

ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

19-84-798

К.Г.Амиртаев, Е.А.Красавин, С.Козубек,
Б.Токарова, А.Нямсамбуу

РОЛЬ ГЕНОТИПА
В РАДИОЗАЩИТНОМ ДЕЙСТВИИ ГЛИЦЕРИНА
ПРИ γ -ОБЛУЧЕНИИ БАКТЕРИЙ
ESCHERICHIA COLI

Направлено в журнал
"Studia biophysica"

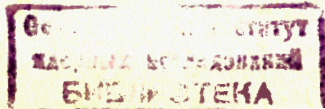
1984

В последнее время получены убедительные доказательства генетической детерминированности радиозащитного действия аминотиолов и индолилалкиламинов при γ -облучении бактерий^{/1-8/}. Мутационные нарушения различных этапов репарации ДНК обуславливают снижение их защитного влияния. Показано, что в присутствии аминотиолов и индолилалкиламинов происходит уменьшение выхода энзиматических двунитевых разрывов /ЭДР/ ДНК вследствие угнетения активности эндонуклеаз, осуществляющих инцизию ферментлабильных сайтов^{/1,2,4/}. Поскольку ЭДР являются основными летальными событиями для клеток дикого типа, уменьшение выхода ЭДР ДНК в присутствии радиопротекторов и обуславливает их радиозащитный эффект^{/1-5/}. У чувствительных мутантов летальными являются не только двунитевые разрывы /ДР/ ДНК, но и другие типы повреждений. В связи с этим радиопротекторы неэффективны при γ -облучении большинства чувствительных мутантов.

В отличие от аминотиолов и индолилалкиламинов механизм действия многоатомных спиртов, как можно полагать, не связан с влиянием на ферменты, участвующие в репарации ДНК. Их радиозащитное действие, судя по данным разных авторов^{/5,6/}, есть результат физико-химических процессов. Если такая точка зрения соответствует действительности, то многоатомные спирты должны оказывать защитное влияние при γ -облучении не только клеток дикого типа, но и чувствительных мутантов. Для проверки этого предположения и было предпринято настоящее исследование.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использованы следующие штаммы бактерий *E. coli* K 12: дикий тип - AB1157 (thr-1 leu-6 pro-A2 his-4 arg E3 lac Y1 gal K2 ara-14 xyl-5 mt1 1 tsx-33 str A31 sup E37), чувствительные мутанты AB 2463 (rec A13) и P 3478 (pol A1). Выращивание бактериальных культур проводили до стационарной фазы /2-3·10⁹ клеток в 1 мл/ на полной питательной среде, приготовленной на основе аминокептида /завод медпрепаратов Ленинградского мясокомбината/, разбавленного в три раза 0,15 М NaCl. В качестве радиопротектора использовали глицерин в концентрации 1 М. Известно, что глицерин в данной концентрации эффективно защищает бактериальные клетки при γ -облучении^{/7/}. После выращивания клетки осаждали центрифугированием в течение 10 мин /8000 г/. Культуру ресуспендировали в 1/3 объема M9-буфера и к части образцов добавляли глицерин в необходимой концентрации. Инкубация



образцов с протектором осуществлялась в течение 30 мин перед облучением.

Облучение клеток проводили во флаконах объемом 10 мл на установке с γ -источником Cs^{137} при комнатной температуре. Мощность дозы облучения составляла 35 Гр/мин. После облучения клетки рассеивали в чашки Петри с твердой питательной средой УЕР. Подсчет макроколоний производили через 24-48 ч после облучения.

Аноксические условия создавали путем продувки облучаемых образцов азотом в течение 30 мин перед облучением. Опыты проводили в 3-5 повторностях; полученные результаты подвергали статистической обработке.

