

ЛАБОРАТОРИЯ РАДИАЦИОННОЙ БИОЛОГИИ

В 2007 г. в лаборатории проводились исследования в соответствии с темой первой категории Проблемно-тематического плана научно-исследовательских работ и международного научно-технического сотрудничества ОИЯИ в следующих направлениях: а) радиационная генетика и радиобиология; б) фоторадиобиологические исследования;

в) молекулярное моделирование биофизических систем; г) физика защиты от излучений и радиационные исследования на ядерно-физических установках Института. Особое внимание уделялось участию молодых исследователей, студентов и аспирантов в текущей работе лаборатории, а также в конференциях и семинарах, проводимых с участием ЛРБ.

РАДИАЦИОННАЯ ГЕНЕТИКА И РАДИОБИОЛОГИЯ

В группе молекулярной радиобиологии были продолжены исследования индукции молекулярных повреждений ДНК в лимфоцитах человека после облучения γ -квантами и тяжелыми ионами [1–3]. С использованием метода комет-анализа были изучены закономерности формирования и репарации двунитевых разрывов ДНК (ДР ДНК) при облучении γ -квантами ^{60}Co и ионами ^{11}B (линейная передача энергии (ЛПЭ) 40 кэВ/мкм). Были получены распределения клеток по степени поврежденности после облучения γ -квантами и тяжелыми ионами. Показано, что биологическая эффективность тяжелых ионов по критерию индукции ДР ДНК выше по сравнению с γ -излучением. Как можно видеть на рис.1, а, полученные дозовые зависимости индукции ДР ДНК при действии γ -квантов и ионов бора носят линейный характер. Величина относительной биологической эффективности (ОБЭ) ускоренных ионов бора составляет $1,7 \pm 0,11$ [2, 3].

Были проведены эксперименты с лимфоцитами человека, стимулированными фитогемагглютинином для инициации клеточного цикла. Клетки облучали γ -квантами ^{60}Co и протонами с энергией 250 МэВ в пике Брэгга дозами 1–4 Гр. Изучены закономерности формирования ДР ДНК на разных фазах клеточного

цикла (G_0 , S, G_1 и G_2) после облучения протонами. Показано (рис.1, б), что наибольший выход ДР ДНК в клетках наблюдается в S-фазе клеточного цикла. Кинетика репарации ДР ДНК в лимфоцитах при стимуляции ФГА была изучена в различные периоды после облучения (24, 48, 72 и 96 ч). Установлено, что количество ДР ДНК уменьшается экспоненциально в течение пострadiационного периода. Контрольный уровень ДР ДНК наблюдали к 24 ч после облучения. Этот уровень сохранялся до 96 ч.

Изучены закономерности индукции апоптоза в лимфоцитах человека на различных стадиях клеточного цикла после облучения протонами в пике Брэгга (рис. 2). Показано, что образование апоптотических клеток в популяции лимфоцитов увеличивается линейно для всех стадий клеточного цикла при дозах протонов до 5 Гр. Наиболее чувствительны по этому критерию клетки, находящиеся на G_2 - и S-стадиях клеточного цикла.

Продолжается изучение индукции хромосомных повреждений малыми дозами излучения с разной ЛПЭ в лимфоцитах периферической крови человека. На основании накопленных к настоящему времени данных о таких феноменах, наблюдаемых в диапазоне малых доз ионизирующей радиации, как генети-

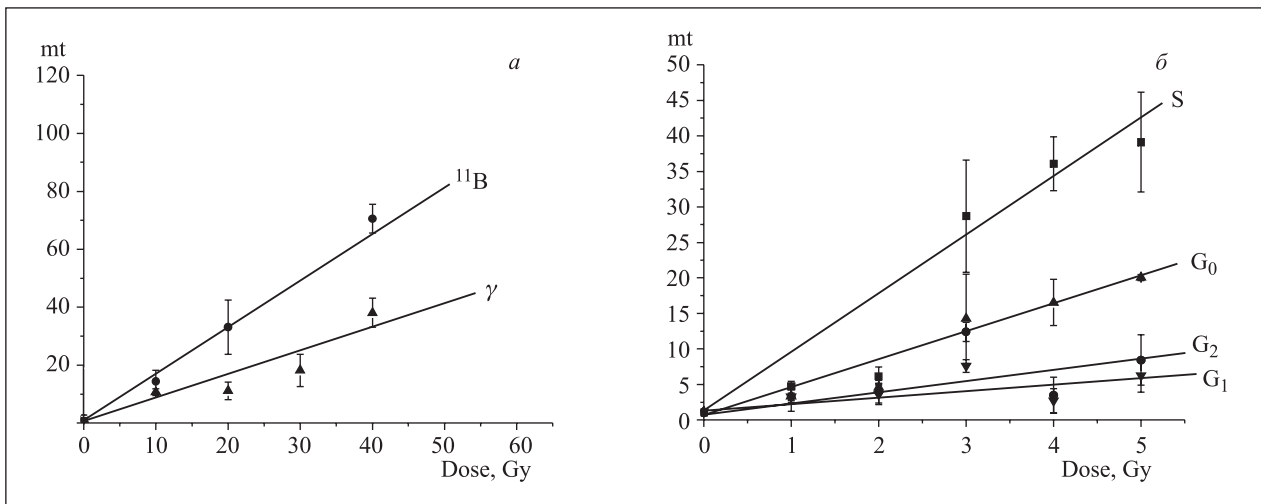


Рис. 1. Дозовая зависимость индукции ДР ДНК в лимфоцитах человека после облучения γ -квантами и ускоренными ионами бора с линейной передачей энергии 40 кэВ/мкм (а). Индукция ДР ДНК в лимфоцитах человека на различных стадиях клеточного цикла после облучения протонами в пике Брэгга (б). Ордината: mt — «момент хвоста» комет; абсцисса: доза облучения, Гр

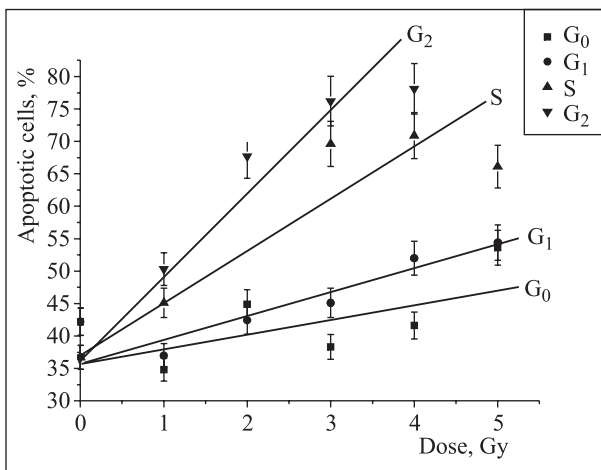


Рис. 2. Зависимость «доза–эффект» по индукции апоптотических лимфоцитов на различных стадиях клеточного цикла после облучения протонами в пике Брэгга. Ордината: количество апоптотических клеток, %; абсцисса: доза облучения, Гр

ческая нестабильность, адаптивный ответ, Bystander-эффект, гиперчувствительность, была предложена гипотеза о решающей роли активных форм кислорода (АФК) в формировании всех этих явлений. Повышенный уровень АФК наблюдали у потомков облученных и Bystander-клеток. Постоянный окислительный стресс регистрировался в человеческих лимфобластных клонах, полученных из X-облученных клеток, на протяжении 20 генераций после облучения, а в первичных мышинных клетках — 2 недели после облучения. Тесная взаимосвязь между уровнем окислительного стресса и генетической нестабильностью была продемонстрирована в [35], а именно, потомки облученных клеток, проявляющих нестабильный фенотип, имели повышенный уровень

АФК по сравнению со стабильными. Окислительный стресс приводит к потере генетической стабильности, в то время как анти-АФК условия (добавление 200 мкмоль аскорбиновой кислоты) снижают ее практически вдвое.

