

A43 **Актуальные** проблемы радиационной биологии. Молекулярно-генетические исследования в радиобиологии: К 70-летию открытия структуры ДНК: Междунар. конф. (Дубна, 19–20 окт. 2023 г.): Матер. конф. — Дубна: ОИЯИ, 2023. — 129 с.

ISBN 978-5-9530-0601-9

В сборнике представлены материалы международной конференции «Актуальные проблемы радиационной биологии. Молекулярно-генетические исследования в радиобиологии».

Конференция приурочена к 70-летию открытия структуры ДНК: в апреле 1953 г. в журнале «Nature» была опубликована статья Джеймса Уотсона и Фрэнсиса Крика «Структура дезоксирибонуклеиновой кислоты», в которой впервые предложена модель пространственной структуры ДНК — двойная спираль. В программу конференции включены лекции ведущих ученых и сообщения о современных экспериментальных данных и теоретических разработках в области изучения механизмов формирования генетических и эпигенетических изменений в клеточных структурах, подвергнутых действию ионизирующих излучений разного качества, и последствий этих изменений.

Тезисы докладов представлены в авторской редакции.

## **Оргкомитет конференции:**

*Сопредседатели:*

**Красавин Е.А.**, чл.-корр. РАН, председатель Научного совета РАН по радиобиологии, ЛРБ ОИЯИ

**Рубанович А.В.**, д.б.н., проф., ИОГен РАН

**Ушаков И.Б.**, акад. РАН, президент Радиобиологического общества РАН, ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

*Члены оргкомитета:*

**Кошлань И.В.**, *отв. секретарь*, к.б.н., ЛРБ ОИЯИ

**Найдич В.И.**, *отв. секретарь*, к.х.н., Научный совет РАН по радиобиологии

**Борейко А.В.**, д.б.н., проф., ЛРБ ОИЯИ

**Бугай А.Н.**, д.ф.-м.н., проф., ЛРБ ОИЯИ

**Васильев С.А.**, д.б.н., проф., НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ

**Гераськин С.А.**, д.б.н., проф., ВНИИ радиологии и агроэкологии

**Замулаева И.А.**, д.б.н., проф., МРНЦ им. А.Ф. Цыба Минздрава РФ

**Иванов А.А.**, д.м.н., проф., ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

**Москалев А.А.**, чл.-корр. РАН, ИБ Коми НЦ УрО РАН

**Осипов А.Н.**, д.б.н., проф. РАН, ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

**Салеева Д.В.**, к.м.н., ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

## **Организаторы конференции:**

Научный совет РАН по радиобиологии

Радиобиологическое общество РАН

Лаборатория радиационной биологии ОИЯИ

## **Место проведения конференции**

г. Дубна, Объединенный институт ядерных исследований,  
Дом международных совещаний, ул. Строителей, д.2

## АНАЛИЗ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК У ГРЫЗУНОВ ИЗ ЗОНЫ ВЛИЯНИЯ ВОСТОЧНО-УРАЛЬСКОГО РАДИОАКТИВНОГО СЛЕДА

*Е.Б. Григоркина<sup>1</sup>, С.Б. Ракитин<sup>1</sup>, Г.В. Оленев<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия  
e-mail: grigorkina@ipae.uran.ru

*Резюме.* Впервые исследован полиморфизм фрагмента гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК у грызунов из зоны ВУРС. Наибольшие значения индексов генетического разнообразия выявлены у животных из импактного и фонового участков (9.5 км) по сравнению с референтным (220 км). Нуклеотидное разнообразие и среднее число парных различий между гаплотипами оказались наибольшими у особей с сопредельного участка. Сделан вывод о радиогенном происхождении наблюдаемых эффектов и их переносе мигрантами на сопредельные территории.

*Ключевые слова:* митохондриальная ДНК, грызуны, ВУРС, миграция

## ANALYSIS OF MITOCHONDRIAL DNA IN RODENTS FROM EASTERN URALS RADIOACTIVE TRACE ZONE

*E.B. Grigorkina<sup>1</sup>, S.B. Rakiitin<sup>1</sup>, G.V. Olenev<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620144 Russia grigorkina@ipae.uran.ru

*Summary.* Firstly polymorphism of gene cytochrome *b* fragment of mitochondrial DNA in rodents inhabiting EURT zone was analyzed. More high indices of genetic diversity in both samples from EURT zone and background territory (9.5 kms) as compared with reference one (220 kms) was found. Nucleotide diversity and average number of pair distinctions between haplotypes were greatest in specimens from contiguous site. Conclusion: observable effects are radio induced and transferred by migrants on adjacent territories.

