



Latvian Biomedical
Research and Study Centre
research and education in biomedicine from genes to human



Jaunu - liposomas veidojošu katjonu karbazola atvasinājumu izmantošana šūnu transfekcijā *in vitro*

A. Vežāne*¹, G. Apsīte¹, A. Baran², R. Brūvere¹, V. Ose² A. Plotniece²,
I. Timofējeva¹, T. Kozlovska¹

¹*Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs (BMC), Rīga*

²*Latvijas Organiskās sintēzes institūts (OSI), Rīga*

e-pasts: aleksandra.vezane@biomed.lu.lv

Valsts pētījumu programmas „Jaunu profilakses, ārstniecības, diagnostikas līdzekļu un metožu, biomedicīnas tehnoloģiju izstrāde sabiedrības veselības uzlabošanai”
7. Projekta DNS, RNS, proteīnu, peptīdu un mazmolekulāro medicīnisko preparātu piegādes sistēmas izstrādāšana.

Jaunie gēnu piegādes aģenti spēj ne tikai transficēt šūnas, bet arī iezīmēt tās. Tas paver plašas iespējas tālākai šo vielu izmantošanai molekulārajā bioloģijā un medicīnā, gan kā fluorescentās iezīmes, gan kā zondes.

Fluorescento zonžu pielietojums zinātnē:

- Kā krāsvielas (ko izmanto, lai iekrāsotu bioloģiskos objektus spektrāliem pētījumiem, lai veicinātu izpratni par to struktūras īpatnībām un izmaiņām).
- Izstrādāt dažādas fluorescento analīžu metodes (augu, mikroorganismu un cilvēka šūnu funkcionālā stāvokļa izvērtēšanai).



Sasaistīšanās reakcija uz 1% garozas gēla

BA-28

BA-31

BA-32

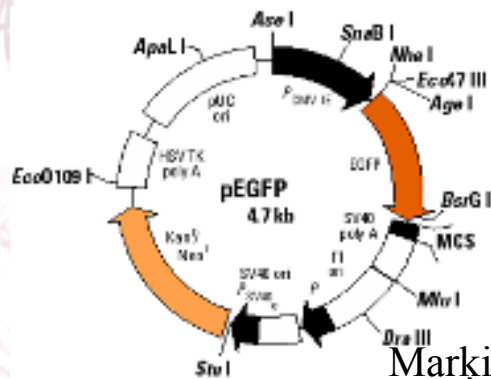
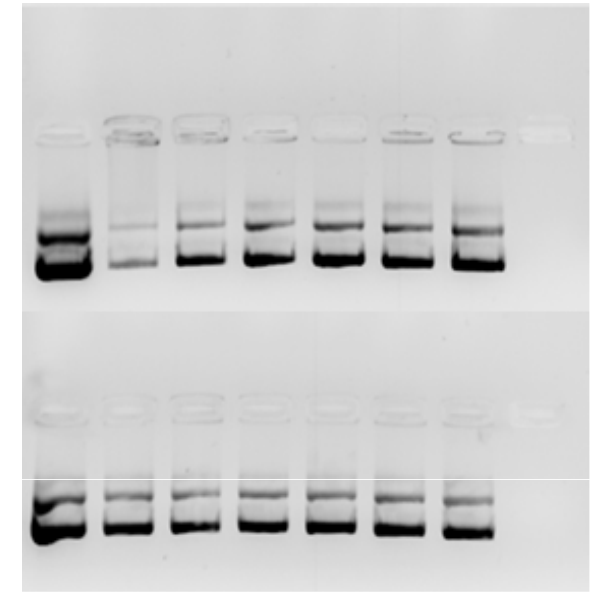
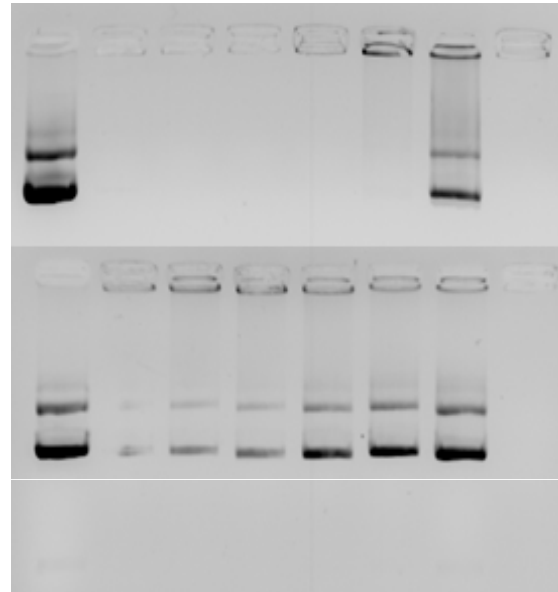
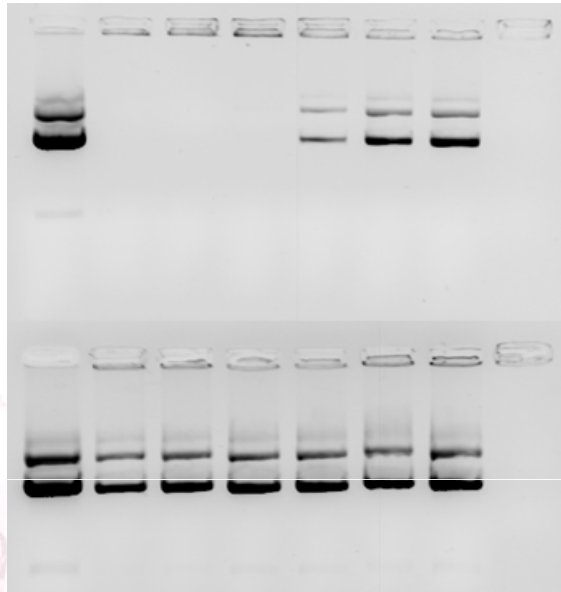
DNS 9mkl 7mkl 6mkl 5mkl 3mkl 1mkl R

