

КЛЕТОЧНАЯ
РАДИОБИОЛОГИЯ

УДК 576.356:575.224:582.282.23:614.875

**ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ
ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК РАЗНОГО ГЕНОТИПА
ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УФ-СВЕТА**

© 2021 г. Е. С. Евстратова¹, В. Г. Королев², В. Г. Петин³, М. С. Толкаева^{3,*}

¹ Национальный медицинский исследовательский центр радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

² Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова
Национального исследовательского центра Курчатовский институт, Гатчина, Россия

³ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал
Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

*E-mail: marya.tolkaeva@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.04.2021 г.

После доработки 07.08.2021 г.

Принята к публикации 01.09.2021 г.

Изучение закономерностей проявления генетической нестабильности клеток после действия УФ-излучения является актуальной задачей, поскольку этот эффект может предшествовать онкологическим заболеваниям. В работе представлены новые экспериментальные результаты, связанные с выживаемостью и генетической нестабильностью гаплоидных и диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* дикого типа и УФ-чувствительных мутантов, выживших после воздействия 254 нм УФ-излучения. Зависимость выживаемости клеток от плотности потока энергии УФ-излучения для гаплоидного штамма дикого типа была сигмоидной и экспоненциальной для чувствительных к УФ-излучению штаммов. Форма кривых выживаемости для диплоидных штаммов дикого типа также была сигмоидной, в то время как гомозиготные диплоидные мутанты, чувствительные к УФ-излучению, демонстрировали как экспоненциальные, так и сигмоидные кривые выживаемости, которые всегда были более чувствительными, чем их родительские штаммы. Генетическую нестабильность определяли по задержке формирования колоний клетками, выжившими после УФ-облучения. Показано, что этот эффект хорошо выражен и достигает 100% для диплоидных клеток как дикого типа, так и чувствительных мутантов, дефектных по репарации УФ-повреждений. Напротив, гаплоидные клетки показали значительно меньшую генетическую нестабильность (30–50%) независимо от их чувствительности. Сделан вывод, что генетическая нестабильность клеток, количественно оцениваемая задержкой формирования колоний выжившими после облучения клетками, в основном определяется ploидностью клеток, а не формой кривой выживаемости и способностью клеток восстанавливаться от радиационных повреждений, как это утверждалось ранее.

Ключевые слова: УФ-излучение, дрожжевые клетки, генетическая нестабильность, выживаемость, гаплоидные и диплоидные клетки

DOI: 10.31857/S0869803121060035

Люди, как и вся биосфера в целом, постоянно подвергаются действию УФ-излучения как части естественного солнечного электромагнитного излучения. Повышенный фон УФ-излучения, связанный с истощением озонового слоя в стратосфере, представляет собой потенциальную опасность для окружающей среды [1]. Вредное воздействие УФ-излучения может быть синергически усилено его совместным действием с другими факторами окружающей среды [2]. Помимо внешнего облучения от Солнца, наши внутренние органы постоянно подвергаются УФ-облучению в результате излучения Вавилова–Черенко-

ва, когда электроны, возникающие при действии ионизирующих излучений, движутся со скоростью, превышающей скорость света в биологической ткани [3, 4]. Известно, что УФ-воздействие может вызывать мутагенез и канцерогенез, включая развитие меланомы, различных видов рака кожи, а также ускоряет старение и появление морщин [1]. Полагают, что генетическая нестабильность может предшествовать онкологическим заболеваниям [5–7]. Поэтому анализ закономерностей генетической нестабильности клеток, выживших после УФ-излучения, представляется актуальной задачей.

