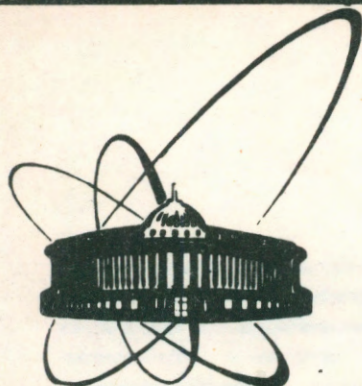


88-191

ЗИЛ



ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

P19-88-191

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

МУТАГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ
УСКОРЕННЫХ ТЯЖЕЛЫХ ИОНОВ
НА КЛЕТКИ *Escherichia coli*

Направлено в журнал "Радиобиология"

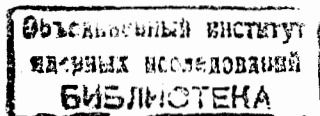
1988

Информация о мутагенном действии ионизирующих излучений с высокой линейной передачей энергии (ЛПЭ или L) на клетки весьма ограничена и неоднозначна: противоречивы сведения о характере зависимости частоты мутирования клеток от дозы плотноионизирующих излучений, отсутствует цельная картина зависимости мутагенной эффективности излучений от ЛПЭ. В 1938 г. на бактериях было впервые показано [1], что в отличие от рентгенооблучения, когда число мутантов среди выживших клеток прямо пропорционально возрастает с дозой облучения, при действии α -частиц радона наблюдается отклонение от прямо пропорциональной зависимости. Оно заключается в том, что при дозах α -частиц, составляющих 1% уровня выживания, количество мутантов среди выживших клеток снижается с ростом дозы облучения. Однако в более поздних работах по изучению частоты реверсий, к прототрофности по триптофану облученных бактерий *E.coli* ускоренными тяжелыми ионами подобной зависимости отмечено не было [2]. Не наблюдалось отклонение от прямо пропорциональной дозовой зависимости выхода гистидиновых ревертантов у бактерий и в недавно выполненных экспериментах с тяжелыми ионами со сверхвысокими значениями L [3]. Вместе с тем в работе [4] по облучению внутриклеточного фага ускоренными ионами углерода и неона выявлены зависимости частоты мутирования от дозы с максимумом. С учетом этого целью настоящей работы являлось изучение закономерностей мутагенного действия излучений, различающихся по L в широком диапазоне на клетки *E.coli*, определяемого по признаку образования прямых мутаций в лактозном опероне (lac^+ - lac^-).

Материалы и методы

Эксперименты проводили на бактериальном штамме Hfr *E.coli* K-12 H.

Применяли следующие питательные среды: мясопептонный бульон (МПБ) и мясопептонный агар (МПА) производства ИЭМ имени Н.Ф. Гамалеи АМН СССР, Москва. Перед автоклавированием добавляли в МПА 50 мг красителя и после автоклавирования 50 мл 20 % лактозы



на 1 л среды. В качестве красителя использовали 2,3,4-трифенилтетразолия хлористый. Разведение суспензии проводили в М9-буфере [5].

Культуру выращивали до стационарной фазы роста (2-3.10⁸ клеток в 1 мл) в МПБ. Затем клетки центрифугировали 10 мин (8000 г) и ресуспендировали в М9-буфере.

Пробы для облучения приготавливали путём нанесения 0.02 мл суспензии клеток на ядерные фильтры (диаметр пор 0.5 мкм), размещённые на поверхности 3% "голодного агара" (3% агар-агар), залитого в металлические чашки с диаметром поля облучения, равным 20 мм.

Эксперименты проводили на ускорителе многозарядных ионов У-200 Объединённого института ядерных исследований на специально созданной установке с комплексом электронно-физической аппаратуры [6]. Использовали ускоренные ионы гелия и углерода. γ -облучение осуществляли на установке с γ -источником ¹³⁷Cs. Мощность дозы облучения составляла 22 Гр/мин. Физические характеристики излучения представлены в таблице.

Облучённые образцы смывали с фильтров в 5 мл М9-буфера. После соответствующего разведения клетки высевали на поверхность МПА (5-10 чашек на каждую экспериментальную точку), содержащего краситель и лактозу, и заливали вторым слоем агара такого же состава. Во всех экспериментах высевали на чашку не более 20 000 клеток, образующих колонии. Параллельно высевали образцы на поверхность агара для определения выживаемости клеток по стандартной методике. Подсчёт колоний проводили под микроскопом МБС-9 при 16-кратном увеличении по методике, описанной нами ранее [7].

