

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ДЕЙСТВИЮ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ КЛЕТОК ЛИНИИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА С ИНДУЦИРОВАННЫМ РАДИОРЕЗИСТЕНТНЫМ ФЕНОТИПОМ МЕТОДОМ ДНК-КОМЕТ

И. А. Кулаков¹, Н. А. Верлов¹, Ал. А. Богданов², В. С. Бурдаков¹

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

²ГБУЗ «СПб КНЦСВМП(о) им. Н.П. Напалкова», Санкт-Петербург, Россия

Анализ ДНК-комет является быстрым и чувствительным методом для исследования повреждений генетического материала в клетках [1]. Данный метод основан на электрофоретической миграции отдельных цепей ДНК исследуемых клеток. Метод позволяет оценить количество одно- и двунитевых разрывов, которые приводят к уменьшению сверхспирализации ДНК, вызывая миграцию ее отдельных нитей, а также косвенно оценить активность репарации и профиль эпигенетических модификаций. Радиорезистентность опухолевых клеток является одним из основных препятствий при лучевой терапии злокачественных новообразований. На фоне фракционированного облучения может возникнуть субпопуляция клеток опухоли с меньшей чувствительностью к действию ионизирующего излучения (ИИ), чем исходная популяция клеток.

Цель исследования – методом ДНК-комет оценить биологический эффект облучения в гамма установке РХ-30-Гамма (источник ⁶⁰Со) в диапазоне доз от 0 до 100 Гр на клетки АКЭ дикого типа (АКЭ WT) и с индуцированным радиорезистентным фенотипом (АКЭ RR). Для моделирования радиорезистентности в системе *in vivo* использовали клетки линии аденокарциномы Эрлиха (АКЭ), перевиваемые интраперитонеально аутобредным лабораторным мышам ICR (CD-1). Субпопуляцию клеток АКЭ RR, сохраняющую жизнеспособность после воздействия гамма-излучения в дозе 30 Гр, получали в серии последовательных перевивок и облучений с шагом в 10 Гр. Анализ ДНК-комет проводили для клеток АКЭ WT и АКЭ RR проводили по протоколу P. Olive [1]. Результаты микроскопии ДНК-комет обрабатывали в программном пакете ImageJ с использованием плагина OpenComet (ver 1.3).

В серии облучений была получена субпопуляция клеток АКЭ RR. Анализ ДНК-комет показал, что после облучения дозой в 100 Гр средние длины хвостов комет составили 2066±20 и 906±9 мкм для групп АКЭ WT и АКЭ RR, соответственно. Доля ДНК в хвостах комет составила 68,87±2,11% для клеток АКЭ WT и 65,47±4,05% для клеток АКЭ RR. Моменты хвостов комет и моменты хвостов комет по Оливе клеток АКЭ WT составили 90,08±3,26 и 37,60±2,37 усл. ед., соответственно. Для клеток АКЭ RR – 55,91±4,05 и 24,64±2,32 усл. ед., соответственно. Таким образом, были выявлены достоверные различия характеристик комет клеток двух групп. На основании полученных результатов, возможно сделать заключение о меньшей чувствительности клеток АКЭ RR к действию ИИ, относительно клеток АКЭ WT. Полученные данные хорошо соотносятся с критерием отбора АКЭ RR – сохранением жизнеспособности и способности к перевивке мышам после облучения дозой 30 Гр.

Библиографические ссылки

1. Olive P. L., Banáth J. P. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells // Nat Protoc. 2006. Vol. 1, iss. 1. P. 23–29.