Очевидно, что АФК, продуцируемые клеткой в течение многих генераций после облучения, имеют эндогенную природу. Наиболее вероятным источником свободных радикалов в клетке являются митохондрии, где в результате «сбоев» в переносе электронов по дыхательной цепи часть потребляемого кислорода преобразуется в супероксид-анион, который в результате дисмутации превращается в чрезвычайно сильный окислитель — радикал ОН. Считается, что этот процесс практически целиком обуславливает спонтанный мутагенез. Недавно было показано, что воздействие ионизирующего излучения на клетку приводит к резкому возрастанию выхода АФК вследствие радиационно-индуцированного перехода митохондриальной проницаемости (ПМП). Кроме того, способность клеток к адаптивному ответу, а также явление повышенной радиорезистентности, наблюдаемое после пика гиперчувствительности при дальнейшем увеличении дозы, свидетельствуют о включении протекторных механизмов, направленных скорее на подавление окислительного стресса, нежели на активацию репарационных ферментов и чекпойнт-белков. Наиболее вероятным кандидатом на роль белка-протектора является протеинкиназа erk-1, активация которой предотвращает амплификацию АФК посредством блокирования ПМП. Исходя из этого было осуществлено следующее:

- проверка роли активных форм кислорода в формировании эффекта гиперчувствительности по цитологическим критериям (абберациям хромосом) как в области малых доз, так и в терапевтическом диапазоне;

- проверка протекторных свойств протеинкиназы erk-1.

Для этих целей использовались два модификатора: PD98059 — ингибитор протеинкиназы erk-1 и DMSO — перехватчик свободных радикалов.

Клетки карциномы молочной железы Cal 51 культивировали в среде DMEM с добавлением 10 %-й эмбриональной телячьей сыворотки. Асинхронную культуру клеток облучали гамма-лучами ^{60}Co с мощностью дозы 0,18 Гр/мин. PD98059 — ингибитор протеинкиназы erk-1 — добавляли в концентрации 10 мкмоль за 30 мин до облучения. DMSO-перехватчик свободных радикалов в концентрации 2 % добавляли сразу после облучения. Оба модификатора оставались в среде в течение пострадиационного инкубирования до момента фиксации. После облучения клетки инкубировали в стандартных условиях 10 ч, затем фиксировали и окрашивали ацетоарсеином. Анализировали анафазы (от 800 до 1600 для каждой дозы), определяя частоту aberrantных клеток. Учитывались клетки с мостами и фрагментами. Среднеквадратическое отклонение рассчитывали как частное \sqrt{n}/N , где n — частота хромосомных aberrаций, а N — общее число клеток.

Дозовая зависимость индукции хромосомных aberrаций от дозы облучения в исследованном диапазоне имеет ярко выраженный нелинейный характер. В области 1–3 сГр клетки проявляют максимальную радиочувствительность, обозначаемую термином «гиперчувствительность» (ГЧ). С ростом дозы наблюдается увеличение радиорезистентности, «повышенная радиорезистентность» (ППР), что проявляется в снижении процента aberrantных клеток до контрольного уровня. Ранее аналогичную форму дозовых зависимостей мы наблюдали на нескольких типах клеток, в том числе на лимфоцитах крови человека. При этом она не зависела от метода анализа aberrаций (микроядерный тест, анафазный и метафазный методы). Различия наблюдались лишь в величине пика радиочувствительности и его положении на оси X .

Это позволило нам предположить следующее.

- В диапазоне малых доз помимо повреждений ДНК, обусловленных выделением энергии излучения непосредственно в хроматине, существует дополнительный фактор, приводящий к индукции aberrаций и обуславливающий ГЧ. В области больших доз его проявление может быть не столь явным на фоне высокого выхода aberrаций.

- При дозах свыше 3 сГр происходит включение защитных механизмов, приводящих к ППР [4].

Как видно из таблицы, доля aberrantных клеток снижается в присутствии перехватчика свободных радикалов DMSO в диапазоне доз 1–10 сГр, но, что особенно важно, нейтрализация АФК за счет присутствия DMSO приводит к нивелированию эффекта гиперчувствительности в диапазоне 1–3 сГр. Следует отметить, что DMSO добавляли в среду сразу

после облучения, так что он не оказывал влияния на продукты радиолиты воды, образуемые под действием облучения. Из этого можно заключить, что свободные радикалы эндогенной природы ответственны за явление ГЧ, что косвенно подтверждает гипотезу о роли радиационно-индуцированного митохондриального стресса в нетипично высокой эффективности малых доз облучения. Прямая проверка этого предположения возможна с использованием ингибиторов дыхательной цепи митохондрий.

Зависимость доли aberrantных клеток от дозы облучения

Доза, сГр	Aberrantные клетки $N_{\text{аб.кл.}}/N_{\text{просч.кл.}}$, %		
	Без модификатора	+ DMSO	+ PD98059
0	4,4 ± 0,53	3,8 ± 0,68	
1	4,9 ± 0,76	3,8 ± 0,68	
3	6,3 ± 0,85	4,7 ± 0,7	4,8 ± 0,54
5	3,9 ± 0,48		6,0 ± 0,83
7	4,8 ± 0,54		5,9 ± 0,8
10	9,2 ± 1,0	7,0 ± 0,9	

Из представленных данных также следует, что, как и предполагалось, присутствие PD98059 — ингибитора протеинкиназы erk-1 — приводит к возрастанию доли aberrantных клеток при дозах свыше 3 сГр. Это может служить подтверждением того, что активация erk-1 обуславливает ППР, и таким образом этот белок выполняет протекторную функцию в условиях окислительного стресса, вызванного малыми дозами гамма-излучения. Неожиданным оказалось то, что данный ингибитор приводил к снижению доли aberrantных клеток при дозе 3 сГр. Однако недавно было показано, что помимо функции, направленной на подавление активности erk-1, ингибитор PD98059 увеличивает выход глутатиона (перехватчика свободных радикалов в клетке) и таким образом оказывает действие, аналогичное DMSO. Для устранения этого противоречия необходимо использовать в качестве ингибитора U0126, который не оказывает влияния на уровень глутатиона.

В коллаборации с отделом биофизики GSI (Дармштадт, Германия) завершена обработка результатов серии экспериментов, включающих исследование хромосомных нарушений и пролиферативной активности в лимфоцитах периферической крови человека под действием ускоренных ионов углерода различных энергий и ЛПЭ (со стороны ОИЯИ участие принимала Е. А. Насонова, со стороны GSI — G. Kraft, S. Ritter, T. Groesser, R. Lee, а также E. Gudowska-Nowak из Института физики Краковского университета).

Знание цитогенетического действия ускоренных ионов углерода разных энергий актуально, так как ионы углерода все шире используются для радиотерапии опухолей: в Чикаго с 1994 г., Хиого с 2002 г.