Многие эффекты рассматриваются в качестве тестов генетической нестабильности, включая перестройку генома, злокачественную трансформацию, образование микроядер, хромосомные aberrации, снижение эффективности клонирования, гетерогенность среди потомков облученных клеток [8–10]. Большинство результатов по генетической нестабильности было получено на культивируемых клетках млекопитающих в диплоидном состоянии. Клетки дрожжей, как простейший пример эукариотических клеток, представляют собой модель, пригодную для изучения зависимости генетической нестабильности от плоидности клеток, дозы облучения, способности клеток к репарации [11–13]. Ранее было показано, что генетическая нестабильность, определяемая замедленным формированием колоний клетками, выжившими после γ -облучения (“эффект дорастания”), является естественным для диплоидных дрожжевых клеток с сигмодной формой кривых выживаемости, в то время как этот эффект был незначительным или даже не наблюдался для гаплоидных штаммов с экспоненциальными кривыми выживаемости [14–16]. Однако в этих работах были использованы только дикие штаммы дрожжей, а не их радиочувствительные мутанты, неспособные восстанавливаться от радиационных повреждений. Поэтому мы исследовали задержку формирования гаплоидных и диплоидных дрожжевых клеток дикого типа и радиочувствительных мутантов, выживших после облучения γ -квантами и α -частицами [17]. В этой работе показано, что, в отличие от традиционных представлений [14–16], генетическая нестабильность клеток после действия ионизирующих излучений определяется не радиочувствительностью или формой кривых выживаемости, а полностью детерминируется плоидностью клеток независимо от их радиочувствительности после действия излучений с различными ЛПЭ. Аналогичные результаты были получены в наших предварительных исследованиях генетической нестабильности только диплоидных дрожжевых клеток, выживших после облучения УФ-светом [18]. В настоящей работе в параллельных экспериментах мы сравнили эффект замедленного формирования колоний гаплоидными и гомозиготными диплоидными клетками дикого типа и УФ-чувствительными мутантами, выживающими после УФ-облучения. Сравнение генетической нестабильности таких штаммов будет способствовать лучшему пониманию, действительно ли генетическая нестабильность дрожжевых клеток не связана со способностью клеток восстанавливаться от радиационных повреждений, а в большей степени детерминируется плоидностью клеток независимо от их чувствительности к радиационным воздействиям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В качестве объекта исследования использованы гаплоидные и гомозиготные диплоидные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* штаммов дикого типа S288C (RAD), T1 (RAD/RAD), XS800 (RAD/RAD) и их чувствительные к УФ-излучению мутанты LMG318 (*rad2*), T2 (*rad2/rad2*), XC6 (*rad6*), XS1956 (*rad6/rad6*) и 21-LMG-3031 (*rad18*), XS1924 (*rad18/rad18*). Штаммы XS800, XS1956 и XS1924 первоначально получены от S. Nakai (Япония), T1 и T2 от И.А. Захарова-Гезехуса, S288C и XC6 от В.И. Корогодина, LMG318 и 21-LMG-3031 синтезированы для этой работы В.Г. Королевым. Клетки дрожжей обладают рядом свойств, которые позволяют изучать механизмы различных процессов на молекулярном, субклеточном, клеточном и популяционном уровнях без использования сложных технологий и получать результаты в относительно короткие сроки. Короткий жизненный цикл дрожжей и возможность быстрого получения большого количества клеточных поколений позволяют изучать даже очень редкие явления. Большинство радиобиологических ответов дрожжевых клеток, таких как форма кривой выживаемости, зависимость ОБЭ от ЛПЭ, кислородный эффект, действие радиопротекторов и радиосенсибилизаторов, качественно аналогичны таковым у клеток млекопитающих [19, 20]. Перед облучением клетки инкубировали (термостат ОАО “Смоленское специализированное конструкторско-технологическое бюро систем программного управления”, Россия) в течение 4–14 дней при 30°C на полной питательной среде до стационарной стадии роста. Продолжительность культивирования до облучения определяли по прекращению почкования клеток.

Суспензию клеток (10^6 клеток/мл, pH 7.4, 1.5 мл) облучали в открытом кварцевом сосуде бактерицидной лампой (General Electric/США), которая испускала преимущественно УФ-свет с длиной волны 254 нм с плотностью потока энергии 1.5 Вт/м², которая была оценена измерителем той же фирмы. Чтобы избежать фотореактивации, облучение, разведение суспензий и другие процедуры проводили при красном свете, а пострадиационная инкубация клеток происходила в темноте. Сразу после облучения клетки высевали на питательный агар таким образом, чтобы выжившие дрожжевые клетки сформировали 50–200 колоний на чашку. Культуры выращивали на полной питательной среде (дрожжевой экстракт 1% (МГУ, Laboratory Building “А”, Россия), пептон 1% (Химмед, Россия), глюкоза 2% (Химмед, Россия), агар 2% (Химмед, Россия)). Выживаемость клеток рассчитывали отношением числа колоний, сформированных выжившими после облучения клетками, к числу колоний, образованных

