

Семинар 14.06.2024

Промежуточные результаты

Праймеры

Gene Name	<i>ALOXE3</i>	Length	Tm	ΔG (homo)	ΔG (hetero)	
Forward	ACCTCCTCCTCTTCTGGTTGGT	22	62.46	-4.41	-4.64	
Reverse	TTCCGCTCCTGGATGTCCCTTG	22	64.30	-4.64		
Product Length	157 (3 транскрипта)					
Gene Name	<i>SCD</i>	Length	Tm	ΔG (homo)	ΔG (hetero)	
Forward	CACCGTGCCCAACACAAGTTT	21	63.93	-3.61	-6.44	
Reverse	AGCACATCATCAGCAAGCCAGG	22	63.48	-3.14		
Product Length	211 (1 транскрипт)					
Gene Name	<i>GCLM</i>	Length	Tm	ΔG (homo)	ΔG (hetero)	
Forward	CCTGCGGAAGAAGTGCCCGT	20	65.19	-6.68	-5.09	
Reverse	AGCTGTGCAACTCCAAGGACTG	22	63.02	-7.05		
Product Length	210, 276 (2 транскрипта)					
Gene Name	<i>FTL</i>	Length	Tm	ΔG (homo)	ΔG (hetero)	
Forward	TCCGACCGCCTCCGATTTCC	20	64.41	-3.61	-6.68	
Reverse	TGACCAGGCTGTTGACGGCT	20	64.20	-3.61		
Product Length	184 (1 транскрипт)					
Gene Name	<i>CHMP1B</i>	Length	Tm	ΔG (homo)	ΔG (hetero)	
Forward	ACGACGACGCTCAACACTCC	20	64.54	-3.61	-3.61	
Reverse	CAGTTCATCCTGCTCCGCCG	20	63.51	-3.61		
Product Length	150 (1 транскрипт)					
Gene Name	<i>FTH1</i>	Length	Tm	ΔG (homo)	ΔG (hetero)	Примечание
Forward	CGCCAGAACTACCACCAGGAC	21	62.69	-3.61	-4.64	Ссылка на Primer-BLAST
Reverse	CCCGCTCTCCAGTCATCAC	20	62.30	-3.61		
Product Length	264					

Проверка эффективности существующих праймеров

GPX4: $1,87 \pm 0,02$

HMOX1: $1,87 \pm 0,035$

AIFM2: $1,94 \pm 0,035$

SAT: $1,9 \pm 0,02$

FTH1: $1,98 \pm 0,03$

SLC7A11: $1,95 \pm 0,05$

Подбор гена housekeeping

Проверено (IGFBP6):

ACTB

GUSB

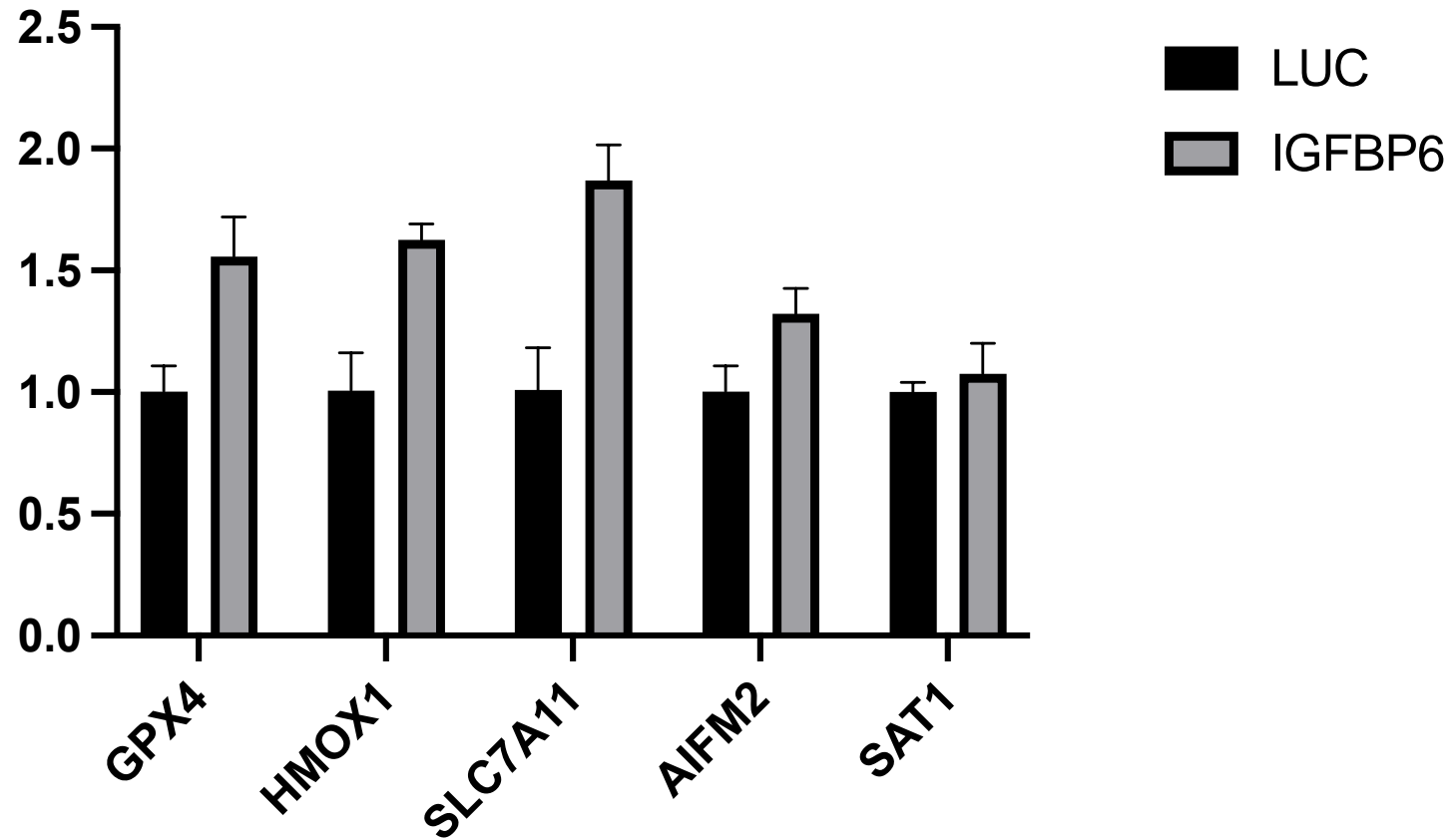
HUWE1

GAPDH

EEF1A1 (м. б.)

