

УДК 577

Д.В.Фирсанов (4 курс, каф. БФ), Б.А.Гаврилов, к.б.н., н.с. (ИЦ РАН)

ДИНАМИКА ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ГИСТОНА H2AX КАК ОТВЕТ КЛЕТОК НА ИОНИЗИРУЮЩЕЕ ОБЛУЧЕНИЕ

Двойные разрывы ДНК (ДР), образующиеся при действии ионизирующей радиации (ИР) и некоторых химических агентов, относятся к наиболее важным токсичным повреждениям клеток высших эукариот, ведущим к их гибели или образованию хромосомных перестроек (ХП) и рака. Для гибели клетки достаточно одного нерепарированного ДР. В 1998-99 гг. было установлено, что самой ранней реакцией клетки на образование ДР является фосфорилирование по 139-серину минорного корового гистона H2AX в мегабазных доменах хроматина около каждого разрыва, что многократно амплифицирует исходный сигнал и позволяет уверенно выявлять в клетках всего несколько ДР на геном [1,2]. Эффективное образование гамма-H2AX (γ H2AX) является весьма важным для поддержания стабильности генома, поскольку подавляет неправильные воссоединения концов ДНК, ведущие к ХП.

Целью данной работы было изучение процесса репарации ДР ДНК в клетках после воздействия радиации.

В процессе работы мы решили следующие задачи:

- установили дозовую зависимость между дозой облучения и количеством фокусов γ H2AX;
- исследовали динамику элиминации фокусов γ H2AX на модельном объекте – эмбриональных фибробластах человека (ЭФЧ).

С помощью методики иммуноблоттинга была получена линейная зависимость между дозой облучения и количеством γ H2AX в диапазоне от 1 до 10 Гр. Проведя на конфокальном микроскопе подсчет количества фокусов γ H2AX в клетках, облученных в дозе 1 Гр, мы выявили изменение количества фокусов через временные интервалы 15', 30', 1 ч, 2 ч и 4 ч. Полученный график отражает динамику элиминации фокусов γ H2AX. Было обнаружено, что максимум фокусов наблюдается после 15 минут после облучения, а через 4 часа их количество существенно падает, что может свидетельствовать о том, что большая часть разрывов восстановилась за изученный временной отрезок. При этом даже через 4 часа в клетках после облучения число фокусов было выше, чем в необлученных клетках.

Нам показалось интересным изучить популяционные вариации в эффективности фосфорилирования гистона H2AX в лимфоцитах, взятых у различных индивидуумов, в ответ на ионизирующее облучение.

Решение этих вопросов необходимо для понимания механизма, благодаря которому γ H2AX препятствует образованию ХП, а также для определения минимальных относительно безопасных для человека мощностей и доз ИР, что весьма существенно для теории и практики радиобиологии.

По предварительным данным можно сказать, что поскольку количество интересующего нас белка различно у разных людей после рентгеновского облучения в одной и той же дозе, исследованные люди обладают различной радиочувствительностью.

ЛИТЕРАТУРА:

- 1.Rogokou E. P., Pilch D.R., Orr A.H., Ivanova V.S. and Bonner W.M. J.Biol.Chem. (1998).
- 2.Rogokou E.P., Boon C., Redon C., and Bonner W.M. J.Cell Biol. (1999).