Опыты проводили в трёх и более повторностях. Частоту мутирования клеток определяли как отношение N_m/N , где N_m - число выявленных мутантов и N - число выживших клеток. Полученные результаты подвергали статистической обработке.

Зависимость $N_m/N(D)$ аппроксимировали степенной или линейно-квадратичной функцией:

$$N_m/N = K \cdot D^x, \quad (1a)$$

$$N_m/N = \alpha \cdot D + (\beta \cdot D)^2, \quad (1б)$$

где D - доза облучения. Параметры K, x, α, β определяли методом минимизации суммы квадратов отклонения экспериментальных и теоретических величин, рассчитанных по (1a, б). Экспериментальную

ошибку измерения вычисляли как квадратный корень из количества подсчитанных мутантов. Отклонения параметров определяли путём вычисления и инвертирования матрицы вторых производных сумм квадратов по соответствующим параметрам (диагональные элементы этой матрицы и являются квадратами отклонений). Величину относительной генетической эффективности (ОГЭ) рассчитывали как отношение доз излучений, индуцирующих одинаковое количество мутаций при γ -облучении и действии тяжёлых ионов. Вычисленные значения ОГЭ соответствуют минимальной сумме квадратов отклонений экспериментальных и теоретических величин, рассчитанных по формулам:

$$N_m/N = K \cdot (ОГЭ \cdot D)^x, \quad (2a)$$

$$N_m/N = \alpha \cdot (ОГЭ \cdot D) + (\beta \cdot ОГЭ \cdot D)^2, \quad (2б)$$

где параметры K, x, α, β определяли из кривых при γ -облучении.

Погрешность в величине ОГЭ определяли так же, как и при вычислении отклонений параметров в выражении (1a, б).

Результаты

На рис.1 представлена кривая выживания (5) и частота мутирования (N_m/N) клеток *E. coli* HfrH в зависимости от дозы (D) γ -облучения. Видно, что зависимость $S(D)$ имеет экспоненциальный характер и величина радиочувствительности ($D_{0.1}$) клеток составляет 0.01 Гр⁻¹. Зависимость частоты

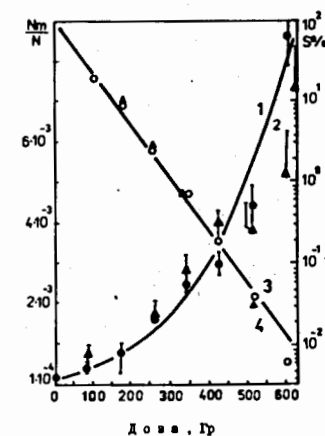


Рис.1. Выживаемость клеток *E. coli* HfrH при γ -облучении в суспензии (3) и на фильтрах (4). Зависимость частоты мутирования клеток от дозы облучения в суспензии (1) и на фильтрах (2). По оси абсцисс: доза облучения, Гр; по оси ординат: частота мутирования (N_m/N , слева), отн. ед., выживаемость (справа), %.

мутирования от дозы γ -облучения отклоняется от линейной в сторону квадратичной.

Вследствие того, что тяжелые ионы низких энергий имеют малый пробег в веществе и облучение клеток в этом случае проводят в виде ионослоя, представляется необходимым установить влияние условий облучения (в суспензии или на поверхности ядерных фильтров) на частоту мутирования клеток. Обнаружено, что способ облучения не влияет на радиочувствительность и на частоту мутирования клеток (рис. 1). Так, например, значения параметров уравнения (1б) при облучении в суспензии составляют $\alpha = (1.0 \pm 0.4) \cdot 10^{-6}$ и $\beta^2 = (8.2 \pm 0.6) \cdot 10^{-3}$ и при облучении на фильтрах