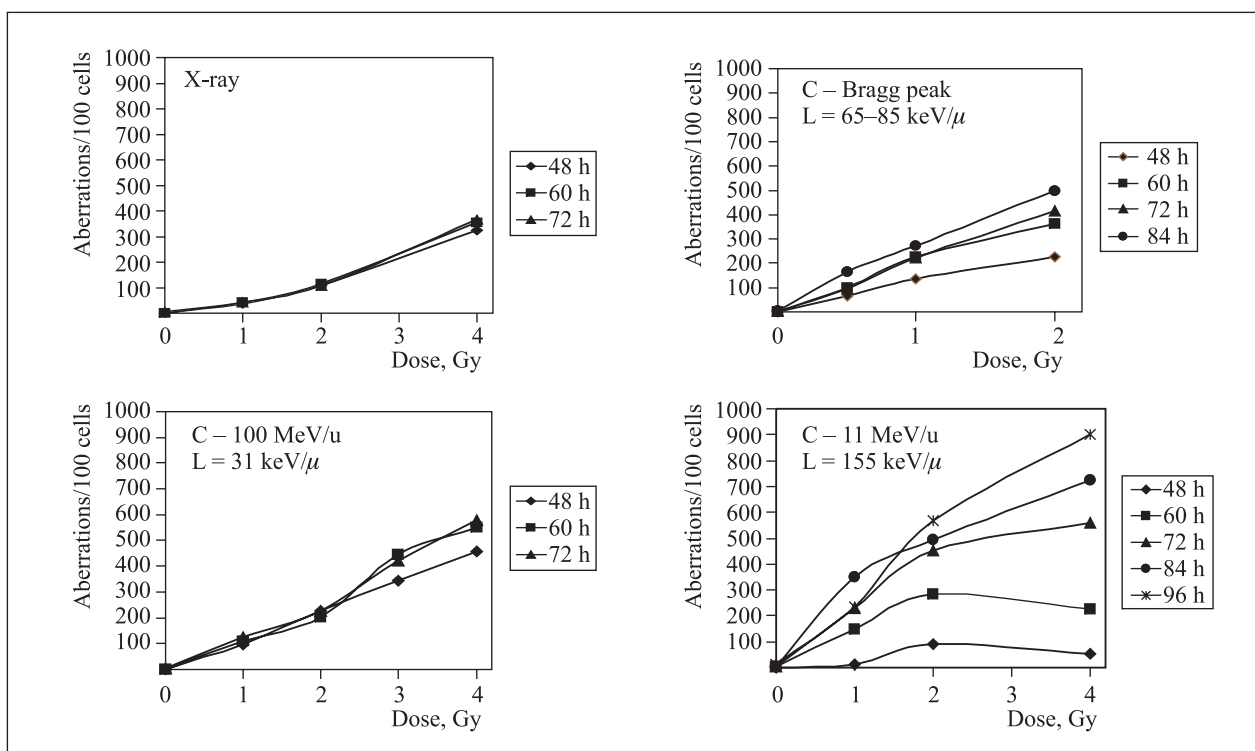


Рис. 3. Зависимость образования числа хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови человека от времени фиксации после облучения ионами углерода разных энергий

(Япония), в GSI с 1997 г.; несколько новых центров планируется открыть в ближайшее время. Ионы углерода отличаются от прочих терапевтических пучков (протоны, фотоны) преимуществами глубинного распределения дозы и высокой биологической эффективности. Используемые в работе ионы высокой энергии попадают на здоровые ткани (на входе пучка), тогда как ионы в пике Брэгга и более низкоэнергетичные ионы поражают опухолевые клетки. С другой стороны, высокоэнергетичные ионы углерода являются составляющей галактических космических лучей (ГКЛ), которые являются ограничивающим фактором при дальних пилотируемых космических полетах. Для оценки риска здоровья космонавтов биологическое действие ионов углерода, как и прочих заряженных частиц, входящих в состав ГКЛ, также должно быть детально изучено.

Определены величины ОБЭ ионов углерода, а также выявлено влияние клеточной пролиферации, в частности, радиационно-индуцированной задержки клеточного цикла, на экспрессию хромосомных повреждений в лимфоцитах здоровых доноров при действии излучений разного качества. После рентгеновского облучения количество aberrаций и aberrантных клеток не зависело от сроков фиксации, то же самое наблюдалось при действии ионов углерода с энергией 100 МэВ/нуклон (увеличение в 1–1,5 раза). Значительный рост этих показателей обнаружился после облучения ионами углерода в пике Брэгга ЛПЭ (65–85 кэВ/мкм) — в 2 раза между 48 и 84 ч по-

сле облучения. Тогда как при воздействии ионами углерода 11 МэВ/нуклон с высокой ЛПЭ частота регистрируемых хромосомных нарушений в огромной степени зависела от времени фиксации: число aberrаций увеличивалось в 15–17 раз с 48 до 96 ч после облучения (рис. 3). Это отражает временную задержку деления наиболее тяжело поврежденных клеток, которая носит ярко выраженный ЛПЭ-зависимый характер. Эффект был тем более значителен, чем выше ЛПЭ и ниже энергия ионов.

В коллаборации с польскими исследователями (Институт биологии, Кельце, Польша) продолжена серия экспериментов по исследованию индивидуальной радиочувствительности человека при воздействии ионизирующих излучений с высокими ЛПЭ. Показано, что при анализе данных важно учитывать задержку митоза в клетках. Вместе с тем общий выход клеток с хромосомными aberrациями варьирует от донора к донору и свидетельствует о проявлении индивидуальной радиочувствительности [5].

Проведен анализ нарушений хромосом в клетках человека при облучении терапевтическим пучком протонов с исходной энергией 150–170 МэВ (ЛПЭ ~ 0,49 кэВ/мкм). В качестве модели использованы лимфоциты периферической крови человека, облученные на входе пучка и в области пика Брэгга, что соответствует облучению клеток нормальных тканей на пути пучка до места локализации опухоли и клеток опухоли. Показано повышение эффективности протонов в области пика Брэгга, коэффициент

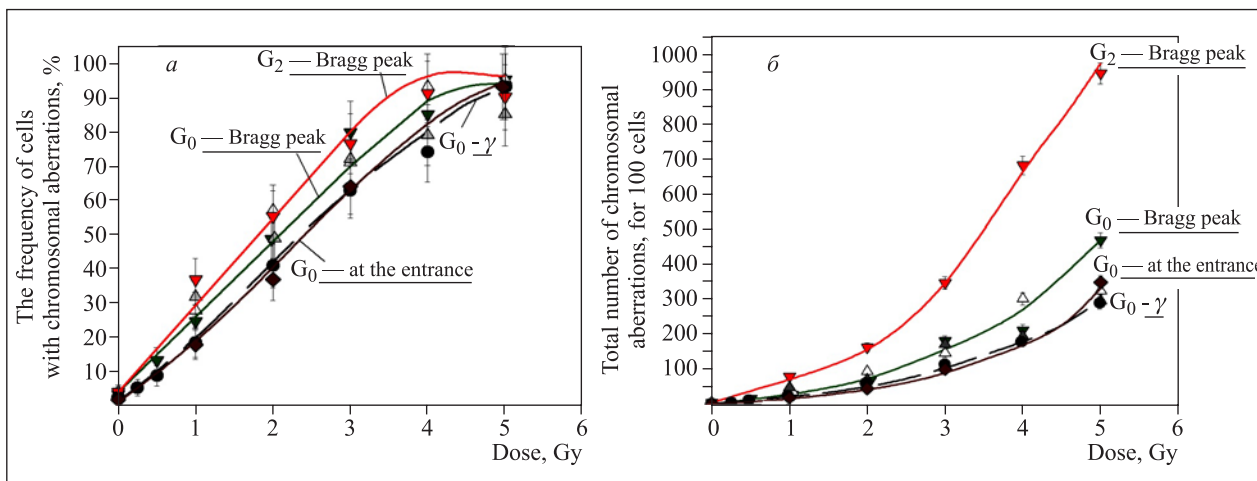


Рис. 4. Зависимость частоты образования лимфоцитов с хромосомными aberrациями (а) и общего числа aberrаций хромосом (б) от дозы облучения протонами терапевтического пучка (ЛЯП) на входе (170 МэВ) и в области пика Брэгга

ОБЭ в среднем равен $\sim 1,25$, в то время как протоны исходного пучка (на входе в объект) по своей эффективности не отличались от воздействия стандартного γ -излучения [6]. Можно ожидать более высокой эффективности протонного пучка в области пика Брэгга, поскольку в отличие от нормальных тканей на пути протонного пучка (G_0 -стадия) для опухолей характерны процессы клеточного деления. Известно, что делящиеся клетки, находящиеся в разных фазах клеточного цикла, различаются по радиочувствительности. Выявлена высокая радиочувствительность лимфоцитов в G_2 -стадии, непосредственно предшествующей делению клеток (рис. 4). Анализ разных видов хромосомных aberrаций в лимфоцитах, облученных в этой фазе, выявил существенное увеличение выхода aberrаций хроматидного типа — до 70–75 % от общего числа aberrаций хромосом.