Радиочувствительность (D_0^{-1}) клеток и величину экстраполяционного числа (n) определяли путем вычисления и минимизации суммы квадратов (S^2):

$$S^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(S_{i_t} - S_{i_e})^2}{\Delta S_i^2}, \quad /1/$$

где S_{i_t} - теоретическая величина выживаемости клеток при облучении дозой D , вычисленная по многомишенной формуле

$$S = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^n; \quad /2/$$

S_{i_e} - экспериментально определяемая величина выживаемости клеток и ΔS_i - ее статистическая ошибка, n - экстраполяционное число. Начальные значения ΔS_i определяли как сумму статистической ошибки $1/\sqrt{\sum N}$, где N - общее число подсчитываемых колоний на всех чашках Петри/ и ошибки в разведении суспензии, связанной с неточностью при взятии нужного объема пробы^{/8/}. Определенные подобным образом значения ΔS_i слишком малы, чтобы принадлежать одной зависимости $S(D)$ типа /2/, поскольку S^2 достигает 5-10 на степень свободы. Для определения ошибки параметров кривой выживания в подобных случаях необходимо увеличить ΔS_i так, чтобы величина S^2 соответствовала числу степеней свободы. В связи с этим величина ΔS_i получается в среднем в 2-2,5 раза большей по сравнению с чисто статистической ошибкой. При определении ошибки радиочувствительности мы либо увеличивали, либо уменьшали величину D_0^{-1} и для каждого ее значения определяли оптимальную величину n , соответствующую наименьшему S^2 . Ошибка величины D_0^{-1} соответствует увеличению S^2 на единицу. Статистическую ошибку при этих расчетах увеличивали как минимум в 2 раза. Для минимизации S^2 была использована шаговая программа /упрощенный метод Розенброка/. Расчеты проводили на ЭВМ. Ошибки относительных величин /фактора уменьшения дозы /ФУД/ радиопротектора и кислородного эффекта /КЭ// определены из наибольшей ошибки любой из двух сопоставляемых величин, полученных в параллельных опытах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис.1 представлены кривые выживания клеток *E.coli* дикого типа при γ -облучении в обычных условиях и в присутствии глицерина. Как можно видеть, 1 М глицерин эффективно защищает клетки от инактивирующего действия γ -лучей с ФУД, равным $2,52 \pm 0,25$ /табл.1/. Отчетливо выраженное защитное действие глицерина наблюдается и при облучении $recA^-$ -мутанта. Из материалов, представленных на рис.2 и табл.1, видно, что резистентность к γ -облучению клеток $recA^-$ -мутанта в присутствии глицерина выше, и величина ФУД составляет $2,03 \pm 0,12$.

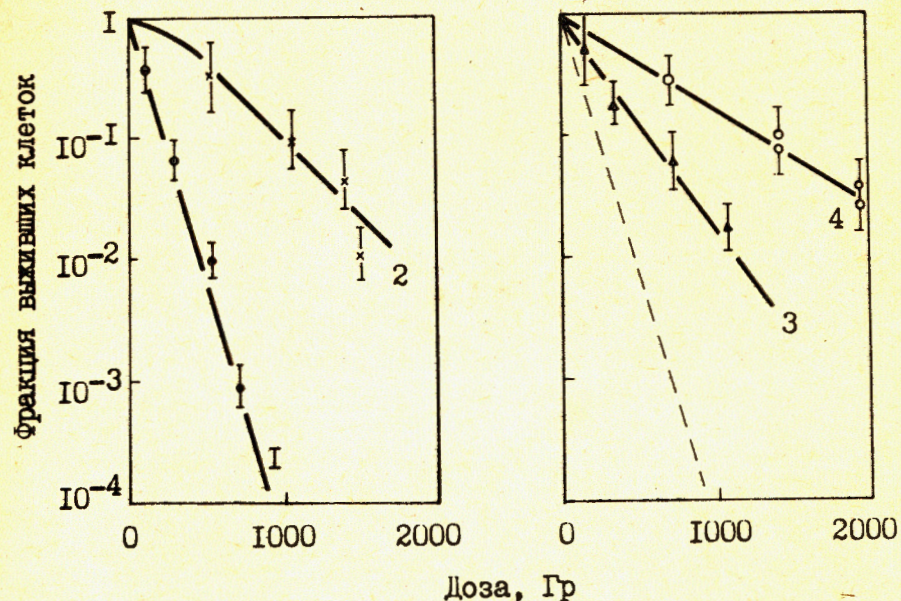


Рис.1. Кривые выживания γ -облученных клеток дикого типа в аноксических условиях и в присутствии глицерина. 1 - облучение в обычных условиях; 2 - облучение в аноксии; 3 - облучение в присутствии глицерина; 4 - облучение в аноксических условиях и в присутствии глицерина. По оси абсцисс: доза облучения, Гр; по оси ординат: фракция выживших клеток.

