

ОБЪЕДИНЕННЫЙ ИНСТИТУТ ЯДЕРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ
В ОИЯИ**

**RADIOBIOLOGICAL
RESEARCH
AT JINR**

Дубна • 2015



Составители:

Член-корреспондент РАН *Е. А. Красавин*
Доктор биологических наук *А. В. Борейко*
Доктор биологических наук *Н. А. Колтовая*
Кандидат биологических наук *Р. Д. Говорун*
Кандидат биологических наук *О. В. Комова*
Доктор физико-математических наук *Г. Н. Тимошенко*

Перевод *С. С. Неговелова*

Compiled by:

Corresponding Member of the RAS *E. A. Krasavin*
Doctor of Biological Sciences *A. V. Boreyko*
Doctor of Biological Sciences *N. A. Koltovaya*
Candidate of Biological Sciences *R. D. Govorun*
Candidate of Biological Sciences *O. V. Komova*
Doctor of Physical and Mathematical Sciences *G. N. Timoshenko*

Translated from Russian by *S. S. Negovellov*

Радиобиологические исследования в ОИЯИ / Сост. *Е. А. Красавин*,
P15 *А. В. Борейко*, *Н. А. Колтовая*, *Р. Д. Говорун*, *О. В. Комова*, *Г. Н. Тимошенко*;
Под общ. ред. чл.-корр. РАН *Е. А. Красавина*; Пер. *С. С. Неговелова*. —
Дубна: ОИЯИ, 2015. — 182 с., 26 с. фото.

Radiobiological Research at JINR / Comp. *E. A. Krasavin*, *A. V. Boreyko*,
N. A. Koltovaya, *R. D. Govorun*, *O. V. Komova*, *G. N. Timoshenko*; Ed. by Corr.
Mem. of the RAS *E. A. Krasavin*; Transl. by *S. S. Negovellov*. — Dubna: JINR,
2015. — 182 p., 26 p. photo.

ISBN 978-5-9530-0415-2

ВВЕДЕНИЕ

Объединенный институт ядерных исследований является уникальным мировым научным центром, в котором сосредоточены ядерно-физические установки, генерирующие ионизирующие излучения с разными физическими характеристиками. На протяжении многих лет он привлекает специалистов из разных стран для проведения фундаментальных исследований в области не только физики, но и биологии. Ускоренные заряженные частицы различных энергий служат эффективным инструментом в решении многих актуальных проблем современной радиобиологии. Уже на ранних этапах классики радиационной генетики — Н. В. Тимофеев-Ресовский, Д. Ли, К. Циммер и др. — указывали на необходимость и плодотворность применения ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками в решении *фундаментальных задач* радиационной биологии и генетики. Они касались выяснения механизмов биологического действия ионизирующих излучений, индуцированного мутационного процесса, конкретизации физических событий, служащих пусковыми механизмами формирования мутаций. На необходимость использования ионизирующих излучений разного качества в генетических исследованиях неоднократно указывали классики количественной радиобиологии. В связи с этим Н. В. Тимофеев-Ресовский писал: «Элементарные дискретные изменения элементарных дискретных компонентов генотипа (генов) у всех в этом отношении изученных живых организмов вызываются всеми типами ионизирующих излучений, следуя при этом одноударной кривой доза-эффект. Опыты с излучениями разных мощностей дозы и разной жесткости позволили в значительной мере конкретизировать то физическое явление, которое служит физическим пусковым механизмом, вызывающим мутации, попадание в определенный эффективный объем в форме одной ионизации».

Действительно, использование в практике радиобиологических экспериментов изотопных альфа-источников, а позднее нейтронных генераторов позволило приступить к решению ряда вопросов, касающихся механизмов летального действия ионизирующих излучений на клетки различных организмов, биологической эффективности излучений разного качества, закономерностей индуцированного мутационного процесса. Создание ускорителей заряженных частиц и прежде всего ускорителей многозарядных ионов

предоставило широкие возможности изучения наиболее актуальных проблем современной радиационной биологии. Использование пучков многозарядных ионов, генерируемых ускорителями ОИЯИ, позволило специалистам Института решить одну из центральных задач радиобиологии — проблему относительной биологической эффективности (ОБЭ) излучений разного качества.

Фундаментальные разработки, выполненные в лаборатории в предыдущие годы, представляются весьма плодотворными при решении многих *практических задач*. Накопленный экспериментальный материал и исследования по проблеме ОБЭ необходимы при использовании в практике *лучевой терапии* злокачественных новообразований корпускулярных излучений высоких энергий: пучков протонов и ионов углерода. Радиобиологические эксперименты на ускорительных установках представляются важными при решении вопросов нормирования *лучевых нагрузок* на персонал, работающий в смешанных полях ионизирующих излучений, что особенно актуально в связи с необходимостью учета стохастических эффектов радиационного воздействия, индуцируемых излучениями, различающимися по величине линейной передачи энергии (ЛПЭ).

Планы по освоению дальнего космоса выдвигают новые задачи, решаемые специалистами в области *космической радиобиологии*. В связи с этим использование *базовых установок ОИЯИ рассматривается как уникальная возможность моделирования биологического действия космических видов излучений*. К настоящему времени становится ясным, что в ходе пилотируемых межпланетных полетов высокую опасность для экипажей кораблей могут представлять тяжелые заряженные частицы, входящие в состав галактических космических лучей. Диапазон энергий частиц, приходящих из глубин Галактики, как известно, крайне широк и простирается до сверхвысоких энергий порядка 10^{20} эВ. Обеспечить защиту организма от их повреждающего действия методами физической защиты в ближайшей перспективе не представляется возможным. Поэтому моделирование биологического действия космических видов излучений на ускорительных установках позволяет решать и эти важные практические задачи космической радиобиологии.

В издании представлены материалы, касающиеся формирования и развития радиобиологических исследований на ускорительных установках Института в течение нескольких десятилетий. Они дают, как мы надеемся, достаточно ясное представление об основных направлениях работ в этой области.