Пробный ПЦР

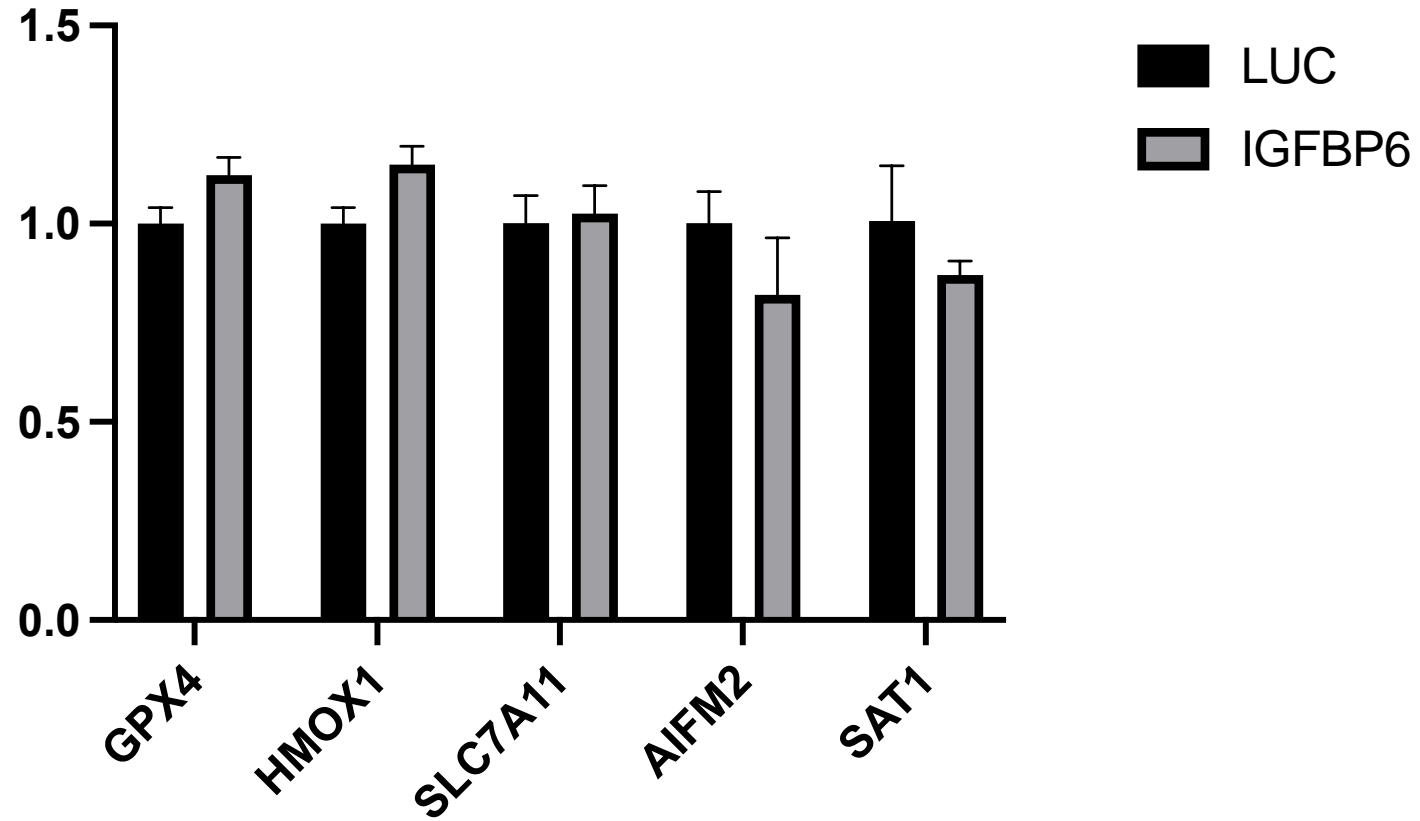
LUC vs IGFBP6 ctrl



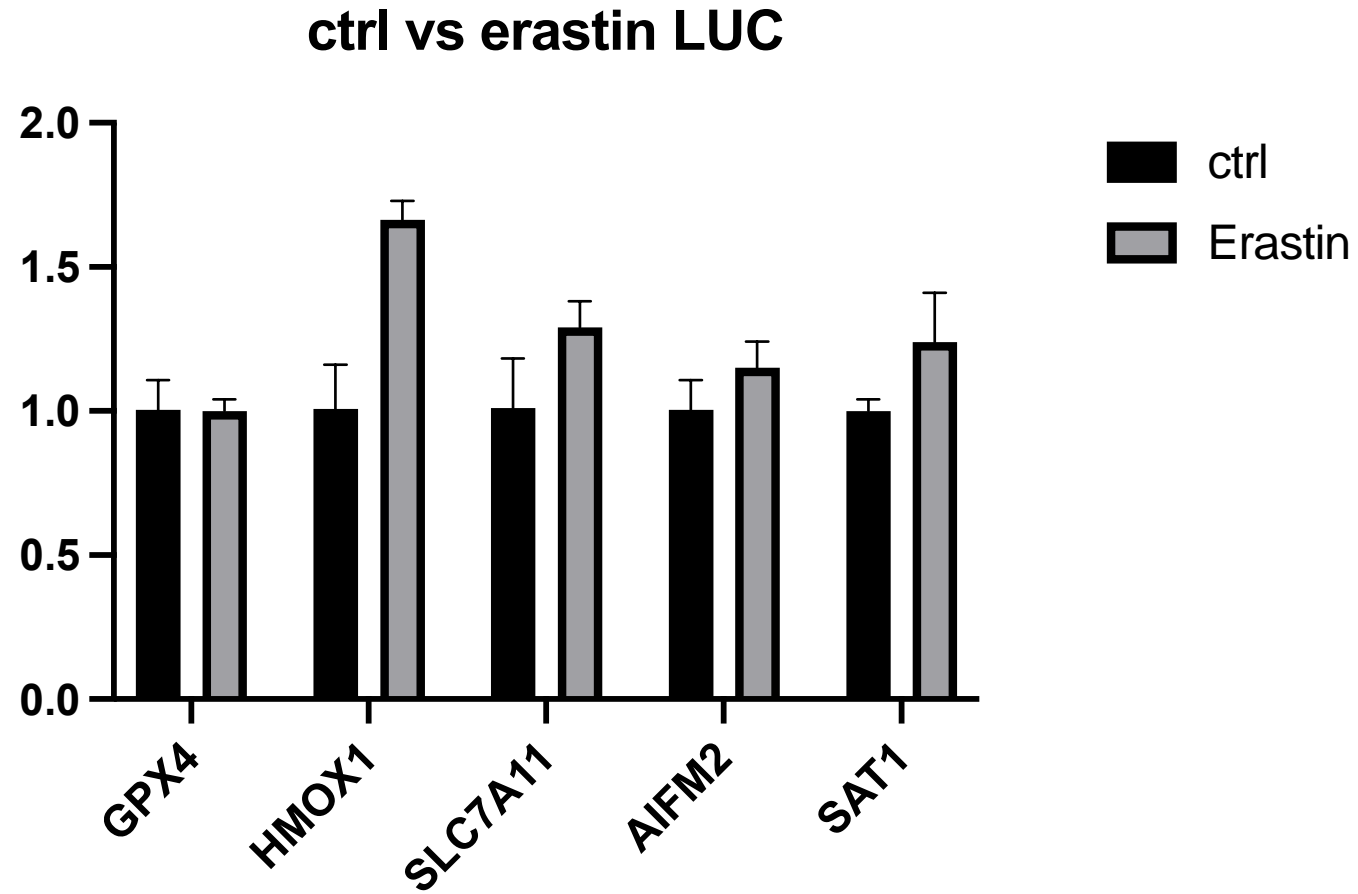
Не совсем похоже на транскриптомные данные

Пробный ПЦР (Эрастин, 6 часов)

LUC vs IGFBP6 erastin

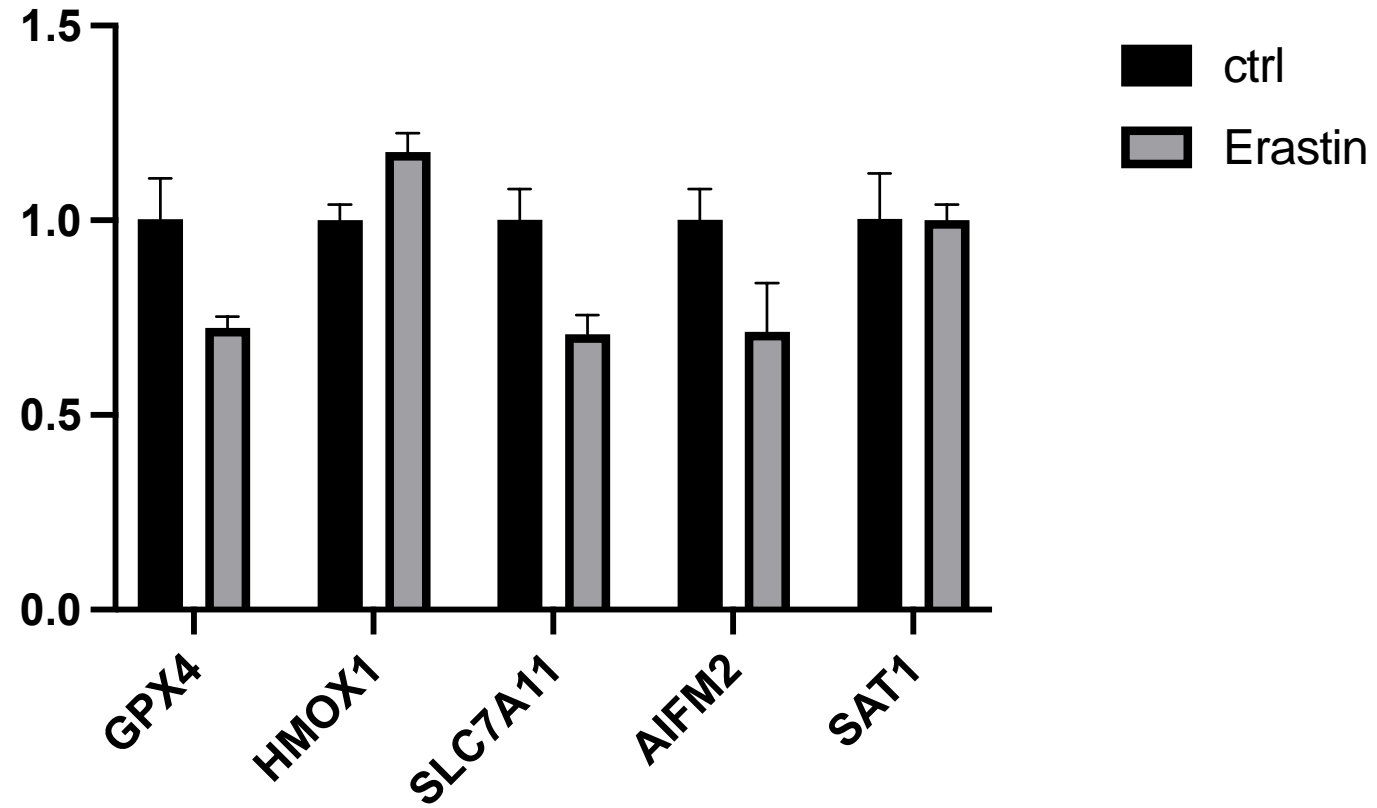


Пробный ПЦР (Эрастин, 6 часов)



Пробный ПЦР (Эрастин, 6 часов)