После облучения лимфоцитов в других фазах клеточного цикла при помощи стандартного метафазного метода существенных различий в эффектах не выявлено. Однако при анализе PCC-фрагментов после облучения при дозе 5 Гр радиочувствительность лимфоцитов в G_1 -фазе оказалась выше, чем в G_0 , а при облучении в S-фазе эффект возрастал более чем в два раза по сравнению с G_1 [7].

Проведенные по результатам первых экспериментов расчеты с учетом вклада более высокой эффективности доли лимфоцитов в G_2 -фазе клеточного цикла указывают на возможность повышения величины ОБЭ протонов в области пика Брэгга до 1,4. Полученные данные свидетельствуют, с одной стороны, об эффективности использования протонных пучков для проведения лучевой терапии в онкологии; с другой стороны, о возможности снижения отпущаемой дозы и уменьшения дозовой нагрузки на пациента.

Продолжены работы по изучению генетического контроля уровня радиорезистивности клеток [10–13] и закономерностей мутагенного действия ионизирующей радиации [14, 17]. Использование нескольких генетических систем позволяет тестировать определенные мутагенные последствия индукции двунитевых разрывов ДНК. Нерепарируемые ДР ведут к разрывам хромосом, их утрате и гибели клеток. Эффективность основных путей репарации оценивали по возникновению делеций в процессе ошибочной репарации путем негомологичного соединения разрывов и по возникновению перестроек в результате репарации гомологичной рекомбинацией.

Модельная плазмидная система позволяет выявлять делеции, возникающие в результате ошибочной репарации путем незаконного воссоединения концов двунитевого разрыва ДНК [16]. Частота спонтанного возникновения делеций в исходной культуре штаммов RAD^+ составляет $(2,8 \pm 0,4) \cdot 10^{-7}$. Делеционные мутанты эффективно индуцируются γ -облучением (рис. 5). При дозе облучения 100 Гр (выживаемость 26 %) частота делеций составляла $(8,7 \pm 4,2) \cdot 10^{-6}$. Зависимость частоты индукции делеционных мутантов у штаммов RAD^+ от дозы γ -облучения можно описать степенной функцией. Введение в генотип штаммов мутации $rad53$ подавляет индукцию делеционных мутантов γ -излучением. Таким образом, показано участие гена $RAD53$ в репарации ДНР путем ННЕЖ.

Анализ (генетический, рестрикционный, электрофоретический) плазмидной ДНК позволяет определить размер и положение делеций [14, 17]. Генетический анализ выявил три класса делеций, затрагивающих два, три и четыре гена. В необлученной популяции клеток 85 % делеций затрагивают два гена ($CYN2$ и CAN), 10 % — четыре гена ($CYN2$, $CAN1$,

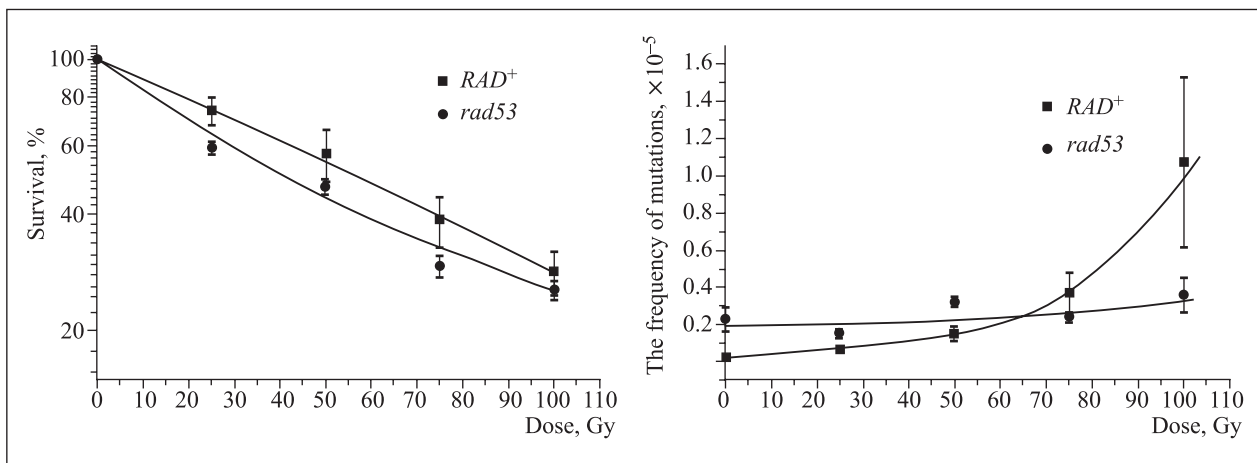


Рис. 5. Кривые выживания и индукция делеционных мутантов у гаплоидных штаммов разного генотипа под действием γ -облучения

LEU2, *TRP1*). При облучении доля мутантов с протяженными делециями возрастает до 30%. Тяжелые ионы индуцируют протяженные делеции менее эффективно.

Уточнение размера делеции с помощью электрофоретического анализа показало, что размер проанализированных делеций молекулы плазмидной ДНК варьируется от 1 до 2,8 т. п. н. Проведен рестрикционный анализ молекул плазмидной ДНК, выделенных из 13 мутантных клонов. Показано, что делеции, затрагивающие два и три гена, локализованы в области генов *CAN1-CYH2*. Плазмидную ДНК из 10 мутантов, делеции которых затрагивают четыре гена, выделить не удалось. По-видимому, они несут комплексные мутационные изменения, затрагивающие регуляторные области, необходимые для поддержания плазмиды в клетках бактерий.

На модельных системах дисомных штаммов изучали потерю лишних хромосом IV, VII и крупные перестройки генома, вызванные гомологичной реком-

бинацией [15]. Показано, что ионизирующая радиация индуцирует потерю хромосом и рекомбинацию, зависимость носит линейно-степенной характер (рис. 6).

На специально сконструированных генетических системах с удвоенной последовательностью гена *lys2* (две разные мутантные аллели), локализованных в одной или разных хромосомах, изучали межхромосомную и внутрехромосомную рекомбинации (транслокации). Показано, что ионизирующая радиация индуцирует перестройки генома, зависимость индукции носит линейно-степенной характер (рис. 6).

Из рис. 6 видно, что у гаплоидных штаммов дрожжей наиболее эффективно происходят события, связанные с гомологичной рекомбинацией, негомологичная рекомбинация, сопровождаемая возникновением делеций, менее эффективна. Потеря лишних хромосом у дисомиков, связанная с сохранением нерепарированных двунитевых разрывов, происходит с промежуточной частотой.