Наиболее эффективно по сравнению с клетками дикого типа и $recA^-$ -мутанта глицерином защищаются клетки $rolA^-$ -мутанта /рис.3/. Действительно, как видно из данных, представленных в табл.1, величина ФУД в этом случае составляет $2,80 \pm 0,26$. Следовательно, эффективность радиозащитного действия глицерина генетически детерминирована и последовательно возрастает в ряду изученных штаммов *E.coli*: $recA^- \rightarrow$ дикий тип $\rightarrow rolA^-$ -мутант.

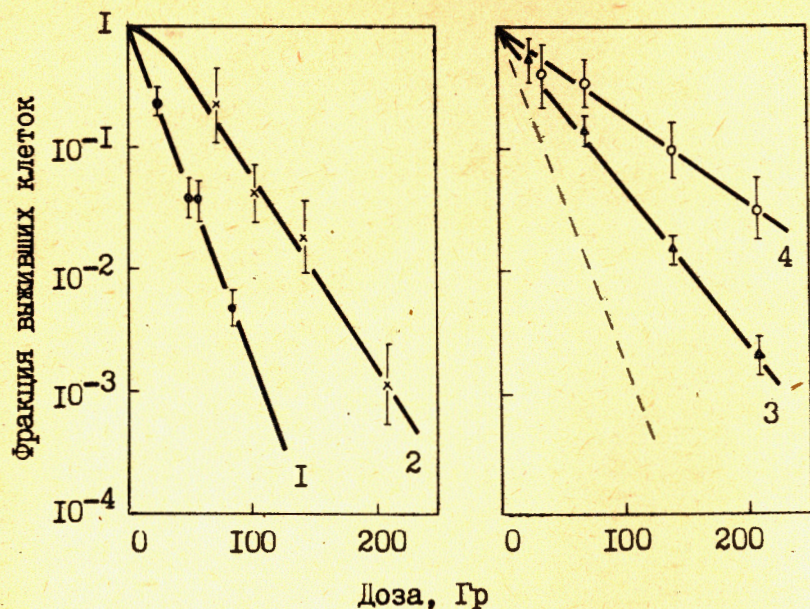


Рис.2. Кривые выживания γ -облученных клеток $gesA^-$ -мутанта в анаэробических условиях и в присутствии глицерина. Обозначения те же, что и на рис.1.

Таблица 1

Влияние глицерина на чувствительность разных штаммов бактерий *E.coli* к γ -облучению

Генотип	Без протектора			С глицерином			ФУД ₀
	$D_0^{-1} 10^{-2}$ Гр-I	$\Delta, \%$	n	$D_0^{-1} 10^{-2}$ Гр-I	$\Delta, \%$	n	
дикий тип	1,0	6	1,53	0,397	10	1	2,52 \pm 0,25
$gesA^-$	6,2	6	1,04	3,06	6	1,17	2,03 \pm 0,12
$rolA^-$	4,9	9	1,53	1,75	13	1	2,80 \pm 0,26

$$ФУД_0^* = \frac{D_0^{-1} \text{ без протектора}}{D_0^{-1} \text{ с глицерином}}$$

Сходная по направленности картина наблюдается и для кислородного эффекта, выявленного в экспериментах на данных штаммах /рис.1-3, табл.2/. Для $gesA^-$ -мутанта, клеток дикого типа