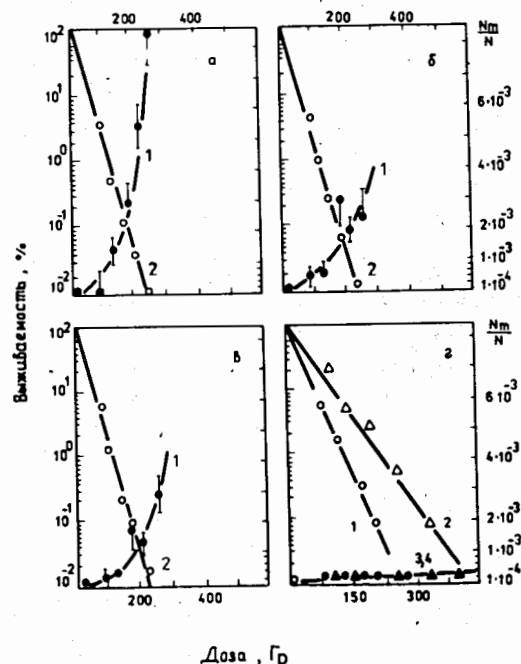


Рис. 2. Зависимость частоты мутирования клеток от дозы облучения (1) и выживаемости клеток (2) при действии разных типов излучения: а) ионы гелия $L=22$ кэВ/мкм, б) ионы гелия $L=54$ кэВ/мкм, в) ионы гелия $L=72$ кэВ/мкм, г) ионы углерода $L=220$ кэВ/мкм (3, 1), $L=330$ кэВ/мкм (4, 2). По оси абсцисс: доза облучения, Гр; по оси ординат: частота мутирования (N_m/N , справа), отн. ед., выживаемость (слева), %.

$\alpha = (1.8 \pm 0.6) \cdot 10^{-6}$ и $\beta^2 = (6.3 \pm 1.0) \cdot 10^{-3}$. Видно, что значения параметров α , β в суспензии и на фильтрах практически совпадают.

На рис. 2 представлены экспериментальные данные по индукции $lac^+ \rightarrow lac^-$ мутантов разными типами излучения. Из приведенных данных следует, что мутагенная эффективность излучений с разной ЛПЭ различна: максимальная для ионов гелия с $L=22$ кэВ/мкм и с дальнейшим увеличением L снижается. Поскольку практически все кривые отклоняются в сторону квадратичной зависимости, данные анализировались на основе уравнений (1а) и (1б).

Наиболее простым вариантом линейного представления этих данных является изображение в логарифмическом масштабе (рис. 3). Наклон полученных прямых равен параметру χ уравнения (1а), положение линии определено параметром k . Наклоны, полученные для разных типов излучения, приведены в таблице, из которой видно, что они в рамках экспериментальных отклонений не отличаются. На рис. 3 представлены параллельные линии с наклоном, соответствующим наклону кривой при γ -облучении. Смещение этих линий равно значению ОГЭ, которое можно, таким образом, прямо определить из графика.

Провести анализ экспериментальных данных при помощи уравнения (1а), то есть в логарифмическом масштабе, возможно, однако, лишь формально, поскольку параметрам k и χ практически невозможно дать биологическую интерпретацию. Простейшим уравнением, которое может иметь биологический смысл, является уравнение (1б). Параметры α и β представляют собой вероятности одно- и двухударных процессов. Линейным представлением этого уравнения является график, в котором по оси абсцисс отложена величина $1/D \cdot N_m/N(D)$, а по оси ординат - доза облучения D (рис. 4). Наклон этих прямых линий равен β^2 и отрезок на оси абсцисс равен параметру α . Соотношение α/β^2 характеризует форму кривых $N_m/N(D)$. В случае квадратичных зависимостей $N_m/N(D)$, когда $\alpha=0$, на графике получаем прямые линии, проходящие через начало координат. Наклон этих линий равен β^2 . В таком случае можно определить ОГЭ как квадратный корень из соотношения наклонов. Поскольку значения α не отличаются в нашем случае достоверно от нуля, все кривые были проведены через начало координат, и величины наклонов (β^2) приведены в таблице для разных типов излучения. ОГЭ можно рассчитать как квадратный корень из соотношения наклонов кривых искомого и γ -излучения. Значения ОГЭ соответствуют значениям, рассчитанным по уравнению (2б) и приведенным в таблице.

