

Анализ скорости репарации двуниевых разрывов ДНК в культуре нормальных и трансформированных клеток после воздействия рентгеновского излучения в присутствии наночастиц CeO_2

Научный руководитель – Попов Антон Леонидович

Каменских Кристина Александровна

Аспирант

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

E-mail: kristina.kamensk@mail.ru

Воздействие радиации на клетку вызывает повреждения различных клеточных структур за счет ее прямого и косвенного действия. Основным повреждающим фактором при действии радиации является образование активных форм кислорода (АФК), формирующиеся в результате радиолитиза воды и которые, за счет своей высокой реакционной способности, являются причиной различных повреждений макромолекул. АФК вызывают одиночные или двуцепочечные разрывы ДНК, агрегацию и денатурацию белков, свивки белковых молекул и нитей ДНК, перекисное окисление липидов и др. В клетке существуют системы антиоксидантной защиты, способные инактивировать широкий спектр АФК. Однако защита клеток от окислительных повреждений не ограничивается ферментативными антиоксидантными системами, а осуществляется также большим количеством систем репарации, работа которых направлена на удаление и восстановление поврежденных молекул, в том числе на репарацию митохондриальной и ядерной ДНК.

Наночастицы диоксида церия (CeO_2) рассматриваются как основа для нового класса радиопротекторов ввиду их уникальных антиоксидантных свойств и способности влиять на сигнальные пути клетки не только через регуляцию редокс-статуса клетки, но и путем прямого воздействия на транскрипционные факторы через их активацию путём фосфорилирования. Высокая степень кислородной нестехиометрии поверхности наночастицы CeO_2 обеспечивает возможность легко вступать в редокс-реакции и инактивировать широкий спектр АФК, имитируя активность эндогенных антиоксидантных ферментов.

В рамках работы нами изучено влияние цитрат-стабилизированных наночастиц CeO_2 (10^{-5} - 10^{-7} М по церию) ультрамалого размера (3-5 нм) на скорость репарации двуниевых разрывов культуре нормальных (мезенхимальные стволовые клетки человека) и трансформированных (аденокарцинома молочной железы MCF-7) клеток после воздействия рентгеновского излучения в дозе 1,5 Гр. Анализ количества двуниевых разрывов проводился через 1 и 4 часа после облучения культур клеток путем окраски антителами к фосфорилированному гистону H2AX и количественному анализу количества окрашенных локусов на фоне окраски ядер с использованием Hoechst 33342. Было показано, что наночастицы CeO_2 во всех исследованных концентрациях способны эффективно снижать количество двуниевых разрывов в МСК человека, в то время как в клетках аденокарциномы молочной железы MCF-7, наоборот, достоверно увеличивает количество двуниевых разрывов как через 1 час, так и после 4 часов после облучения. Таким образом, выявлено селективное действие наночастиц CeO_2 на скорость репарации двуниевых разрывов после облучения. Ввиду того, что наночастицы CeO_2 не способны проникать в ядро клетки, мы предполагаем, что данный механизм активности связан через регуляцию редокс-статуса клетки, однако молекулярные механизмы данного эффекта требуют дополнительного исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-34-90031