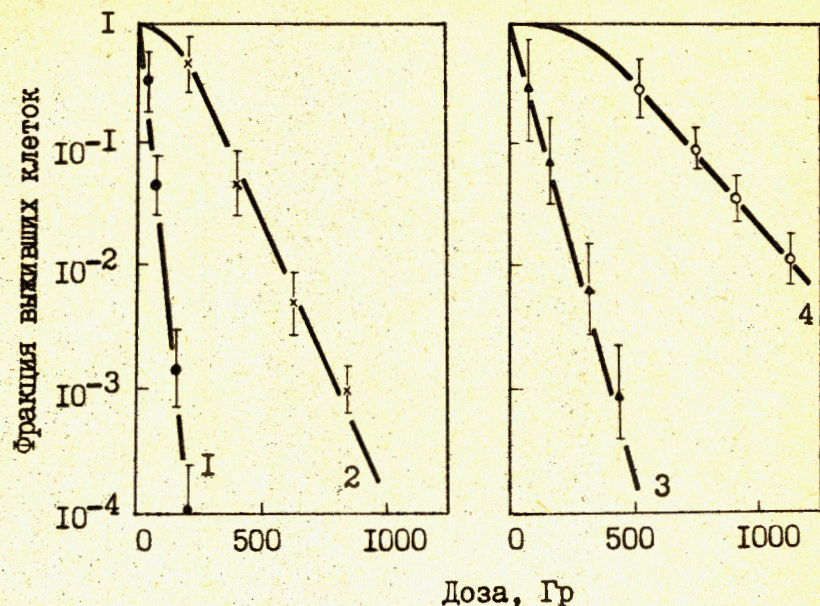


Рис.3. Кривые выживания γ -облученных клеток $gesA^-$ -мутанта в анаэробических условиях и в присутствии глицерина. Обозначения те же, что и на рис.1.

и $rolA^-$ -мутанта величина КЗ соответственно составляет $1,77 \pm 0,23$; $3,38 \pm 0,29$ и $4,66 \pm 0,41$. Полученные результаты согласуются с данными других авторов^{19/}.

Известно, что при γ -облучении клеток в условиях анаэробии защитное действие аминотиолов существенно уменьшается^{10,11/}. Кислороднезависимый компонент радиозащитного действия тиолов характеризуется ФУД, равным ~1,5. В наших экспериментах уменьшение радиозащитного влияния в анаэробических условиях наблюдается и для глицерина /рис.1-3, табл.2/. Однако защитное действие глицерина и цистеамина в анаэробических условиях существенно различно. Во-первых, при облучении клеток дикого типа в присутствии глицерина величина кислороднезависимого компонента несколько больше, чем это наблюдается для аминотиолов; во-вторых, что наиболее важно, глицерином в отличие от цистеамина в анаэробии защищаются и репарационные мутанты и, в-третьих, величина ФУД для глицерина не зависит от генотипа клеток и составляет ~2.

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о генетической детерминированности радиозащитного действия глицерина - представителя класса многоатомных спиртов. Однако эта детерминированность заключается не в уменьшении или исчезновении защитного эффекта протектора при облучении репарационных мутантов, что имеет место для цистеамина и мексамина^{1-8/}.

Радиочувствительность клеток *E. coli* дикого типа, *gcsA*⁻ и *rolA*⁻ мутантов при γ -облучении в различных условиях

Генотип	Нормальные условия			Аноксия			КЭ	Аноксия+глицерин			ФУД	ФУД _{Тот}
	D ₀ ⁻¹	$\Delta, \%$	n	D ₀ ⁻¹	$\Delta, \%$	n		D ₀ ⁻¹	$\Delta, \%$	n		
дикый тип	1,0	6	1,53	0,296	14	2,19	3,39+	0,158	12	1,08	1,87+	6,33+
							0,29-				0,26-	0,76-
<i>gcsA</i> ⁻	6,2	6	1,04	3,5	13	1,93	1,77+	1,67	8	1	2,09+	3,71+
							0,23-				0,27-	0,90-
<i>rolA</i> ⁻	4,9	9	1,53	1,05	8	5,04	4,66+	0,58	22	7,95	1,78+	8,45+
							0,41-				0,39-	1,84-

$$\text{ФУД} = \frac{D_0^{-1} \text{ аноксия}}{D_0^{-1} \text{ аноксия} + \text{глицерин}},$$

$$\text{ФУД}_{\text{Тот}} = \frac{D_0^{-1} \text{ норм. условия}}{D_0^{-1} \text{ аноксия} + \text{глицерин}}$$