Таблица. Величина относительной генетической эффективности и значения параметров α и β^2 уравнения (1а) и (1б) для γ -излучения и ускоренных тяжелых ионов

Тип излучения	L кэВ/мкм	E МэВ/н	$D_0^{-1} \cdot 10^{-2} \text{Гр}^{-1}$	α	$\beta^2 \cdot 10^{-3} \text{Гр}^{-2}$	ОГЭ
γ -лучи	0.3	-	1.4 ± 0.05	1.92 ± 0.30	24 ± 2	1
^4He	22	8.0	3.8 ± 0.20	2.9 ± 0.9	130 ± 7	12.3 ± 0.3
^4He	54	2.5	3.7 ± 0.20	1.9 ± 0.5	65 ± 5	1.6 ± 0.2
^4He	72	1.7	3.5 ± 0.20	2.1 ± 0.5	38 ± 4	1.25 ± 0.2
^8Be	117	6.5	3.3 ± 0.20	-	-	-
^{12}C	220	7.0	3.6 ± 0.20	-	10.6 ± 0.2	0.16 ± 0.2
^{12}C	330	4.5	2.3 ± 0.10	-	-	-

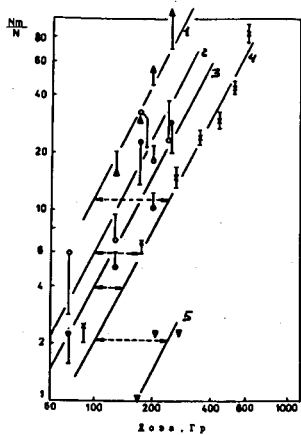


Рис.3. Зависимость частоты мутирования клеток от дозы облучения разными типами излучений в логарифмическом масштабе: (1) - ионы гелия, $L = 22$ кэВ/мкм, (2) - ионы гелия, $L = 54$ кэВ/мкм, (3) - ионы гелия, $L = 72$ кэВ/мкм, (4) - γ -лучи, (5) - ионы углерода, $L = 220$ кэВ/мкм. Кривые проведены параллельно с наклоном, равным наклону кривой для γ -облучения. Смещение кривых относительно кривой γ -облучения представляет величину ОГЭ (штриховая линия). Величины ОГЭ соответствуют рассчитанным значениям, приведенным в таблице. По оси абсцисс: доза облучения, Гр; по оси ординат: частота мутирования (Nm/N), отн.ед.

Рис.4. Зависимость величины $(Nm/N) \times (1/D)$ от дозы облучения (D) разными типами излучений. Символы аналогичны символам на рис.3. Кривые проведены при $\alpha=0$ по уравнению (2б). Значения ОГЭ можно определить из рисунка как квадратный корень отношений наклонов кривых искомого и γ -облучения. Эти значения соответствуют рассчитанным ОГЭ, приведенным в таблице. По оси абсцисс: доза облучения, Гр; по оси ординат: частота мутирования в единицу дозы, Гр^{-1} .

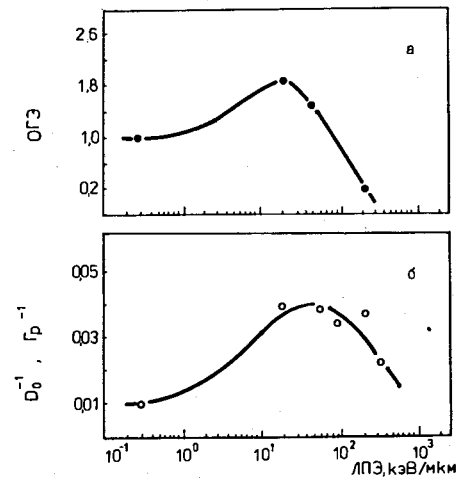
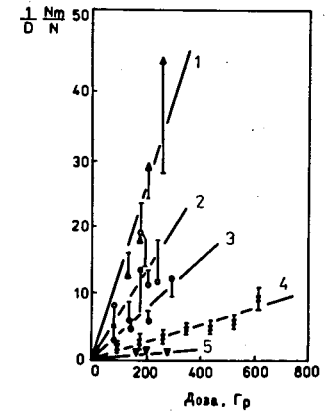


Рис.5. Зависимость радиочувствительности (D_0^{-1}) клеток от линейной передачи энергии (L). По оси абсцисс: L , кэВ/мкм, по оси ординат: радиочувствительность, Гр^{-1} (а). Зависимость относительной генетической эффективности (ОГЭ) от линейной передачи энергии (L). По оси абсцисс: L , кэВ/мкм, по оси ординат: ОГЭ, отн.ед. (б).

ОГЭ для частиц с ЛПЭ, равными 22, 54 и 72 кэВ/мкм, соответственно составляют $2,3 \pm 0,3$, $1,6 \pm 0,2$ и $1,25 \pm 0,2$. В то же время мутагенное действие ускоренных ионов углерода существенно менее выражено по сравнению с γ -лучами. Величина ОГЭ в этом случае равна $0,16 \pm 0,05$.

