

Caractérisation des kinases humaines impliquées dans la phosphorylation de l'histone H2AX en réponse aux irradiations

Sami Benzina^{1,2}, Claudie Lemercier¹, Amandine Pitaval^{1,2}, Françoise Soussaline³, Vincent

Frouin², Paul-Henri Romeo² and Xavier Gidrol^{1,2}

¹CEA, DSV, IRTSV, Biopuces. 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex, France ;

²CEA, DSV, IRCM, LEFG, 22 rue Gaston Crémieux CP22 Evry Cedex, France ;

³IMSTAR, France

La phosphorylation de l'histone H2AX aux abords des cassures doubles brins (DSB) a récemment été caractérisée comme une des réponses les plus précoces aux rayonnements

ionisants. Elle aboutit à la formation de foci nucléaires dans le noyau des cellules irradiées. La détection des foci γ -H2AX est aujourd'hui la méthode la plus sensible pour détecter les DSB. En revanche, les mécanismes moléculaires qui président à la formation des foci γ -H2AX restent mal connus. Deux kinases, ATM et DNA-PK, fonctionnent de manière redondante pour phosphoryler H2AX en réponse aux rayonnements ionisants. Toutefois la littérature laisse à penser que d'autres kinases pourraient être impliquées. Dans ce projet de recherche, notre objectif était la caractérisation de toutes les kinases impliquées dans la phosphorylation de H2AX, notamment partenaires potentiels de la protéine ATM. Pour ce faire, nous avons mis au point une puce à cellules pour transférer parallèlement des milliers de siRNA et un logiciel d'analyse pour étudier les phénotypes résultants. Nous avons utilisé notre collection de 1396 siRNA (small interfering RNA) qui peuvent éteindre l'expression des 648 kinases recensées à ce jour dans le génome humain. Notre collection de siRNA a été déposée dans un premier temps sur une puce à cellule, pour être ensuite transférée dans une lignée cellulaire de kératinocytes humains (HaCaT). Les puces à cellules ont alors été irradiées à 2Gy, puis la formation de foyers γ -H2AX a été ensuite analysée par immunofluorescence dans les îlots de cellules transférées par les différents siRNA. L'analyse des résultats nous a permis l'identification d'au moins 43 kinases impliquées directement ou indirectement dans la formation des foyers γ -H2AX et qui ouvrent le voie à une recherche d'analyse de masse sur les partenaires de la protéine ATM.