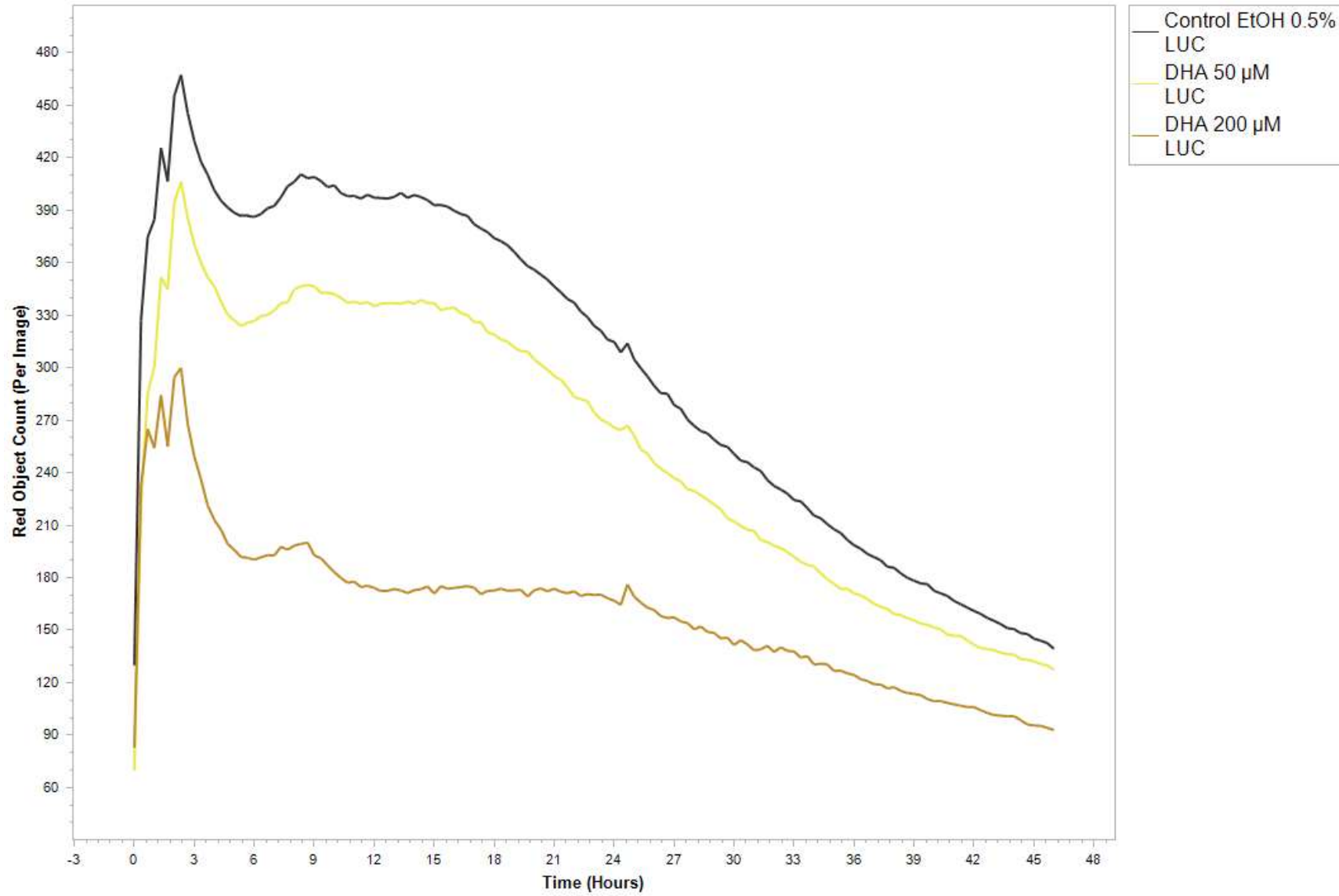
ctrl vs erastin IGFBP6



IncuCyte (PI)

Проблема – наибольшая смерть в контрольной точке (спирт 1%)

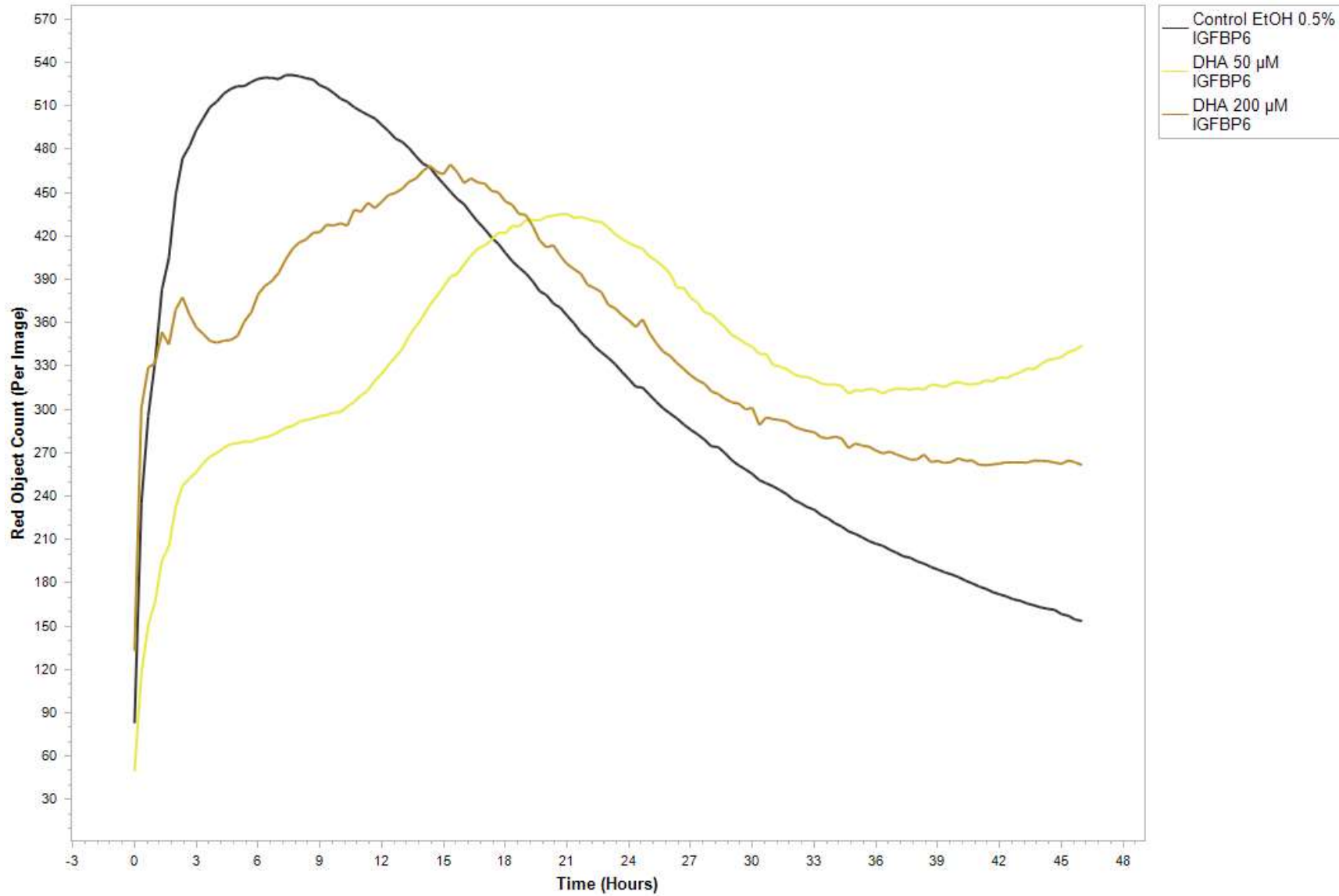
DHA Propidium Test



IncuCyte (PI)

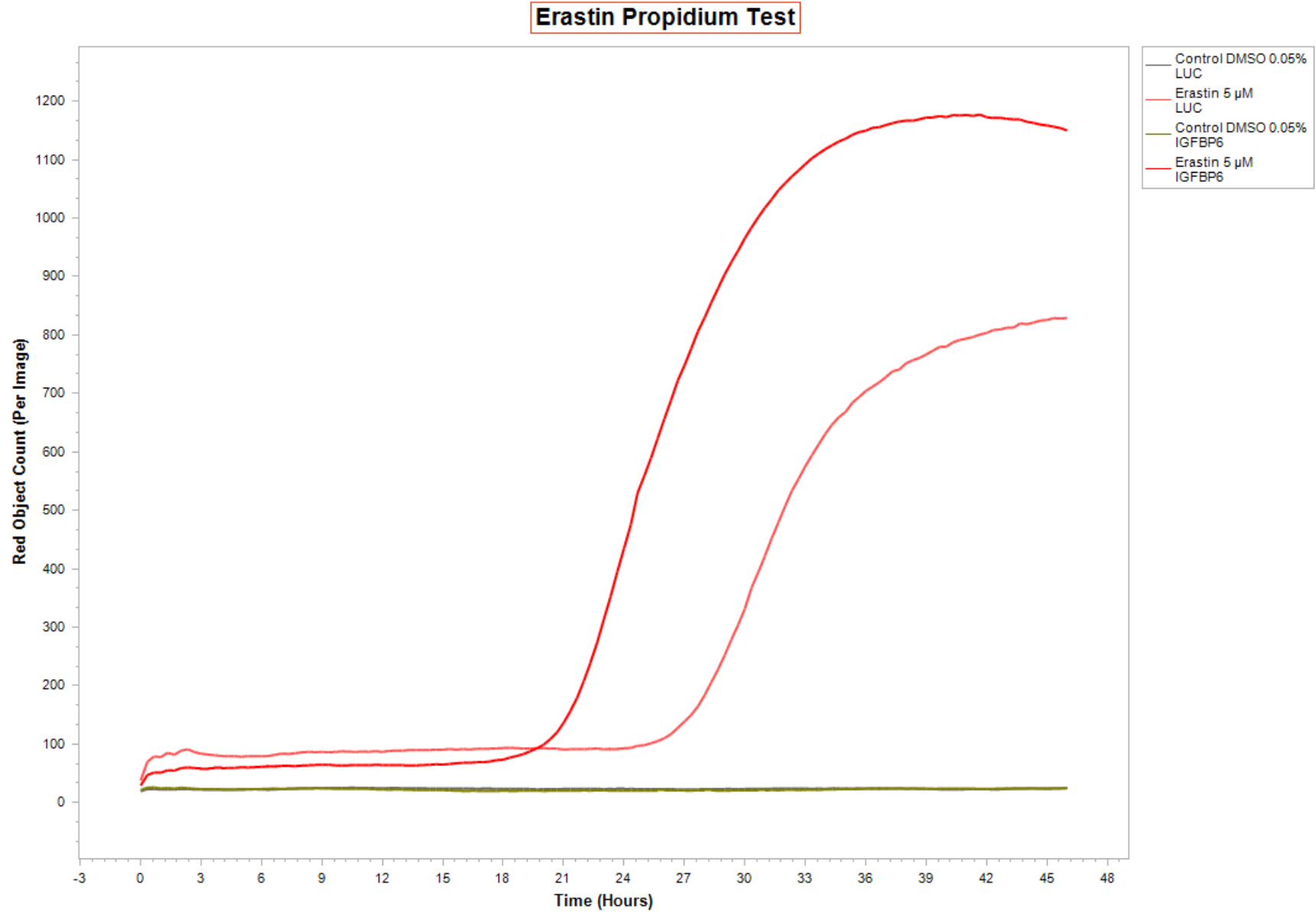
Проблема – наибольшая смерть в контрольной точке (спирт 1%)

