

НОВІ ПІДХОДИ ДО ОЦІНКИ ВІДДАЛЕНИХ НАСЛІДКІВ РАДІАЦІЙНОГО ВПЛИВУ З ВИКОРИСТАННЯМ ПОЄДНАНОГО ТЕСТУВАННЯ ХРОМОСОМНИХ АБЕРАЦІЙ І МЕТОДУ ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ ОКРЕМИХ КЛІТИН (COMET ASSAY)

Курінний Д.А.¹, Неумержицька Л.В.¹, Романенко М.Г.¹, Демченко О.М.¹, Рушковський С.Р.²

*1*ДУ«Національний науковий центр радіаційної медицини, гематології та онкології Національної академії медичних наук України», Київ
*2*Навчально-науковий центр "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ

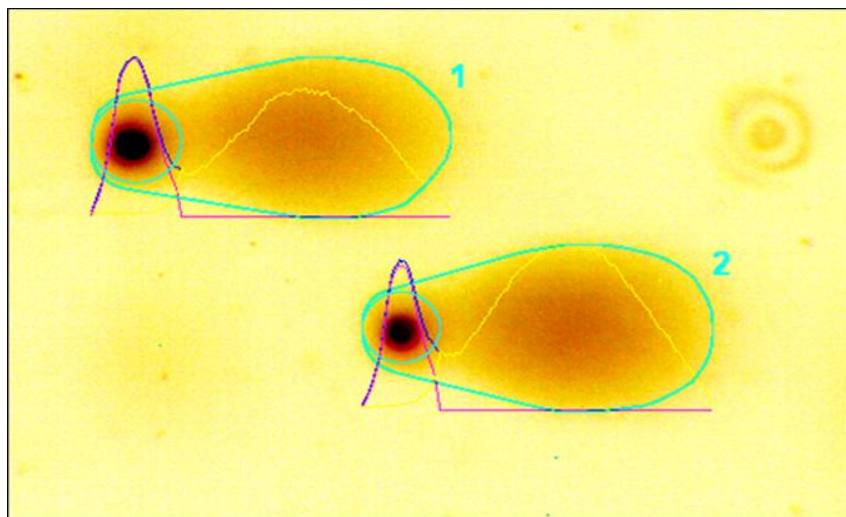
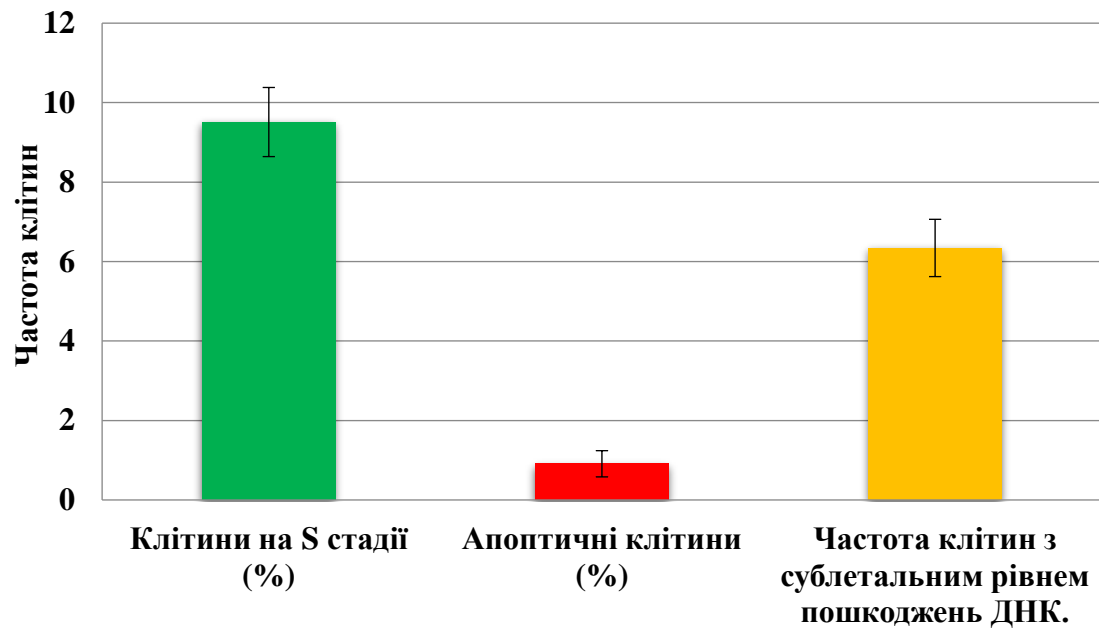
E-mail: kurinnyi.d@gmail.com

Мета роботи: встановлення фонових частот пошкоджень генома соматичних клітин людини за цитогенетичними та молекулярно-генетичними показниками.



Об'єкт дослідження: культура лімфоцитів периферичної крові умовно здорових осіб, які на момент експерименту не мали контакту з іонізуючим випромінюванням.

З використанням комбінації методів кометного електрофорезу і цитогенетичного аналізу було проведено комплексні дослідження зі встановленням наступних параметрів: рівня метилювання ДНК, інтенсивності апоптозу, кількістю клітин із високим рівнем одно- та дволанцюгових розривів ДНК і частотою ХА в першому мітотичному циклі без мутагенного радіаційного навантаження.



