

АНОТАЦІЯ

У кваліфікаційній роботі із застосуванням технології CRISPR/Cas9 створено клітинні сублінії карциноми молочної залози MCF-7 з модифікованою експресією ізоформ естрогенового рецептора альфа (ER α). Метою роботи було отримання та характеристика субліній MCF-7 з різною експресією ізоформ ER α для з'ясування ролі окремих ізоформ у регуляції ER α -залежного сигналіngu, епітеліально-мезенхімального переходу та функціональних властивостей клітин.

Об'єктом дослідження були CRISPR/Cas9-модифіковані сублінії MCF-7 з повним (MCF-7/9) та частковим (MCF-7/12) блокуванням ізоформи ER α -66. Для характеристики субліній використовували вестерн-блот аналіз, кількісну ПЛР у реальному часі, МТТ-тест, ресазуриновий тест проліферативної активності та тест ранової поверхні для оцінки міграційної здатності клітин.

Встановлено, що повне блокування ER α -66 супроводжується компенсаторною надекспресією ізоформи ER α -46 та значним зниженням експресії S6K1 на рівні мРНК і білка, що підтверджує роль ER α як транскрипційного фактора для S6K1. Показано, що блокування ER α -66 не призводить до ініціації EMT, що свідчить про можливу участь інших ізоформ ER α у регуляції цього процесу. Виявлено зміну динаміки фосфорилування компонентів шляху mTOR/S6K1 за умов метаболічного стресу, зниження метаболічної активності та підвищення стресостійкості клітин з повним блокуванням ER α -66. Обидві сублінії демонстрували зниження швидкості міграції, та тенденцію до уповільнення проліферації.

Кваліфікаційна робота викладена на 59 сторінках, ілюстрована 13 рисунками та містить 2 таблиці. Список використаних джерел включає 51 найменування.

Ключові слова: естрогеновий рецептор альфа, CRISPR/Cas9, MCF-7, епітеліально-мезенхімальний перехід, S6K1, рак молочної залози.