На основании изложенного материала можно прийти к заключению о том, что зависимость мутагенной эффективности излучений от величины ЛПЭ описывается кривой с максимумом (рис.5а). Такой же вид имеет и зависимость $D_0^{-1}(L)$, представленная для клеток использованного штамма на рис.5б.

Обсуждение

Полученные нами данные о характере зависимости частоты индуцированных мутаций от дозы γ -облучения и ускоренных тяжелых ионов позволяют прийти к следующим заключениям. Во-первых, эта зависимость как при γ -облучении, так и при действии тяжелых ионов описывается степенной функцией. Во-вторых, даже при дозах облучения, снижающих выживаемость клеток до 10^{-5} %, для всех видов использованных излучений она не имеет максимума. В-третьих, с возрастанием ЛПЭ излучения до определенных значений относительная генетическая эффективность возрастает, а затем снижается при дальнейшем увеличении ЛПЭ.

Данные о характере дозовой зависимости индукции мутаций при действии ионизирующих излучений противоречивы, в отличие от УФ-облучения, для которого степенной характер этой зависимости является хорошо установленным фактом. При γ - и рентгеновском облучении выявлены и линейные, и степенные зависимости [8-10]. Эти наблюдения сделаны на основании учета индукции как обратных, так и прямых мутаций. Линейное возрастание числа мутаций с дозой облучения объясняется в рамках классических представлений как следствие того, что один акт передачи энергии (в ряде случаев одна ионизация) с некоторой вероятностью вызывает изменение генетического материала, фенотипически выявляемое как мутация. Наклон этой зависимости определяется вероятностью попадания γ -квантов в генетические структуры и вероятностью фиксации этого события в мутацию.

В наших экспериментах, так же, как и в работах ряда других авторов, выявлены нелинейные зависимости $N_m/N(D)$. В некоторых случаях они являются квадратичными [11]. Следует заметить, что в принципе отклонения от линейной дозовой зависимости выхода мутантов могут быть объяснены, если допустить изменение

радиочувствительности образующихся мутантов по сравнению с клетками дикого типа. В [12] показано, что если возникающие мутантные клетки становятся более резистентными к облучению, то это обстоятельство будет приводить к отклонению кривой $N_m/N(D)$ в сторону квадратичной зависимости. Однако специально поставленные нами эксперименты по определению чувствительности клеток *E.coli* HfrH дикого типа и индуцированных lac⁻-мутантов к γ -облучению не выявили достоверных различий в радиочувствительности клеток.

Существуют две основные гипотезы, объясняющие нелинейный, квадратичный характер зависимости частоты индуцированных мутаций от дозы облучения. Согласно гипотезе Бреслера [13] начальной премутационной структурой являются два повреждения ДНК, расположенные на комплементарных нитях и смещенные относительно друг друга на некоторое расстояние вдоль цепи ДНК. После эндонуклеазного надрезания нити ДНК вблизи одного повреждения и последующей экзонуклеазной расчистки возможно, что второе повреждение окажется напротив экзонуклеазной бреши. Последующая полимеразная застройка бреши в этом случае может с известной вероятностью произойти с ошибочной подстановкой основания напротив поврежденного. Второе повреждение, подвергнутое эксцизии, будет дополнено при ресинтезе комплементарной нити и мутация закрепится. В рамках этой гипотезы можно объяснить квадратичный характер зависимости $N_m/N(D)$. Существенную роль в этой гипотезе играет длина экзонуклеазной расчистки (l_0). Выход мутаций в этом случае должен быть пропорционален выходу повреждений (a) в квадрате и размеру исследуемого оперона (R) в единицах длины генома клетки:

$$N_m/N = a^2 \cdot (R \cdot l_0 / M^2) \cdot D^2, \quad (3)$$

где M - длина генома (кол-во нуклеотидов), R - линейная протяженность оперона (кол-во нуклеотидов), l_0 - длина экзонуклеазной расчистки (кол-во нуклеотидов), a - выход повреждений ($\text{Гр}^{-1} \cdot \text{геном}^{-1}$). Если принять, что $R=4500$ нуклеотидов, $l_0=1000$ нуклеотидов, то, чтобы получить коэффициент β^2 , определенный из данных, представленных на рис.2, и равный $2,1 \cdot 10^{-12} \text{Гр}^{-2}$, необходимо принять $a=0,6 \text{Гр}^{-1}$, то есть $2 \cdot 10^{-12} \text{сГр}^{-1} \text{дальтон}^{-1}$. Это, как известно, выход однонитевых разрывов (ОР) ДНК, выявляемых непосредственно после облучения [14,15]. Поскольку основная часть из них восстанавливается *polA*-зависимой репарацией, количество повреждений, устраняемых в процессе

