**ДОСЛІДЖЕННЯ ПОШКОДЖЕНЬ ДНК-КЛІТИН ТА ЇХНЬОЇ РЕПАРАЦІЇ**

**ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ МЕТОДУ ДНК-КОМЕТ**

*Чорна І.В.*

*СумДУ, кафедра біохімії та фармакології*

Відомо, що дія на клітини стресових чинників фізичної та хімічної природи викликає одно- та дволанцюгові розриви ДНК. У репарацію цих пошкоджень залучаються різні молекулярні системи. Однониткові розриви швидко відновлюються, а двониткові репарують повільно або зовсім не репарують, що призводить у кінцевому результаті до загибелі клітин. Адаптаційні зміни, які забезпечують виживання клітин за рахунок тимчасової активації їхніх захисних механізмів, можуть лежати в основі виникнення стабільної резистентності до хіміо- та радіотерапії частини ракових клітин. Тому виникає необхідність більш детального вивчення цих змін. Гель-електрофорез окремих клітин (метод ДНК-комет) є високочутливим методом визначення ниткових розривів ДНК та їхньої репарації. Аналіз електрофоретичної рухливості ДНК поодиноких клітин, поміщених в агарозний гель, дозволяє розрізняти апоптичні та некротичні клітини. Удосконалення та модифікація методу ДНК-комет дозволили значно підвищити його чутливість та роширити сферу застосування.

Метою роботи було дослідити вплив іонізуючого опромінення на ріст, виживання та репарацію одноланцюгових розривів ДНК у клітинах мієлогенної лейкемії лінії К562.

Виявлено дозозалежне (2, 5, 10 Гр) інгібування росту клітин даної лінії. Застосування методу фарбування клітин барвником трипановим синім для оцінки життєздатності клітин дозволило встановити, що зменшення приросту кількості клітин К562 після опромінення у порівнянні з неопроміненими клітинами зумовлене, головним чином, припиненням їхньої проліферативної активності, а не загибеллю. Даний ефект залежав від часу і його величина зростала зі збільшенням тривалості культивування клітин після припинення дії радіації. За допомогою методу ДНК-комет за умов лужного рН встановлено, що первинний рівень індукованих радіацією пошкоджень ДНК після опромінення клітин К562 дозою 2 Гр становив 219 % від рівня пошкоджень ДНК неопромінених клітин даної лінії та знижувався з часом завдяки репарації ДНК, яка найбільш інтенсивно проходила протягом перших 30 хвилин після опромінення. Слід зазначити також, що залишкові нерепаровані пошкодження (у середньому біля 25%) були виявлені після 180 хв культивування опромінених клітин лінії К562.

Таким чином, метод днк-комет є ефективним для детекції пошкоджень днк, викликаних дією іонізуючої радіації на клітини, а при дослідженні через певні часові інтервали (0, 15, 30, 60, 120, 180 хв) після опромінення дає інформацію про ефективність процесів репарації.