

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

УДК 663.12:579.24:575.2:539.1.047

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК

© 2022 г. В. Г. Петин<sup>1,\*</sup>, А. В. Рубанович<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

<sup>2</sup> Институт общей генетики РАН им. Н.И. Вавилова, Москва, Россия

\*E-mail: vgpetin@yahoo.com

Поступила в редакцию 13.04.2022 г.

Принята к публикации 29.06.2022 г.

Представлен обзор опубликованных результатов по генетической нестабильности дрожжевых клеток, количественно определяемой задержкой формирования колоний выжившими после облучения клетками. Показано, что генетическая нестабильность определяется плоидностью клеток независимо от их радиочувствительности и способности клеток восстанавливаться от радиационных повреждений. Показано, что ОБЭ  $\alpha$ -частиц  $^{239}\text{Pu}$  практически одинакова как для выживаемости клеток, так и для генетической нестабильности диплоидных и гаплоидных дрожжевых клеток.

**Ключевые слова:** генетическая нестабильность, ионизирующее излучение, выживаемость, дрожжевые клетки, гаплоидные и диплоидные клетки

DOI: 10.31857/S0869803122050113

Данное сообщение, посвященное краткому анализу результатов, опубликованных по генетической нестабильности, основано на монографии [1]. В этой работе генетическую нестабильность количественно оценивали задержкой формирования колоний выжившими после облучения клетками. В последние десятилетия опубликовано много данных, свидетельствующих об отдаленных эффектах радиации, включая индуцированную геномную нестабильность в виде различных нарушений генетического аппарата в потомках многократно поделившихся клеток, подвергавшихся облучению как *in vitro*, так и *in vivo* [1–3]. Во многих публикациях наряду с термином “геномная нестабильность” используют термин “хромосомная нестабильность”, а в общем виде – “генетическая нестабильность”. К проявлениям генетической нестабильности наряду с дестабилизацией хромосом, соматическими мутациями, гетерогенности среди потомства облученных клеток относят и отсроченную репродуктивную гибель клеток, которая феноменологически проявляется задержкой формирования колоний выжившими после облучения клетками. Закономерности этого феномена (эффект “до-растания”) изучены для гаплоидных и диплоидных дрожжевых клеток [4–6]. В этих работах показано, что количественно определяемая таким

образом генетическая нестабильность достигает 100% для диплоидных и лишь 20% для гаплоидных штаммов. Недостатком этих работ было использование негомозиготных гаплоидных и диплоидных штаммов дрожжей. Кроме того, авторы не использовали радиочувствительные мутанты. Был сформулирован вывод, что генетическая нестабильность связана с репарацией ДНК повреждений, которая в большей степени характерна для диплоидных, а не гаплоидных дрожжевых клеток [6]. Однако многие новые результаты демонстрируют необходимость замены этой парадигмы [1]. В этой работе в качестве количественного теста генетической нестабильности авторы использовали процент колоний, образованных позже контроля. Материалы и методы, с помощью которых получены описываемые ниже результаты, детально описаны [1].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таблица 1 включает количественные параметры, характеризующие радиочувствительность (ЛД<sub>90</sub>, Гр) дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* дикого типа и их радиочувствительных *rad*-мутантов, ОБЭ  $\alpha$ -частиц для выживаемости и генетической нестабильности клеток, а также максимальную генетическую нестабильность, опре-

**Таблица 1.** Количественные параметры, характеризующие радиочувствительность гаплоидных и диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*, их генетическую нестабильность и ОБЭ  $\alpha$ -частиц для выживаемости и генетической нестабильности ( $\pm$  указывает SE)

**Table 1.** Quantitative parameters characterizing radiosensitivity of haploid and diploid yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae*, their genetic instability and RBE of  $\alpha$ -particles for survival and genetic instability ( $\pm$  indicates SE)