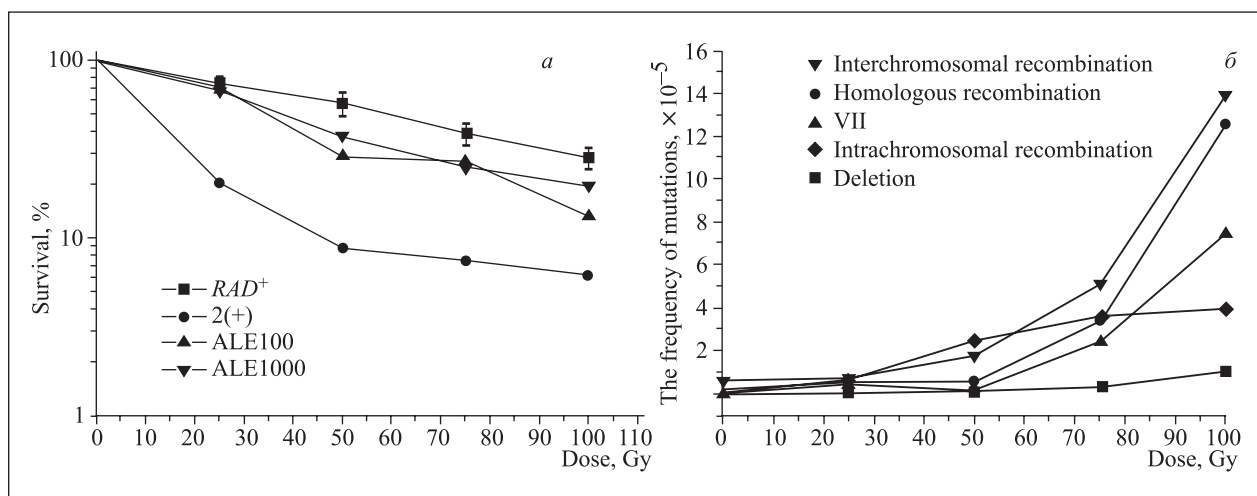


Рис. 6. Индукция различных типов повреждений ДНК ионизирующей радиацией: а — кривые выживаемости используемых штаммов; б — частота индукции различных типов мутаций

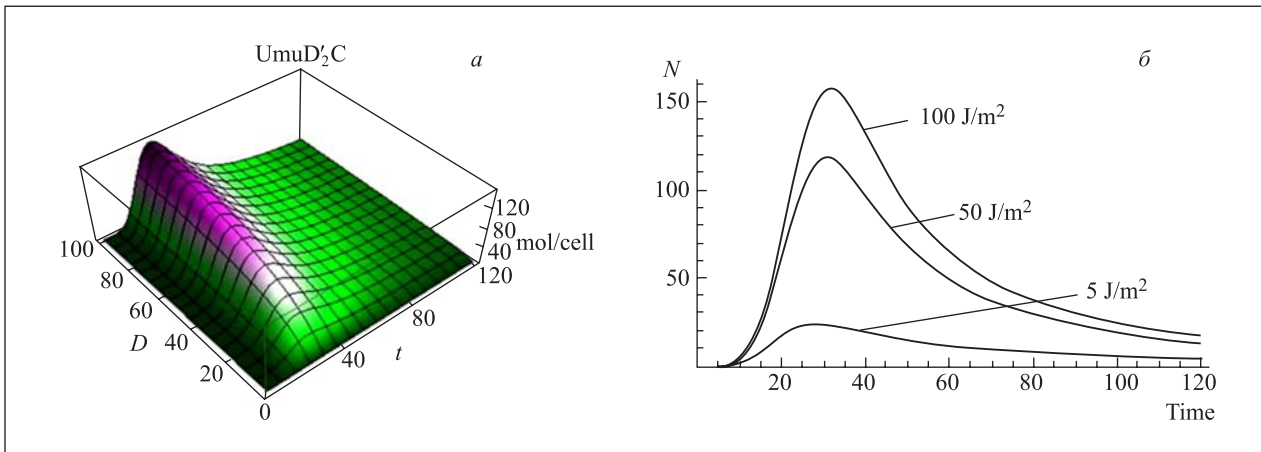


Рис. 7. Численный расчет динамики нормированной концентрации белкового комплекса $UmuD_2C$ (ДНК-полимеразы V). а) Поверхность, характеризующая изменение концентрации белка $UmuD_2C$ во времени и в зависимости от дозы УФ-излучения. б) Набор кривых, характеризующих динамику белка $UmuD_2C$ при дозах УФ-излучения 5, 50 и 100 Дж/м²

На основе предложенных ранее подходов разработана математическая модель, описывающая кинетику белковых комплексов, осуществляющих механизм translesion-синтеза (TLS) в клетках бактерий *Escherichia coli*. Построены динамические модели изменения концентраций продуктов генов *umuD* и *umuC*, димеризованных продуктов гена *umuD*, основных регуляторных комплексов SOS-системы: $UmuD_2C$, $UmuD_2C$ (ДНК-полимераза V),

$UmuDD_2C$ (рис. 7). На основе экспериментальных данных рассчитаны параметры модели. Исследована зависимость динамики белков от дозы ультрафиолетового излучения.

Задачей дальнейших исследований является усовершенствование представленных подходов и построение обобщенной математической модели, описывающей индуцированный мутационный процесс у клеток *Escherichia coli*.

ФОТОРАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основной задачей в прошедшем году было в условиях *in vivo* изучить влияние комбинации катарактогенных факторов (однократное облучение радиоактивными лучами и продолжительное облучение УФ-светом) на образование катаракты у мышей. Изучение динамики развития катаракты в течение 6 месяцев показало, что комбинация повреждающих факторов достоверно обладает более сильным катарактогенным эффектом, чем каждый фактор в отдельности.

Основной параметр, который может быть использован *in vivo* для характеристики воздействия радиации и ультрафиолета на состояние хрусталика глаза, — это потеря его прозрачности, т.е. образование катаракты. Однако множество факторов, как свидетельствуют многочисленные исследования, могут повлиять на прозрачность хрусталика. В их число входят возраст (сенильные и врожденные катаракты), травмы, заболевания (диабет). В данный момент времени не существует четких критериев, которые помогли бы в условиях *in vivo* отличить такие побочные воздействия. Кроме того, существующие методы оценки развития помутнения в достаточной мере субъективны и основаны на мнении эксперта, оценивающего катаракту. Поэтому основное внимание

в исследовании этого года было уделено достоверности получаемых результатов. Очевидно, что развитие старческой (сенильной) катаракты могло бы существенно исказить результат исследования, так как развитие как радиационной, так и ультрафиолетовой катаракты требует нескольких месяцев. Поэтому среди многих возможных линий мышей был выбран гибрид первого поколения линий C57Bl и CBA, так как эти животные устойчивы к развитию сенильной катаракты. Были сформированы следующие экспериментальные группы: 1) контроль — 18 шт., 2) ежедневное УФ-облучение — 18 шт., 3) однократное облучение γ -лучами при дозе 2 Гр — 20 шт., 4) однократное облучение γ -лучами при дозе 2 Гр плюс ежедневное УФ-облучение — 20 шт., 5) однократное облучение γ -лучами при дозе 4 Гр — 22 шт., 6) однократное облучение γ -лучами при дозе 4 Гр плюс ежедневное УФ-облучение — 22 шт. Применение двух доз радиации позволило дополнительно проконтролировать индукцию радиационной катаракты, так как известно, что образование радиационной катаракты прямо зависит от дозы облучения. Обследование животных проводили слепым методом с помощью щелевой лампы (ЩЛТ-1). Результаты обследования показали, что в хрусталике мышей