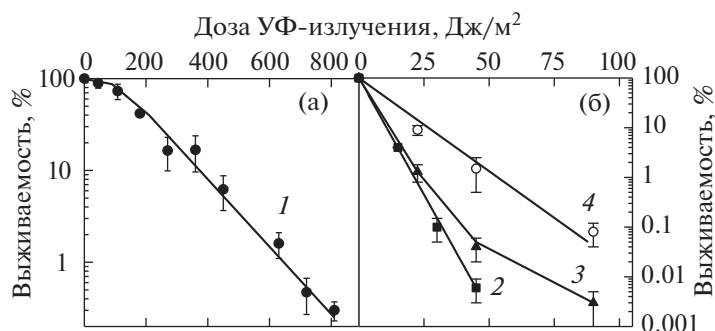


Рис. 1. Зависимость выживаемости от дозы УФ-излучения для гаплоидных дрожжевых клеток дикого типа *S. cerevisiae* и чувствительных к УФ-излучению мутантов: а – клетки дикого типа (кривая 1); б – *rad2*, *rad6* и *rad18* (кривые 2, 3 и 4 соответственно).

Fig. 1. Dependence of cell survival on the dose of UV irradiation for *S. cerevisiae* haploid yeast cells of wild-type (Fig. 1, a, curve 1) and UV-sensitive mutants: *rad2*, *rad6*, and *rad18* (Fig. 1, b, curves 2, 3, and 4, respectively).

в контроле. Чтобы количественно оценить эффект замедленного роста клеток, колонии, выросшие в чашках Петри, подсчитывали через 22 ч после посева облученных клеток на питательную среду и в последующие 2–6 ч, пока колонии не переставали появляться. Последний подсчет производился через 4 сут. В качестве теста на генетическую нестабильность использовали процент колоний, образовавшихся позже, чем в контроле. Соответствие такого теста генетической нестабильности ранее было подтверждено рядом факторов – клетки из колоний, сформированных позже контроля, характеризовались повышенной радио- и термочувствительностью, повышенным содержанием морфологически измененных колоний, повышенным содержанием нежизнеспособных клеток, респираторных и рекомбинантных мутантов, а также поддержанием гетерогенности в размерах и морфологии колоний после повторных рассеиваний клеток из колоний, образованных выжившими после облучения клетками [14, 16]. Каждый опыт повторяли 2–5 раз. Резуль-

таты представлены в виде среднего значения и его стандартной ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 показана зависимость выживаемости клеток от дозы УФ-излучения (далее для простоты – кривые выживаемости) для гаплоидных дрожжевых клеток дикого типа (рис. 1, а) и чувствительных к УФ-излучению мутантов (рис. 1, б), использованных в данном исследовании. Видно, что выживаемость штамма дикого типа была сигмоидной, в то время как чувствительные к УФ-излучению мутанты характеризуются экспоненциальным уменьшением выживаемости клеток с увеличением дозы УФ-света. Чтобы сравнить УФ-чувствительность различных штаммов, мы рассчитали дозу, которая снижает выживаемость клеток до 1% (ЛД 1%). Табл. 1 включает этот параметр, а также отношение этого параметра для штамма дикого типа и чувствительных к УФ-излучению мутантов, показывая, во сколько раз увеличилась чувствительность гаплоидных му-

Таблица 1. УФ-чувствительность и задержанное формирование колоний гаплоидными дрожжевыми клетками *S. cerevisiae*, выживающими после УФ-облучения

Table 1. UV sensitivity and delayed formation of colonies by haploid *S. cerevisiae* yeast cells surviving after UV exposure

Штамм	УФ-чувствительный локус	ЛД для 1% выживаемости, Дж/м ²	$\frac{\text{ЛД } 1\% \text{ (RAD)}}{\text{ЛД } 1\% \text{ (rad)}}$	ЭД ₅₀ , Дж/м ²	$\frac{\text{ЭД}_{50}(\text{RAD})}{\text{ЭД}_{50}(\text{rad})}$
S288C	RAD	800	—	200	—
LMG318	<i>rad2</i>	23	35	13	15.4
XC6	<i>rad6</i>	25	32	36	5.5
21-LMG-3031	<i>rad18</i>	54	15	24	8.3