Штамм	Генотип	ЛД <sub>90</sub> , Гр	ОБЭ $\alpha$ -частиц для выживаемости клеток	ОБЭ $\alpha$ -частиц для генетической нестабильности клеток	Максимальная генетической нестабильности, %
S288C	RAD	160 $\pm$ 15	2.1 $\pm$ 0.3	1.8 $\pm$ 0.2	30
XS800	RAD/RAD	930 $\pm$ 28	4.5 $\pm$ 0.4	4.7 $\pm$ 0.3	100
XS774-4d	<i>rad51</i>	65 $\pm$ 5	2.1 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.1	20
XS806	<i>rad51/rad51</i>	150 $\pm$ 12	2.5 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.3	100
g160/2d	<i>rad52</i>	132 $\pm$ 14	2.7 $\pm$ 0.3	2.0 $\pm$ 0.4	20
XS1898	<i>rad52/rad52</i>	220 $\pm$ 19	2.7 $\pm$ 0.4	1.6 $\pm$ 0.2	100
g218/7c	<i>rad54</i>	45 $\pm$ 6	2.4 $\pm$ 0.1	2.0 $\pm$ 0.3	20
L9	<i>rad54/rad54</i>	93 $\pm$ 11	1.8 $\pm$ 0.1	2.6 $\pm$ 0.3	100

деляемую выходом на плато кривой зависимости доли колоний, сформированных позже контроля, от дозы ионизирующего излучения.

Видно, что ОБЭ  $\alpha$ -частиц для выживаемости диплоидного штамма дикого типа (RAD/RAD) составляет  $4.5 \pm 0.4$  и не отличается от ОБЭ  $4.7 \pm 0.3$  для генетической нестабильности. Значения ОБЭ для всех гаплоидных штаммов и радиочувствительных диплоидных *rad*-мутантов идентичны для выживаемости клеток и для их генетической нестабильности, случайно варьируя в диапазоне 1.8–2.7. Приведенные данные указывают на участие систем пострадиационного восстановления в механизме формирования ОБЭ. Ранее эти данные были получены для выживаемости клеток [7, 8], а для генетической нестабильности они впервые описаны в работе [1].

Из табл. 1 видно, что максимальная генетическая нестабильность гаплоидных дрожжевых клеток, характеризующихся экспоненциальными кривыми выживаемости, с ростом дозы ионизирующего излучения достигает 20–30%, остальные 70–80% клеток образуют на питательной среде колонии одновременно с контролем. Кривые выживаемости диплоидных дрожжевых клеток ди-

кого типа (RAD/RAD), способных к репарации ДНК повреждений, имели сигмоидную форму, и их максимальная генетическая нестабильность составляла 100%. Очевидно также, что максимальная генетическая нестабильность радиочувствительных диплоидных мутантов, дефектных по репарации ДНК повреждений, также составляла 100%. Аналогичные данные получены при облучении штаммов дикого типа и их УФ-чувствительных мутантов (табл. 2).

На основании экспериментальных данных, суммированных в табл. 1 и 2, можно констатировать, что генетическая нестабильность дрожжевых клеток детерминирована плоидностью клеток, а не их способностью к репарации. Действительно, независимо от качества и вида излучения как резистентные, так и радио- и УФ-чувствительные диплоидные штаммы, в отличие от гаплоидных, демонстрируют 100% генетическую нестабильность, когда все выжившие после облучения клетки формировали на питательной среде колонии позже контроля.

На основании приведенных данных можно сделать вывод, что механизм различного проявления генетической нестабильности гаплоидными

**Таблица 2.** Радиобиологические параметры гаплоидных и диплоидных дрожжевых клеток разного генотипа после облучения УФ-светом ( $\pm$  указывает *SE*)**Table 2.** Radiobiological parameters of haploid and diploid yeast cells of different genotypes after exposure to UV light ( $\pm$  indicates *SE*)