ПЕРВЫЕ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭКСПЕРИМЕНТЫ В ОИЯИ

Первые радиобиологические эксперименты в Объединенном институте ядерных исследований (ОИЯИ) были начаты в далеком 1959 г. на 6-метровом протонном синхроциклотроне Лаборатории ядерных проблем (ЛЯП). Эти исследования проводили сотрудники лаборатории радиотоксикологии и клиницисты Института гигиены труда и профессиональных заболеваний АМН СССР под руководством заведующей лабораторией профессора Э. Б. Курляндской и директора института академика А. А. Летавета. В начале 1960 г. на территории ЛЯП была организована лабораторная база этого института, смонтирован маленький «финский» домик во дворе Лаборатории нейтронной физики рядом с теперь уже бывшим павильоном физических измерений ЛЯП (он существует до сих пор). И на этой базе начали работать первые сотрудники, постоянно живущие в Дубне, со статусом прикомандированных к ЛЯП. Перед исследовательским коллективом стояли задачи сравнительной оценки воздействия разных доз протонного и γ -излучений на организм экспериментальных животных. Получение такого рода данных служило бы необходимой базой для разработки мер по снижению степени вредного влияния корпускулярных излучений на организм человека и в итоге для создания нормативов для персонала, работающего в смешанных полях ионизирующих излучений.

В те же годы в СССР возник ряд актуальных задач, связанных с началом космической эры и освоением околоземного космического пространства. Острая необходимость быстрого решения этих задач стимулировала проведение широкомасштабных радиобиологических исследований и в конечном итоге определила фронт выполняемых работ на установках ОИЯИ. Запущенные в тот период искусственные спутники Земли и космические корабли обнаружили высокий уровень доз ионизирующих излучений в околоземном космическом пространстве. Выяснилось, что в космосе присутствуют различные виды ионизирующих излучений, имеющие сложный зарядовый и энергетический спектры. При подготовке первых полетов животных и человека в космос не было ясности в том, как будут вести себя живые организмы в условиях многокомпонентного радиационного воздействия, в том числе

при действии протонов высоких энергий, генерируемых Солнцем и исходящих из глубин Галактики. Решить эту задачу стало возможным в наземных условиях, облучая биологические объекты на первом в Дубне 6-метровом ускорителе протонов, генерирующем пучки протонов с энергией до 660 МэВ. Целью данных работ являлось установление величины относительной биологической эффективности (ОБЭ) протонов высокой энергии, т. е. необходимо было установить, насколько более (или менее) эффективны высокоэнергетичные протоны по сравнению с рентгеновским или γ -излучением при действии на живые организмы. При краткосрочных полетах в околоземном космическом пространстве радиационная опасность обусловлена в основном протонами, составляющими излучение радиационного пояса Земли или генерируемыми в результате хромосферных вспышек на Солнце. Наибольший вклад вносят протоны с энергиями в диапазоне 100–700 МэВ. Поэтому первоочередной задачей становилось исследование влияния протонов разных энергий на организм человека и поиск способов защиты космонавтов от их негативно-го влияния во время полетов.

В ходе обсуждения всей совокупности вопросов в руководящих органах страны была выработана программа исследований и пути ее реализации. В декабре 1963 г. в Москве создан Институт медико-биологических проблем Министерства здравоохранения (ИМБП МЗ) СССР, возглавляемый академиком А. В. Лебединским, и специальное подразделение, руководимое профессором Ю. Г. Григорьевым. В Дубне при ЛЯП ОИЯИ заработала стационарная лаборатория — филиал одного из подразделений ИМБП, которая являлась, по сути, базой для проведения работ по облучению различных биологических объектов разными видами ионизирующих излучений. На синхроциклотроне проводили эксперименты по облучению разных животных (крыс, мышей, собак и даже обезьян), растительных объектов, а также культивируемых клеток млекопитающих и человека протонами с энергиями от 25 до 645 МэВ. Группа физиков ИМБП обеспечивала выведение пучков протонов с разными энергиями и дозиметрию при облучении биообъектов, используя блоки тканеэквивалентных поглотителей.

На этом ускорителе проводили свои опыты не только сотрудники ИМБП, но и специалисты из других институтов АН СССР, АМН СССР, Минздрава СССР. В соответствии с разработанной в АН СССР программой «Интеркосмос» в этих работах широко участвовали ученые из других стран — Болгарии, Венгрии, ГДР, Польши, Румынии, Чехословакии.

Изучались реакции разных клеточных и тканевых систем на воздействие острого, фракционированного и хронического протонного облучения. Исследовалось также модифицирующее влияние разных видов физических и химических агентов на радиационные эффекты. Большой объем работ был выполнен по оценке радиационной опасности при кратковременных и длительных космических полетах человека, работы по установлению допустимых

уровней облучения, велась разработка методов физической защиты от космической радиации и т. д.

В 1967 г. издан первый сборник статей «Биологическое действие протонов высоких энергий» под редакцией Ю. Г. Григорьева, где были обобщены результаты исследований на синхротронном ускорителе ЛЯП ОИЯИ. По полученным материалам защищены многие десятки кандидатских и докторских диссертаций, написаны многочисленные статьи и монографии, посвященные этой проблеме. Анализ полученных данных по реакции клеток и тканевых систем организмов показал, что по своему воздействию протоны высоких энергий аналогичны воздействию электромагнитных видов излучений — γ - и рентгеновских лучей. Однако отмечено повышение относительной биологической эффективности протонов при снижении их энергии до 25 МэВ и ниже.

В условиях длительных космических полетов наибольшую опасность, как оказалось, может представлять галактическое космическое излучение (ГКИ). Было выяснено, что ГКИ состоит из практически всех элементов, составляющих периодическую таблицу Д. И. Менделеева. Наибольший вклад в интегральный поток тяжелых ядер ГКИ вносят ядра группы углерода и железа, ускоренные в космосе до гигантских энергий. Хотя потоки этих частиц невелики (за год полета вне магнитосферы Земли они составляют примерно 10^5 см^{-2}), их повреждающее влияние на организм может быть крайне неблагоприятным. Изучение особенностей биологического действия тяжелых заряженных частиц и тем самым моделирование влияния на живые системы ядер ГКИ можно было осуществлять в тот период на ускорителе тяжелых ионов У-300 Лаборатории ядерных реакций ОИЯИ. Г. Н. Флоров активно поддержал обращение руководителей ИМБП — академика В. В. Парина и вскоре сменившего его академика О. Г. Газенко, и предоставил возможность проводить радиобиологические эксперименты на этом недавно запущенном в эксплуатацию ускорителе.

Надо заметить, что постановка радиобиологических экспериментов на ускорителе У-300 была непростой задачей. Энергия тяжелых ионов, генерируемых ускорителем, не превышала 10 МэВ/нуклон. Для проведения радиобиологических экспериментов была создана установка, которая позволяла транспортировать пучки ускоренных ядер в атмосферу. С ее помощью можно было осуществлять прецизионную дозиметрию частиц, и с учетом того, что пробеги ускоренных ионов в тканях живых организмов не превышали 300 мкм, пришлось разработать специальную технику приготовления биологических образцов (монослои клеток) для облучения. В экспериментах на микроорганизмах, клетках млекопитающих в культуре, тканях рогаговицы мелких лабораторных животных была отмечена высокая биологическая эффективность тяжелых ионов по сравнению с γ -лучами и протонами высоких энергий по многим тестам, в том числе по критерию индукции повреждений хромосомного аппарата клеток млекопитающих.