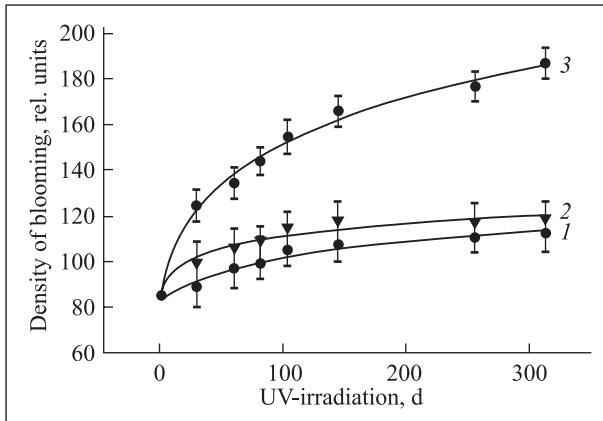


Рис. 8. Эффект от применения нового препарата (N-acetyl carnosin + pantetin) для лечения катаракты у лабораторных мышей, индуцированной ультрафиолетовым излучением

формируются следующие виды помутнений: посткортикальные, игольчатые, точечные, сетчатые и диффузные [18]. Обнаружено, что только диффузные помутнения присутствуют во всех группах животных, остальные виды помутнений обнаруживались лишь в отдельных группах. Статистическая

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ СИСТЕМ

В секторе компьютерного молекулярного моделирования продолжены исследования по анализу нано- и биоструктур [19–21]. Изучены структурные и функциональные свойства циклинзависимых киназ человека и дрожжей. Построена третичная структура протеинкиназы дрожжей на основе методов гомологичного моделирования. Далее, изучены структурные изменения, к которым приводит замена CDC28-G20S. При этом использовали кристаллическую структуру киназы человека CDK2. Провели 2-нс молекулярно-динамическое (МД) моделирование кристаллической решетки активного комплекса киназы рТ160-CDK2/циклин А/АТР-Mg²⁺/субстрат. По данным МД-моделирования структура немутантного и мутантного, включающего замену G16S-CDK2, соответствующую дрожжевой G20S-CDC28, комплексов CDK2 заметно отличаются друг от друга, причем различия структурных конформаций наиболее ярко проявляются именно в тех участках, которые играют ключевую роль в функционировании киназы. На основе результатов компьютерных расчетов рассматриваются структурные элементы, которые могут влиять на киназную активность и регуляторное фосфорилирование, на процессы связывания протеинкиназы с циклинами и субстратами [9, 22, 32].

Методом компьютерного моделирования проведено сравнительное исследование молекулярной динамики родопсина, содержащего хромофорную

обработка результатов показала, что облучение УФ-светом достоверно ($P < 0,001$) увеличивало степень помутнения хрусталика. Вместе с тем использование метода экспертных оценок, т.е. дискретных (балльных) оценок помутнений, не позволяет вычислить точно вклад УФ-облучения в формирование катаракты на фоне облучения γ -лучами. Такие вычисления можно провести лишь с использованием методов графического анализа изображений. Однако применение таких методов на данном этапе развития катаракты невозможно вследствие того, что помутнения невелики и блики от осветителя (щелевой лампы) вносят существенную ошибку в цифровое изображение хрусталика. Поэтому эксперимент *in vivo* продлен до 9 месяцев.

Продолжены работы по исследованию образования катаракты в полях ультрафиолетового ионизирующего излучения. В результате этих исследований был получен новый препарат (N-acetyl carnosin + pantetin) для профилактики и лечения катаракты, индуцированной УФ-излучением. Эффект лечения был продемонстрирован в экспериментах на лабораторных животных, облучаемых ультрафиолетом (рис. 8). Клинические испытания нового препарата планируется начать в 2008 г.

группу (11-цис-ретиналь), и свободного опсина. Молекулярная динамика прослежена во временном интервале, равном 3000 пс; при этом получено и проанализировано $3 \cdot 10^6$ дискретных конформационных состояний родопсина и опсина. Продемонстрировано, что «встраивание» хромофорной группы в хромофорный центр опсина оказывает существенное влияние на ближайшее белковое окружение хромофора, на конформационное состояние цитоплазматического домена и практически не оказывает влияния на конформационное состояние внутридискового домена. На основании результатов моделирования обсуждается возможный внутримолекулярный механизм поддержания родопсина как G-белок-связывающего рецептора в неактивном состоянии, т.е. функция хромофора как эффективного лиганда-антагониста [23–31].

В 2007 г. проводились исследования по следующим направлениям: квантовая обработка информации в нейронных сетях мозга; исследование возможности применения генетических алгоритмов для моделирования пространственной структуры белков, использование вейвлет-преобразования для устранения расходимостей в задачах квантовой теории поля.

Проводились исследования, связанные с квантово-механическим описанием мезоскопических систем, в частности, с ролью сознания в управлении

квантовыми нейронными сетями. На основе развития идей Р. Пенроуза о тождественности универсального сознания и геометрии на планковских масштабах была предложена модель рождения пространства-времени из вакуума путем мультипликативного процесса. Причинность на множестве, порождаемом таким процессом, вводится двумя типами отноше-

ний — отношением соседства и отношением часть—целое. Результаты исследований доложены на 3-й Международной конференции по p -адической математической физике (Москва, 1–6 октября 2007 г.), а также направлены в журнал «New Advances in Physics» [33, 34].

ФИЗИКА ЗАЩИТЫ И РАДИАЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Начаты работы по проектированию радиационной защиты комплекса NICA:

- выполнена верификация универсальных МК-программ транспорта излучений в веществе FLUKA и GEANT4 на основе экспериментальных

данных по выходу нейтронов из толстой железной мишени, облучаемой ядрами ^{238}U с энергией 1 ГэВ/нуклон (рис. 9);

- определен критерий расчета защиты нуклотрона в режиме ускорения ядер ^{238}U с задаваемыми в проекте параметрами;

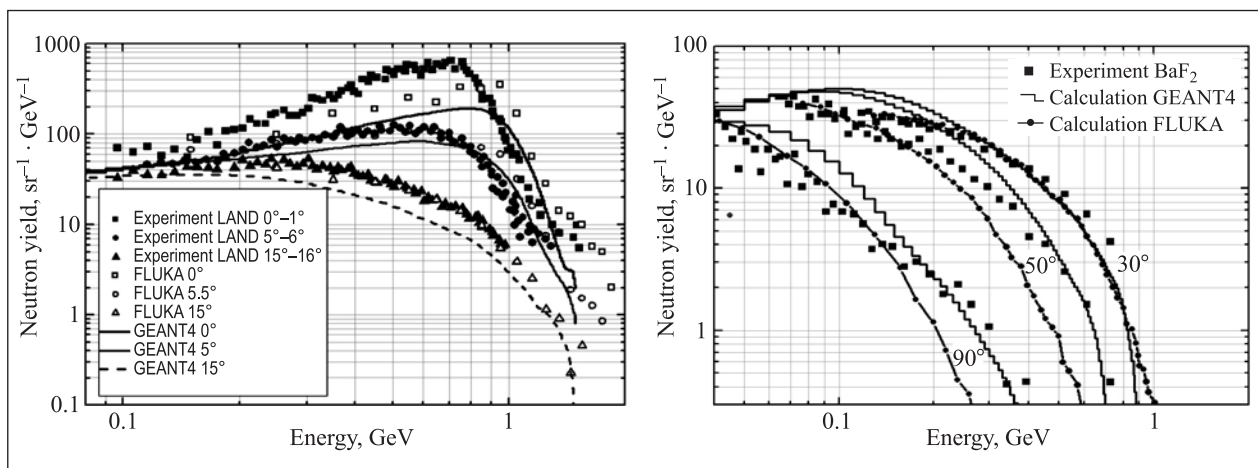


Рис. 9. Данные моделирования выхода нейтронов при малом угле из железной мишени ($20 \times 10 \times 10$ см) в пучке ядер ^{238}U с энергией 1 ГэВ/нуклон