медленной репарации, меньше первоначального выхода примерно на порядок. Это означает, что величина l_0 при таком выходе первоначальных повреждений реализоваться не может. Для получения требуемого соответствия необходимо было бы принять величину l_0 , равную примерно 10^5 нуклеотидов.

Важным аргументом против принятия гипотезы "двух взаимодействующих повреждений" является зависимость ОГЭ(ЛПЭ) с максимумом. Поскольку выход ОР ДНК и поврежденных оснований с ростом ЛПЭ падает [16], в этом случае следовало бы ожидать зависимость ОГЭ(ЛПЭ) ниспадающего типа.

В работах Виткин [17] было предложено альтернативное объяснение квадратичной зависимости $N_m/N(D)$ при УФ-облучении. Согласно ему два повреждения ДНК взаимодействуют между собой следующим образом: одно из них возникает в исследуемом гене, второе, образующееся в любом участке генома, запускает SOS-систему, в результате работы которой мутация закрепляется. Аргументом против гипотезы Виткин служит то обстоятельство, что при УФ-облучении дозы, способные полностью индуцировать SOS-систему (оцениваемые по индукции профага), в 20-30 раз меньше тех, при которых еще наблюдается квадратичная зависимость мутирования [18].

В экспериментах с γ -облучением методом SOS-хромостеста, отражающего дерепрессию *su1A*-оперона, выявлено [19], что доза γ -излучения, при которой в среднем на геном возникает одно повреждение, запускающее SOS-систему клеток *E.coli*, составляет приблизительно 70 Гр. Степенная зависимость мутагенеза в наших экспериментах наблюдается до доз в 10 раз больших. Однако следует заметить, что, во-первых, дерепрессия других индуцибельных оперонов, в том числе гена *umu C*, ответственного за репарационный мутагенез, может происходить при других дозах облучения и по кинетике отличаться от гена *su1A*. Во-вторых, следует иметь в виду следующее. Зависимость, представленную на рис. 2, можно описать выражением

$$N_m/N = \alpha \cdot D + \beta \cdot D \cdot (1 - e^{-\gamma D}), \quad (4)$$

где αD представляет линейный компонент зависимости, величина βD пропорциональна выходу премутационных повреждений в *lac*-опероне и $(1 - \exp(-\gamma D))$ -доля клеток, в которых индуцировалась мутагенная репарация. Для малых значений γD можно получить линейно-квадратичную зависимость:

$$N_m/N = \alpha D + (\beta D)^2, \quad (5)$$

где $\beta^2 = \beta \cdot \gamma$.

Значения параметров α и β^2 для клеток при γ -облучении соответственно составляют $\alpha = (1.6 \pm 0.6) \cdot 10^{-6} \text{ Гр}^{-1}$, $\beta^2 = (2.1 \pm 1.6) \cdot 10^{-8} \text{ Гр}^{-2}$. Если принять, что $\gamma = 0.001 \text{ Гр}^{-1}$ (чтобы $\gamma \cdot D \ll 1$), тогда $\beta = 2 \cdot 10^{-5} \text{ Гр}^{-1}$ на *lac*-оперон. При длине *lac*-оперона около 4500 нуклеотидов и всего генома $9 \cdot 10^8$ нуклеотидов выход повреждений на весь геном составляет $4 \cdot 10^{-2} \text{ Гр}^{-1}$, то есть примерно в 15 раз меньше по сравнению с выходом, определенным из уравнения (3). Такими повреждениями могут являться сайты, не восстанавливаемые *polA*-зависимой репарацией. Возникновение такого повреждения в *lac*-опероне при условии запуска SOS-системы может являться тем событием, которое с большой вероятностью закрепляется в виде мутации.