*Key words:* mitochondrial DNA, rodents, EURT, migration

Радиобиологический интерес к исследованию митохондриального генома обусловлен высокой чувствительностью митохондриальной ДНК (мтДНК) и самих митохондрий к воздействию ионизирующей радиации и других повреждающих агентов [1]. Это связано с повышенным уровнем индуцируемых повреждений и низкой эффективности систем репарации ДНК в митохондриях. Тем не менее, сведения о влиянии хронического, пролонгированного низкодозового радиационного воздействия на митохондриальный геном у мелких млекопитающих из зон радиоактивного неблагоприятия, единичны [2]. В зоне Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРС), образовавшегося в 1957 г. в результате Кыштымской радиационной аварии, исследование изменчивости мДНК проведено впервые. Основной дозообразующий радионуклид в зоне ВУРС – <sup>90</sup>Sr, который накапливается в скелете позвоночных и является источником постоянного облучения органов и тканей.

Цель работы: изучение уровня полиморфизма фрагмента (866 пн) гена цитохрома *b* (*cytb*) мтДНК в популяциях красных полевков (*Myodes rutilus* Pallas, 1779) из зоны ВУРС, сопредельной и географически удаленной референтной территорий. Материал и методы. Работа выполнена на красных полевках. Для проведения молекулярно-генетических исследований животные одного функционального статуса (неразмножающиеся сеголетки) были отловлены живоловками на трех участках: импактный, сопредельный фоновый и референтный. Импактный находится в зоне ВУРС (Челябинская обл.) в 13 км от эпицентра аварии, запас <sup>90</sup>Sr в почве составляет

9.7 МБк/м<sup>2</sup> (5.5–15.0), исходная плотность загрязнения почвы <sup>90</sup>Sr – 500 Ки/км<sup>2</sup> [3]. Сопредельный фоновый расположен на расстоянии 9.5 км от импактного, плотность загрязнения почвы <sup>90</sup>Sr – 44 кБк/м<sup>2</sup> (2 Ки/км<sup>2</sup>). Референтная группа животных доставлена из окрестностей Свердловской обл. расстояние 220 км, где документирован уровень загрязнения в пределах региональной нормы. Для проведения молекулярно-генетического анализа были получены образцы мышечной ткани от 30 особей. Выделение ДНК, амплификация, секвенирование, обработка последовательностей, детекция результатов проведены в ЦКП ИЭРиЖ УрО РАН.

Результаты и обсуждение. Выявлено более высокое гаплотипическое разнообразие по фрагменту гена *сyt b* у животных из зоны ВУРС ( $h=0.913\pm 0.111$ ;  $N=9$ ) и с сопредельной территории ( $h=0.936\pm 0.05$ ;  $N=13$ ), по сравнению с референтной выборкой ( $h=0.786\pm 0.151$ ;  $N=8$ ). Обращает на себя внимание более высокое значение этого индекса у зверьков с сопредельного участка. Нуклеотидное разнообразие и среднее число парных различий между гаплотипами оказались наиболее высокими в выборке полевок с сопредельного участка ( $\pi(x100)=0.456\pm 0.274$ ;  $k=3.949\pm 2.114$ ). При сравнении выборок из зоны ВУРС и референтного участка эти показатели оказались близкими по значениям ( $\pi(x100)=0.398\pm 0.337$ ;  $k=3.232\pm 2.122$  и  $\pi(x100)=0.392\pm 0.255$ ;  $k=3.393\pm 1.939$ ). По предварительным оценкам обнаружен достаточно высокий уровень межпопуляционной генетической дифференциации ( $F_{st}=0.112$ ), рассчитанной на основе дисперсии частот гаплотипов мтДНК; определяемая ею доля дисперсии составила 11.20% ( $P=0.018$ ). В итоге, наиболее высокие значения всех трёх индексов генетического разнообразия наблюдались в двух локалитетах: в выборках из зоны ВУРС и с сопредельной территории. Стоит отметить повышенный уровень нуклеотидного разнообразия и среднего числа парных различий между гаплотипами на прилежащем зоне ВУРС участке, где уровень радиоактивного загрязнения соответствует фоновым величинам.