Помимо специалистов в области космической радиобиологии на базе ОИЯИ работала группа радиобиологов — сотрудников Всесоюзного онкологического научного центра (ВОНЦ) АМН СССР. В 1966 г. по инициативе В. П. Желепова на синхроциклотроне ЛЯП ОИЯИ были начаты работы по созданию первого в СССР протонного медицинского пучка для облучения онкологических больных. Группу физиков, занимавшихся этой проблемой, возглавлял сотрудник ЛЯП О. В. Савченко, от онкологического центра работой руководил заведующий отделением лучевой терапии профессор И. И. Рудерман. Вскоре был создан протонный пучок, на котором необходимо было провести первые предклинические радиобиологические исследования. Для этих исследований в ВОНЦ была приглашена на работу из Института гигиены труда и профзаболеваний группа сотрудников, постоянно работающих в Дубне и занимающихся исследованием биологического действия протонов высоких энергий, во главе с С. П. Ярмоненко (тогда еще кандидатом биологических наук). В ВОНЦ была создана лаборатория радиобиологии опухолей, сотрудники которой работали в тесном контакте с дубненской группой.

Радиобиологические исследования на протонном медицинском пучке начались в 1968 г. В экспериментах, проводимых на клеточных культурах и животных-опухоленосителях, были определены основные радиобиологические параметры протонов с энергией 180 МэВ, что дало возможность в скором времени начать лучевое лечение больных.

Следующим этапом исследований дубненских радиобиологов-онкологов было изучение биологического действия π^- -мезонов на пучке, сформированном на том же ускорителе ЛЯП. Были получены приоритетные данные по величине относительной биологической эффективности и кислородного коэффициента этого вида излучения, которое, как полагали, может оказаться эффективным при использовании в лучевой терапии опухолей. Впоследствии предпринимались исследования биологического действия нейтронов сверхвысоких энергий с дальним прицелом использования этого вида частиц при облучении радиорезистентных крупных опухолевых образований.

Дубненские радиобиологи работали в постоянном контакте с московскими коллегами. Исследованиями по-прежнему руководил теперь уже профессор С. П. Ярмоненко. Совместно с коллегами из Москвы проводились работы по экспериментальному обоснованию метода гипоксиррадиотерапии, который был внедрен в клиническую практику лучевой терапии во многих онкологических учреждениях СССР и за рубежом.

Радиобиологические исследования на базовых установках ОИЯИ впоследствии стали успешно развиваться радиобиологами, работающими непосредственно в ОИЯИ, в созданном в 1978 г. секторе биологических исследований ЛЯП.

СОЗДАНИЕ СЕКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Инициатором создания сектора биологических исследований являлся доктор физико-математических наук В.И.Данилов — руководитель отдела синхроциклотрона ЛЯП. В тот период В.И.Данилов активно развивал работы по действию магнитных полей с различными характеристиками на биологические объекты. Биологи, организованные в группу магнитных испытаний, работали по специальному наряду-заказу Министерства среднего машиностроения СССР. Проводилось изучение влияния импульсных и переменных магнитных полей на растения, бактерии и фаги, лимфоциты крови человека, нервные клетки (на модели нейронов моллюсков). Наряду с этим изучались реакции растительных объектов на экранирование геомагнитного поля Земли (ГМП). При этом использовалась сконструированная в ОИЯИ установка «Магнитный экран», обеспечивавшая ослабление ГМП в 10^5 – 10^6 раз. Эти работы проводились совместно с сотрудниками Института ботаники им. Н. Г. Холодного АН УССР (Киев).

В условиях экранирования ГМП доминирующей реакцией явилась задержка прорастания семян разных видов растений и торможение роста их проростков. Было выявлено снижение пролиферативного пула клеток и увеличение общей длительности цикла их репродукции за счет удлинения отдельных фаз (в основном пресинтетической, а у некоторых растений и постсинтетической). Исследование динамики синтеза РНК и белков, доминирующего именно в этих фазах клеточного цикла, выявило снижение функциональной активности генома у всех исследованных растений в ранний пререпликативный период. Полученные результаты свидетельствовали о том, что ГМП является биологически значимым фактором, оказывающим определенное влияние на процессы транскрипции, трансляции и на пролиферативные процессы в растительной клетке.

Предварительные исследования, проведенные на клетках человека, по влиянию меняющегося во времени по пилообразному закону магнитного поля (МП) с напряженностью в максимуме 300 Э на хромосомы лимфоцитов крови человека показали, что эффективность воздействия МП существенно зависит от температуры культивирования клеток. При культивировании

лимфоцитов в диапазоне температур 37–41,5 °С было отмечено увеличение числа клеток с хромосомными aberrациями с ростом температур от 38,5 °С и выше, особенно в случаях совместного воздействия магнитного поля и высоких температур.

С учетом полученных результатов и в целях координации работ в области биологии и медицины, а также развития новых направлений в отделе синхроциклотрона ЛЯП был создан сектор биологических исследований (приказ по ОИЯИ № 3388 от 29 ноября 1977 г.). Для руководства сектором был приглашен профессор В. И. Корогодин, а с 1986 г. сектор возглавил профессор Е. А. Красавин.

Наряду с исследованиями в области магнитобиологии в секторе начали активно развиваться радиобиологические исследования на базовых установках ОИЯИ. Основной задачей этих исследований являлось выяснение механизмов, определяющих различия в относительной биологической эффективности ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками. На протяжении нескольких десятилетий эта задача оставалась одной из ключевых в радиационной биологии. Несмотря на интенсивные исследования проблемы ОБЭ излучений, различающихся по линейной передаче энергии, проводимые во многих лабораториях мира, механизмы, определяющие эти различия, не были выяснены. Для объяснения закономерностей летального действия излучений, различающихся по ЛПЭ, на клетки различного происхождения были созданы многочисленные математические модели. Однако в рамках развитых представлений оказалось невозможным объяснить неоднозначную зависимость ОБЭ от ЛПЭ. Главная трудность, которая препятствовала раскрытию природы ОБЭ, заключалась в том, что ОБЭ неоднозначно определяется как чисто физическими факторами, отражающими особенности передачи энергии веществу клеток, так и различными факторами биологической природы. Несмотря на то, что двойная природа ОБЭ была понята уже давно и, более того, проделаны работы, в которых предпринимались попытки разделить физическую и биологическую составляющие в целях получения соответствующих формул для вычисления коэффициентов ОБЭ, механизмы, определяющие различия в ОБЭ ионизирующих излучений разного качества, выяснены не были. Причиной этого являлся неучет того важного факта, что биологическая составляющая сама может зависеть от ЛПЭ. На основе этого возникло ложное представление о том, что зависимость ОБЭ от ЛПЭ целиком определяется микроскопическим распределением переданной энергии излучений генетическим структурам, ответственным за реализацию радиационно-индуцированного эффекта.