а в возрастании радиозащитного влияния глицерина в ряду использованных штаммов *E. coli*: *gcsA*⁻ мутант → дикий тип → *rolA*⁻ мутант. Как уже замечено выше, аналогичная картина наблюдается и для кислородного эффекта. Перечисленные обстоятельства указывают на то, что механизм радиозащитного влияния глицерина отличается от протекторного механизма тиолов и индолилалкиламинов. Аналогичная зависимость защитного действия глицерина и аноксии от клеточного генотипа дает основание полагать, что радиопротекторное влияние глицерина реализуется на физико-химическом уровне, а не на уровне ферментативной репарации, как это имеет место у аминотиолов и индолилалкиламинов. Известно, что спирты эффективно реагируют с радикалами OH·, на долю которых приходится около 60% всех индуцированных повреждений в клетке^{/5,6/}. Это может приводить к снижению выхода первичных повреждений ДНК, образующихся в результате реакции OH· радикалов с молекулой ДНК.

В^{/12,13/} при анализе роли репарации ДНК в реализации КЭ отмечено, что в аноксических условиях происходит уменьшение выхода односторонних разрывов /ОР/ ДНК, которые восстанавливаются *rolA*-зависимым типом репарации (ОР₁^r). Можно полагать, что в присутствии глицерина за счет его способности перехватывать OH· радикалы выход ОР₁^r уменьшается. В соответствии с механизмом, рассмотренным в^{/13/}, такое уменьшение выхода ОР₁^r должно по-разному отражаться на снижении величины D₀⁻¹ у *gcsA*⁻ мутанта, клеток дикого типа и *rolA*⁻ мутанта. В меньшей степени снижение выхода ОР₁^r должно сказываться на чувствительности *gcsA*⁻ мутанта, и в большей степени по сравнению с клетками дикого типа у *rolA*⁻ мутанта. Такая ситуация действительно имела место в наших экспериментах, когда мы исследовали эффективность защитного влияния глицерина на клетках *E. coli* с разным репарационным генотипом.

Из анализа полученных материалов следует, что кислороднезависимый компонент защитного действия глицерина не зависит от репарационного генотипа клеток. В рамках представлений, развитых в^{/12,13/}, это может означать, что в присутствии глицерина снижается не только выход ОР₁^r, но и ОР ДНК, не восстанавливаемых *rolA*-зависимым типом репарации (ОР₁^{ir}). Проведем модельный анализ описанной ситуации.

В соответствии с^{/14/} радиочувствительность клеток *E. coli* можно описать в виде

$$D_0^{-1} = \frac{N_{\text{OP}_1}^r}{Q \cdot S} + \frac{N_{\text{OP}_1}^{\text{ir}}}{S} + N_{\text{пдр}},$$

/13/

где Q и S - коэффициенты, отражающие эффективность соответственно *rolA*-зависимой и медленной репарации; N_{пдр} - выход прямых ДР ДНК, составляющих пренебрежимо малую величину в суммарном выходе ДР при γ -облучении^{/15-17/}. С учетом этого КЭ можно

Защитное влияние глицерина при γ -облучении клеток *E. coli* с разным репарационным генотипом /сопоставление теоретических и экспериментальных данных/

Генотип	Q	S	$D_0^{-1} \cdot 10^{-2} \text{ Гр}^{-1}$		$\Phi \text{ У Д }_0$	$\Phi \text{ У Д }_{\text{тот}}$	КЭ						
			Глицерин	Глицерин + аноксия				Глицерин	Глицерин + аноксия	в глицерине			
			теор.	экспер.	теор.	экспер.	теор.						
дикий тип	$3,6 \pm 1,5$	$21,2 \pm 7,6$	0,40+ 0,04	0,19	0,16+ 0,02	2,45	2,52+ 0,12	7,34	6,33+ 0,76	2,15	1,87+0,26	2,49	2,51
гес А-	$18,9 \pm 2,9$	I	3,06+ 0,18	1,36	1,67+ 0,13	2,10	2,03+ 0,25	3,45	3,71+ 0,30	1,91	2,09+0,27	1,55	1,83
ро1 А-	I	$13,2 \pm 0,8$	1,75+0,23	0,47	0,58+ 0,13	2,55	2,80+ 0,26	11,07	8,45+ 0,84	2,39	1,78+0,39	3,10	2,98

* Параметры Q и S соответствуют обычным условиям облучения клеток /нормальная оксигенация, без протектора/.

