

АНОТАЦІЯ

У даній роботі було індуковано експресію кардіальних генів, що визначають диференціювання соматичних клітин у кардіоміоцитенному напрямку (*Mef2c, Gata4, Tbx5, MyoD1, Hand2*) в ембріональних фібробластах шкура за допомогою системи CRISPRa. С початку за допомогою біоінформатичних методів були відібрані послідовності cРНК, що є комплементарними до різних промоторних ділянок досліджуваних кардіальних генів. З використанням методів молекулярного клонування, відібрані послідовності cРНК клонували у плазмідний вектор rhU6-gRNA та напращували у клітинах *E. coli*. Так само було напращовано плазмідний вектор SP-dCas9-VPR. В подальшому здійснили трансфекцію ембріональних фібробластів шкура отриманими конструкціями, а саме плазмідним вектором rhU6-gRNA (містить вставку певної cРНК) разом із вектором SP-dCas9-VPR (кодує білок dCas9, злитий із активаторами транскрипції). На другу добу трансфекції, з клітин виділили тотальну РНК, синтезували кДНК з використанням oligo-dT праймерів та провели ПЛР у реальному часі із використанням праймерів, що є специфічними до генів інтересу. Так були відібрані найефективніші послідовності cРНК до кожного із 5 генів. Далі здійснили трансфекцію клітин ефективними послідовностями cРНК, активувавши таким чином 5 кардіальних генів інтересу одночасно. Клітини культивували протягом різних проміжків часу (протягом 3, 6, 9 та 23 днів), виділяли тотальну РНК, синтезували кДНК, та знов проводили ПЛР у реальному часі. На заключному етапі роботи була показана експресія в трансфонованих клітинах генів-маркерів кардіоміоцитів, що вказує на становлення ембріональних фібробластів на шлях диференціювання у кардіоміоцитоподібні клітини.

Кваліфікаційна робота викладена на 47 сторінках, містить 8 зображень, 2 таблиці. Список використаних джерел включає 46 робіт.

Ключові слова: система CRISPRa, пряме репротрамування клітин, кардіоміцити, ембріональні фібробласти.