В экспериментах, выполненных на ускорителях тяжелых ионов, установлено, что биологическая эффективность ионизирующих излучений разного качества по их летальному воздействию на клетки про- и эукариот определяется двумя факторами различной природы: физическими характеристиками

излучений и биологическими свойствами самих клеток — их способностью восстанавливаться от лучевых повреждений (Е.А.Красавин, С.Козубек, К.Г.Амиртаев, П.Н.Лобачевский). Главный вывод, сделанный в результате проведенных экспериментальных и теоретических исследований, на основе чего была решена проблема ОБЭ, заключался в том, что способность к репарации повреждений ДНК *зависит от ЛПЭ, так как характер летальных повреждений также изменяется и является зависимым от ЛПЭ.*

В конце 1970-х гг. отечественными и зарубежными исследователями было установлено, что основными повреждениями структуры ДНК, приводящими клетки к гибели, являются двунитевые разрывы (ДР). Несколько позднее было также показано, что бактерии — клетки кишечной палочки (*E. coli*) — при определенных условиях погибают в результате возникновения по крайней мере одного ДР ДНК в хромосоме. С учетом выявленных фактов выдвинутое предположение об изменении характера летальных повреждений с изменением ЛПЭ излучений можно было экспериментально обосновать. Этому способствовало и то обстоятельство, что к тому времени были получены разнообразные репарационно-дефицитные мутанты клеток *E. coli*. Их использование позволяло исследовать влияние различных этапов репарационного процесса на особенности летального действия излучений широкого диапазона ЛПЭ.

На основе известных представлений о закономерностях индукции и репарации первичных повреждений ДНК у бактерий *E. coli* при облучении была разработана математическая модель лучевой инактивации бактерий. С использованием методов микродозиметрии показано, что при γ -облучении клеток *E. coli* основной тип летальных повреждений ДНК — двунитевые разрывы — возникают в процессе репарации одностебельных разрывов (ОР) ДНК и являются энзиматическими ДР ДНК. Выход прямых ДР ДНК, непосредственно индуцируемых γ -облучением, существенно меньший. С возрастанием ЛПЭ частиц изменяется *качество* ДР ДНК, связанное с увеличением выхода «комплексных» ДР. Комплексные ДР при прохождении тяжелой частицы через нить ДНК характеризуются не только одновременными разрывами главной цепи валентности, но и повреждениями оснований в месте разрыва, повреждениями сахара. Разработанная биофизическая модель объясняла для клеток *E. coli* разных генотипов зависимость от ЛПЭ излучений радиочувствительности, формы кривых выживания, действия разных модифицирующих факторов. Было показано, что при γ -облучении величина радиочувствительности определяется эффективностью репарационных систем клеток, при действии же тяжелых заряженных частиц радиочувствительность детерминирована лишь физическими свойствами излучений. Характер зависимости радиочувствительности клеток от ЛПЭ излучений обуславливается степенью чувствительности *E. coli* к γ -облучению.

Экспериментальная проверка подтвердила все следствия разработанной модели (Е.А.Красавин, С.Козубек, К.Г.Амиртаев). Было установлено,

что 1) характер зависимости радиочувствительности бактерий *E. coli* генетически детерминирован и определяется типом и выходом летальных повреждений, индуцируемых при γ -облучении; 2) зависимость радиочувствительности клеток с нормальным репарационным генотипом от ЛПЭ может описываться кривой либо с локальным максимумом, либо без максимума, в зависимости от условий, влияющих на выход ДР ДНК энзиматической природы и определяющих чувствительность клеток к γ -облучению; 3) зависимость радиочувствительности от ЛПЭ мутантов с блоком медленной репарации ДНК имеет ниспадающий характер при всех значениях ЛПЭ, и коэффициенты ОБЭ излучений не превышают единицы; 4) для мутанта с эффективно работающей системой репарации характерна зависимость с резко выраженным максимумом; 5) при значениях ЛПЭ ≥ 100 кэВ/мкм имеет место нивелирование радиочувствительности всех клеточных штаммов независимо от репарационного генотипа, обусловленное индукцией прямых комплексных ДР ДНК.

Развитые модельные представления послужили основой для изучения факторов, определяющих форму кривых выживания (S) клеток *E. coli* от дозы (D) излучений, различающихся по ЛПЭ. Исследования влияния факторов различной природы на форму зависимости $S(D)$ у клеток *E. coli* показали, что экспоненциальный тип этой зависимости реализуется в том случае, когда в процессе репарации каждого возникающего повреждения в клетке при облучении остаются невосстановленные повреждения, подчиняющиеся пуассоновскому распределению. Угол наклона экспоненты, отражающий радиочувствительность клеток, соответствует в этом случае выходу нерепарируемых повреждений ДНК. Пределы чувствительности клеток к γ -облучению обусловлены выходом прямых ДР ДНК и размером чувствительной мишени. Нелинейный (в полулогарифмическом масштабе) характер кривых выживания бактерий *E. coli* может предопределяться рядом биологических механизмов, реализуемых на популяционном, клеточном и молекулярном уровнях. Наиболее существенными причинами сигмоидного характера зависимости $S(D)$ являются особенности репликации бактериальной хромосомы, приводящие к многокопийности генома. Наряду с фактором многокопийности в формировании плеча кривой выживания клеток с нормальным репарационным генотипом может принимать участие рекомбинационная репарация на гомологичных участках ДНК. С возрастанием ЛПЭ сигмоидные при γ -облучении кривые выживания бактерий *E. coli* претерпевают характерные изменения, заключающиеся в уменьшении величины плеча и изменении угла наклона — возрастании его в области промежуточных значений и постепенном его уменьшении при дальнейшем возрастании ЛПЭ. Изучение природы трансформации сигмоидных кривых в экспоненциальные с увеличением ЛПЭ показало, что она вызывается возрастанием флуктуации энергии тяжелых заряженных частиц по чувствительным микрообъемам клеток. Это приводит к тому, что в результате попадания тяжелой частицы в нуклеоид

бактериальной клетки, содержащей несколько копий генома, одновременно инактивируются все чувствительные мишени.