Ранее при анализе изменчивости микросателлитных локусов у *M. rutilus* из этих же локалитетов нами были обнаружены существенные различия между красными полевками из зоны ВУРС и референтной выборки [4]. Также было выявлено возрастание некоторых показателей генетического разнообразия (число уникальных аллелей и индекс аллельного разнообразия) у животных на сопредельных территориях. Удельная активность <sup>90</sup>Sr, депонированного в костной ткани грызунов зоны ВУРС, составляла  $105.5\pm 92.1$  Бк/г, в то время как фоновая удельная активность не превышала 0.5 Бк/г. Максимальная и минимальная величины различались в 41 раз (329 Бк/г и 7.94 Бк/г). Мощность дозы на красный костный мозг мышеобразных из зоны ВУРС достигает 300 мкГр/ч [5]. Эти значения выше дозового порога в 100 мкГр/ч, установленного НКДАР ООН [6], что может приводить к радиационно-индуцированным биологическим эффектам.

Логично предположить, что наблюдаемая картина по показателям генетического разнообразия, оцененного по обоим молекулярным маркерам (изменчивости микросателлитной и мтДНК), может быть ассоциирована с дисперсиями животных. Результаты мечения животного населения разными биомаркерами (тетрациклин, родамин) выявили дисперсии красных полевок разного функционального статуса на сопредельный фоновый участок [7]. Следствием миграций является поток генов между популяциями и перенос радиационно-индуцированных эффектов на сопредельные территории, что приводит к увеличению параметров генетического разнообразия. С другой стороны, генетический обмен – это способ восстановления и повышения уровня экологической устойчивости под действием новых неблагоприятных факторов, влекущих развитие новых систем адаптации.

Таким образом, в результате пилотного исследования изменчивости фрагмента гена *cytb* мтДНК красных полевков в зоне влияния ВУРС показано, что внутривидовое разнообразие на импактном и прилежащем фоновом участках выше такового у животных с удаленной референтной территории. Наиболее высокие значения индексов генетического разнообразия наблюдались у животных из зоны ВУРС и с сопредельного участка, взаимосвязанных миграционными отношениями. Полученные результаты приводят к заключению о радиогенном происхождении наблюдаемых эффектов (возрастании индексов генетического разнообразия, оцененных по молекулярным маркерам – изменчивости мтДНК и микросателлитной ДНК). Генетическая дифференциация исследуемых группировок в значительной степени обусловлена хроническим радиационным воздействием, которое можно рассматривать в качестве экологического фактора, способного влиять на генетическую структуру популяции.

Из полученных результатов следует, что мтДНК является чувствительным маркером радиационного воздействия и свидетельствует о мутационном процессе, идущем в популяциях мелких млекопитающих, населяющих в зону влияния ВУРС.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЭРиЖ УрО РАН (№ 122021000077–6).

#### Литература

1. Газиев А.И., Подлущий А.Я. Низкая эффективность систем репарации ДНК в митохондриях // Цитология. 2003. Т. 45. № 4. С. 403–417.
2. Baker R.J., Dickins B., Wickliffe J.K. et al. Elevated mitochondrial genome variation after 50 generations of radiation exposure in a wild rodent // *Evolutionary Applications*. 2017. V. 10. P. 784–791.
3. Molchanova I., Mikhailovskaya L., Antonov K. et al. Current assessment of integrated content of long-lived radionuclides in soils of the head part of the East Ural Radioactive Trace // *J. Environ. Radioact.* 2014. V. 138. N. 6. P. 238–248. [www.elsevier.com/locate/jenvrad](http://www.elsevier.com/locate/jenvrad)
4. Rakitin S.B., Grigorkina E.B., Olenev G.V. Analysis of microsatellite DNA in rodents from Eastern Urals radioactive trace zone and contiguous territories. *Russ. J. Genet.* 2016. V. 52. N. 4. P. 398–404. doi: 10.1134/S1022795416030121
5. Malinovsky G.P., Yarmoshenko I.V., Starichenko V.I. et al. Assessment of radiation exposure of murine rodents at the EURT territories // *Central European Journal of Biology*. 2014. V. 9. N. 10. P. 960–966. doi: 10.2478/s11535-014-0321-2
6. Sources effects and risks of ionizing radiation. UNSCEAR 2008 Report to General Assembly with Scientific Annexes. New York: UNSCEAR. 2011. 219 p.
7. Grigorkina E.B., Olenev G.V. Migrations of rodents in the zone of local radioactive contamination at different phases of population dynamics and their consequences // *Biology Bulletin*. 2018. V. 45. N. 1. P. 110–118. doi: 10.1134/S1062359018010041