DNS 9mkl 7mkl 6mkl 5mkl 3mkl 1mkl R

DNS 9mkl 7mkl 6mkl 5mkl 3mkl 1mkl R

PBS=

BHK ar NaCl



Izmantota pEGFP -C1 plazmīda
4731 bp

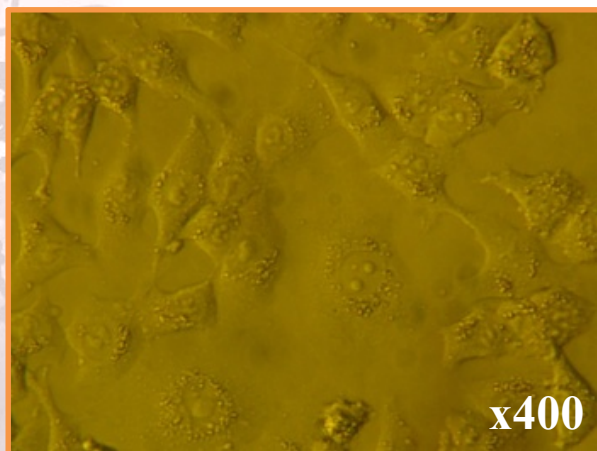
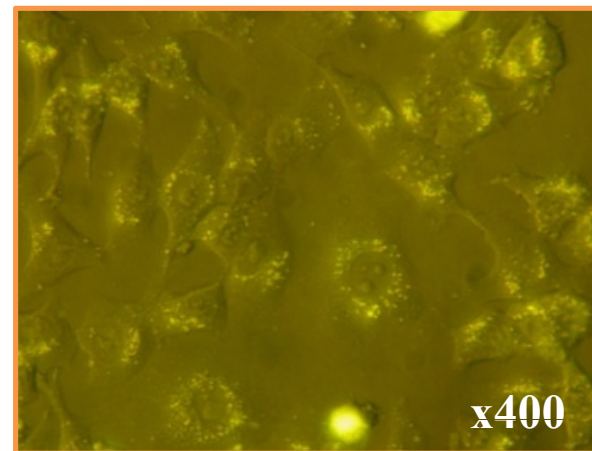
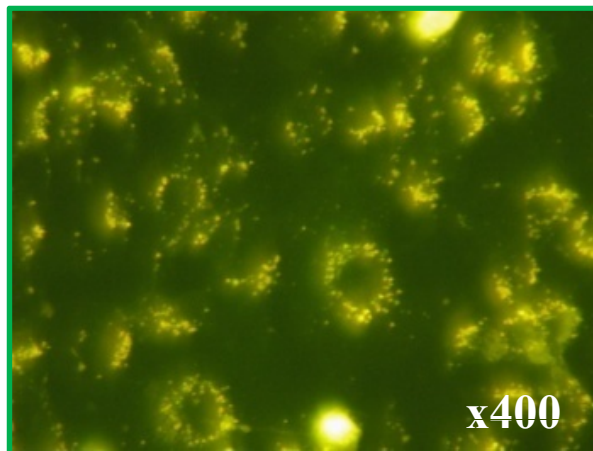
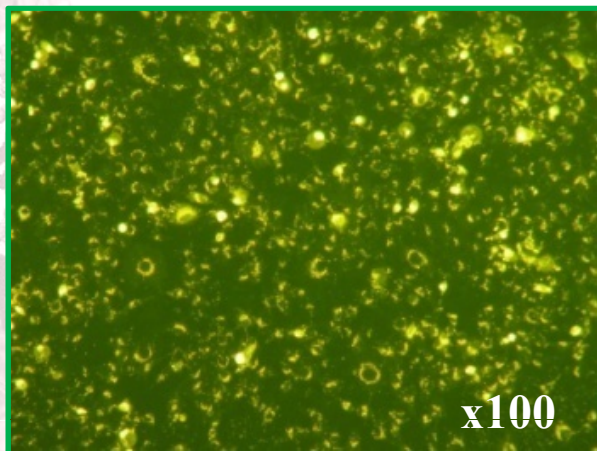