Различная роль физического и биологического факторов в летальном действии излучений, различающихся по ЛПЭ, ярко проявляется в условиях влияния ряда модифицирующих факторов. Прежде всего это касается модифицирующего влияния кислорода, а также влияния радиопротекторов двух различных классов: аминотиолов и многоатомных спиртов. В рамках разработанной биофизической модели был проведен анализ закономерностей реализации кислородного эффекта у бактерий *E. coli* с различным репарационным генотипом, защитного влияния радиопротекторов. Показано, что многообразие проявлений кислородного эффекта у клеток с различным репарационным генотипом в различных условиях определяется выходом повреждений, не модифицируемых кислородом, и повреждений, не восстанавливаемых *rol* A-зависимой репарацией. Также продемонстрировано, что при действии на клетки излучений с возрастающими значениями ЛПЭ увеличивается выход таких повреждений, что обуславливает резкое снижение кислородного эффекта при облучении клеток тяжелыми заряженными частицами.

Проведенные исследования радиозащитного действия некоторых радиопротекторов (цистеамина и глицерина) свидетельствуют о том, что их защитное влияние генетически детерминировано: большинство мутаций, приводящих к повышению радиочувствительности клеток, снимает или резко уменьшает защитное влияние аминотиолов. Это связано с тем, что их радиопротекторное действие реализуется не на уровне физико-химических процессов, а на уровне ферментативных процессов репарации. Радиозащитное действие глицерина также генетически детерминировано, однако в отличие от цистеамина эта детерминированность заключается не в уменьшении или исчезновении защитного влияния радиопротекторов, а в повышении эффективности его действия в ряду штаммов *E. coli*: *rec* A-мутант – дикий тип – *rol* A-мутант. Аналогичная по направленности картина установлена и для кислородного эффекта. Исследования с репарационными мутантами подтвердили положение о том, что защитный эффект глицерина есть результат физико-химических процессов, обусловленный способностью протектора блокировать ОН-радикалы и снижать выход повреждений, восстанавливаемых *rol* A-зависимой репарацией. Установленные различия в реакции триады штаммов: *rec* A-мутант – дикий тип – *rol* A-мутант на протекторы, работающие на уровне физико-химических реакций, и протекторы, механизм действия которых связан с ферментативными процессами репарации, позволили предложить схему этих опытов для установления механизма действия радиопротекторов различных классов.

Главный вывод, который был сделан на основе исследований с клетками *E. coli*, заключался в том, что величина ОБЭ ионизирующих излучений с разной ЛПЭ определяется не только физическими характеристиками излучений,

но и биологическими свойствами самих клеток — их способностью восстанавливаться от лучевых повреждений. Причем способность к репарации зависит от ЛПЭ, так как характер летальных повреждений также изменяется в зависимости от ЛПЭ.

Поскольку этот вывод сделан на основе исследований, выполненных на клетках прокариот, представлялось важным решить вопрос, справедлив ли сделанный вывод и для клеток эукариот. В экспериментах на изогенных штаммах гаплоидных дрожжей (клетках дикого типа) и радиочувствительном мутанте *rad6* показано, что характер зависимости радиочувствительности клеток от ЛПЭ, так же как и для клеток прокариот, определяется генотипом клеток (П. Н. Лобачевский). В отличие от дикого штамма, у которого эта зависимость описывается кривой с локальным максимумом, для мутанта *rad6* впервые был выявлен ниспадающий тип зависимости. Коэффициенты ОБЭ излучений, различающихся по ЛПЭ, у этого мутанта не превышают единицу. Поскольку гаплоидные дрожжи в стационарной фазе не репарируют ДР ДНК и образование одного ДР в геноме таких клеток приводит к летальному событию, повышение чувствительности к γ -облучению гаплоидных мутантов *rad6* объясняется нарушением определенных этапов в механизме репарации однонитевых разрывов ДНК. Было показано, что это обстоятельство может приводить к повышению выхода у таких клеток летальных ДР ДНК. Вследствие этого наблюдается трансформация зависимости радиочувствительности клеток от ЛПЭ с локальным максимумом в кривую ниспадающего типа. На основании проведенных исследований сделан вывод о том, что механизмы, определяющие различия в биологической эффективности у бактерий и гаплоидных дрожжей, близки между собой.

Важная роль восстановительных процессов в биологической эффективности излучений разного качества у клеток млекопитающих была выявлена в исследованиях радиочувствительности клеток китайского хомячка при облучении тяжелыми заряженными частицами широкого диапазона ЛПЭ в условиях влияния ингибиторов репаративного синтеза ДНК — арабинозидцитозина и оксимочевины (Р. Д. Говорун, Е. А. Насонова). Механизм сенсibiliзирующего влияния арабинозидцитозина в комбинации с оксимочевинной заключается в подавлении репаративного синтеза коротких брешей в ДНК, что приводит к повышению выхода энзиматических ДР ДНК при γ -облучении клеток. При использовании излучений широкого диапазона ЛПЭ установлено, что в условиях влияния этих агентов радиочувствительность клеток возрастает к γ -облучению, но не к действию тяжелых заряженных частиц. Это обуславливает снижение коэффициентов ОБЭ тяжелых частиц при облучении клеток в присутствии ингибиторов синтеза ДНК. На основании этих исследований продемонстрировано, что, так же как и у клеток прокариот и низших эукариот, у клеток млекопитающих при действии излучений с разной ЛПЭ изменяется спектр летальных повреждений ДНК: образование ДР ДНК

кластерного типа, репарация которых клетками либо невозможна, либо крайне затруднена. Анализ полученных экспериментальных данных с позиций представлений, допускающих индукцию при облучении разными типами излучений только одного типа ДР ДНК (прямых ДР), показал несоответствие таких модельных представлений и результатов экспериментов.

Проведенные исследования впервые для клеток низших и высших эукариот, так же как и для прокариот, продемонстрировали, что не только фактор физической природы — характер энерговыделения ионизирующих излучений в генетических структурах, но и способность к репарации повреждений ДНК определяют различия в биологической эффективности излучений с разной ЛПЭ. С учетом этого был сделан вывод о том, что механизмы, обуславливающие природу ОБЭ у клеток про- и эукариот, в главных чертах близки между собой. Однако, несомненно, существенно более сложная организация генома клеток эукариот определяет и более сложные радиобиологические реакции этих клеток в ответ на воздействие излучений с разной ЛПЭ.