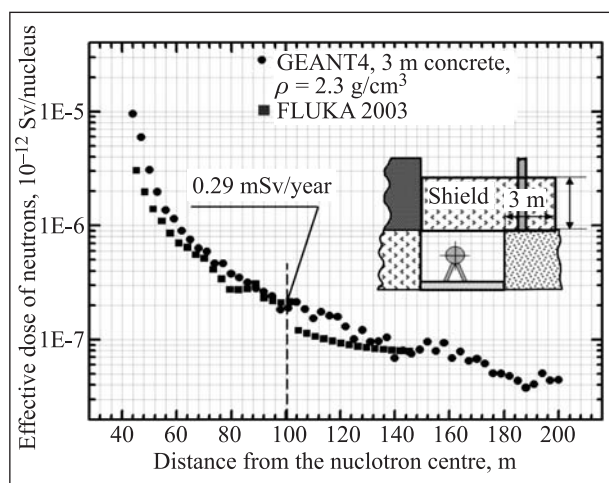


Рис. 10. Радиальное распределение эффективной дозы skyshine нейтронов, полученное при моделировании нуклотрона с использованием защиты из бетона толщиной 3 м для проекта NICA

- выполнен расчет радиального распределения мощности дозы нейтронов skyshine вокруг нуклотрона без верхней защиты в режиме ускорения ядер урана с энергией 3,5 ГэВ/нуклон;

- выполнены расчеты радиальных распределений мощности доз нейтронов skyshine вокруг нуклотрона в режиме ускорения ядер урана с энергией 3,5 ГэВ/нуклон при наличии верхней защиты кольца нуклотрона из обычного бетона различной толщины (рис. 10).

2. Продолжались работы, связанные с разработкой, расчетным моделированием и калибровкой российских нейтронных детекторов DAN и LEND, предназначенных для исследования поверхностей Марса и Луны ядерно-физическими методами.

3. Разработана методика коррекции показаний индивидуальных альбедных дозиметров нейтронов и дозиметров нейтронов на основе СНМ-14 в замедлителе с использованием систематизации спектров ней-

тронов в полях излучений установок ОИЯИ и ряда зарубежных научных центров.

4. В рамках выполнения Межгосударственного научного соглашения России и Индии в части про-

екта по разработке новых защитных материалов на медицинском пучке фазотрона ЛЯП начаты эксперименты по исследованию характеристик новых термолюминесцентных детекторов.

КОНФЕРЕНЦИИ И ОБРАЗОВАНИЕ

Российская академия наук, Отделение биологических наук РАН, Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, ГНЦ РФ «Институт медико-биологических проблем» РАН совместно с Национальной академией наук Армении, Институтом биохимии им. Г. Х. Бунатяна НАН РА, Ереванским государственным университетом и Объединенным институтом ядерных исследований провели 24–28 января III Международный симпозиум «Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии», посвященный 100-летию со дня рождения академика Норайра Мартиросовича Сисакяна. Решением 33-й сессии Генеральной конференции ЮНЕСКО 100-летие со дня рождения академика Норайра Мартиросовича Сисакяна включено в календарь юбилейных дат ЮНЕСКО на 2006–2007 гг.

С 28 мая по 2 июня в Дубне прошел международный симпозиум «Современные спектральные методы в исследовании структуры и функции биополимеров в биологии и медицине», организованный Советом по биофизике РАН, Объединенным институтом ядерных исследований (посредством Лаборатории радиационной биологии), Московским государственным университетом им. М. В. Ломоносова и поддержанный Международным союзом фундаментальной и прикладной биофизики (IUPAB). Научными координаторами симпозиума являлись: председатель научного совета по биофизике РАН, член-корреспондент РАН А. Б. Рубин и директор Института биодиагностики национального научно-исследовательского совета Канады, глава IUPAB профессор С. П. Смит.

Современные спектральные методы весьма эффективны при изучении биополимеров и имеют большие преимущества в биомедицинских исследованиях, поскольку являются неинвазивными. Они успешно применяются также для индикации различных заболеваний и обеспечивают возможность идентификации патологических изменений на ранних стадиях развития. Биомедицинская спектроскопия является граничной областью биофизики, в которой за последние годы было получено множество новых результатов.

В работе симпозиума приняло участие около 80 ученых из ОИЯИ, России, Армении, Азербайджана, Белоруссии, Болгарии, Германии, Дании, Канады, США, Франции, Швейцарии. На симпозиуме было представлено 30 пленарных докладов по фундаментальным основам спектральных методов и

их применению в биомедицине. Особое внимание уделено анализу первичных процессов, лежащих в основе воздействия оптического и ионизирующего излучения на биополимеры, а также инфракрасной и гамма-лучевой спектроскопии, радиобиологическим, акустическим и иным методам, применяемым в биомедицине.

С 22 по 26 октября ОИЯИ совместно с ГНЦ РФ ИМБП РАН в Дубне с участием представителей ЛРБ проводилось заседание многосторонней рабочей группы по обеспечению радиационной безопасности экипажей МКС.

Продолжался учебный процесс на кафедре «Биофизика» международного университета «Дубна». В настоящее время по специальности «Радиационная безопасность человека и окружающей среды» обучается 80 студентов. В 2007 г. на кафедру было принято 19 новых студентов. 9 студентов успешно закончили обучение и получили диплом инженера-биофизика.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Борейко А. В. и др.* Индукция двуниевых разрывов ДНК в лимфоцитах человека при действии ускоренных тяжелых ионов различных энергий // III Междунар. симп. «Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии». Дубна, 2007. С. 109–110.
2. *Чаусов В. Н. и др.* Закономерности индукции и репарации двуниевых разрывов ДНК в лимфоцитах человека при действии ускоренных тяжелых ионов различных энергий // Радиационная биология. Радиоэкология (в печати).
3. *Boreyko A. V. et al.* Induction and Repair of Double Strand Breaks of DNA in Human Lymphocytes after Irradiation by Accelerated Lithium and Boron Ions // Part. Nucl., Lett. (in press).
4. *Насонова Е. А. и др.* Индукция хромосомных аберраций в лимфоцитах человека при действии малых доз ионизирующей радиации и возможные молекулярные механизмы клеточного ответа // Тез. докл. III Междунар. симп. «Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии», Москва, 24–28 января 2007 г. Дубна, 2007. С. 127.
5. *Зайцева Е. М., Денерас-Каминьска М.* Изучение индивидуальной радиочувствительности на лимфоцитах периферической крови человека при воздействии ионизирующих излучений с высокой ЛПЭ // Тр. III Междунар. симп. «Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии», Москва, 24–28 января 2007 г. Дубна, 2007. С. 301–303.