Marķiera proteīna gēns - **zaļās fluorescences proteīns (GFP)**.

pEGFP-C1 satur GFP gēnu, kurš ir optimizēts proteīna spilgtākai fluorescencei zīdītāju šūnās.

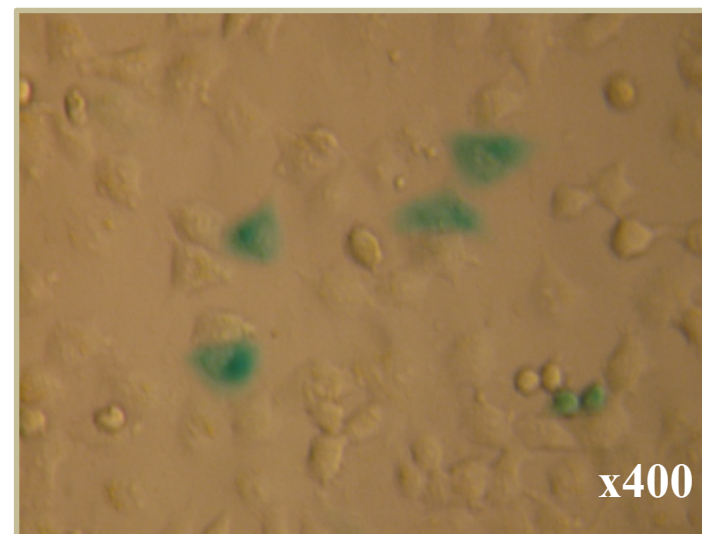
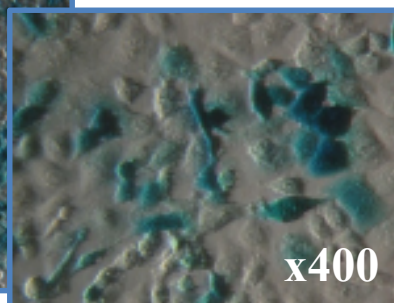
