



**ადამიანის ტრანსგენური ინდუცირებული პლურიპოტენტური დეროვანი უჯრედების დახასიათება ცისური ფიბროზის დაავადების ფარგლებში**

**ანა ბურდული**

სამაგისტრო ნაშრომი

სამაგისტრო პროგრამა: მოლეკულური ბიომეცნიერებები

სამაგისტრო ნაშრომი წარმოადგენს ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის, საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და მედიცინის ფაკულტეტის მოლეკულური ბიომეცნიერებათა მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნის შესაბამისად.

ხელმძღვანელი : პროფესორი, რევაზ სოლომონია

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თანახელმძღვანელი: პროფესორი, დოქტორი Ulrich Martin

ჰანოვერის უმაღლესი სამედიცინო სკოლა

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

Hannover 2022

## განაცხადი

როგორც წარდგენილი ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

ავტორის სახელი და გვარი :ანა ბურდული

ნაშრომის წარდგენის თარიღი: 15.07.22

## შესავალი

ადამიანის ინდუცირებული პლურიპოტენტური ღეროვანი უჯრედები ხასიათდებიან პლურიპოტენციის უნარით, რაც საშუალებას იძლევა განვავსხვავოთ ისინი სამი ჩანასახოვანი ხაზის მიხედვით. სწორედ ამ თვისების გამო ექცვიან ისინი დიდი ყურადღების ქვეშ, როგოც სამცნიერო ასევე სამედიცინო სფეროში.

ცისტური ფიბროზი ერთ-ერთი იმ დაავადებათაგანია, რომლისთვისაც სწორედ ადამიანის ინდუცირებული უჯრედების ხარჯზე უნდა შეიქმნას სამკურნალო მოდელი.

ცისტური ფიბროზი გამოწვეულია ტრანსმემბრანული გამტარობის რეგულატორის (CFTR) გენის მუტაციით, რომელიც კოდირებს ქლორის იონურ არხს. შედეგად მიღებული იონური დისრეგულაცია იწვევს სასუნთქი გზების ლორწოს გაუწყლოებას, რაც თავის მხრივ იწვევს ქრონიკულ ინფექციებსა და ანთებას. ასახელებენ ქლორიდის ალტენატიულ იონურ არხს-TMEM16A ცისტური ფიბროზით დაავადებული პაციენტის ფილტვის ფენოტიპის სამკურნალოდ, მაგრამ ამასთან დაკავშირებით არსებობს ორი ჰიპოთეზა, ერთის მხრივ ვარაუდობენ, რომ ქლორის იონური არხი TMEM16A თუ გააქტიურდება ეს გამოიწვევს დიდი რაოდენობით ქლორის იონების გადინებას უჯრედიდან და უჯრედის გარეთ არსებული ლორწოს უკეთესად მოცილებას. ხოლო მეორეს მხრივ ფიქრობენ, რომ TMEM16A არხი დათრგუნვა გამოიწვევს ლორწოს სეკრეციას, მაგრამ ეს ფაქტი შესაძლებელია მომგებიანიც კი აღმოჩნდეს პაციენტისთვის. სწორედ ამ ჰიპოთეზების შესამოწმებლად და კვლევების განხორციელების, შემდეგ შეიქმნა ადამიანის ინდუცირებული ღეროვანი უჯრედების ხაზი TMEM16A გადაჭარბებული ექსპრესიით და ბლოკირებული TMEM16A არხით. (ამ გენში ხელოვნურადაა შესწორება შეტანილი).

## სარჩევი

შესავალი .....	iii
1 ღეროვანი უჯრედები .....	6
1.1 ღეროვანი უჯრედების კლასიფიკაცია.....	6
2. ადამიანის ინდუცირებული ღეროვანი უჯრედები.....	7
3. ცისტური ფიბროზი .....	10
4.TMEM16A როგორც სამიზნე ცილა ცისტური ფიბროზის თერაპიაში.....	11
5.CF-T16abcOX ადამიანის ინდუცირებული ღეროვანი უჯრედები.....	12
6.ახლად ჩამოყალიბებული ადამიანის ინდუცირებული ღეროვანი უჯრედების დახასიათებისთვის საჭირო მოთხოვნები.....	13
7.მიზანი .....	14
8. გამოყენებული სამუშაო მასალები და მეთოდები .....	15
8.1გამოყენებული სამუშაო მასალები.....	15
8.1.1 გამოყენებული სახარჯი მასალა .....	15
8.1.2 გამოყენებული მოწყობილობები.....	15
GFL, LAUDA DR. R. WOBSEY GmbH & Co. KG(კომპანიის დღევანდელი დასახელება) .....	15
™ Multifuge™ X3 General Purpose Centrifuge .....	15
8.1.3 უჯრედული ხაზები.....	16
8.2 მეთოდები .....	16
8.2.1 GelTrex-ის ნიადაგის მომზადება .....	16
8.2.2უჯრედების გამოლღობა.....	17
8.2.3მოკლე ტანდემის განემორების ანალიზი-STR .....	17
8.2.4.მიკოპლაზმის ტესტი .....	18
8.2.5.კარიოტიპის ანალიზი .....	19
8.2.6.უჯრედების იმუნოფლუორესცენციული შეღებვა პლურიპოტენტური მარკერებისთვის.....	19
8.2.7.შემთხვევითი დიფერენცირების ანალიზი.....	23
8.2.8.გამდინარე ციტომეტრია.....	26
8.2.9უჯრედების გაყინვა.....	30
9.შედეგები.....	31
9.1მიკოპლაზმის ტესტი .....	31
9.2კარიოტიპი.....	32

9.3 მოკლე ტანდემის განემორების ანალიზი-STR .....	33
9.4 ხარისხობრივი პლურიპოტენტური შეღებვა კოლონიების იმუნოფლორესცენციული შეღებვის გამოყენებით .....	35
9.5. შემთხვევითი დიფერენცირების ანალიზი .....	38
9.6 რაოდენობრივი პლურიპოტენტური შეღებვა გამდინარე ციტომეტრიით .....	40
10. დისკუსია .....	42
10.1 CF-T16abcOX hiPSC-ების ვარგისიანობა მომავალი დიფერენციაციისთვის .....	42
10.2 არასპეციფიკური ბმების არსებობა ნიმუშებში და დადებითი იზოტიპური კონტროლები გამდინარე ციტომეტრიაში .....	42
დასკვნა .....	43
სამადლობელი მიმართვა .....	48