** $\Phi \text{ У Д }_0$, $\Phi \text{ У Д }_{\text{тот}}$ рассчитаны, как и в табл.1 и 2.

выразить как

$$KЭ = \frac{N_{OP_1}^{r_0} / Q + N_{OP_1}^{ir}}{N_{OP_1}^{r_0} / Q + N_{OP_1}^{ir}}$$

где $N_{OP_1}^{r_0}$ и $N_{OP_1}^{ir}$ - количество восстанавливаемых ро1А-зависимой репарацией OP_1^r , возникающих соответственно в кислородных и аноксических условиях. Значения параметров Q и S, рассчитанные из полученных нами экспериментальных данных /табл.2/, приведены в табл.3. Величина $N_{OP_1}^{ir}$ составляет $0,029 \pm 0,004 \text{ Гр}^{-1} \text{ геном}^{-1}$ и $N_{OP_1}^{r_0} / N_{OP_1}^{ir} = 5,5 \pm 0,5$. С учетом этого, на основе данных табл.1 и 2 определим далее выход OP_1^r и OP_1^{ir} в присутствии глицерина.

Предположим, что значения параметров Q и S не меняются при облучении клеток в условиях влияния протектора. На основе результатов, представленных в табл.1, можем вычислить величины выходов OP_1^r и OP_1^{ir} в присутствии глицерина. Наилучшее соответствие значения D_0^{-1} и величины КЭ при облучении клеток в условиях глицерина, согласно /3/, /4/, получается при следующих значениях выходов OP_1^r и OP_1^{ir} : $N_{OP_1}^{r_0} = 0,244 \text{ Гр}^{-1} \text{ геном}^{-1}$; $N_{OP_1}^{ir} = 0,696 \text{ Гр}^{-1} \text{ геном}^{-1}$ и $N_{OP_1}^{ir} = 0,0132 \text{ Гр}^{-1} \text{ геном}^{-1}$. Это означает, что в присутствии глицерина выход OP_1^r и OP_1^{ir} меньше соответственно в 2,7 и 2,2 раза. Облучение аноксических клеток в условиях глицерина снижает выход OP_1^r в 1,7 раза.

В свете развиваемых представлений рассмотрим модифицируемость ОР ДНК разного происхождения при облучении клеток в различных условиях. Введем следующие обозначения: $(N_{OP_1}^r)_d^0$ и $(N_{OP_1}^r)_i^0$ - выход OP_1^r , модифицируемых кислородом и возникающих соответственно в результате прямого и непрямого действия излучения; $(N_{OP_1}^r)_d^N$ и $(N_{OP_1}^r)_i^N$ - выход OP_1^r , не модифицируемых кислородом и возникающих соответственно в результате прямого и непрямого действия излучения. На основе вышеизложенного можем оценить относительный вклад этих типов повреждений в летальный эффект /рис.4/. Как можно видеть из представленных материалов, полной независимости защитного действия глицерина и аноксии по модификации выхода OP_1^r нет. При независимом варианте защитного действия глицерина и аноксии можно ожидать, что фракции повреждений, не модифицируемых протектором и аноксией / f_g и f_a /, и фракция повреждений, не модифицируемых при совместном их воздействии (f_{ga}), должны удовлетворять следующему равенству:

$$f_g \cdot f_a = f_{ga}$$

$(N_{OP_1}^r)_i$ $(N_{OP_1}^r)_d$

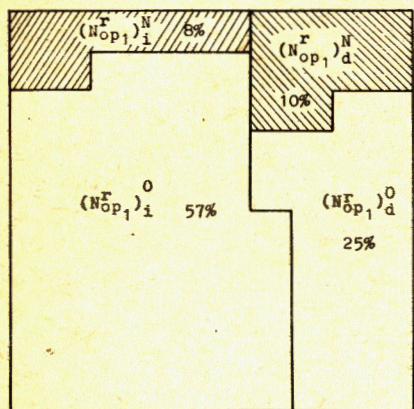


Рис.4. Относительный выход различных типов ОР ДНК, индуцируемых прямым и непрямым действием γ -облучения на клетки *E.coli*. Пояснения в тексте.

