

Detekce poškození DNA a sledování jeho opravy

Dagmar Kohoutová

ABSTRAKT

V této diplomové práci jsem se zabývala sledováním indukce a reparace křížových vazeb způsobených *cis*-platinou, k jejichž detekci byl použit modifikovaný kometový test. Experimenty byly prováděny na liniích A-549, HeLa, HELF, XPA, XPC, CHO AA8 a CHO UV-20 (linie XPA, XPC a CHO UV-20 jsou deficitní v genech potřebných pro korektní opravu poškozené DNA).

Poškození bylo indukováno jednu hodinu 20, 40, 80 a 160 μM *cis*-Pt, reparace probíhala po dobu 3 a 23 hodin. K detekci křížových vazeb byly buňky inkubovány v přítomnosti 800 μM styrenoxidu (SO), poté byla provedena alkalická verze kometového testu a analýza vzorků pomocí softwaru LUCIA® Comet Assay.

Nejnižší indukce křížových vazeb po jedné hodině byla zaznamenána u buněčné linie A-549 a XPC (87 a 86 % DNA v ohonu), nejvyšší u CHO UV-20 (70 % DNA v ohonu). Po čtyřech hodinách inkubace byl u všech buněčných linií pozorován nárůst poškození DNA křížovými vazbami (největší u linií HELF a XPA, % DNA v ohonu se snížilo o 49 a 48 %). Oprava poškozené DNA po 24 hodinách byla pozorována u buněčných linií A-549 (reparace 44, 68 % poškození) a CHO AA8 (odstraněno 33,12 % poškození). U ostatních linií byl pozorován další nárůst množství křížových vazeb.

Na závěr byl proveden MTT test sledující viabilitu buněk ovlivněných *cis*-Pt. Největší citlivost k cytotoxickým účinkům *cis*-Pt projevila buněčná linie CHO UV-20 (pokles viability o 43,90 %), nejnižší linie HeLa a CHO AA8 (pokles o 1,82 % u HeLa buněk; 9,86 % u CHO AA8). Citlivost ostatních linií leží mezi těmito mezními hodnotami (pokles viability o 17,97-24,14 %).