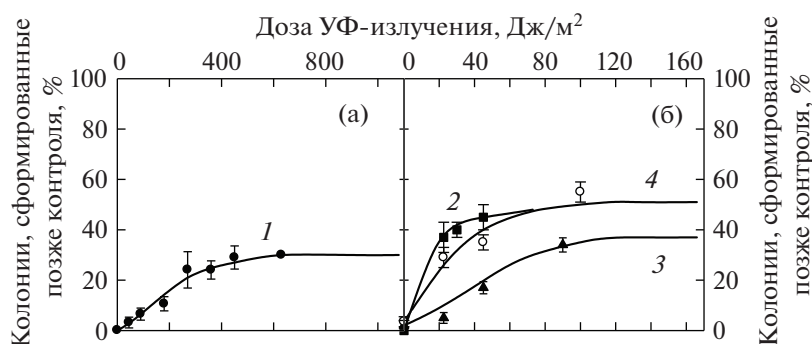


Рис. 2. Зависимость эффекта позднего появления колоний от дозы УФ-излучения для гаплоидных дрожжевых клеток дикого типа *S. cerevisiae* и УФ-чувствительных мутантов: а – клетки дикого типа (кривая 1); б – *rad2*, *rad6* и *rad18* (кривые 2, 3 и 4 соответственно).

Fig. 2. Dependence of the delayed formation of colonies by *S. cerevisiae* yeast cells surviving after UV irradiation on exposure dose for wild-type haploid yeast cells (Fig. 2, a, curve 1) and UV-sensitive mutants: *rad2*, *rad6*, and *rad18* (Fig. 2, b, curves 2, 3, and 4, respectively).

тантов по сравнению с таковой для исходного штамма дикого типа. Видно, что чувствительность штаммов увеличивалась в 35, 32 и 15 раз для мутантных клеток *rad2*, *rad6* и *rad18* соответственно.

Наши недавние исследования показали, что наибольший эффект замедленного формирования колоний дрожжевыми клетками различного генотипа, выживавших после воздействия редкого (γ -лучи ^{60}Co) и плотноионизирующего излучений (α -частицы ^{239}Pu), составлял около 30% для гаплоидных клеток и почти 100% для диплоидных клеток [17]. Отметим, что эти параметры не зависели от радиочувствительности клеток и способности клеток восстанавливаться от радиационных повреждений или формы кривых выживаемости. Поэтому было бы интересно сравнить генетическую нестабильность гаплоидных и диплоидных дрожжей разного генотипа с их чувствительностью к УФ-излучению.

На рис. 2 показана зависимость задержки формирования колоний выжившими после УФ-облучения гаплоидными дрожжевыми клетками, кривые выживаемости которых показаны на рис. 1. Видно, что этот эффект увеличивался с дозой УФ-излучения до определенного предела, который составлял около 30% для клеток дикого типа и 40–50% для мутантов, чувствительных к ультрафиолету. Также очевидно, что этот эффект для мутантных клеток проявлялся в области более низких доз, чем для штамма дикого типа. Для количественной оценки эффекта замедленного роста клеток мы использовали эффективную дозу УФ-излучения, при которой эффект достигал 50% от максимального значения (ЭД_{50}). Значения этого параметра, а также его отношение для клеток дикого типа и мутантов, чувствительных к УФ-свету, также суммированы в табл. 1. Отношения этих

параметров для мутантов *rad2*, *rad6* и *rad18* составляли 15.4, 5.5 и 8.3 соответственно.

Аналогичные данные были получены для изогенных диплоидных штаммов дикого типа и их УФ-чувствительных мутантов. На рис. 3 показана зависимость выживаемости клеток от дозы УФ-излучения для диплоидных дрожжевых клеток дикого типа и УФ-чувствительных. Видно, что форма кривой выживаемости была экспоненциальной для наиболее чувствительного мутанта *rad2/rad2*, в то время как кривые выживаемости были сигмоидными для штаммов дикого типа, а также для мутантов *rad6/rad6* и *rad18/rad18*. Табл. 2 включает значения доз УФ-излучения, которые снижают выживаемость клеток до 1%, а также отношение этих доз для штамма дикого типа и УФ-чувствительных, показывая, во сколько раз увеличилась чувствительность диплоидных мутантов по сравнению с чувствительностью клеток дикого типа. Видно, что УФ-чувствительность этих штаммов увеличилась в 10.5, 2.4 и 1.5 раза для мутантных клеток *rad2/rad2*, *rad6/rad6* и *rad18/rad18* соответственно. Сравнение этих данных с результатами, приведенными в табл. 1, показывает, что повышенная чувствительность к действию УФ-света диплоидных мутантов была менее выражена, чем для гаплоидных штаммов. Это может быть связано с наличием двойного набора хромосом, что обеспечивает большую надежность этих клеток по сравнению с гаплоидными.