DHA Propidium Test



IncuCyte (PI)

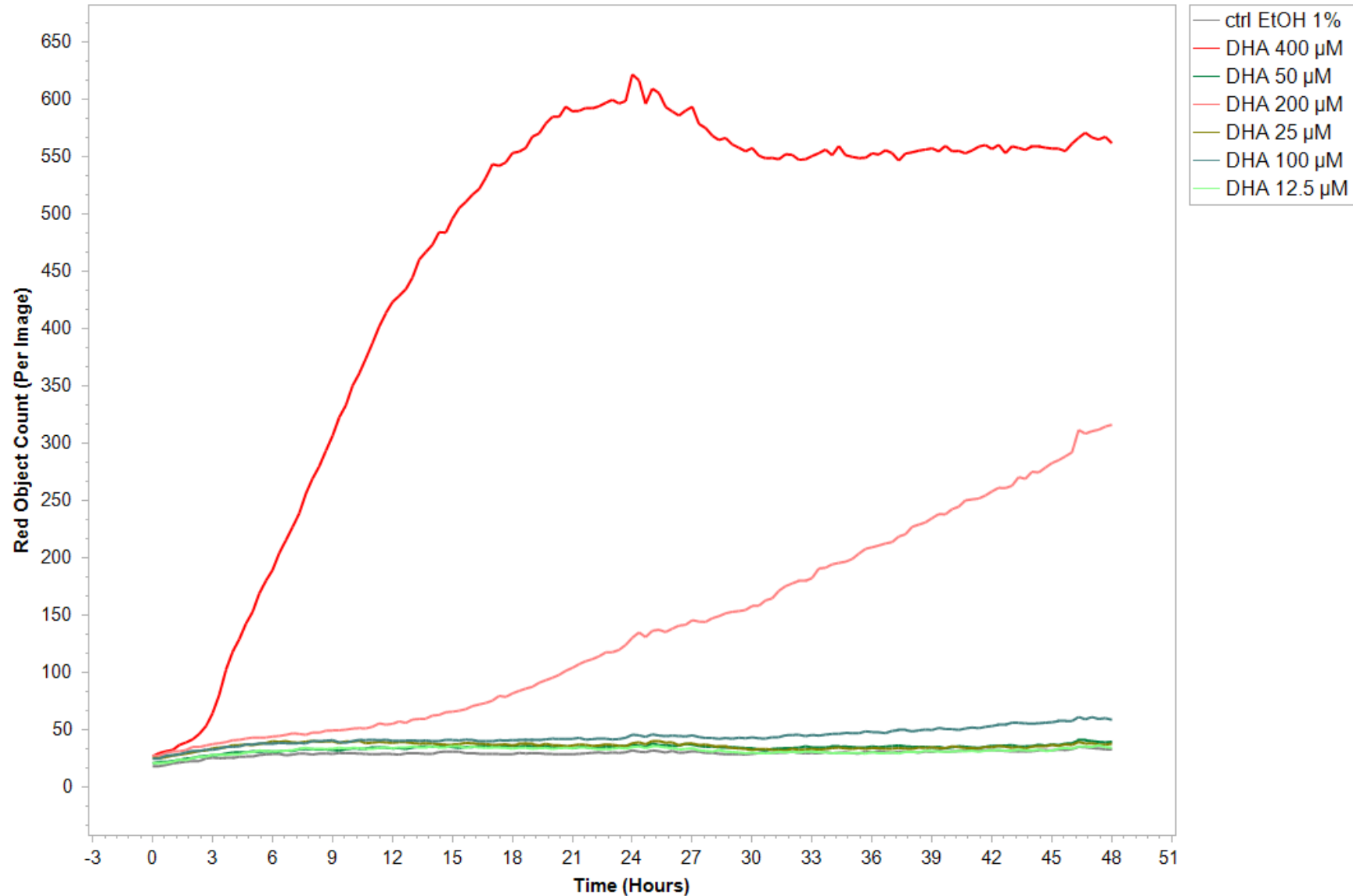
С эрастином - ОК



IncuCyte (PI)

Решение – смена среды, смена спирта

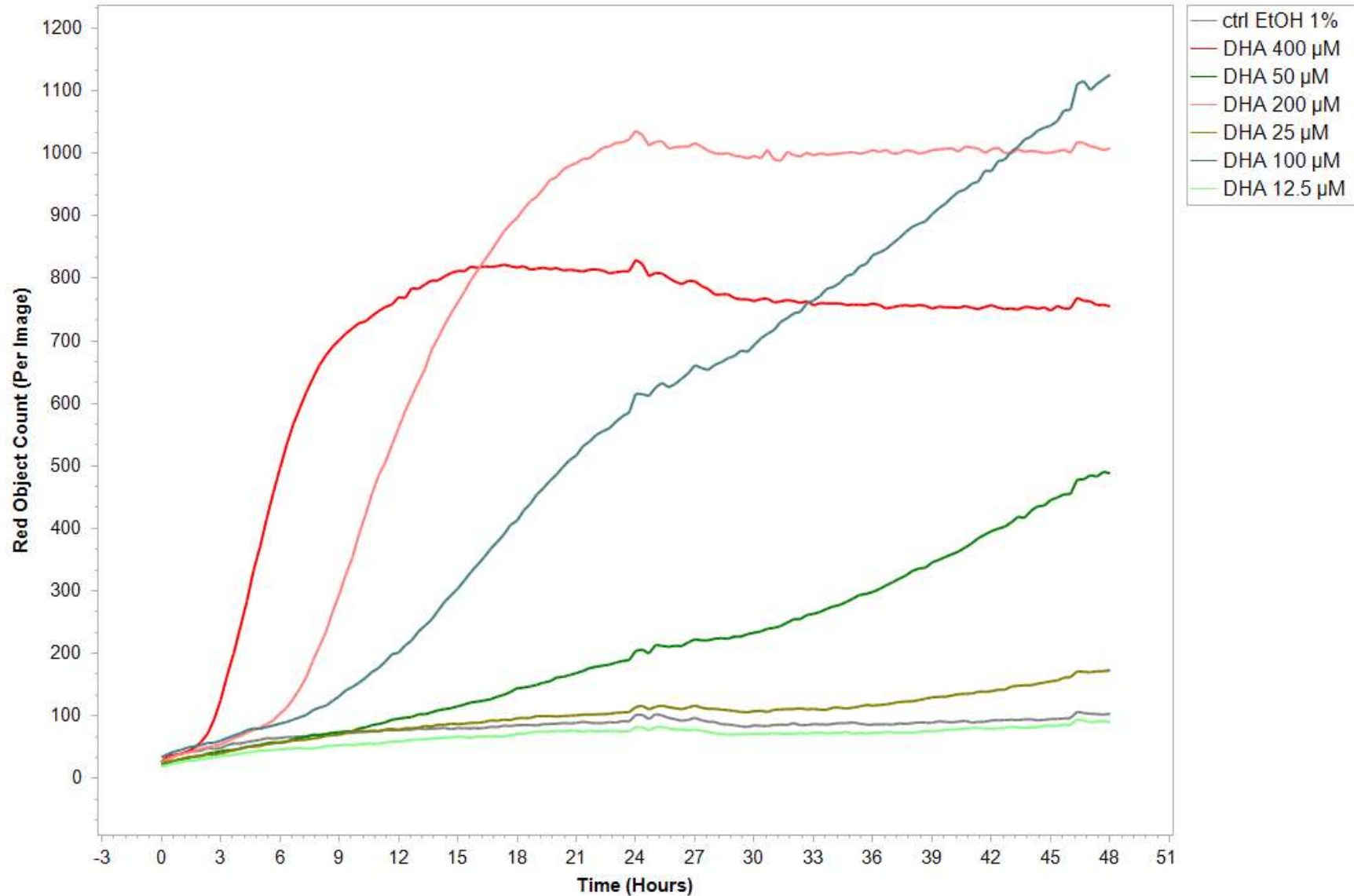
MDA-MB-231 sh-LUC



IncuCyte (PI)