На основе полученных материалов об особенностях летального действия излучений разного качества на клетки с различным генотипом были спланированы эксперименты по изучению механизмов мутагенного действия излучений широкого диапазона ЛПЭ. Вопросы мутагенного действия излучений с разной линейной передачей энергии в 1980-е гг. практически не были изучены. Хотя было известно, что на мутагенез, индуцируемый излучениями с разными физическими характеристиками, влияют факторы физической и биологической природы, не были исследованы закономерности мутационного процесса и относительная роль в нем физического и биологического факторов. Для решения этих вопросов разрабатывались математические модели летального и мутагенного действия разных типов излучений на бактерии, изучались закономерности и механизмы индукции прямых и обратных мутаций у клеток прокариот (Е. А. Красавин, С. Козубек, К. Г. Амиртаев, М. Н. Бонев, Б. Токарова). Было установлено, что дозовая зависимость частоты мутирования клеток при γ -облучении имеет линейно-квадратичный характер, который не меняется с ростом ЛПЭ; относительная генетическая эффективность излучений возрастает с увеличением ЛПЭ и описывается кривой с локальным максимумом. Положение максимума этой зависимости *сдвинуто в область меньших ЛПЭ* по сравнению с аналогичной зависимостью для летальных эффектов облучения; мутагенез, индуцированный излучениями с разной ЛПЭ, зависит от эффективности систем репарации клеток. Также установлено следующее: 1) решающая роль в мутагенезе принадлежит индуцибельной SOS-репарации; 2) повышение генетической эффективности излучений с ростом ЛПЭ обусловлено увеличением выхода повреждений ДНК, репарируемых лишь с участием мутагенной ветви SOS-репарации; генные мутации у прокариот при прохождении треков тяжелых заряженных частиц индуцируются областью дельта-электронов; 3) различия в положении максимумов зависимости

относительной биологической эффективности от ЛПЭ для мутагенных и летальных эффектов облучения предопределены разным характером повреждений ДНК; 4) в первом случае ими являются преимущественно поврежденные основания, во втором — двунитевые разрывы; 5) биологическая эффективность излучений с различной ЛПЭ по индукции генных мутаций определяется особенностями микрораспределения энергии в генетических структурах, состоянием генома и эффективностью систем репарации. Влияние биологического фактора на мутагенез является *зависимым от ЛПЭ*.

Цикл исследований механизмов мутагенного действия ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками на клетки с разным уровнем организации генетического аппарата в 1987 г. удостоен первой премии ОИЯИ.

СТАНОВЛЕНИЕ ОТДЕЛА БИОФИЗИКИ ЛЯП

Расширение спектра исследований в области радиобиологии на базовых установках ОИЯИ требовало структурной реорганизации подразделения, осуществляющего эти исследования. В 1988 г. сектор биологических исследований по инициативе начальника сектора профессора Е. А. Красавина был преобразован в отдел биофизики ЛЯП (приказ по ОИЯИ № 248 от 25 марта 1988 г.). Одним из приоритетных направлений работы отдела биофизики в тот период являлось изучение мутагенного действия излучений на клетки высших эукариот, в том числе человека. Как было выяснено, ионизирующая радиация индуцирует наиболее широкий спектр мутационной изменчивости по сравнению с другими мутагенами. Она увеличивает частоту хромосомных aberrаций, генных и геномных мутаций. Наименее изучено мутагенное действие излучений на клетки высших эукариот, в том числе человека. Хотя это явление было обнаружено еще в середине 20-х гг. XX в., оно до сих пор остается слабо изученным. И прежде всего это касается мутагенного действия разных видов ионизирующих излучений с высокой ЛПЭ, в частности, ускоренных тяжелых ионов.

Индукцированный мутагенез представляет реальную опасность для жизни и здоровья человека, поскольку вновь возникающие мутации оказывают не только непосредственное негативное воздействие, но влияют и на последующие поколения. Мутагены физической и химической природы индуцируют широкий спектр различных наследуемых повреждений, которые, по общепризнанному мнению, лежат в основе злокачественного перерождения клеток и канцерогенеза, а также возникновения в последующих поколениях наследственных заболеваний. Причем в обоих случаях биологические последствия существенно отдалены по времени от момента непосредственного действия вызывающих их повреждающих агентов.

Задача изучения мутагенного действия ионизирующих излучений, особенно на клетки млекопитающих и человека, весьма сложна и требует как широкого использования уже разработанных методов, так и создания и развития новых подходов для ее решения. К настоящему времени в распоряжении цитогенетиков имеется ряд таких методов и тест-систем (ПЦР, ПКХ, блот-анализ, FISH-техника, ряд методов анализа хромосомных нарушений), позволяющих

проводить исследования по выяснению механизмов и основных закономерностей радиационного мутагенеза клеток человека и млекопитающих.

Ускорители ОИЯИ предоставляют уникальные возможности для проведения исследований в этом направлении. На пучках разных видов заряженных частиц широкого спектра энергий и ЛПЭ в отделе биофизики в тот период начали осуществляться эксперименты на культурах клеток млекопитающих и лимфоцитах периферической крови человека. Они позволили установить основные закономерности образования разных видов так называемых нестабильных хромосомных аберраций (дицентрики и кольца, некоторые виды обменов между хромосомами), выявляемых общепринятым, ставшим классическим метафазным методом анализа хромосом. Количественный анализ дицентриков используется для целей биологической дозиметрии при случайных неконтролируемых облучениях человека. Этот метод анализа также рекомендован Всемирной организацией здравоохранения для оценки состояния окружающей среды. Однако возможность оценки поглощенной дозы при этом ограничивается острым периодом послелучевого воздействия, поскольку хромосомные аберрации приводят к нарушению процессов клеточного деления и быстро элиминируются из популяции облученных клеток.

Долгое время не удавалось обнаруживать так называемые стабильные хромосомные аберрации (такие, как транслокации), которые способны длительно сохраняться в популяции облученных клеток, перенося искаженную генетическую информацию от одного поколения клеток к другому. Только разработанный метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH-техника) позволил выявлять такие стабильные аберрации при использовании ДНК-проб, специфичных для отдельных хромосом генома человека. Проведенные эксперименты на ускорителях протонов и тяжелых ионов с использованием этого метода позволили количественно проанализировать частоту образования транслокаций некоторых хромосом в зависимости от дозы и величины ЛПЭ излучений (протоны, ионы азота, γ -лучи). В настоящее время с образованием стабильных аберраций хромосом связывают инициацию ряда онкологических заболеваний, например, хронической и острой миелоидных лейкозий. Количественный учет стабильных хромосомных аберраций в клетках организма может рассматриваться и как один из надежных методов ретроспективной биологической дозиметрии при случайных неконтролируемых облучениях организма.