На рис. 4 представлена зависимость задержки формирования колоний выжившими после УФ-облучения дрожжевыми клетками *S. cerevisiae* от дозы облучения диплоидных дрожжевых клеток, кривые выживаемости которых приведены на рис. 3. Видно, что этот эффект увеличивался с дозой УФ-излучения до определенного предела, который составлял 100% для клеток как дикого ти-

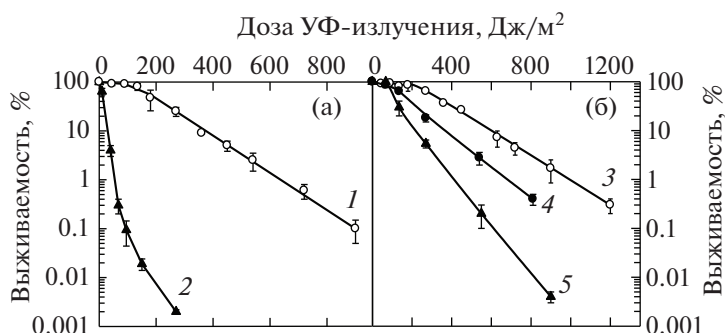


Рис. 3. Зависимость выживаемости от дозы УФ-излучения для диплоидных дрожжевых клеток дикого типа и чувствительных к УФ-излучению штаммов *S. cerevisiae*: а – Т1 (клетки дикого типа, кривая 1), Т2 (*rad2/rad2*, кривая 2); б – XS800 (клетки дикого типа, кривая 3), XS1956 (*rad6/rad6*, кривая 4) и XS1924 (*rad18/rad18*, кривая 5).

Fig. 3. Dependence of cell survival on the dose of UV radiation for *S. cerevisiae* diploid yeast cells of various genotypes: strains T1 (RAD/RAD, Fig. 3, a, curve 1) and T2 (*rad2/rad2*, Fig. 3, a, curve 2); strains XS800 (RAD/RAD, Fig. 3, b, curve 3), XS1956 (*rad6/rad6*, curve 4) and XS1924 (*rad18/rad18*, curve 5).

па, так и для мутантов, чувствительных к УФ-излучению. Здесь снова, чтобы количественно оценить эффективность эффекта замедленного роста клеток, мы использовали эффективную дозу УФ-излучения, при которой эффект достигал 50% от наибольшего значения (ЭД₅₀). Значения этого параметра, а также его отношение для клеток дикого типа и мутантов, чувствительных к ультрафиолету, также приведены в табл. 2. Видно, что отношения этих параметров для мутантов *rad2/rad2*, *rad6/rad6* и *rad18/rad18* составляли 7.4, 2.0 и 2.8. Вновь отметим, что это соотношение в 2–3 раза меньше соответствующих значений для гаплоидных штаммов, что свидетельствует о более высокой надежности клеток с двойным набором хромосом.

ОБСУЖДЕНИЕ

Задержка формирования колоний клетками, выжившими после облучения ионизирующим или УФ-излучением, как и другие отсроченные эффекты, включая хромосомные aberrации, перестройку генома, злокачественную трансформацию, снижение эффективности клонирования, образование микроядер и гетерогенность среди потомства облученных клеток, являются примерами генетической нестабильности выживших после облучения клеток [5–9]. Общими свойствами долгоживущих радиационных эффектов являются передача и сохранение в потомках клеток, выживших после облучения, некоторых субповреждений, неэффективных для инактивации клеток [2, 16]. В данной работе мы оценили эффект задержанного формирования колоний гап-

Таблица 2. УФ-чувствительность и задержанное формирование колоний диплоидными дрожжевыми клетками *S. cerevisiae*, выживающими после УФ-облучения

Table 2. UV sensitivity and delayed formation of colonies by diploid *S. cerevisiae* yeast cells surviving after UV exposure

Штамм	УФ-чувствительный locus	ЛД для 1% выживаемости, Дж/м ²	$\frac{\text{ЛД 1\% (RAD/RAD)}}{\text{ЛД 1\% (rad/rad)}}$	ЭД ₅₀ , Дж/м ²	$\frac{\text{ЭД}_{50}(\text{RAD/RAD})}{\text{ЭД}_{50}(\text{rad/rad})}$
T1	RAD/RAD	630	—	340	—
T2	<i>rad2/rad2</i>	60	10.5	46	7.4
XS800	RAD/RAD	985	—	310	—
XS1956	<i>rad6/rad6</i>	405	2.4	154	2.0
XS1924	<i>rad18/rad18</i>	645	1.5	110	2.8

