

## **Badanie ognisk naprawczych NBS1 podwójnych pęknięć nici DNA w komórkach nowotworowych kostniakomięsaka, traktowanych promieniowaniem rentgenowskim z wykorzystaniem mikroskopu fluorescencyjnego**

Dorota Malicka

Kierownik: **dr hab. Beata Brzozowska**

Opiekun: **dr Adrianna Tartas**

Promieniowanie fotonowe jest szeroko stosowane zarówno w diagnostyce medycznej, jak i w terapii pacjentów onkologicznych. Jest to rodzaj promieniowania jonizującego, które prowadzi do jonizacji ośrodka, prowadzących do uszkodzeń DNA. W radioterapii najbardziej istotnymi uszkodzeniami są DSB (Double-Strand Breaks), których naprawa przez komórki wymaga uruchomienia kaskady naprawczej angażującej ogromne kompleksy białek. Naprawa takich uszkodzeń charakteryzuje się niską precyzją, a ich nagromadzenie prowadzi do śmierci komórki. Mięsak kościopochodny jest najczęstszą chorobą nowotworową kości o charakterze złośliwym u dzieci. Efekt dawki poprzedzającej (Efekt Yonezawy) polega na adaptacji komórek po ekspozycji na niskie dawki promieniowania. Skutkiem tej adaptacji jest zmniejszona częstość występowania aberracji chromosomowych oraz mutacji prowadzących do śmierci komórki. Celem pracy jest zbadanie zjawiska występowania odpowiedzi adaptacyjnej za pomocą komórek U2OS (kostniakomięsaka). W celu zaobserwowania ognisk naprawczych NBS1 biorącego udział w naprawie dwuniciowych pęknięć DNA, linię transfekowano plazmidem stale wyrażającym GFP. Pierwszym etapem pracy było wykonanie dozymetrii w celu określenia czasu napromieniania komórek podczas którego zostanie dostarczona dawka adaptacyjna- 0,056 Gy oraz dawka docelowa- 2 Gy. W tym celu wykorzystano filmy radiochromowe EBT3 Gafchromic, w których pod wpływem promieniowania jonizującego modyfikowana jest konformacja kryształów, powoduje to zmianę w poziomie zaciemnienia filmu.

Literatura:

- [1]Fornalski, K.W., Adamowski, Ł., Dobrzyński, L. et al. The radiation adaptive response and priming dose influence: the quantification of the Raper–Yonezawa effect and its three-parameter model for postradiation DNA lesions and mutations. *Radiat Environ Biophys* 61, 221–239 (2022).
- [2]Lukas, C., Savic, V., Bekker-Jensen, S. et al. 53BP1 nuclear bodies form around DNA lesions generated by mitotic transmission of chromosomes under replication stress. *Nat Cell Biol* 13, 243–253 (2011).
- [3]Tartas A, Lundholm L, Scherthan H, Wojcik A, Brzozowska B. The order of sequential exposure of U2OS cells to gamma and alpha radiation influences the formation and decay dynamics of NBS1 foci. *PLoS One* (2023).
- [4]Williams, M. and Metcalfe, P. Radiochromic film dosimetry and its applications in radiotherapy. In *AIP Conference Proceedings*, volume 1345, pages 75–99. American Institute of Physics (2011).