROG04; лінія раку шыйкі маткі HeLa; пярвічныя культуры, атрыманыя з аперацыйнага матэрыялу пацыентаў з дыягназам гліябластома ў ДУ «РНПЦ анкалогіі і медыцынскай радыялогіі ім. Н.Н. Аляксандрава».

Мэта працы: засвоіць метады вылучэння і імунафенатыпіравання экзасом, атрыманых з культур клеткавых ліній гліябластомы чалавека.

Метады даследавання: фізічны і ферментатыўны метады дэаграгіравання тканін, магнітная сепарацыя, працёкавая цытафлуарыметрыя.

Атрыманыя вынікі: Былі атрыманы 8 пярвічных культур клетак гліябластомы чалавека, а таксама ажыццёўлена параўнанне эфектыўнасці розных метадаў атрымання пярвічных культур пухлінавых клетак гліябластом чалавека. Найболей эфектыўным метадам апынулася ферментацыйная дысацыяцыя тканін. Былі ацэнены параметры ўзросту перавіранай клеткавай лініі гліябластомы чалавека HROG04 для вызначэння стандартных характарыстык узросту культуры гліябластомы чалавека і выкарыстанні іх у якасці рэферэнсавых. Была дадзена імунафенатыпічная характарыстыка пярвічных культур пухлінавых клетак гліябластомы, якая пацвердзіла гліяльнае паходжанне доследных культур. Выявіць стваловыя пухлінавыя клеткі, што экспрэсуюць маркеры CD133 і CD34, атрымалася толькі ў адным узору, што пацвярджае гіпотэзу ўплыву метаду вылучэння клетак на папуляцыйны склад культуры. Быў асвоены метады магнітнай сепарацыі і з дапамогай яго атрыманы экзасомы з першых культур клетак гліябластомы чалавека і лініі раку шыйкі маткі HeLa. Была дадзена імунафенатыпічная характарыстыка атрыманых экзасом, якая паказала, у цэлым, адрозненні паміж экзасомамі розных ліній пухлінавых клетак.

ABSTRACT

Diploma project 49 p., 7 fig., 4 tables, 35 sources.

Key words: GLIOBLASTOMA, EXOSOMES, SURFACE MARKERS, BRAIN, SUBCULTIVATION.

The aim of the research: cultures of human tumor cells: glioblastoma line HROG04; cervical cancer line HeLa; primary cultures obtained from the surgical material of patients diagnosed with glioblastoma in the Republican Scientific and Practical Center of Oncology and Medical Radiology named of N.N. Alexandrov".

Objective: to master the methods of isolation and immunophenotyping of exosomes obtained from cultures of human glioblastoma cell lines.

The research methods: physical and enzymatic methods of tissue disaggregation, magnetic separation, flow cytometry.

Obtained results: 8 primary cultures of human glioblastoma cells were obtained, and a comparison was made of the effectiveness of various methods for obtaining primary cultures of human glioblastoma tumor cells. The most effective method was enzymatic tissue dissociation. Growth parameters of the transplantable human glioblastoma cell line HROG04 were evaluated to determine the standard growth characteristics of a human glioblastoma culture and use them as a reference. An immunophenotypic characterization of the primary cultures of glioblastoma tumor cells was given, which confirmed the glial origin of the studied cultures. It was possible to detect tumor stem cells expressing CD133 and CD34 markers only in one sample, which confirms the hypothesis of the influence of the method of cell isolation on the population composition of the culture. The method of magnetic separation was mastered and exosomes were obtained using it from primary cultures of human glioblastoma cells and the HeLa cervical cancer line. An immunophenotypic characterization of the obtained exosomes was given, which showed, in general, differences between the exosomes of different tumor cell lines.