## ИНДУКЦИЯ ГЕННЫХ И КОМПЛЕКСНЫХ МУТАЦИЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ И УСКОРЕННЫХ ИОНОВ АЗОТА В ГАПЛОИДНЫХ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ

*Н. И. Жучкина, Н. В. Шванева, Н. А. Колтовая*

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

[gem\\_nadin@bk.ru](mailto:gem_nadin@bk.ru)

*Резюме.* Изучение закономерностей индукции генных мутаций показало, что частота возникновения мутаций зависела от ЛПЭ. ОБЭ мутагенного действия от ЛПЭ для мутаций сдвига рамки считывания и прямых мутаций представляла собой кривую с локальным максимумом около 100 кэВ/мкм. Редко ионизирующее излучение вызывало замены оснований более эффективно, чем ускоренные тяжелые ионы. Тяжелые ионы вызывали более эффективно делеции и комплексные мутации.

*Ключевые слова:*  $\gamma$ -лучи, тяжелые ионы, генные мутации, *Saccharomyces cerevisiae*.

## INDUCTION OF GENE AND COMPLEX MUTATIONS BY GAMMA-RAYS AND ACCELERATED NITROGEN IONS IN HAPLOID EUKARYOTIC CELLS

*N. I. Zhuchkina, N. V. Shvaneva, N. A. Koltovaya*

Joint Institute for Nuclear Research, Joliot-Curie 6, 141980 Dubna, Russia

[gem\\_nadin@bk.ru](mailto:gem_nadin@bk.ru)

*Summary.* A study of the patterns of induction of gene mutations showed that the frequency of mutations depended on LET. The RBE of mutagenic effect from LET for frameshift mutations and direct mutations was a curve with a local maximum of about 100 keV/ $\mu$ m. Rarely has ionizing radiation caused base substitutions more efficiently than accelerated heavy ions. Heavy ions caused deletions and complex mutations more effectively.

*Keywords:*  $\gamma$ -rays, heavy ions, point and complex mutations, yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

Воздействие ионизирующего излучения приводит к возникновению различных повреждений ДНК, приводящих к мутациям, перестройкам и гибели клеток. Возникающие в клетках первичные повреждения – двунитевые и однострунчатые разрывы, поперечные сшивки, модификации оснований – нарушают матричные процессы и приводят к возникновению мутаций. Гомологичная рекомбинация устраняет одно- и двунитевые разрывы. Хотя долгое время она считалась безошибочной, но в последнее время было показано, что в результате гомологичной рекомбинации могут возникнуть небольшие мутации (точечные мутации, сдвиг рамки считывания, небольшие делеции и инсерции) [1]. Репарация двунитевых разрывов ДНК путем негомологичного соединения концов также может приводить к вставке или потере нескольких нуклеотидов. Большой вклад в процесс возникновения мутаций вносят вторичные повреждения, возникающие в результате действия активных форм кислорода.

Консервативность базовых молекулярных клеточных процессов, в том числе репарационных, делает возможным использование модельных эукариотических систем. Одной из наиболее привлекательных моделей в биологических исследованиях служат одноклеточные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Они хорошо генетически охарактеризованы и представляют собой подходящую базу для анализа мутаций, молекулярную природу которых в настоящее время позволяют детально изучить методы, использующие полимеразную цепную реакцию и секвенирование. В данной