Штамм	УФ-чувствительный локус	ЛД 1%, Дж/м <sup>2</sup>	Максимальная генетическая нестабильность, %
S288C	RAD	600	30
XS800	RAD/RAD	985	100
XC6	<i>rad6</i>	76.3	40
XS1956	<i>rad6/rad6</i>	405	100
21-LMG-3031	<i>rad18</i>	155.0	55
XS1924	<i>rad18/rad18</i>	645	100
T1	RAD/RAD	630	100
LMG318	<i>rad2</i>	64.2	50
T2	<i>rad2/rad2</i>	60	100

и диплоидными дрожжевыми клетками, выживающими после облучения, не связан со способностью клеток восстанавливаться от радиационных повреждений, а может быть связан с некоторыми хромосомными повреждениями, например, делециями или даже потерей хромосом, — событиями, которые в большей степени смертельны для гаплоидных, а не диплоидных клеток. Именно поэтому генетическая нестабильность гаплоидных клеток проявляется в значительно меньшей степени, чем диплоидных независимо от их радиочувствительности или способности клеток восстанавливаться от радиационных повреждений.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Евстратова Е.С., Петин В.Г.* Радиобиологические эффекты и генетическая нестабильность клеток. М.: ГЕОС, 2021. 296 с. [*Evstratova E.S., Petin V.G.* Radiobiological Effects and Genetic Instability of Cells. М.: GEOS, 2021. 296 p. (In Russ.)]
2. *Saenko A.S., Zamulaeva I.A.* Features of somatic gene mutagenesis in different age groups of persons exposed to low dose radiation // Multiple stressors: a Challenge for the Future / Eds C. Mothersill, I. Mosse, C. Seymour. Springer, 2007. P. 343–349.
3. *Zheng D.-O., Zhang K., Wu X.-C.* Global analysis of genomic instability caused by DNA replication stress in *Saccharomyces cerevisiae* // PNAS. 2016. V. 113. № 50. P. 8114–8121.
4. *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. [*Kapultsevich Yu.G., Korogodin V.I., Petin V.G.* Analysis of radiobiological reactions of yeast cells. I. Survival curves and the effect of the delayed colony formation // Radiobiology. 1972. V. 12. № 2. P. 267–271. (In Russ.)]
5. *Капульцевич Ю.Г.* Количественные закономерности лучевого поражения клеток. М.: Атомиздат, 1978. 232 с. [*Kapultsevich Yu.G.* Quantitative Patterns of Radiation Damage to Cells. М.: Atomizdat, 1978. 232 p. (In Russ.)]
6. *Корогодин В.И.* Феномен жизни. Избранные труды. Т. 1. М.: Наука, 2010. С. 290–312. [*Korogodin V.I.* Phenomenon of life. Selected works. V. 1. М.: Nauka, 2010. P. 290–312. (In Russ.)]
7. *Петин В.Г.* Генетический контроль модификаций радиочувствительности клеток. М.: Энергоатомиздат, 1987. 204 с. [*Petin V.G.* Genetic Control of Cell Radiosensitivity Modifications. М.: Energoatomizdat, 1987. 204 p. (In Russ.)]
8. *Красавин Е.А.* Проблемы ОБЭ и репарация ДНК. М.: Энергоатомиздат, 1989. 192 с. [*Krasavin E.A.* Problems of RBE and DNA Repair. М.: Energoatomizdat, 1989. 192 p. (In Russ.)]

## Quantitative Approach to the Assessment of Yeast Cell Genetic Instability

V. G. Petin<sup>a,#</sup> and A. V. Rubanovich<sup>b</sup>

<sup>a</sup> *A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiology Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia*

<sup>b</sup> *N. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>#</sup> *E-mail: vgpetin@yahoo.com*

This work is devoted to a review of published results on the genetic instability of yeast cells, quantified by the delay in the formation of colonies by cells surviving after irradiation. It was shown that genetic instability is determined by cell ploidy regardless of their radiosensitivity and cell ability to recover radiation damage. It has been shown that the RBE of <sup>239</sup>Pu  $\alpha$ -particles is practically the same for both cell survival and genetic instability of diploid and haploid yeast cells.

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