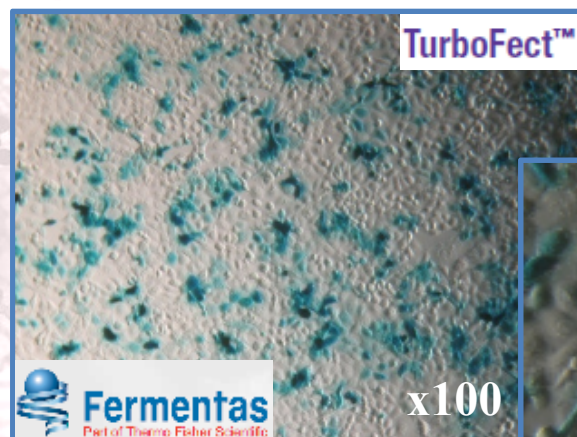
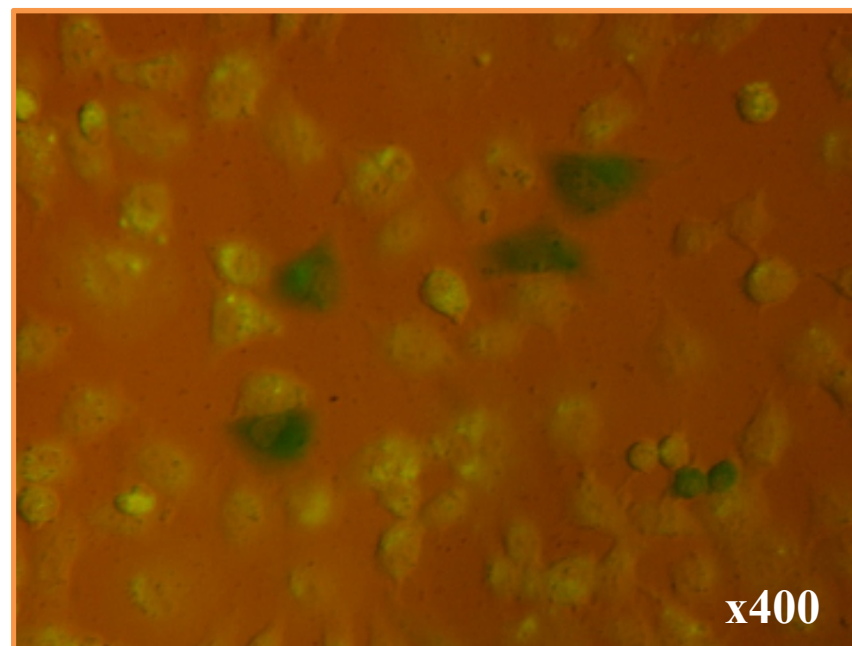
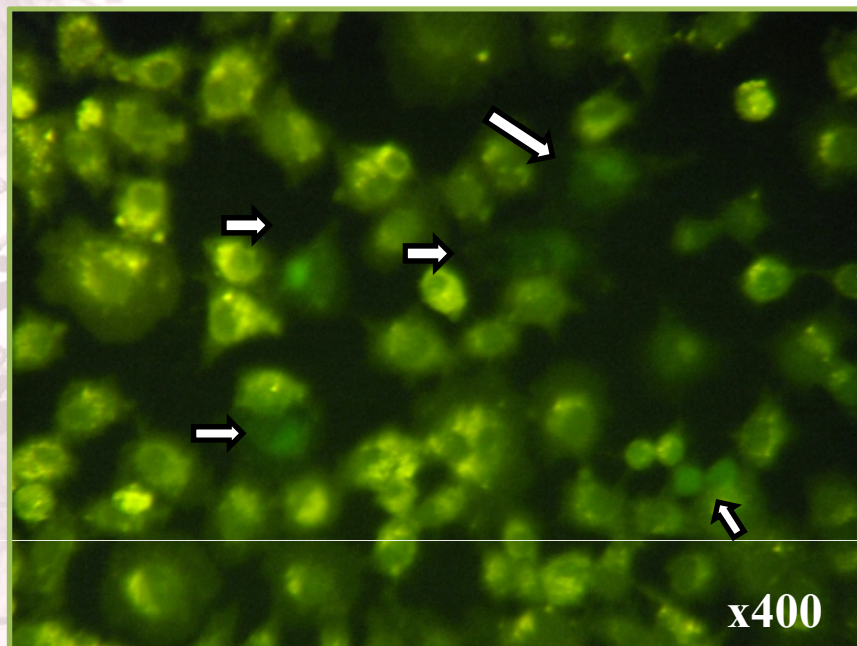
Transfēcēta BHK-21 ūunu līnija

BA-31/pEGFP



BHK-21 šūnu līnijas transfekcija ar *pLacZ* (β -galaktozidāze)

