

Tiivistelmä

“Fiber exposure targeted DNA sequences in pulmonary cells”

Asbestikuitualtistuksen tiedetään aiheuttavan solujen DNA-kaksoisjuosteen katkeamista, mutta kohdesekvenssit eivät ole selvillä vaikka asbestialtistukseen liittyviä genomimuutoksia onkin havaittu. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää krokidoliittikuitujen aiheuttamien kaksoisjuostekatkosten muodostumisen kinetiikkaa keuhkon epiteelisoluissa (syöpäsolulinjassa A549 ja transformoidussa solulinjassa BEAS-2B) sekä sitä sijoittuvatko nämä katkokset keuhkoepiteelisolujen genomissa sattumanvaraisesti vai kohdennetusti.

DNA-kaksoisjuostevaurion seurauksena tietty histonimodifikaatio γ H2AX paikantuu näihin katkoksiin, joten katkosten muodostumista voi havainnoida tämän histonivariantin tunnistavaa vasta-ainetta käyttäen. Solun viabiliteettitesteissä $2\mu\text{g}/\text{cm}^2$ havaittiin keuhkon epiteelisoluille jatkoanalyysiin sopivaksi asbestikuitualtistuspitoisuudeksi. γ H2AX-vasta-ainetta hyödyntäen tutkimme kaksoisjuostekatkosten muodostumista 1, 4, 24, ja 48 tunnin kuluttua altistamattomissa negatiivisissa kontrollisoluissa, $1\mu\text{g}/\text{ml}$ bleomysiinialtistetuissa positiivisissa kontrollisoluissa sekä $2\mu\text{g}/\text{cm}^2$ asbestialtistetuissa soluissa. Sekä A549 että BEAS-2B negatiivisissa kontrollisoluissa oli havaittavissa todennäköisesti endogeenisestä toiminnasta aiheutuvia γ H2AX signaaleja kun taas bleomysiinialtistetuissa soluissa γ H2AX:n muodostuminen oli voimakasta. Asbestialtistettujen solujen γ H2AX signaalien määrä lisääntyi 4h ja 24h kuluessa altistuksen alkamisesta.

γ H2AX:n muodostumisen kinetiikan perusteella valittiin 24h altistusajaksi soluille, jotka käsiteltiin DNA:n sekvenointia varten. A549-solujen γ H2AX-histonivariantin sitomat DNA-sekvenssit eristettiin γ H2AX-vasta-aineen avulla immunopresipitoidusta kromatiinista. DNA sekvensoitiin Illumina GAIIx single read teknologian avulla ja preanalysoitua dataa tutkittiin IGV- ja Chipster-ohjelmistoilla. Alustavat sekvenointitulokset viittaisivat siihen, että katkokset sijoittuivat koko genomien alueelle.

Liitteenä tutkimuksesta julkaistu abstrakti.

<http://www.abstractsonline.com/Plan/ViewAbstract.aspx?sKey=6dc499c2-d3d0-45e6-9931-cb24352fdca1&cKey=abb67300-1c16-4256-907d-9f7d9dc5980f&mKey=%7b9B2D28E7-24A0-466F-A3C9-07C21F6E9BC9%7d>