Однако, как видно из рис.4, $f_g = 0,35$; $f_a = 0,18$ и $f_{ga} = 0,1$. В таком случае, $f_g \cdot f_a = 0,063 < 0,1$. Следовательно, совместная защита глицерином и аноксией не достигает значения $f_g \cdot f_a$. Другими словами, защитное действие аноксии в присутствии глицерина /или защитное действие глицерина в аноксических условиях/ менее эффективно по сравнению с нормальными условиями.

Для оценки меры аддитивности воздействия аноксии и глицерина введем следующий фактор

$$F = \frac{f_g \cdot f_a}{f_{ga}},$$

16/

который отражает разный характер повреждений, возникающих в результате прямого и непрямого действия излучения. При $F = 1$ имеется полная аддитивность воздействия двух факторов /независимость влияния каждого из них/. Уменьшение F отражает ситуацию, когда каждый из двух факторов действует однонаправленно, снижая выход однотипных повреждений. Величина $1 - F$ отражает относительное увеличение повреждений, не модифицируемых аноксией, в присутствии глицерина. В нашем случае $F = 67\%$ и $1 - F = 33\%$. Это означает, что количество $(N_{OP_1}^r)_d^N$ на 33% больше в присутствии глицерина, чем количество $(N_{OP_1}^r)_d^N + (N_{OP_1}^r)_i^N$ в его отсутствие.

В заключение отметим, что в соответствии с полученными нами данными /рис.4/, величина КЭ по критерию индукции OP_1^r , вызванных непрямым действием излучения /ОН \cdot радикалы/, составляет ~ 8 , а по критерию выхода OP_1^r , возникающих вследствие прямого действия, составляет $\sim 3,5$. С учетом этого обращает на себя внимание следующее обстоятельство. Величина КЭ, определяемая по выходу ОР с использованием обычных методов и метода импульсного облучения и сверхбыстрого лизиса клеток, варьирует в пределах от 3 до 6^{18,19}. Высокие значения выходов ОР в последнем случае / $\sim 10^{-11}$ сГр $^{-1}$ дальтон $^{-1}$ / могут указывать на более существенную роль непрямого действия в индукции повреждений ДНК. При данных условиях облучения выявляются и наиболее высокие величины КЭ

/-6/. По нашим оценкам, $\sim 65\%$ индуцируемых OP_1^r ($(N_{OP_1}^r)_i^0 + (N_{OP_1}^r)_i^N$) в кислородных условиях возникают в результате непрямого действия

излучения, а в аноксических условиях: $\left(\frac{(N_{OP_1}^r)_i^N}{(N_{OP_1}^r)_i^0 + (N_{OP_1}^r)_d^N} \right)$ их

количество составляет 44%. Количество OP_1^r , образующихся в результате непрямого действия излучения и модифицируемых кислородом

$\left(\frac{(N_{OP_1}^r)_i^0}{(N_{OP_1}^r)_i^0 + (N_{OP_1}^r)_d^0} \right)$, составляет $\sim 70\%$.