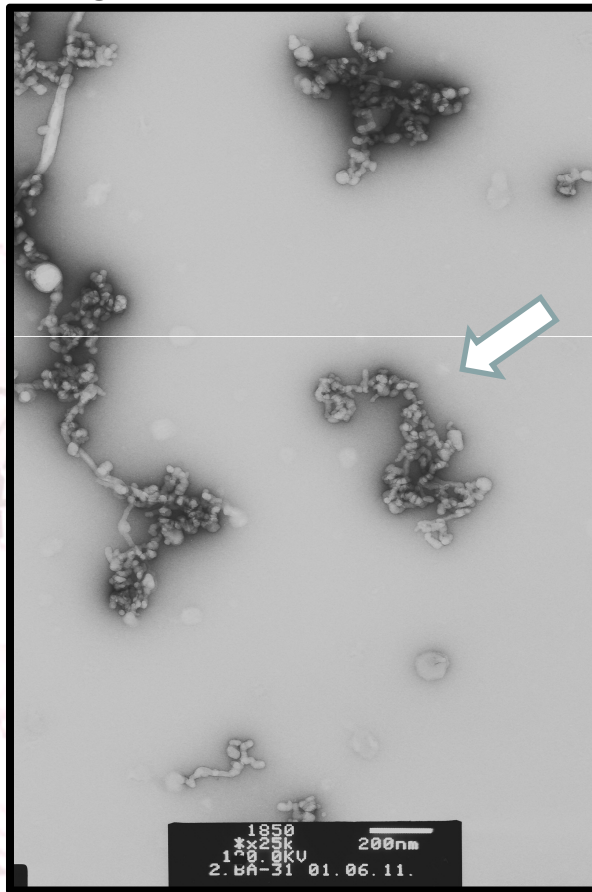
BA-31



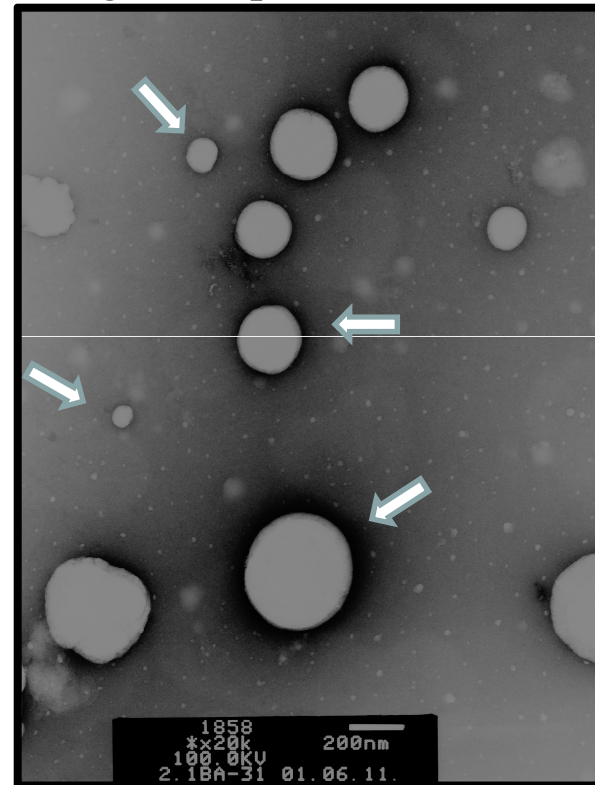
Elektronu mikroskopija

BA-31

Reāģents



Reāģents + pEGFP

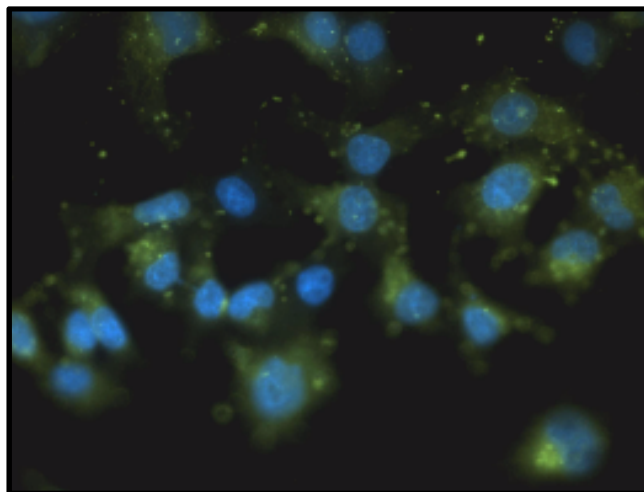


Lipopleksu veidojumi ar diametru
30-600 nm

Konfokālā lāzera skenējošā mikroskopija

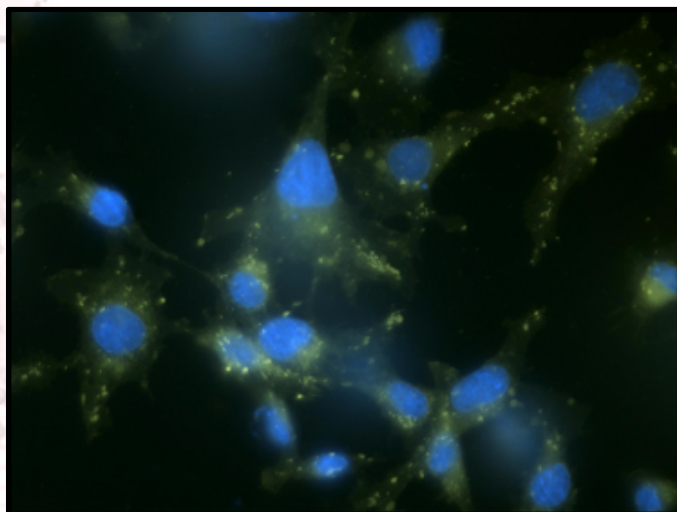
BA-31/DNS

1,5 stundas



