

## Функциональная активность микроядер в клетках культуры MCF-7 и A431

Научный руководитель – Кисурин-Евгеньева Ольга Петровна

Сутягина О.И.<sup>1</sup>, Потрясаева Н.В.<sup>1</sup>

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия

Наличие микроядер (МЯ) в клетке считают следствием повреждения ДНК и рассматривают в качестве маркера воздействия генотоксических агентов. Однако, возможна и обратная связь: дефекты оболочки МЯ могут стать причиной нарушения протекания в МЯ процессов репарации и репликации. Если клетка с МЯ продолжает продвижение по клеточному циклу и вступает в митоз, в ядро дочерней клетки может быть привнесён генетический материал, содержащий множественные локальные мутации. Это, в свою очередь, может являться причиной возникновения злокачественных новообразований. Таким образом, исследование функциональных особенностей и судьбы МЯ является одной из задач, связанных с актуальной проблемой биологии опухолевых клеток. Цель работы - изучение функциональной активности МЯ в культурах опухолевых клеток, различающихся по содержанию активного p53. Работа проводилась на клетках MCF7 (аденокарцинома молочной железы человека, p53+) и A431 (эпидермальная карцинома человека, p53-). В работе использованы методы световой микроскопии и иммуно-/цитохимического окрашивания, ПО Vision Bio «West Medica». Обнаружено, что доля клеток с МЯ составила  $14 \pm 0,5\%$  для MCF7 и  $15 \pm 1,5\%$  для A431. Показано существование двух типов МЯ: одиночных мелких ( $12,7 \pm 0,1\%$  для MCF-7 и  $14,7 \pm 1,2\%$  для A431) и множественных крупных ( $1,2 \pm 0,4\%$  для MCF-7 и  $1 \pm 0,3\%$  для A431). Окрашивание LysoTrackerDND-99 показало возможность лизосом-опосредованной деградации одиночных мелких МЯ (в единичных случаях в MCF7 и в  $2 \pm 0,5\%$  клеток в A431). Среди крупных множественных выявлены не описанные ранее «вакуолизированные» МЯ ( $0,64 \pm 0,08\%$  для MCF7 и  $0,5 \pm 0,1\%$  для A431). Большая часть МЯ не проявляет признаков деградации. Прижизненные наблюдения показали, что в обеих культурах в течение 24 ч клетки с МЯ способны сохранять жизнеспособность. В культуре MCF7 (p53+) окрашивание антителами к белку p53 выявило его перемещение в МЯ в большинстве клеток с множественными МЯ (72%), в то время, как в клетках с одиночными мелкими МЯ более, чем в половине клеток активации p53 не происходит (61% p53-отрицательных МЯ). Двойное окрашивание антителами к p53 и ламину B1 показало, что белок p53 обнаруживается в МЯ как с нормальной, так и с нарушенной структурой ядерной ламины или при её отсутствии. Клетки с МЯ способны вступать в S-фазу клеточного цикла (Click-iT®EdU), при этом процесс репликации может происходить одновременно в основном ядре и в МЯ. В некоторых случаях репликация отмечена только в МЯ, что может быть связано с отставанием старта или замедлением репликации в МЯ. В целом, в клетках культур MCF7 и A431 большинство МЯ не подвергаются элиминации. Наличие одиночных МЯ может не приводить к активации p53, в результате чего клетки с МЯ способны избегать апоптоза и продолжать продвигаться по клеточному циклу. При этом в клетках, имеющих множественные МЯ, происходит активация p53, приводящая к индукции апоптоза. Таким образом, клетки с одиночными МЯ могут вносить более значительный вклад в усиление опухолевой трансформации.