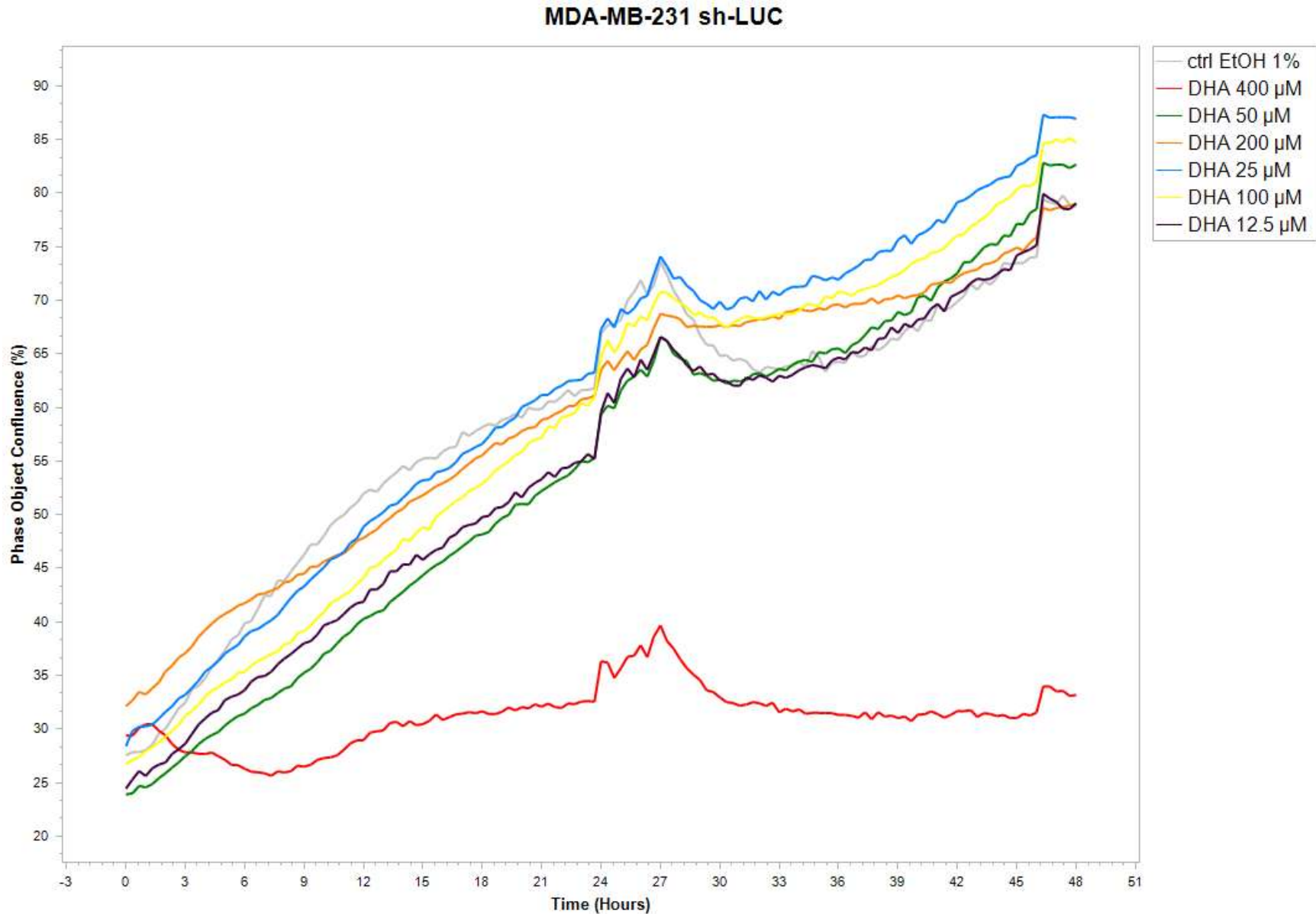
Решение – смена среды, смена спирта

MDA-MB-231 sh-IGFBP6



IncuCyte (Конфлюентность)