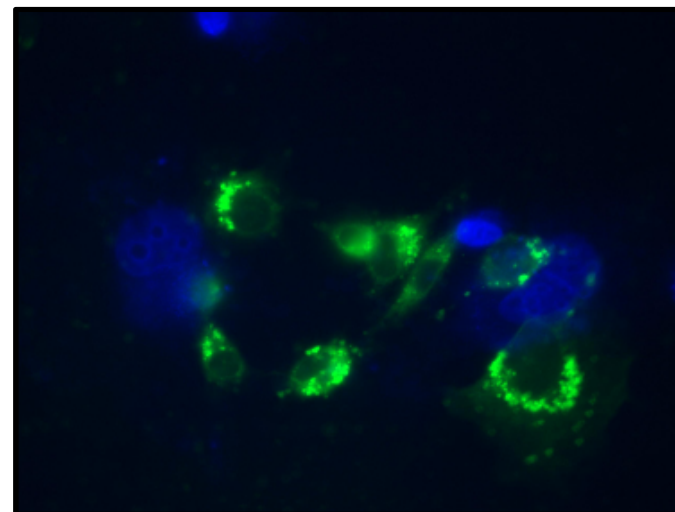
**Kodolu DNS ar DAPI krāsojumā fluorescē zili, BA-31+DNS –zaļi.
Kompleks atrodas starpšūnu telpā un citoplazmā**

3 stundas



BA-31+DNS galvenokārt citoplazmā

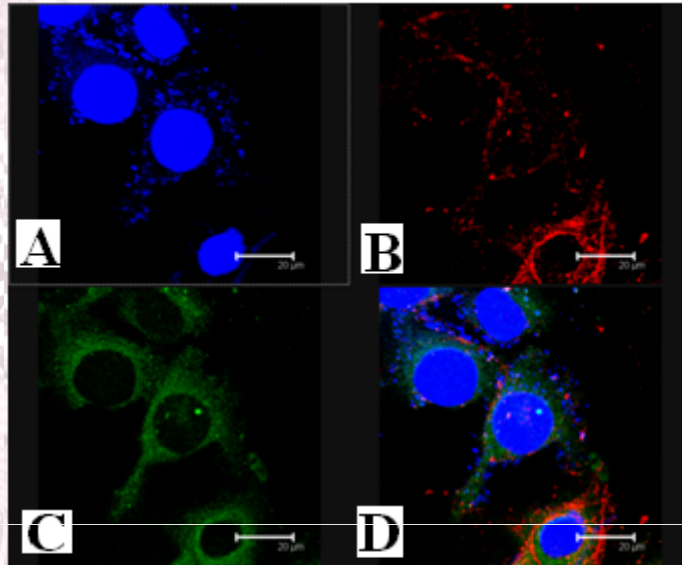
24 stundas



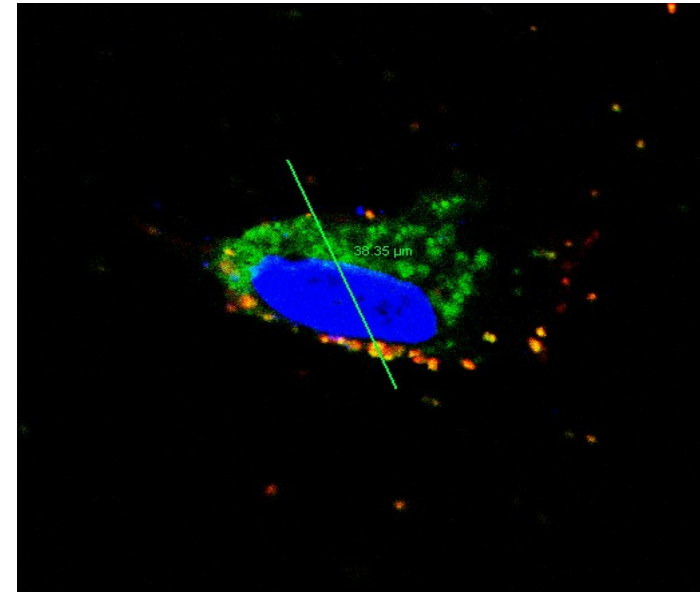
BA-31+DNS atrodas citoplazmā un Goldži rajonā