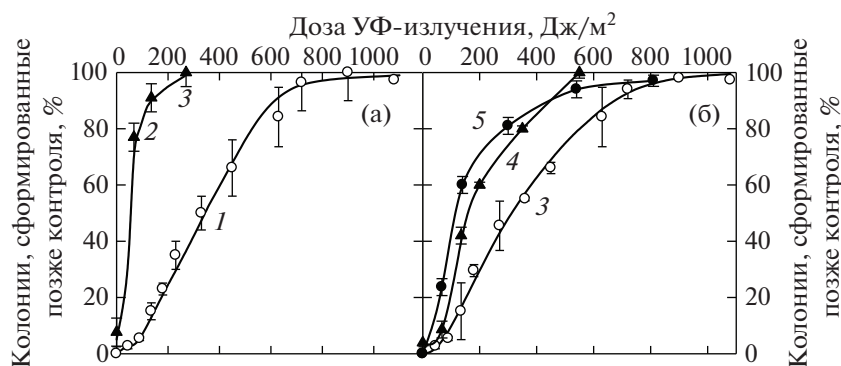


Рис. 4. Зависимость эффекта позднего появления колоний от дозы УФ-излучения для диплоидных дрожжевых клеток дикого типа и чувствительных к УФ-излучению штаммов *S. cerevisiae*: а – Т1 (клетки дикого типа, кривая 1), Т2 (*rad2/rad2*, кривая 2); б – XS800 (клетки дикого типа, кривая 3), XS1956 (*rad6/rad6*, кривая 4) и XS1924 (*rad18/rad18*, кривая 5).

Fig. 4. Dependence of the delayed formation of colonies by *S. cerevisiae* yeast cells surviving after UV irradiation on the exposure dose for diploid yeast cells of wild-type and UV sensitive mutants: T1 (RAD/RAD, Fig. 4, a, curve 1), T2 (*rad2/rad2*, Fig. 4, a, curve 2); XS800 (RAD/RAD, Fig. 4, b, curve 3), XS1956 (*rad6/rad6*, Fig. 4, b, curve 4) and XS1924 (*rad18/rad18*, Fig. 4, b, curve 5).

лоидными и диплоидными дрожжевыми клетками *S. cerevisiae* дикого типа и УФ-чувствительными мутантами, выживающими после облучения. Полученные данные показывают, что УФ-индуцированная задержка образования колоний облученными клетками менее выражена для гаплоидных (30–50%), чем для диплоидных (100%) клеток независимо от их радиочувствительности, способности клеток восстанавливаться от УФ-индуцированных повреждений и формы кривых выживаемости. Это означает, что анализируемый здесь эффект строго определяется плоидностью клеток, а не формой кривых выживания или способностью клеток восстанавливаться после повреждений, вызванных УФ-излучением. Отметим, что такой же эффект наблюдался у гаплоидных и диплоидных дрожжей *S. cerevisiae* дикого типа и радиочувствительных к ионизирующему излучению мутантов, выживших после облучения γ -квантами или α -частицами [17]. В этом случае наибольшая задержка формирования колоний выжившими после облучения клеткам составляла только 20% для гаплоидных клеток, но достигала 100% для диплоидных штаммов независимо от их радиочувствительности и способности клеток восстанавливаться от радиационных повреждений. Эти данные показывают, что генетическая нестабильность дрожжевых клеток независимо от типа радиационного воздействия в значительной степени определяется количеством наборов хромосом, а не экспоненциальной или сигмовидной формой кривых выживаемости и способностью клеток восстанавливаться от радиационных повреждений.

Хотя биологические эффекты, связанные с индуцированной радиацией генетической неста-

бильностью, широко обсуждаются в литературе, природа событий, которые инициируют и сохраняют нестабильность в потомстве облученных клеток, все еще остается неясной. Было предложено множество механизмов, как радиационное воздействие может вызывать генетическую нестабильность [5–13]. В этих работах активно исследовалась роль повреждений и репараций ДНК в генетической нестабильности. Отмечается, что митотическая рекомбинация, инициация двойного разрыва ДНК, мутации и ошибки репарации ДНК могут быть ответственны за геномную нестабильность. Основным новым результатом нашей работы является то, что отсроченное формирование колоний дрожжевыми клетками, выжившими после УФ-излучения, в основном определяется плоидностью клеток, а не формой кривой выживаемости и способностью клеток восстанавливаться от радиационных повреждений, как это постулировалось ранее [14–16]. Аналогичный вывод был сформулирован в нашей работе с ионизирующими излучениями разного качества [17]. Несомненно, что эти закономерности проявления генетической нестабильности также должны быть связаны с повреждениями, но не репарацией ДНК, например, с некоторыми хромосомными aberrациями, которые смертельны в большей степени для гаплоидных, а не для диплоидных дрожжевых клеток, которые более надежны из-за двойного набора хромосом. Анализ штаммов почкующихся дрожжей показал, что все штаммы с анеуплоидией проявляют различные формы геномной нестабильности [13]. На дрожжах *Pichia pinus* было показано, что клетки, потерявшие одну или несколько хромосом, формируют колонии на питательной среде позже контроля [16, 22]. Можно до-