Линейный компонент зависимости $N_m/N(D)$ составляет в наших экспериментах $\alpha = 1.6 \cdot 10^{-6} \text{ Гр}^{-1}$. Его могут обуславливать те мутагенные события, которые, возможно, закрепляются либо в процессе конститутивной репарации, либо в процессе репликации ДНК [13]. Заметим, что мутагенная эффективность их весьма невелика, поскольку, как указывалось выше, выход первичных премутационных повреждений ДНК на два порядка больше.

Как следует из полученных нами данных, при возрастании ЛПЭ излучения их мутагенная эффективность увеличивается до некоторых значений ЛПЭ. Снижение дозы плотниоизирующих излучений, индуцирующих одинаковое количество мутантов, может означать, что либо количество премутационных повреждений в *lac*-опероне, либо количество повреждений, участвующих в формировании SOS-сигнала (либо и то и другое), увеличивается с ростом ЛПЭ. Такими повреждениями, как показано в [20], могут быть "комплексные" повреждения, затрагивающие одну нить ДНК, не восстанавливаемые *polA*-зависимой репарацией. Выход таких повреждений с ростом ЛПЭ увеличивается.

Как видно из рис. 5а, при высоких величинах ЛПЭ мутагенная эффективность излучений падает. Это связано с возрастанием флуктуаций энергии по чувствительным микрообъемам клеток: одни клетки получают специфическую энергию z [21] намного выше среднего значения и погибают, другая часть клеток не протерпевает взаимодействие с ионизирующими частицами. И те, и другие клетки не участвуют в формировании учитываемых мутаций. Так, например, при действии ускоренных ионов углерода с ЛПЭ,

равной 220 кэВ/мкм, при дозе 50 Гр и сечении чувствительного объема 1 мкм² среднее количество частиц, прошедших через этот объем, составляет 1,4. Количество клеток, через которые частицы не прошли, составляет 25%, и выживаемость равна 17%. Очевидно, что выживающими клетками преимущественно являются те, через которые не прошло ни одной частицы. Так как мутанты возникают лишь в той части клеточной популяции, которая претерпела нелетальное взаимодействие с ионизирующими частицами, а нормировка числа мутантов проводится на все выживающие клетки, то для корректной оценки мутагенного действия плотноионизирующих излучений необходимо иметь информацию о распределении поглощенной энергии Z по чувствительным микрообъемам клеток - функцию $f(z, D)$.

Таким образом, на основании полученных нами материалов по индукции *lac*⁻ мутантов у клеток *E. coli* можно прийти к заключению о том, что характер дозовой кривой мутагенеза при действии излучений с разной ЛПЭ описывается степенной зависимостью. В диапазоне доз, вплоть до значения, соответствующих уровню выживающих клеток 10^{-7} , максимум на кривой мутагенеза не выявлен. Зависимость относительной генетической эффективности от величины ЛПЭ описывается кривой с максимумом. Наибольшие значения ОГЭ соответствуют примерно 2.3 при ЛПЭ, равном 22 кэВ/мкм. Повышение мутагенной эффективности частиц с увеличением ЛПЭ, по-видимому, обусловлено возрастанием как выхода премутационных повреждений ДНК, так и выхода повреждений, участвующих в формировании сигнала, запускающего индуцибельную SOS - систему клеток.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Кривиский А.С. Значение внешних факторов и физиологического состояния организма в процессе наследственной изменчивости бактерий.-Вестник рентгенол. радиол., 1938, т.20, стр.375.
- [2] Deering R.A. Mutation and Killing of *Escherichia coli* WP-2 by accelerated heavy ions and other radiations.-Radiat.Res., 1963, v.19, No.1, p.169-178.
- [3] Roos H., Thomas W.H., and Kellerer A.M. Enhanced response of the *Salmonella* mutagenicity test to ionizing radiations.-Radiat.Res., 1985, v.104, p.102-108.

[4] Bresler S.E. et al. Study of genetic effects of high energy radiations with different ionizing capacities on extracellular phages.-Mutat.Res., 1975, v.29, No.1, p.1-20.

[5] Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. Мир, Москва, 1976, стр.393.

[6] Череватенко А.П. Физико-теоретический комплекс "Геном" для обеспечения радиобиологических экспериментов на пучках тяжелых ионов ОИЯИ. Материалы 5-го Всесоюзного Собрания по микродозиметрии, 1986, Москва, МИФИ, стр.102.

[7] Токарова Б. и др. Выявление *lac*⁻ мутантов методом глутининового посева. Сообщение ОИЯИ, P19-87-813, Дубна 1987.