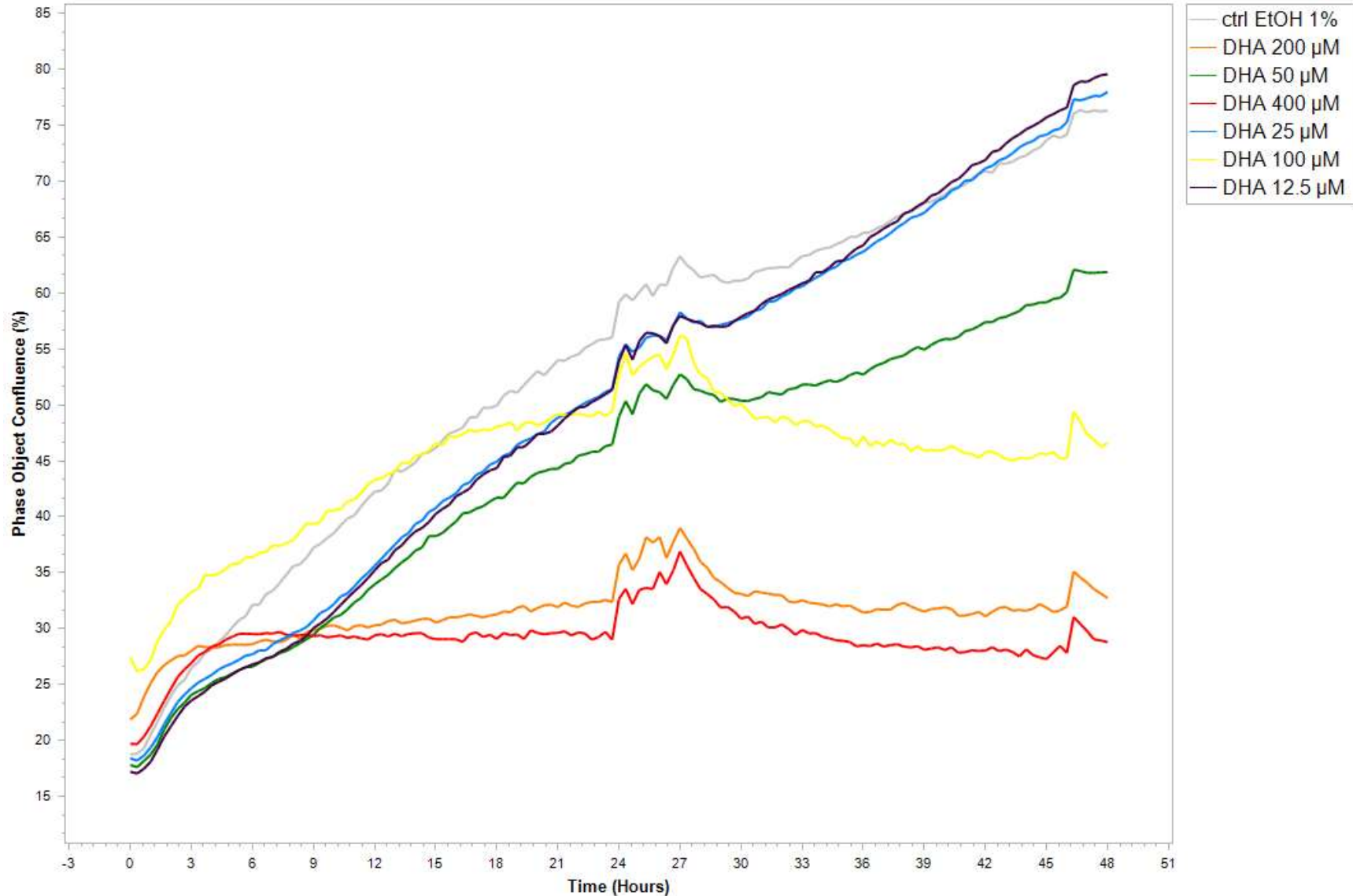
5000 клеток/лунка



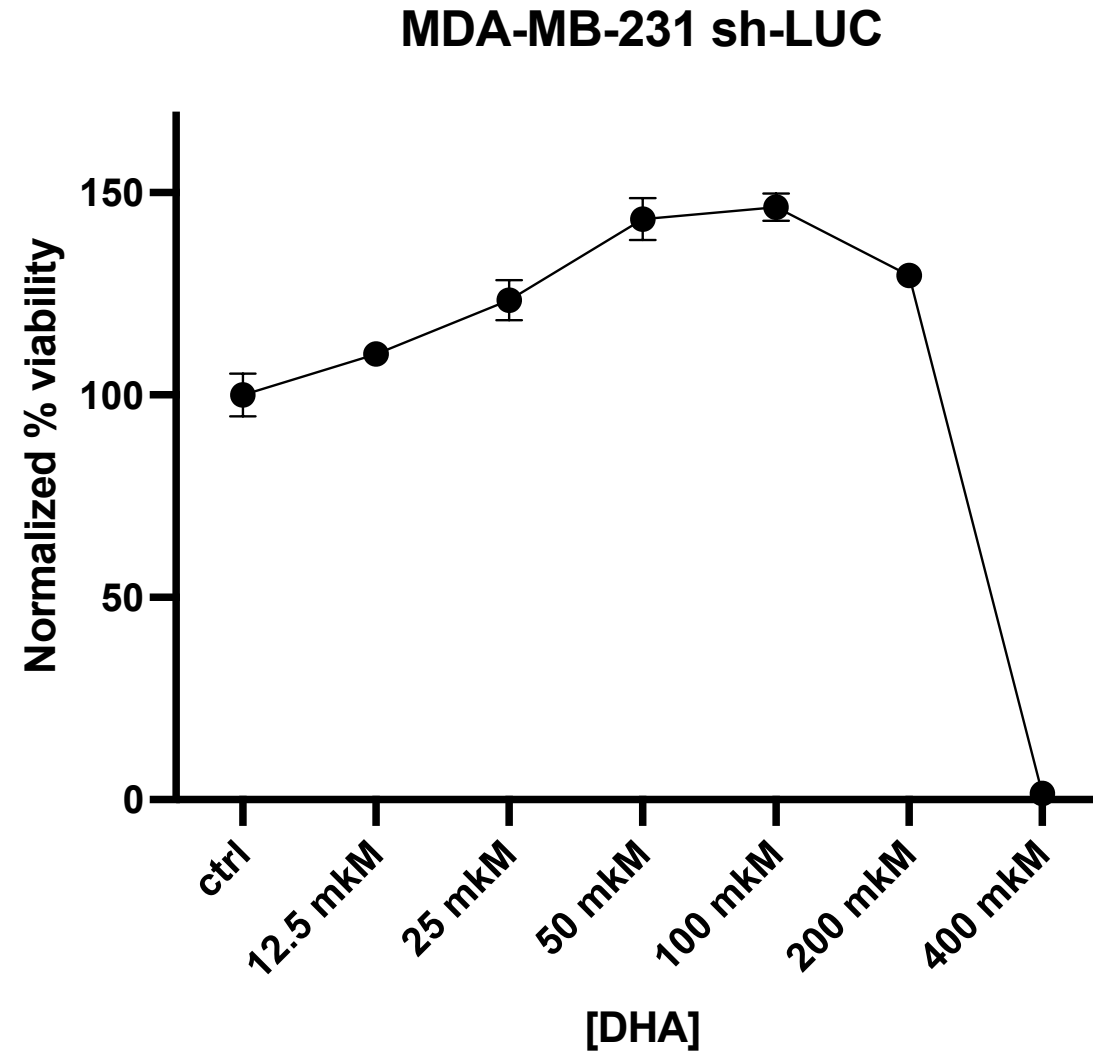
IncuCyte (Конфлюентность)

5000 клеток/лунка

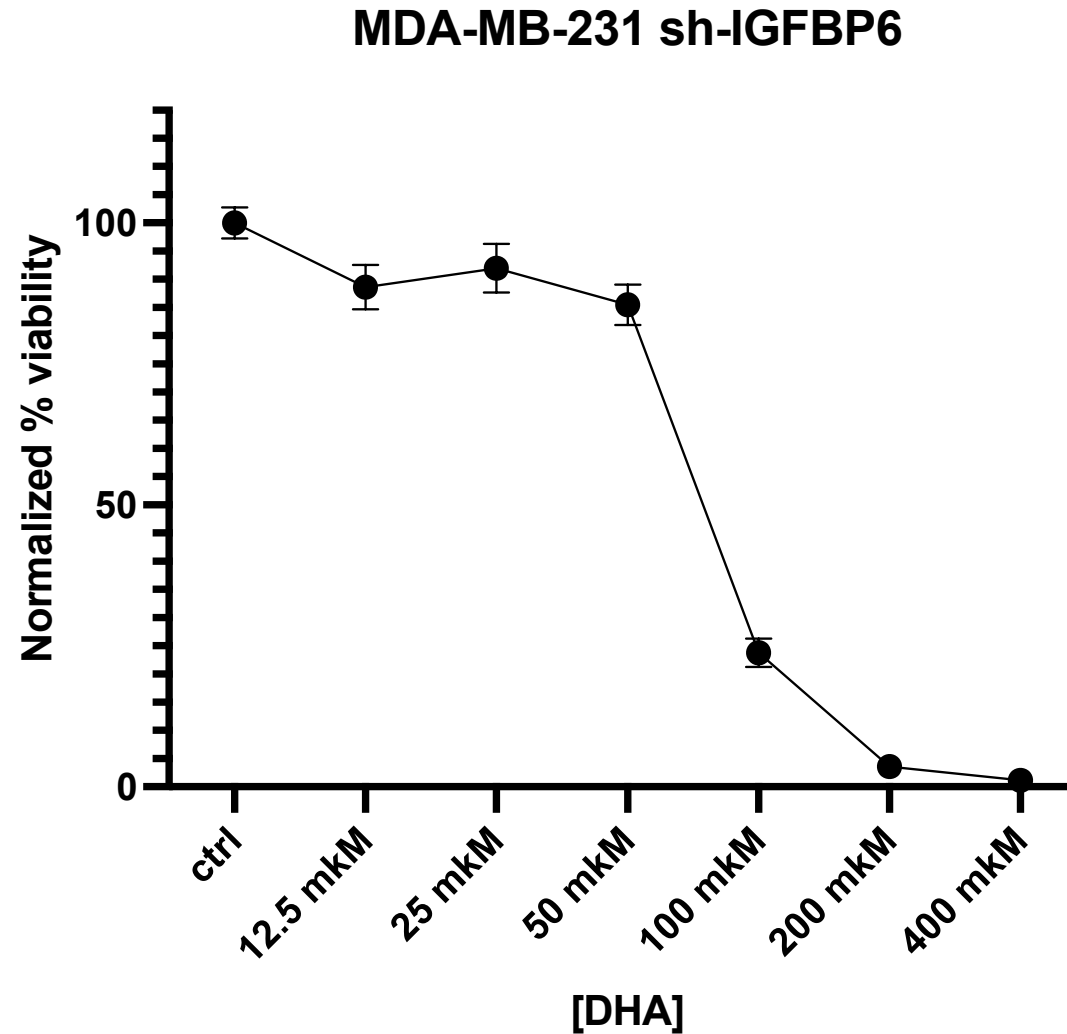
MDA-MB-231 sh-IGFBP6



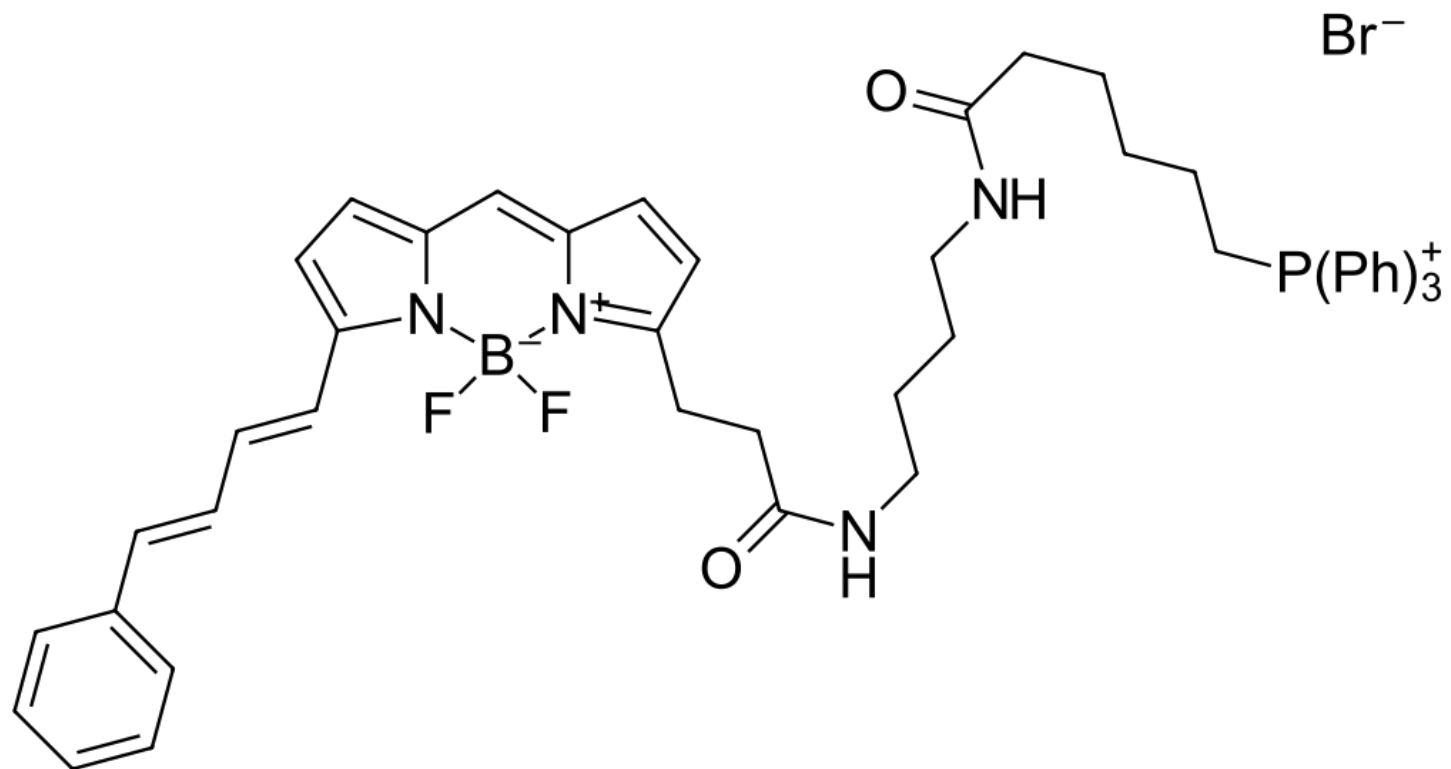
MTT (тот же планшет, что и в предыдущем эксп-те)