пустить, что механизм генетической нестабильности, наблюдавшийся в данном исследовании, может быть связан с образованием некоторых хромосомных aberrаций, например, делеций, летальные последствия которых в большей степени должны проявляться для гаплоидных, а не диплоидных клеток. Наоборот, задержка деления выживших после облучения клеток должна проявляться в большей степени для диплоидных, а не гаплоидных клеток. Именно такие делеции, не связанные с формой кривой выживаемости и способностью клеток восстанавливаться от радиационных повреждений, могли приводить к замедленному делению выживших после облучения клеток и соответственно к задержке формирования колоний облученными клетками.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Castellani A.* Research in Photobiology. Springer Science & Business Media, 2012. 776 p.
2. *Petin V.G., Kim J.K.* Synergistic Interaction and Cell Responses to Environmental Factors. New York: Nova Sciences Publisher, 2016, 337 p.
3. *Morozov I.I., Myasnik M.N.* The relationship between the phenomenon of photoreactivation in *Escherichia coli* following ionizing radiation and the Čerenkov emission // *Radiat. Res.* 1980. V. 82. P. 336–341.
4. *Петин В.Г., Морозов И.И.* Синергетика факторов окружающей среды. М.: ГЕОС, 2015. 249 с. [*Petin V.G., Morozov I.I.* Sinergetika faktorov okruzhayushchej sredy. M.: GEOS, 248 s. (In Russian)]
5. *Мазурик В.К., Михайлов В.Ф.* Радиационно-индуцируемая нестабильность генома: Феномен, молекулярные механизмы, патогенетическое значение // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2001. Т. 41. № 3. С. 272–289. [*Mazurik V.K., Michailov V.F.* Radiacionno-inducirovannaya nestabilnost genoma: fenomen, moleculyarnye mekhanizmy, patogeneticheskoe znachenie // *Radiac. biologiya. Radioekologiya.* 2001. T. 41. № 3. S. 272–289 (In Russian)]
6. *Воробцова И.Е.* Трансгенерационная передача радиационно-индуцированной нестабильности генома // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2006. Т. 46. № 4. С. 441–446. [*Vorobcova I.E.* Transgeneracionnaya peredacha radiacionno-inducirovannoj nestabilnosti genoma // *Radiac. biologiya. Radioekologiya.* 2006. T. 46. № 4. S. 441–446. (In Russian)]
7. *Shen Z.* Genomic instability and cancer: an introduction // *J. Mol. Cell Biol.* 2011. V. 3. P. 1–3.
8. *Marder B.A., Morgan W.F.* Delayed chromosomal instability induced by DNA damage // *Mol. Cell. Biol.* 1993. V. 13. № 11. P. 6667–6677.
9. *Little J.B.* Radiation-induced genomic instability // *Int. J. Radiat. Biol.* 1998. V. 74. P. 663–671.
10. *McMurray M.A., Goltschling D.E.* Aging and genetic instability in yeast // *Curr. Opin. Microbiol.* 2004. V. 7. P. 673–679.
11. *Yuen K.W.Y., Warren C.D., Chen O., Kwok T., Hieter P., Spencer F.A.* Systematic genome instability screens in yeast and their potential relevance to cancer // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. P. 3925–3930.
12. *Skoneczna A., Kaniak A. Skoneczny M.* Genetic instability in budding and fission yeast – sources and mechanisms // *FEMS Microbiol. Rev.* 2015. V. 39. P. 917–967.
13. *Sheltzer J.M., Blank H.M., Pfau S.J. et al.* Aneuploidy drives genomic instability in yeast // *Sci.* 2011. V. 333. P. 1026–1030.
14. *Капульцевич Ю.Г., Корогодин В.И., Петин В.Г.* Анализ радиобиологических реакций дрожжевых клеток. I. Кривые выживания и эффект дорастания // *Радиобиология.* 1972. Т. 12. № 2. С. 267–271. [*Kapultcevic Yu.G., Korogodin V.I., Petin V.G.* Analiz radiobiologicheskikh reakcij drozhevyyh kletok. I. Krivye vyzhivaniya i effect dorastaniya // *Radiobiologiya.* 1972. T. 12. № 2. S. 267–271. (In Russian)]
15. *Капульцевич Ю.Г.* Количественные закономерности лучевого поражения клеток. М.: Атомиздат, 1978. 232 с. [*Kapultcevic Yu.G.* Kolichestvennye zakonomernosti lucheвого pora-zheniya kletok. M.: Atomizdat, 1978 (In Russian)]
16. *Korogodin V.I., Bliznik K.M., Kapul'tsevich Yu.G. et al.* Cascade mutagenesis: regularities and mechanisms // *Proc. Second Int. N. W. Timofeeff-Ressovsky conf. Dubna: JINR,* 2007. V. 1. P. 419–447.
17. *Evstratova E.S., Petin V.G.* The delayed appearance of haploid and homozygous diploid *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells of wild-type and radiosensitive mutants surviving after exposure to gamma rays and alpha particles // *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* 2018. V. 11. № 1. P. 98–103.
18. *Евстратова Е.С., Королев В.Г., Петин В.Г.* Задержка образования колоний диплоидными клетками разного генотипа после облучения УФ светом // *Генетика.* 2019. Т. 55. № 7. С. 832–836. [*Enstratova E.S., Korolyov V.G., Petin V.G.* Zaderzhka obrazovaniya kolonij diploidnymi kletkami raznogo genotipa posle oblucheniya UF svetom // *Genetica.* 2019. T. 55. № 7. S. 832–836. (In Russian)]
19. *Resnick M.A., Cox B.S.* Yeast as an honorary mammal // *Mutat. Res.* 2000. V. 451. № 1. P. 1–11.
20. *Botstein D., Fink G.R.* Yeast: an experimental organism for 21st century // *Genetics.* 2011. V. 189. № 3. P. 695–704.
21. *Chang W.P., Little J.B.* Evidence that DNA double-strand break initiate the phenotype of delayed reproductive death in Chinese hamster ovary cells // *Radiat. Res.* 1992. V. 131. № 1. P. 53–59.
22. *Толсторуков И.И., Ближник К.М., Корогодин В.И.* Митотическая нестабильность диплоидных клеток дрожжей *Pichia pinus*. Сообщение 1. Спонтанное расщепление // *Генетика.* 1979. V. 15. № 12. P. 2140–2147. [*Tolstorukov I.I., Bliznik K.M., Korogodin V.I.* Mitoticheskaya nestabilnost diploidnyh kletok drozzej *Pichia pinus*. Soobshchenie 1. Spontannoe rasshcheplenie // *Genetika.* 1979. T. 15. № 12. S. 2140–2147. (In Russian)]