В отделе биофизики были проведены сравнительные исследования закономерностей индукции мутаций одного из генов (HPRT) в клетках млекопитающих в зависимости от величины иницирующей дозы излучений, в том числе тяжелых ионов, в широком диапазоне значений их ЛПЭ (Р. Д. Говорун, П. Н. Лобачевский, Н. Л. Шмакова). Облучение клеток тяжелыми ионами и γ -квантами выявило высокое мутагенное действие этих видов излучений на клетки млекопитающих. Полученные данные по выживаемости клеток

китайского хомячка и частоте мутаций, индуцированных γ -квантами и ускоренными ионами ^4He и ^{12}C с разной величиной ЛПЭ, свидетельствовали о неоднозначном характере зависимостей индукции мутаций от дозы и ЛПЭ излучений: при γ -облучении кривая доза–эффект по критерию индукции мутаций имеет ярко выраженный нелинейный (степенной) характер. Нелинейность кривых наблюдается также при воздействии тяжелых ионов с величинами ЛПЭ 20 и 50 кэВ/мкм. При более высоких значениях ЛПЭ излучений кривые индукции мутаций в зависимости от дозы модифицируются в линейные. Соответственно, кривые выживаемости являются сигмоидными и модифицируются в экспоненциальные. Результаты этих экспериментов показали, что как по выживаемости клеток, так и по мутагенному эффекту (хромосомным aberrациям и генным мутациям) максимальная биологическая эффективность имеет место при ЛПЭ излучения порядка 100 кэВ/мкм, причем по мутагенному действию ОБЭ в два раза выше, чем по выживаемости.

В этот период был выполнен большой объем радиобиологических предклинических исследований на медицинских пучках синхроциклотрона ЛЯП (Н. Л. Шмакова, Т. А. Фадеева). Для этих целей необходимо было оценить биологическое действие заряженных частиц на нормальные и опухолевые клетки млекопитающих. Такого рода исследования можно было провести на животных с перевиваемыми опухолями. Существует большое количество различных линий опухолей, которые можно прививать экспериментальным животным и изучать их реакцию на облучение, при этом оценивать степень повреждения нормальных тканей, например костного мозга, являющегося критической радиочувствительной системой при лучевой терапии. И такого рода эксперименты были осуществлены в первую очередь. Однако дать точную количественную оценку основных параметров биологического действия частиц (относительной биологической эффективности и коэффициента кислородного усиления (ККУ) в экспериментах *in vivo*) на целостном организме оказалось невозможно — сильно сказывалась индивидуальная радиочувствительность клеток и влияние организма в целом на реакцию опухоли. В связи с этим встала задача изучения основных биологических параметров медицинских пучков на клетках, изолированных из организма и растущих *in vitro* на искусственных питательных средах, т. е. на культуре клеток. Эта работа требовала сооружения специальных помещений (боксов), обеспечивающих стерильность, так как возможность бактериального заражения клеток очень велика.

В качестве основных количественных показателей при оценке биологического действия излучения использовали клоногенную способность клеток и повреждение хромосомного аппарата. ОБЭ протонов и π^- -мезонов в пике Брэгга и на входе пучка оценивали по сравнению с действием стандартных, широко применяемых в лучевой терапии γ - и рентгеновского излучений.

Одной из главных проблем при проведении лучевого лечения является преодоление радиорезистентности гипоксических клеток, которые, как

правило, присутствуют в опухоли из-за слабого развития сосудистой сети новообразований. При действии редкоизионизирующих излучений, γ - и рентгеновских лучей, протонов различие в радиочувствительности оксигенированных и аноксических клеток весьма велико, и ККУ составляет 3. При действии излучений с высокой ЛПЭ величина ККУ снижается. В литературе к тому времени отсутствовали данные о ККУ для π^- -мезонов. Надо заметить, что определение этой очень важной для лучевой терапии величины требует значительных технических ухищрений. Необходимо сравнить радиочувствительность оксигенированных и аноксических клеток, в которых содержание кислорода не должно превысить 20–30 частей на миллион. Для этого была сконструирована специальная аппаратура для откачивания газовой смеси из сосудов, содержащих клеточные суспензии, и последующего заполнения их азотом. И хотя эта процедура осуществлялась многократно, получить ККУ = 3 при γ -облучении не удавалось. Только заменив «сверхчистый» азот на аргон и усилив метаболическое потребление кислорода из среды путем создания высокой концентрации клеток, удалось достигнуть нужной величины 3 для γ -излучения и определить ККУ для π^- -мезонов — ККУ для этих частиц оказался равным 1,7. Такие работы были выполнены впервые в мире, и позже эти данные были подтверждены американскими исследователями.

Параллельно с этими исследованиями интенсивно велись работы по использованию искусственной гипергликемии (ГГ) для повышения эффективности лучевой терапии опухолей (В. И. Корогодин, Н. Л. Шмакова, Т. А. Фадеева). Известно, что метаболизм опухолевых клеток отличается от нормальных повышенной способностью к гликолизу, продуктом которого является молочная кислота (ее накопление приводит к самозакислению опухолей). В исследованиях на животных с привитыми опухолями и на больных с запущенными формами рака немецким исследователем фон Арденне и сотрудниками Белорусского онкологического института было показано, что в условиях искусственного повышения содержания сахара в крови значительно возрастает эффективность лучевого лечения. Общепринято было считать, что это связано с подавлением пострадиационного восстановления в условиях сниженного рН. Однако серьезная экспериментальная база, необходимая для клинического применения метода и стабильного воспроизведения результатов, отсутствовала. Целью проводимых исследований в отделе биофизики являлось изучение клеточных механизмов ГГ. Эксперименты проводили в системе *in vitro* на опухолевых клетках, взятых у животных непосредственно перед опытом. Это позволяло, создавая дозированную глюкозную нагрузку и меняя уровень оксигенации, контролировать степень закисления и выживаемость опухолевых клеток. В ходе экспериментов получены весьма неординарные результаты. Было показано, что при достижении определенной степени закисления, имеющей место в условиях гипоксии, опухолевые клетки подвергаются массовой гибели без всякого дополнительного воздействия, в частности

облучения. Количественные оценки свидетельствовали о том, что имеет место аддитивность (суммация) двух воздействий: гипоксические клетки погибают в результате самоза кислнения, а хорошо оксигенированные, слабо гликолизирующие — в результате воздействия излучения. Влияние ГГ на пострадиационное восстановление не было обнаружено. Полученные результаты подтверждены в ряде специализированных онкологических лабораторий. Применение сосудосуживающих препаратов, дополнительно повышающих гипоксию в опухолях и усиливающих гликолиз, двукратно повышало эффективность лечения. К сожалению, эти исследования не получили дальнейшего развития, так как в результате событий начала девяностых годов распались научные коллективы, занимающиеся этими проблемами.

