

Kinetyka powstawania i zanikania ognisk naprawczych gamma-H2AX w komórkach glejaka eksponowanych na promieniowanie jonizujące

Michał Przysaś

Kierownik: **dr hab. prof. ucz. Agnieszka Barbara Korgul**

Opiekun: **dr Urszula Marzena Kaźmierczak**

Nierozłącznym elementem współczesnej terapii nowotworowej jest odpowiednie zbalansowanie postępów leczenia z występowaniem efektów ubocznych pacjenta. Niezbędne do tego jest stosowanie odpowiedniego narzędzia monitorującego oba te czynniki. Jest to szczególnie ważne przy prowadzeniu radioterapii lub podawaniu chemoterapeutyków, których celem jest uszkodzenie nici DNA[1]. Metoda, która może monitorować stopień uszkodzenia DNA w tkankach nowotworowych oraz zdrowych, pozwalalaby na bieżącą obserwację skutków leczenia i przewidywanie krótko i długoterminowych konsekwencji terapii. W ostatnich latach histon H2AX stał się bardzo użytecznym narzędziem do monitorowania podwójnych pęknięć DNA (DSBs) w komórkach nowotworowych[2]. W wyniku pojawienia się DSBs, miejsce uszkodzenia w ciągu kilku minut jest znakowane poprzez fosforylację setek lub tysięcy białek H2AX do postaci gamma-H2AX, osiągając maksimum wysycenia po około 30 minutach[3-5]. Stosując odpowiednie antyciała z znacznikiem fluorescencyjnym, można pod mikroskopem fluorescencyjnym obserwować pojedyncze DSBs, czyniąc z tego najbardziej czułą metodę. Liczenie ręczne ognisk gamma-H2AX jest procesem bardzo żmudnym; w celu przyspieszenia procesu należy zastosować odpowiednie programy do zliczania ognisk naprawczych, co pozwoli na szybszą analizę badanych próbek. Celem pracy jest optymalizacja procedury oznaczania ognisk naprawczych w komórkach glejaka eksponowanych na promieniowanie alfa pochodzące z ameryku-241 oraz optymalizacja parametrów programu fociCounter[6] do dokładnego zliczania ognisk, a także określenie ich kinetyki powstawania w zależności od dostarczonej dawki promieniowania.

Literatura:

- [1] Alesia Ivashkevich, Christophe E. Redon, Asako J. Nakamura, Roger F. Martin, and Olga A. Martin, *Cancer Lett. 2012 December 31; 327(1-2): 123–133.
- [2] Bonner WM, Redon CE, Dickey JS, Nakamura AJ, Sedelnikova OA, Solier S, Pommier Y. gammaH2AX and cancer. Nature reviews. Cancer. 2008; 8:957–967.
- [3] Rogakou EP, Boon C, Redon C, Bonner WM. Megabase chromatin domains involved in DNA double-strand breaks in vivo. The Journal of cell biology. 1999; 146:905–916.
- [4] Paull TT, Rogakou EP, Yamazaki V, Kirchgessner CU, Gellert M, Bonner WM. A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage.
- [5] Celeste A, Fernandez-Capetillo O, Kruhlak MJ, Pilch DR, Staudt DW, Lee A, Bonner RF, Bonner WM, Nussenzweig A. Histone H2AX phosphorylation is dispensable for the initial recognition of DNA breaks. Nat Cell Biol. 2003; 5:675–679.
- [6] Jucha A, Wegierek-Ciuk A, Koza Z, Lisowska H, Wojcik A, Wojewodzka M, Lankoff A. FociCounter: a freely available PC programme for quantitative and qualitative analysis of gamma-H2AX foci. Mutation research. 2009