Survival and Genetic Instability of Yeast Cells of Various Genotypes after UV Irradiation

E. S. Evstratova^a, V. G. Korolev^b, V. G. Petin^c, and M. S. Tolkaeva^{c, #}

^a National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

^b B. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Gatchina, Russia

^c A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

[#] E-mail: marya.tolkaeva@yandex.ru

The study of the genetic instability patterns of cells after exposure to UV radiation is an urgent task, since this effect may precede cancer. New experimental results associated with survival and genetic instability of haploid and diploid *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells of wild-type and UV sensitive mutants surviving after exposure to 254 nm UV light are presented and discussed. The dependence of cell survival on UV light fluence for haploid strain of wild-type was sigmoid and exponential for UV sensitive strains. The shape of the survival curves for diploid wild-type strains was also sigmoid, while homozygous diploid UV sensitive mutants exhibited both exponential and sigmoid survival curves being always more sensitive than their parental strains. Genetic instability was determined by the delayed appearance of clones by cells surviving UV exposure. This effect was shown to be well expressed and attained 100% for diploid both wild-type and mutant cells. On the contrary, haploid cells showed significantly less genetic instability (30–50%) independently of their sensitivity. It is concluded that genetic instability is mainly determined by cell ploidy rather than the cell ability to recover from UV radiation damage and the shape of survival curve as it is conventionally asserted for *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells.

Keywords: ultraviolet radiation, yeast cells, genetic instability, survival, haploid and diploid cells