Хвостова частини комети після обробки рестриктазою HpaII

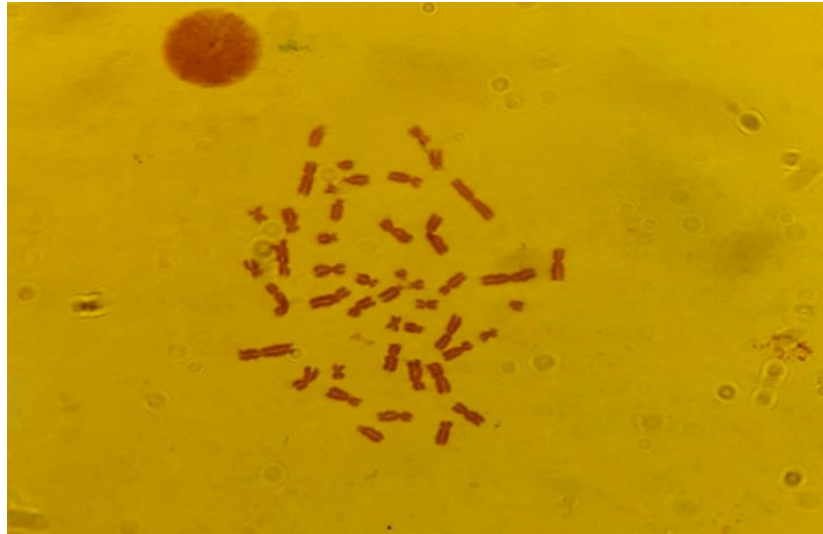
З використанням методу кометного електрофорезу («Comet assay») було визначено фонову частоту клітин, що зупинилися в поділі на стадії S — синтезу ДНК, яка дорівнювала $9,51 \pm 0,87$ на 100 клітин із міжіндивідуальними коливаннями від $7,11 \pm 1,21$ до $13,56 \pm 1,07$. Крім того, було виявлено, що середньогрупова частота клітин із сублетальним рівнем одно- та дволанцюгових розривів ДНК складає $(6,34 \pm 0,72)\%$, із міжіндивідуальними коливаннями від $(3,34 \pm 0,67)$ до $(9,27 \pm 0,67)\%$.

Визначено, що частота клітин у стані апоптозу коливається в межах від $0,67 \pm 0,67$ до $3,11 \pm 1,09$ на 100 клітин і складає в середньому $0,91 \pm 0,33$ на 100 клітин, що відповідає спонтанному рівню.

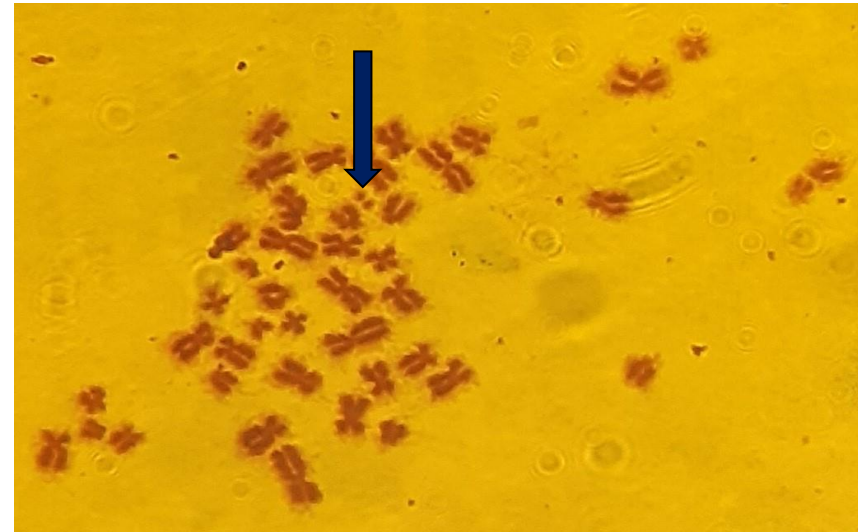
Визначення рівня метилювання ДНК

Після дії ферменту рестрикції HpaII (5'–CCGG–3') відмічається очікуване зростання показника «Tail Moment» до $43,16 \pm 2,75$ в середньому по групі з індивідуальними коливаннями від $34,33 \pm 1,82$ до $50,46 \pm 3,67$.

Цитогенетичний аналіз



Метафазна пластинка (норм.)



Метафазна пластинка з парним фрагментом

Середньогрупова частота аберантних метафаз у ЛПК умовно здорових волонтерів складає $(1,64 \pm 0,34)\%$ з міжіндивідуальними коливаннями від 0,67 до 2,66 %, що відповідає спонтанному рівню хромосомного мутагенезу та дає підставу визнати цю групу придатною для подальших модельних експериментів із радіаційним навантаженням в умовах *in vitro*.

Висновки: Результати першого етапу експерименту зі встановленням фонових показників геномних порушень у ЛПК із використанням методів класичного цитогенетичного аналізу хромосомних аберацій та модифікованого «Comet assay» підтвердили відповідність критеріям придатності сформованої групи обстежених осіб для подальшого дослідження радіаційно-індукованого ефекту на цитогенетичному, геномному та епігеномному рівнях.