Таким образом, полученные нами материалы, свидетельствуют о высокой эффективности радиозащитного действия глицерина при γ -облучении клеток *E.coli*. Защитное влияние глицерина генетически детерминировано, и эффективность его возрастает в ряду изученных штаммов *E.coli*: *tesA* $^-$ -мутант, \rightarrow дикий тип \rightarrow *rolA* $^-$ -мутант. Кислороднезависимый компонент его действия не зависит от репарационного генотипа и составляет ~ 2 . Эти данные свидетельствуют о том, что механизм радиозащитного действия глицерина реализуется на уровне первичных физико-химических процессов, а не на уровне ферментативной репарации ДНК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бреслер С.Е., Носкин Л.А. Радиобиология, 1978, 18, с.548-556.
2. Bresler S.E. et al. Molec.gen.Genet., 1978, 163, p.75-85.
3. Калинин В.Л. и др. Радиобиология, 1979, 19, с.548-555.
4. Кузнецова Е.А. и др. Радиобиология, 1983, 23, с.730-733.
5. Cramp W.A. Int.J.Radiat.Biol., 1969, 15, p.227-232.
6. Sanner T., Pihl A. Radiat.Res., 1969, 37, p.216-227.
7. Alper T. Cellular Radiobiology, Cambridge Univ.Press, 1979.
8. Боуг Д.В. В кн.: Жизнеспособность клеток, облученных в малых дозах: теоретические и клинические аспекты. Медицина, М., 1980, с.47-58.
9. Sabora O. et al. Radiat.Res., 1977, 69, p.293-305.
10. Kohn H.J., Gunter S.E. Radiat.Res., 1959, 11, p.732-744.
11. Kohn H.J., Gunter S.E. Radiat.Res., 1960, 13, p.250-255.
12. Козубек С., Красавин Е.А. ОИЯИ, 19-83-715, Дубна, 1983.
13. Козубек С., Красавин Е.А. ОИЯИ, 19-83-716, Дубна, 1983.
14. Козубек С., Красавин Е.А. ОИЯИ, 19-83-884, Дубна, 1983.
15. Козубек С., Красавин Е.А. Радиобиология, 1984, 24, с.465-461.
16. Козубек С., Красавин Е.А. Радиобиология, 1984, 24, с.462-467.

17. Козубек С., Красавин Е.А. Радиобиология, 1984, 24, с.520-525.
18. Town Ch.D. et al. Radiat.Res., 1973, 55, p.334-345.
19. Johansen I. et al. Proc.Nat.Acad.Sci.USA, 1975, 72, p.167.

Рукопись поступила в издательский отдел
13 декабря 1984 года.

Амиртаев К.Г. и др.
Роль генотипа в радиозащитном действии глицерина
при γ -облучении бактерий *Escherichia coli*

19-84-798

Изучено модифицирующее влияние глицерина и аноксии на выживаемость различных штаммов бактерий *E.coli*: дикого типа, *recA*⁻ и *polA*⁻-мутантов при γ -облучении. Полученные данные свидетельствуют о том, что радиозащитное влияние глицерина возрастает в ряду изученных штаммов: *recA*⁻-мутант \rightarrow дикий тип \rightarrow *polA*⁻-мутант. Величина фактора изменения дозы соответственно составляет $2,03 \pm 0,12$; $2,52 \pm 0,25$; $2,80 \pm 0,26$. Аналогичная направленность генетической детерминированности модифицирующего влияния наблюдается и для аноксии. Величина кислородного эффекта для *recA*⁻-мутанта, клеток дикого типа и *polA*⁻-мутанта соответственно составляет: $1,77 \pm 0,23$; $3,38 \pm 0,29$; $4,66 \pm 0,41$. Выяснено, что кислороднезависимый компонент радиозащитного влияния глицерина от репарационного генотипа изученных штаммов *E.coli* не зависит и равен 2. Обсуждаются возможные механизмы генетической детерминированности радиозащитного влияния глицерина и аноксии.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1984

Amirtayev K.G. et al.
The Role of Genotype in Protection
Against γ -Radiation of *Escherichia Coli* Cells by Glycerol

19-84-798

The protective effect of glycerol and anoxia on the survival of γ -irradiated *E.coli* cells of wild type, *recA*⁻, *polA*⁻ mutants has been investigated. The protection by glycerol increases from *recA*⁻ mutant to wild type and *polA*⁻ mutant with dose modifying factors (DMF) being 2.03 ± 0.12 , 2.52 ± 0.25 , and 2.80 ± 0.26 . Analogically the protection by hypoxia is genetically determined, too. The value of oxygen effect increases from 1.77 ± 0.23 for *recA*⁻ mutant to 3.38 ± 0.29 for wild type cells and 4.66 ± 0.41 for *polA*⁻-mutant. The oxygen independent component of glycerol protection is genetically independent (DMF = 2). Possible mechanisms of genetic determination of the protection by glycerol and anoxia are discussed.

The investigation has been performed at the Laboratory of Nuclear Problems, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1984