[8] Bridges B.A. et al. Mutagenesis in *Escherichia coli* II. Evidence for a common pathway for mutagenesis by ultraviolet light, ionizing radiation, and thymine deprivation.-Mol.Gen.Genet., 1968, v.103, No.3, p.266.

[9] Bridges B.A., Mottershead R. Gamma ray mutagenesis in a strain of *Escherichia coli* deficient in DNA polymerase I.-Mol.Gen.Genet., 1978, v.162, p.35-41.

[10] Kato T., Nakano Э. Effects of the *umc36* mutation on ultraviolet - light induced base-change and frameshift mutations in *Escherichia coli*.-Mutat.Res., 1981, v.83, No.3, p.307.

[11] Glickman B.W. et al. γ - Ray induced mutational spectrum in the *lacI* gene of *Escherichia coli*.-Mutat.Res., 1980, v.69, p.1-12.

[12] Haynes R.H., Eskardt F., and Kunz B.A. Analysis of non-linearities in mutation frequency curves.-Mutat.Res., v.150, 1985, p.51-59.

[13] Бреслер С.Е. Механизм и кинетика репаративного мутагенеза.-Генетика, 1976, т.12, N.12, стр.1.

[14] Johansen I. et al. DNA strand breaks measured within 100 milliseconds of irradiation of *Escherichia coli* by 4 MeV electrons.-Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 1975, v.72, No. 1, p.167-171.

[15] Town C.D. et al. DNA polymerase required for rapid repair of γ - ray induced DNA strand breaks in vivo.-Science, 1971, v.172, No.3985, p.851-853.

[16] Christensen R.C. et al. Heavy-ion-induced single and double-strand breaks in Φ X-174 replicative form DNA.-Int.J.Radiat.Biol., 1972, v.22, No.5, p.457-477.

[17] Witkin E.M. Ultraviolet mutagenesis and inducible DNA repair in *Escherichia coli*.-Bacteriol.Rev., 1976, v.40, No.4, p.869-907.

[18] Бреслер С.Е. О решенных и нерешенных проблемах репарации В кн.: Повреждение и репарация ДНК. Пушино, 1980. Научный центр биологических исследований. Стр.16-26.

[19] Козубек С. и др. Индукция SOS - системы у клеток E.coli при действии ускоренных тяжелых ионов. Препринт ОИЯИ Р19-87-215, Дубна, 1987.

[20] Козубек С., Красавин Е.А. Роль репарации ДНК в реализации кислородного эффекта у бактерий Escherichia coli при действии излучений с разной линейной передачей энергии (теоретический анализ). Зависимость кислородного эффекта от ЛПЭ. Индукция основных типов повреждений ДНК и их модификация кислородом. Сообщение ОИЯИ 19-83-743, Дубна, 1983.

[21] Иванов В.И., Лыцов В.Н. Основы микродозиметрии. Москва, Атомиздат, 1979, стр.19.

Рукопись поступила в издательский отдел
23 марта 1988 года.

Амиртаев К.Г. и др. P19-88-191
Мутагенное действие ускоренных тяжелых ионов на клетки Escherichia coli

Представлены результаты исследований зависимости частоты мутирования клеток E.coli от дозы облучения разными типами ионизирующих излучений. Обнаружено, что мутагенная эффективность ионов гелия с линейной передачей энергии (L), равной 22, 54 и 72 кэВ/мкм, выше эффективности γ -лучей. При дальнейшем увеличении L мутагенная эффективность уменьшается. Зависимость частоты мутирования от дозы облучения для всех исследованных типов излучений носит степенной характер. Представлены два типа уравнения для анализа этих зависимостей. Полученные результаты обсуждаются с позиций существующих в литературе гипотез.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1988

Перевод О.С.Виноградовой

Amirtaev K.G. et al. P19-88-191
Mutagenic Radiation Action of Accelerated Heavy Ions on Escherichia Coli Cells

The results of the investigation of the Escherichia coli mutation rate on the radiation dose are presented. The effectiveness of helium ions with LET=22, 54 and 72 keV/ μ m to induce mutations is greater than that of γ rays. Further increase of LET leads to decreasing mutation rates. The dependence of the mutation rate on the dose of radiation can be described both by power function and by linear-quadratic function. The results are discussed in terms of the published hypotheses.

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

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1988