Konfokālā lāzera skenējošā mikroskopija

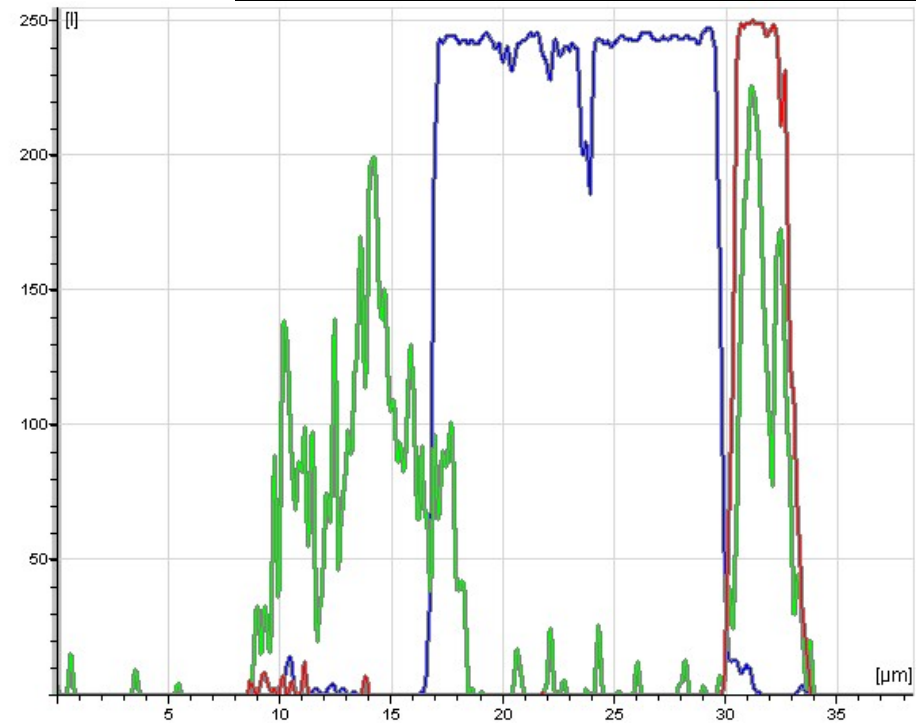
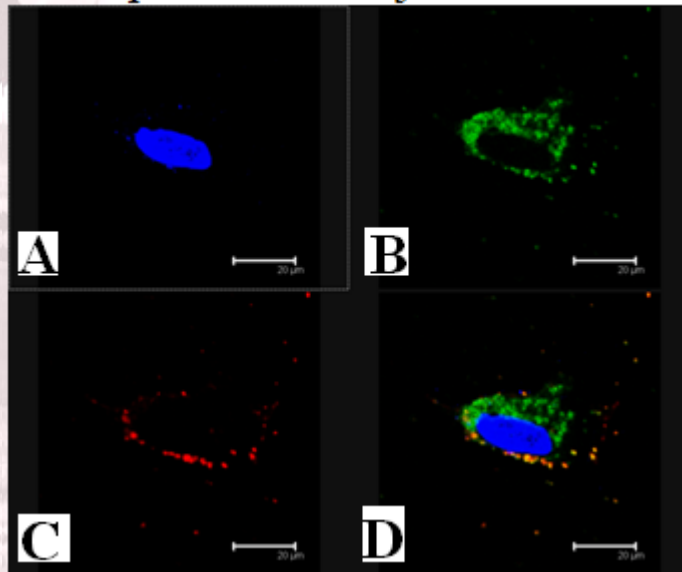
3 h pēc transfekcijas



BA-31/DNS



24 h pēc transfekcijas



Paldies par uzmanību!



Latvian Biomedical
Research and Study Centre
research and education in biomedicine from genes to human

<http://biomed.lu.lv/>