MTT (тот же планшет, что и в предыдущем эксп-те)

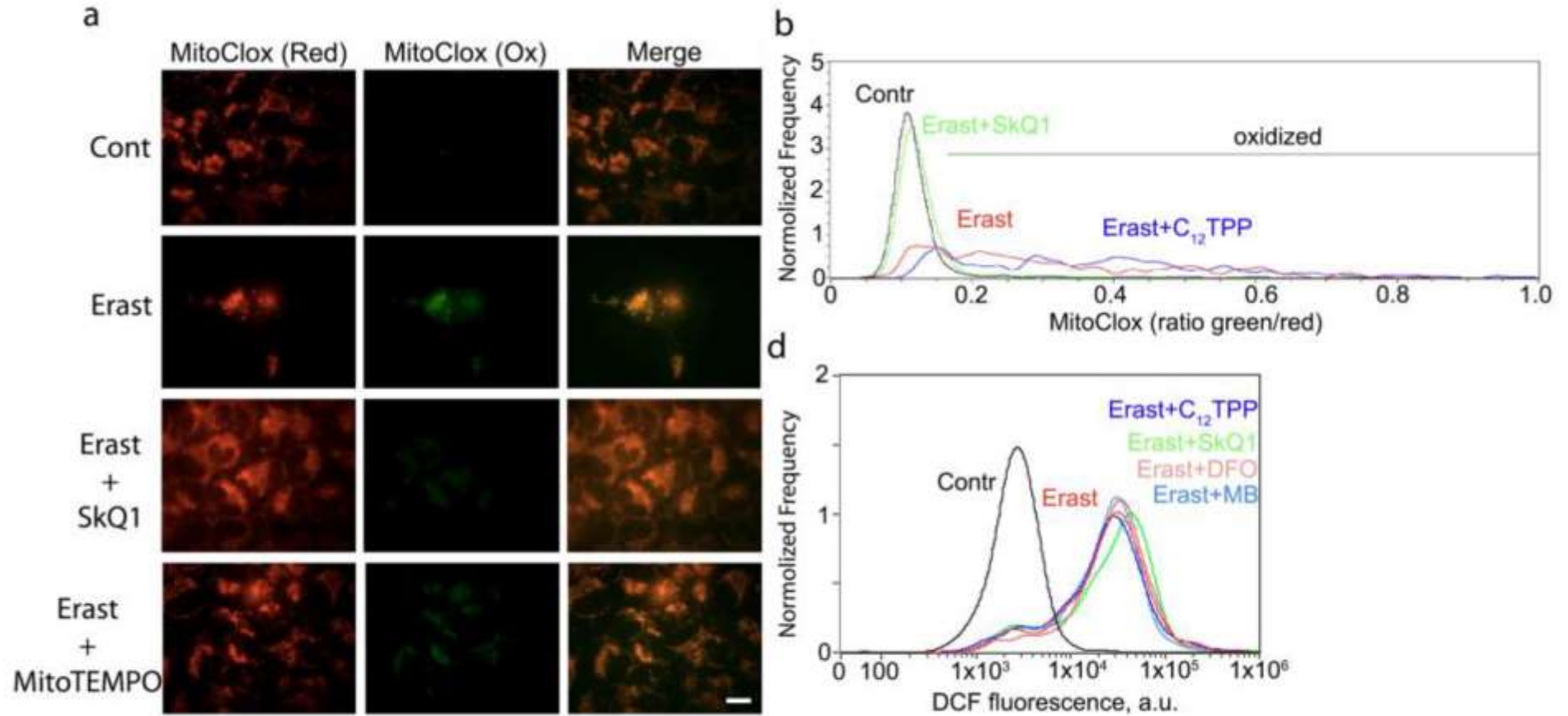


MitoClox



MitoClox

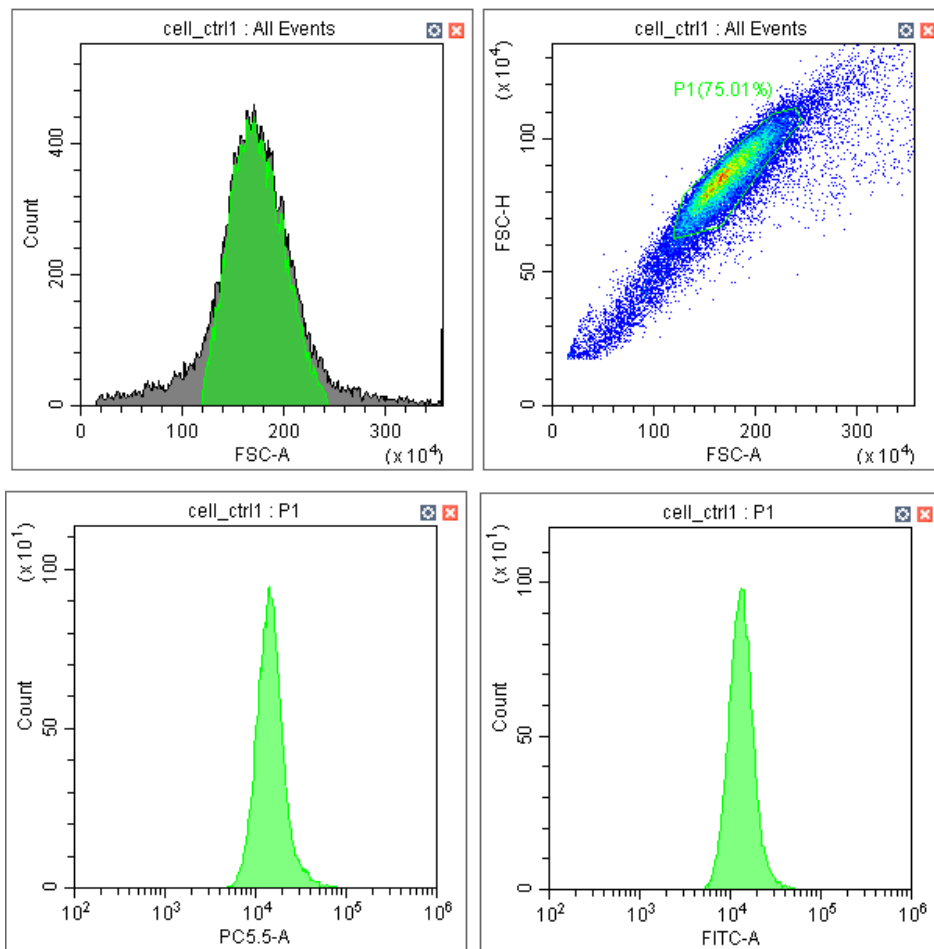
<https://doi.org/10.3390/cells12040611>



Flow cytometry analyses were performed with excitation at 488 nm and the detection channels 505–560 and 595–642.

MitoClox

MDA-MB-231 / ctrl (1% EtOH) / DHA 100 mkM / DHA 400 mkM (3 часа)



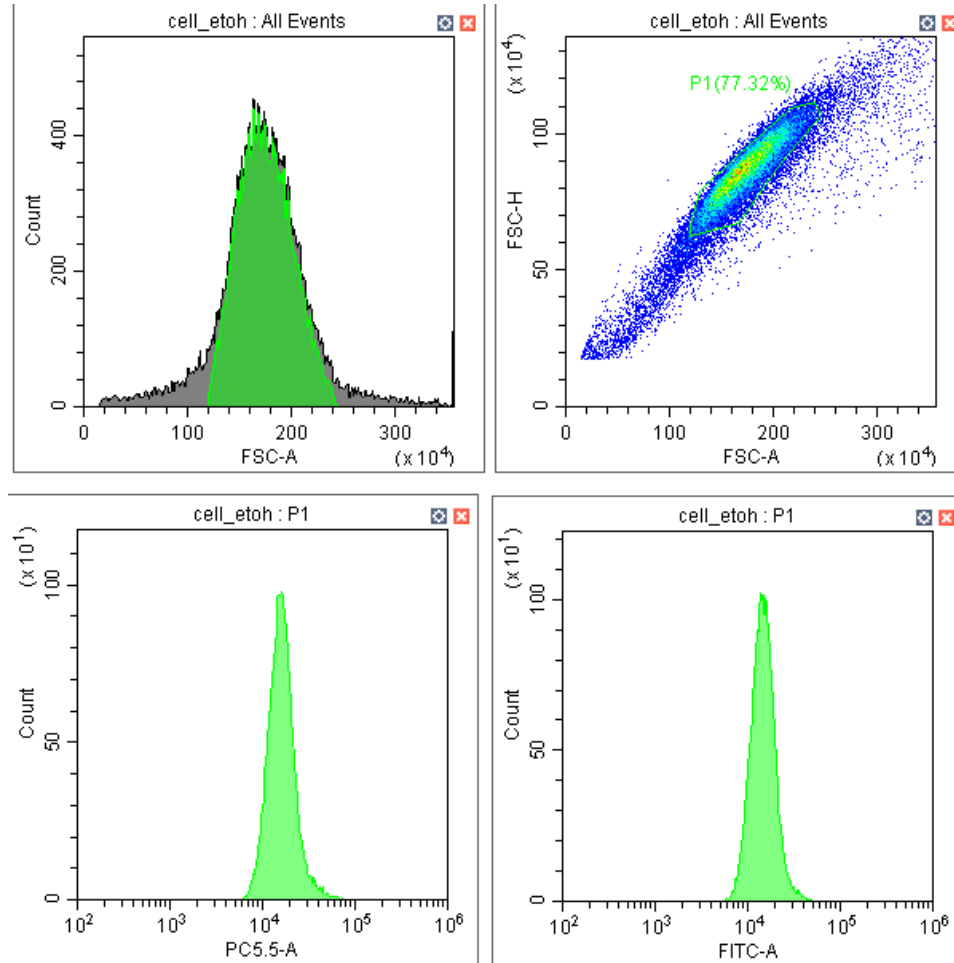
Green/red = 0.91

Tube Name: cell_ctrl1
Sample ID:

Population	Events	% Total	% Parent	Median FITC-A	SD FITC-A	SD PE-A	Median PC5.5-A
● All Events	26663	100.00%	100.00%	13373.2	12062.7	14522.0	14607.8
● P1	20000	75.01%	75.01%	12870.3	5514.5	7206.6	14097.6

MitoClox

MDA-MB-231 / ctrl (1% EtOH) / DHA 100 mkM / DHA 400 mkM (3 часа)



Green/red = 0.93

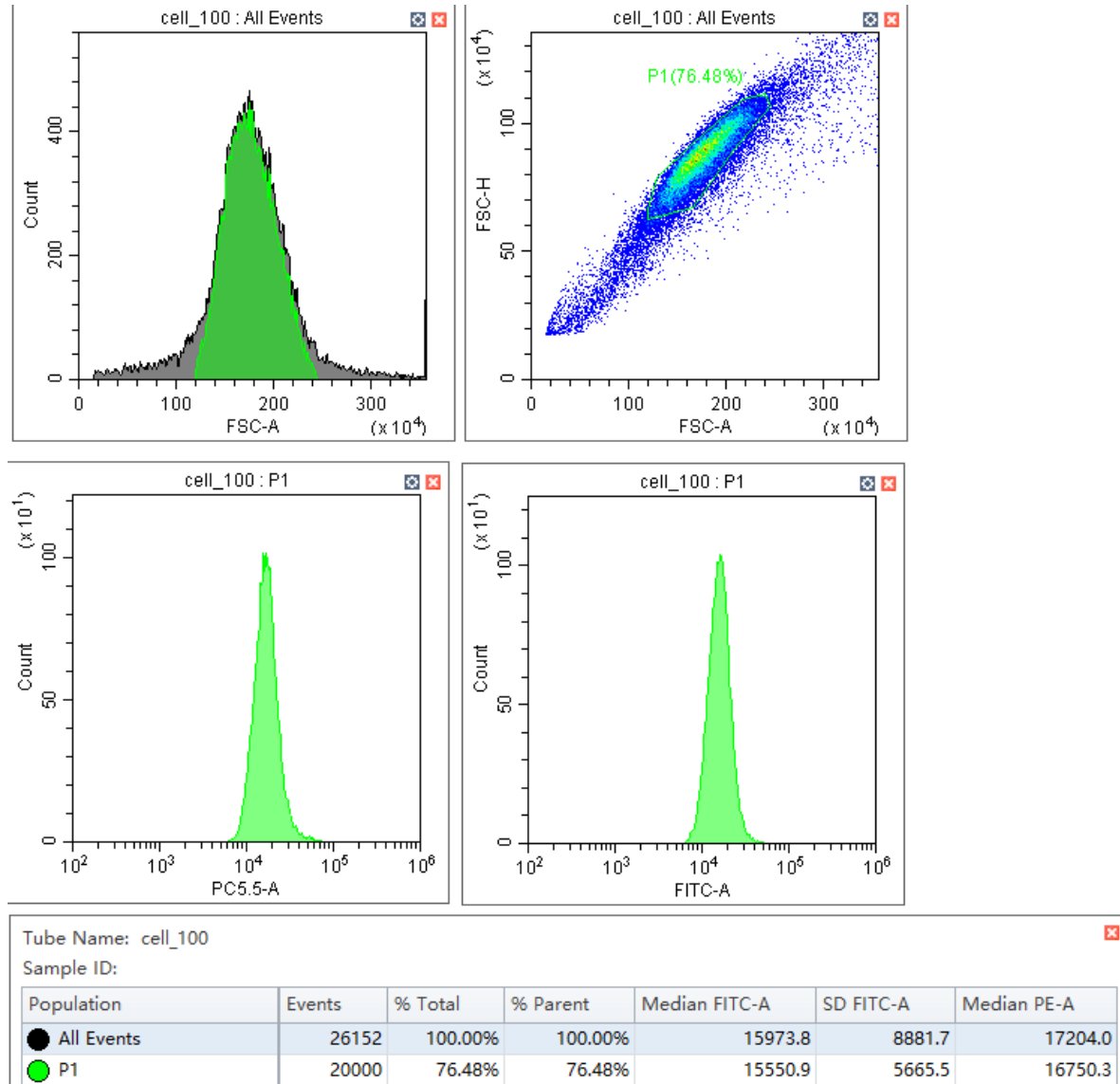
Tube Name: cell_etch

Sample ID:

Population	Events	% Total	% Parent	Median FITC-A	SD FITC-A	SD PE-A	Median PE-A
All Events	25868	100.00%	100.00%	14630.9	8034.8	9605.3	15652.8
P1	20000	77.32%	77.32%	14244.0	5323.8	6678.3	15288.2

MitoClox

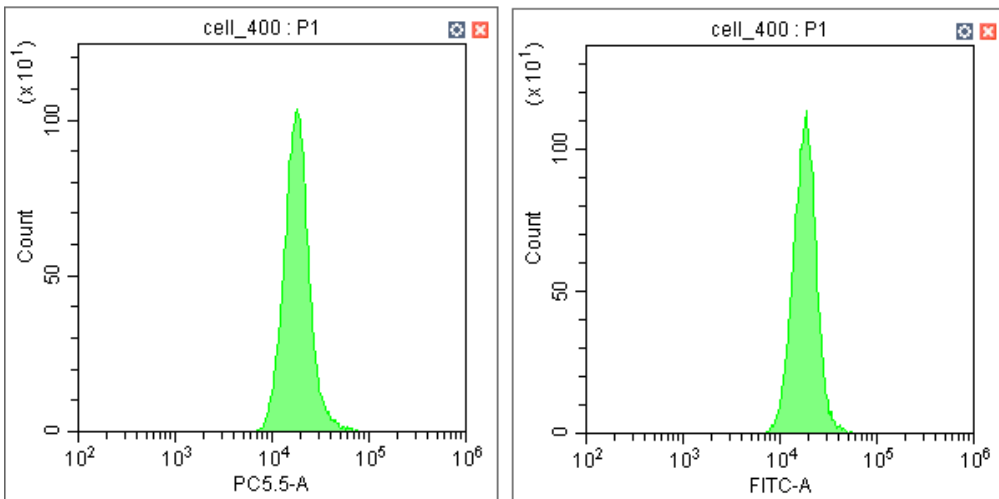
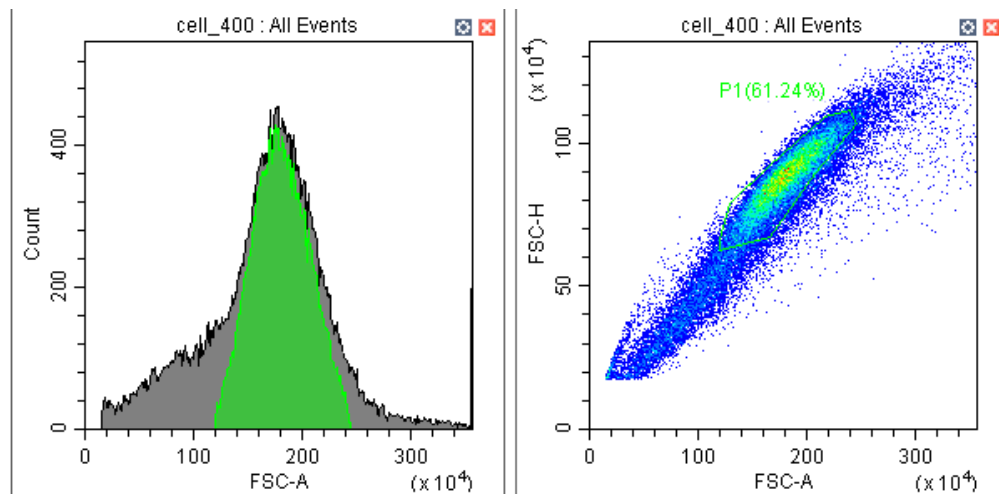
MDA-MB-231 / ctrl (1% EtOH) / DHA 100 mkM / DHA 400 mkM (3 часа)



Green/red = 0.93

MitoClox

MDA-MB-231 / ctrl (1% EtOH) / DHA 100 mkM / DHA 400 mkM (3 часа)



Green/red = 0.90

Tube Name: cell_400

Sample ID:

Population	Events	% Total	% Parent	Median FITC-A	SD FITC-A	SD PE-A	Median PE-A
● All Events	32658	100.00%	100.00%	17992.6	13137.2	15747.3	19860.4
● P1	20000	61.24%	61.24%	17734.2	6075.8	7690.8	19630.5