6. Зайцева Е. М., Говорун Р. Д. Исследование хромосомных повреждений в клетках человека, облученных протонами терапевтического пучка на фазотроне Объединенного института ядерных исследований // 4-я Междунар. летняя шк. «Методы ядерной физики и ускорителей в биологии и медицине», ИЕАР СТУ, Прага, 8–19 июля 2007 г.
7. Зайцева Е. М., Говорун Р. Д., Красавин Е. А. Культура лимфоцитов крови человека как модель для изучения повреждений клеток опухолей при протонной лучевой терапии // XV Междунар. научно-практ. конф. «Экология человека в постчернобыльский период», Минск, 28–30 ноября 2007 г.
8. Кретов Д. А., Холмуродов Х. Т., Колтовая Н. А. Анализ связей между АТФ и каталитической субъединицей киназы (нативной и мутантной) с помощью МД-моделирования кристаллической решетки активной киназы CDK2 // Журн. физ. химии. 2007. Т. 81, № 10. С. 1891–1896.
9. Selwyn R. A., Kholmurodov Kh. T., Koltovaya N. A. Homology Modeling and Molecular Dynamics of Cell Cycle-Dependent Protein Kinase // Part. Nucl., Lett. 2007. V. 4, No. 4(140). P. 571–576.
10. Колтовая Н. А. и др. Взаимодействие чекпойнт-генов *RAD9*, *RAD17*, *RAD2* и *RA53* в определении чувствительности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* к действию ионизирующей радиации. Препринт ОИЯИ P19-2007-125. Дубна, 2007.
11. Колтовая Н. А. и др. Взаимодействие чекпойнт-генов *RAD9*, *RAD17*, *RAD24*, *RA53* с генами *SRM5/CDC28*, *SRM8/NET1* и *SRM12/HFI1* в определении чувствительности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* к действию ионизирующей радиации. Препринт ОИЯИ P19-2007-126. Дубна, 2007.
12. Колтовая Н. А. Активация репарации и чекпойнт-контроля двунитевыми разрывами ДНК. Каскад активационного фосфорилирования белков. Препринт ОИЯИ P19-2007-132. Дубна, 2007.
13. Кадышевская Е. Ю., Колтовая Н. А. Участие генов *SRM5/CDC28*, *SRM8/NET1*, *SRM12/HFI1* в чекпойнт-контроле у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Препринт ОИЯИ P19-2007-168. Дубна, 2007.
14. Yatsевич E. et al. Analysis of Plasmid Deletion Induced by Ionizing Radiation in Yeast *Saccharomyces cerevisiae* // Book of Reports of IV Intern. Summer School and Workshop «Nuclear Physics Methods and Accelerators in Biology and Medicine». July 8–19, 2007. Prague, 2007. P. 302–303.
15. Болонкина Н. В., Замятина Т. А., Колтовая Н. А. Индукция крупных перестроек или полной утраты хромосом под действием УФ-света и ионизирующего излучения у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Тез. докл. междунар. шк.-конф., посвящ. 100-летию со дня рождения М. Е. Лобашева, «Системный контроль генетических и цитологических процессов», Санкт-Петербург, 10–13 ноября 2007 г. С. 36–37.
16. Степанова А. Н., Колтовая Н. А. Индукция делеционных мутантов под действием УФ-света и γ -излучения у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Там же. С. 85–86.
17. Яцевич Е. В. и др. Генетический анализ делеционных мутантов, индуцированных УФ-светом и ионизирующим излучением, у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Там же. С. 100.
18. Муранов К. О. и др. Исследование комплексного воздействия ионизирующей и ультрафиолетовой радиации на растворы кристаллинов и на хрусталик глаза мыши. М.: Слово, 2007; Фундаментальные науки — медицине. 3–4 декабря 2007 г. С. 166 (тезисы).
19. Холмуродов Х. Т. и др. МД-моделирование белка RecA: влияние аминокислотных (мутационных) замещений в бета-листных петлях и сайтах связывания, приводящих к ингибированию взаимодействия с ДНК // Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии: III Междунар. симп. под эгидой ЮНЕСКО, посвящ. 100-летию со дня рождения акад. Н. М. Сисакяна, Москва, Дубна, 24–28 января 2007 г.
20. Тропин Т. В. и др. К вопросу образования кластеров фуллерена в сероуглероде. Данные малоуглового рассеяния нейтронов и моделирования молекулярной динамики // VI Нац. конф. по применению рентгеновского, синхротронного излучений, нейтронов и электронов для исследования материалов, Москва, Институт кристаллографии РАН, 12–17 ноября 2007 г.
21. Фельдман Т. Б., Холмуродов Х. Т., Островский М. А. Молекулярная динамика родопсина и свободного опсина: компьютерное моделирование // XVIII Менделеевский съезд по общей и прикладной химии, Москва, 23–28 сентября 2007 г. С. 489.
22. Кретов Д. А., Холмуродов Х. Т., Колтовая Н. А. Анализ связывания АТФ с каталитической субъединицей киназы методом МД-моделирования кристаллической решетки активной киназы CDK2 // Журн. физ. химии. 2007. Т. 81, № 10. С. 1891–1896.
23. Feldman T. B., Kholmurodov Kh. T., Ostrovsky M. A. Molecular Dynamics Simulation of Visual Pigment Rhodopsin: Mechanism of Protonated Schiff's Base Linkage Stabilization // Intern. Conf. Molecular and Nanoscale Systems for Energy Conversion (MEC-2007), Moscow, Oct. 1–3, 2007. P. 54.
24. Холмуродов Х. Т., Фельдман Т. Б., Островский М. А. Молекулярно-динамическое изучение конформационных и структурных свойств белка родопсин в темно-адаптированном состоянии // Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии: III Междунар. симп. под эгидой ЮНЕСКО, посвящ. 100-летию со дня рождения акад. Н. М. Сисакяна, Москва, Дубна, 24–28 янв. 2007 г.
25. Фельдман Т. Б., Холмуродов Х. Т., Островский М. А. Молекулярное моделирование зрительного пигмента родопсина с точечной мутацией E181K, связанной с патогенезом пигментного ретинита // Юбилейная научно-практ. конф. «Федоровские чтения-2007», Москва, 14–15 июня 2007 г. С. 259.
26. Kholmurodov Kh. T., Feldman T. B., Ostrovskii M. A. Molecular Dynamics of Rhodopsin and Free Opsin: Computer Simulation // Neuroscience and Behavioral Physiology. 2007. V. 37. P. 161–174.
27. Холмуродов Х. Т., Фельдман Т. Б., Островский М. А. Взаимодействие хромофора, 11-*цис*-ретинала, с аминокислотными остатками зрительного пигмента родопсина в области протонированного шиффова основания: компьютерное молекулярное моделирование // Изв. РАН. Сер. хим. 2007. № 1. С. 19–27.
28. Kholmurodov Kh. T., Feldman T. B., Ostrovskii M. A.

- Molecular Dynamics Simulation and Experimental Studies of the Visual Pigment Rhodopsin: Multiple Conformational States and Structural Changes. N. Y., 2007. P. 85–113.
29. *Фельдман Т.Б., Холмуродов Х.Т., Островский М.А.* Молекулярная физиология зрительного пигмента родопсина: компьютерное моделирование // Письма в ЭЧАЯ. 2008. Т. 5, № 1(143).
 30. *Фельдман Т.Б., Холмуродов Х.Т., Островский М.А.* Молекулярное моделирование зрительного пигмента родопсина с точечной мутацией E181K, связанной с патогенезом пигментного ретинита // Офтальмохирургия. 2008. № 1.
 31. *Feldman T.B., Kholmurodov Kh.T., Ostrovsky M.A.* Role of Glu181 in the Mechanism of Protonated Schiff Base Linkage Stabilization in Dark-Adapted Visual Pigment Rhodopsin: Molecular Dynamics Simulation. N. Y., 2008.
 32. *Kholmurodov Kh.T.* Computer Molecular-Dynamics Studies on Protein Structures (Visual Pigment Rhodopsin and Cyclin-Dependent Kinases) // EXON-2007 / Eds.: Yu.E. Penionzhkevich and E. Cherepanov. AIP Conf., 2007.
 33. *Altaisky M.V.* Wavelet-Based Quantum Field Theory // Symmetry, Integrability and Geometry: Methods and Applications. 2007. V. 3. P. 105.
 34. *Altaisky M.V., Gorbachev V.N., Pichierra F.* Coherent signal amplification in rhodopsin media // Part. Nucl., Lett. 2007. V. 4, No. 2(138). P. 150–153.
 35. *Limoli C.L. et al.* Persistent Oxidative Stress in Chromosomally Unstable Cells // Cancer Res. 2003. V. 63. P. 3107–3111.