



Рубцов Николай Борисович
доктор биологических наук,
заведующий лабораторией

ЛАБОРАТОРИЯ МОРФОЛОГИИ И ФУНКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР

Внеклеточная ДНК в культурах клеток человека *in vitro*: сравнительный анализ состава внеклеточных ДНК методом флуоресцентной гибридизации *in situ*

В настоящее время не вызывает сомнений, что нуклеиновые кислоты постоянно присутствуют во внеклеточной среде культивируемых клеток *in vitro*, а также в биологических жидкостях и в межклеточном пространстве *in vivo*. Такие нуклеиновые кислоты имеют в основном эндогенное происхождение, стабильны в течение длительного времени, переносятся током крови и лимфы и могут быть обнаружены далеко от места локализации «родительских» клеток.

Целью исследований, проведенных в 2009 году, была оценка представленности во фракциях внеклеточной ДНК последовательностей из разных районов хромосом человека.

Для изучения происхождения внеклеточных нуклеиновых кислот были использованы:

- клетки эндотелия пупочной вены новорожденных (HUVEC),
- первичные фибробласты из ткани десны,
- клетки цервикальной аденокарциномы (HeLa).

Сравнение геномной ДНК культивируемых *in vitro* клеток и фракций внеклеточной ДНК, изолированных из культуральной среды и с поверхности клеток соответствующих культур, проведено в экспериментах по двухцветной флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) ДНК-проб, полученных из образцов внеклеточной и геномной ДНК.

Сравнение интенсивности сигналов двухцветной FISH в хромосомных районах позволило выявить районы хромосом, доля ДНК которых во внеклеточной ДНК значительно превышает ее долю в геноме клеток. Проведены клонирование и секвенирование фрагментов ДНК из С-позитивного района хромосомы 9, представленных в избытке во фракциях внеклеточной ДНК.

Полученные результаты имеют значение для развития работ по созданию методов диагностики, базирующихся на анализе внеклеточной ДНК человека.

Работа выполнена совместно с группой П.П. Лактионова (ИХБиФМ СО РАН).

Двухцветная FISH ДНК-проб, полученных из геномной ДНК первичных фибробластов (б, зеленый канал), и ДНК, связанной с их поверхностью, (в, красный канал), с метафазными хромосомами лейкоцитов.

а – совмещенные сигналы ДНК-проб (синий сигнал – окраска хромосом красителем DAPI)

