

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.03.01 (ОКСО 020400.62) – биология

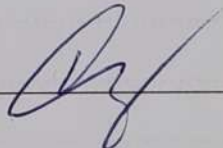
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Дипломная работа

**ПРОВЕРКА ГИПОТЕЗЫ О СИНЕРГЕТИЧЕСКОМ
ИНДУЦИРОВАНИИ IFN- γ И CRG-ODN 1826
КЛАССИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ МАКРОФАГОВ МЫШИ**

Работа завершена:

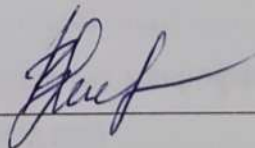
" 06 " май 2022 г.

 (С.Д. Дубовскова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель
к.н., старший преподаватель

" 6 " 06 2022 г.

 (В.В. Костенко)

Заведующий кафедрой
д.н., доцент

" 6 " 06 2022 г.

 (А.Р. Каюмов)

СОДЕРЖАНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Проблема и методы терапии рака.....	6
1.2 Иммунотерапия рака.....	8
1.2 Макрофаги	10
1.3 M1 и M2 макрофаги	12
1.4 Терапия рака с помощью M2/M1 реполяризации.....	13
1.5 Медиаторы полярности M1	13
1.5.1 Интерферон- γ	14
1.5.2 CpG-ODN 1826	16
1.6 Мышь как модель	17
1.7 Методы типирования иммунных клеток.....	19
1.8 Подготовка образцов для РНК-секвенирования.....	20
1.8.1 CAGE	20
1.8.2 nAnT-iCAGE.....	21
1.9 Платформа секвенирования	21
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	24
2.1 Дизайн эксперимента	24
2.2 Получение первичных культур клеток макрофагов	24
2.3 Кэп-анализ экспрессии генов (CAGE)	24
2.5 Предварительная обработка данных секвенирования (тримминг)	25
2.5.1 Удаление чтений низкого качества и триммирование по длине	25
2.5.2 Удаление чтений с нераспознанными нуклеотидами	25
2.5.3 Удаление рибосомальной РНК.....	25
2.5.4 Удаление адаптеров для секвенирования Illumina	25
2.6 Кластеризация чтений и картирование кластеров.....	26
2.7 Генетическая аннотация кластеров	26

2.8	Статистический анализ данных	26
2.8.1	MDS график образцов	26
2.8.2	Тепловая карта экспрессии генов	27
2.8.3	Анализ дифференциальной экспрессии по logFC и logTPM	27
2.8.4	Тепловая карта дифференциально экспрессирующихся кластеров ..	28
2.8.5	Функциональный анализ генов с помощью базы данных GO	29
2.8.6	Столбчатая диаграмма экспрессии генов характерных для макрофагов, активированных классическим путем	30
2.7.7	График tSNE по мотивам связывания транскрипционных факторов ДЭК	30
2.8.8	Поиск мотивов с помощью AME из MEME Suite	32
2.8.9	Поиск шифтов промоторов	32
3	РЕЗУЛЬТАТЫ	33
3.1	Результаты триммирования и картирования	33
3.2	MDS график образцов	34
3.3	Тепловая карта экспрессии генов	34
3.4	Анализ дифференциальной экспрессии по логарифмам FC и TPM	35
3.5	Тепловая карта дифференциально экспрессирующихся кластеров	37
3.6	Функциональный анализ генов с помощью базы данных GO	38
3.7	Столбчатая диаграмма экспрессии генов, характерных для макрофагов, активирующихся классическим путем	41
3.8	График tSNE по мотивам связывания транскрипционных факторов ДЭК	43
3.9	Поиск мотивов с помощью AME из MEME Suite	43
3.10	Шифты промоторов	44
	ВЫВОДЫ	45
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	46

ВВЕДЕНИЕ

Рак является ведущей причиной смерти во всем мире. На его долю пришлось почти 10 миллионов смертей в 2020 г. Самыми распространенными в 2020 г. по новым случаям онкологических заболеваний были рак груди, легкого, толстой и прямой кишки, простаты, кожи и желудка. Наиболее частыми причинами смерти от рака в 2020 г. были рак легкого, толстой и прямой кишки, печени, желудка и груди [Cancer, 2022].

Иммунная терапия значительно улучшает долгосрочную выживаемость онкологических пациентов, способна полностью удалить остаточные опухолевые клетки, и, что немаловажно, имеет более щадящие побочные эффекты, чем традиционные методы лечения рака – химиотерапия и лучевая терапия [Bulk van den et al., 2018]. Макрофаги составляют до 50% иммунных клеток, инфильтрирующих строму опухоли, их присутствие в строме положительно коррелирует со злокачественностью и рецидивом опухоли, поэтому макрофаги стали рассматривать как оружие в борьбе с опухолью [Wang et al., 2018].

Популяции макрофагов можно грубо разделить на классически активированные и альтернативно активированные. Классически активированные макрофаги обладают провоспалительными и противоопухолевыми свойствами, поэтому перепрограммирование макрофагов в строме опухоли могло бы стать действенным методом терапии рака. Известно, что классическую активацию макрофагов мыши провоцируют интерферон- γ и CpG-ODN 1826.

Данная работа посвящена проверке гипотезы о синергетическом индуцировании классической активации макрофагов мыши интерфероном- γ и CpG-ODN 1826.

Цель работы – оценка эффективности индукции классической активации макрофагов мыши одновременной стимуляцией интерфероном- γ и CpG-ODN 1826.

Задачи работы:

- 1) Провести тримминг, картирование и аннотирование данных РНК-секвенирования, оценить качество данных и целесообразность их дальнейшей обработки.
- 2) Оценить кластеризацию биологических повторов и экспериментальных образцов методом MDS.
- 3) Провести качественную и количественную оценку дифференциально экспрессирующихся генов образцов, уровень экспрессии генов, связанных с активацией макрофагов.
- 4) Провести анализ насыщения тегов функциональной аннотации GO дифференциально экспрессирующихся генов.
- 5) Провести анализ насыщения мотивов транскрипционных факторов дифференциально экспрессирующихся генов, выявить их функции.
- 6) Провести поиск шифтов промоторов.



СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

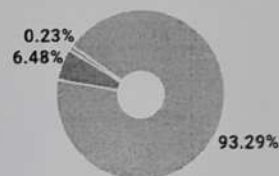
о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Дубовскова Софья Дмитриевна
Самоцитирование
рассчитано для: Дубовскова Софья Дмитриевна
Название работы: Проверка гипотезы о синергетическом индуцировании Ifn-gamma и CpG-ODN-1826 классической активации макрофагов мыши
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение:

РЕЗУЛЬТАТЫ

ЗАИМСТВОВАНИЯ	6.48%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	93.29%
ЦИТИРОВАНИЯ	0.23%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 04.06.2022

Модули поиска: ИПС Адилет; Библиография; Сводная коллекция ЭБС; Интернет Плюс; Сводная коллекция РГБ; Цитирование; Переводные заимствования (RuEn); Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu); Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования издательства Wiley (RuEn); eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ; Модуль поиска "КПФУ"; Медицина; Диссертации НББ; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по Интернету; Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; Переводные заимствования

Работу проверил: Бабынин Эдуард Викторович
ФИО проверяющего

Дата подписи:

Подпись проверяющего



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.