Наряду с радиобиологическими исследованиями на клетках высших организмов в отделе биофизики проводились многоплановые работы с клетками низших эукариот — клетками дрожжей (В. И. Корогодин, Н. А. Колтовая, В. Л. Ильина). Этот организм, относящийся к грибам, является одним из любимых объектов изучения живых систем. На протяжении всей истории человек сталкивался с негативным действием разнообразных болезнетворных организмов, однако именно дрожжи были, по-видимому, первыми микроорганизмами, которые человек стал использовать для удовлетворения своих потребностей.

Хорошо известно, что одним из важных факторов, определяющих особенности реакции дрожжевых клеток на облучение, является их плоидность. Диплоидные клетки отличаются от гаплоидных величиной радиочувствительности, формой кривой выживания, ОБЭ, проявлением мутаций, повышающих чувствительность к ионизирующим излучениям. Попытки интерпретации этих закономерностей привели к предположению о существовании у диплоидных клеток так называемой диплоидспецифической репарации повреждений. Эта проблема имеет важный общебиологический аспект. Переход от гаплоидных организмов к диплоидным в процессе эволюции привел к существенному повышению сопротивляемости генетического аппарата к различным повреждающим воздействиям внешней среды.

В отделе биофизики были проведены исследования по изучению роли факторов, обусловленных диплоидным состоянием генома, в чувствительности дрожжевых клеток с разным генотипом к действию ионизирующих излучений, различающихся по ЛПЭ. Было показано, что закономерности летального действия ионизирующих излучений разного качества на диплоидные клетки дрожжей обусловлены по крайней мере двумя диплоидспецифическими процессами: репарацией повреждений, лежащей в основе пострадиационного восстановления клеток, и процессами, определяющими «эффект дорастания». Проведенные исследования позволили сделать вывод о взаимной независимости процессов репарации и реализации радиационных повреждений. Впервые осуществлена оценка роли диплоидспецифической репарации

в радиочувствительности клеток при действии излучений с высокой ЛПЭ и изучена зависимость эффективности репарационных процессов от качества излучения. Показано, что сигмоидная форма кривой выживания диплоидных клеток при действии излучений с высокой ЛПЭ обусловлена исключительно «эффектом дорастания».

В дальнейшем были продолжены работы по изучению мутагенного эффекта ионизирующей радиации на клетках дрожжей (Н. А. Колтовая). Проблема состояла в том, что определить природу мутационного повреждения довольно трудно. В процессе работы удалось подобрать такие генетические системы, которые позволяли определить точную природу мутационного события без использования дорогостоящих и трудоемких методик.

В качестве модельной системы для изучения тотального мутагенеза использовали ген *CAN1*, кодирующий аргининпермиазу и имеющий протяженность 1,8 тыс. пар оснований. Мутации любой природы приводят к нарушению функции гена и возникновению резистентности к антибиотику.

Для тестирования крупных перестроек использовали две тест-системы, позволяющие определять митотический кроссинговер и конверсию. Митотическую рекомбинацию, как известно, индуцируют двуниевые разрывы. В результате рекомбинации образуются протяженные изменения генетического материала.

Для анализа микроделеций использовали возникновение реверсий у штаммов, имеющих мутации сдвига рамки считывания. Использованный в работе штамм несет вставку 4 основания в гене *LYS2* и вставку +1Т в последовательность 6Т в гене *HOM3*.

Для оценки индукции точковых мутаций замен пар нуклеотидов использовали тестерную систему, разработанную профессором Хэмпси (Университет Луизианы). В этой системе используется то обстоятельство, что положение 22 цистеина в белке изо-цитохром-с является критическим. Сконструированы 6 штаммов, имеющих в этом положении замены пар оснований, что приводит к инактивации фермента и неспособности роста на среде с несбраживаемым источником углерода. Восстановление функциональной активности возможно только за счет истинных реверсий, восстанавливающих кодон цистеина в положении 22. Реверсии в гене *CYS1* каждого из шести штаммов представляют собой одну из шести возможных замен пар оснований. Таким образом, была получена простая и надежная система, позволяющая определять происходящие в клетке изменения нуклеотидной последовательности ДНК без использования сложных молекулярных и генетических методик.

В экспериментах с данной системой наиболее подробно изучен спектр мутаций под действием γ -облучения. Ионизирующей радиацией наиболее эффективно индуцируются крупные перестройки, частота которых характеризуется величинами порядка 1%. Из непротяженных мутационных событий наиболее эффективно, естественно, индуцируются мутации в гене *CAN1*,

что отражает суммарный характер мутаций. Получена линейная кривая зависимости образования прямых мутаций в гене *CAN1* от дозы при γ -облучении. Анализ показал, что спектр мутаций, индуцированных γ -излучением, отличается от спектра спонтанных мутаций повышенной долей трансверсий АТ–ТА. Спектр замен пар оснований совпадает у гаплоидных и диплоидных штаммов дрожжей. Максимальный вклад (более 30 %) приходится на долю транзиций GC–AT. Спектр индуцированных мутаций не зависит от дозы облучения.

Другим направлением исследований являлось изучение механизмов репарации двунитевых повреждений, индуцированных радиацией. Было выяснено, что у дрожжевых клеток существует не только медленный тип репарации двунитевых разрывов ДНК, но и быстрый тип репарации таких повреждений. При этом показано, что и медленный тип репарации двунитевых разрывов, и быстрый тип репарации таких повреждений эффективно осуществляется только у диплоидных дрожжевых клеток.

Третьим направлением исследований являлось изучение закономерностей спонтанного мутагенеза (В. И. Корогодин, А. И. Чепурной, В. Л. Корогодина). Для исследований были выбраны гены, контролирующие синтез аденина и лейцина. Исходные штаммы ауксотрофны и не способны расти на среде без добавки соответствующего продукта. Реверсии к прототрофности могут происходить двумя путями: путем образования обратных мутаций в гене, контролирующем его синтез, и путем прямых мутаций в генах-супрессорах. В специальных опытах было установлено, что в условиях, при которых активность гена подавлена, этот ген образует мутации с частотами, на два порядка меньшими, чем в условиях, когда он активно работает. В то же время гены-супрессоры, активность работы которых не зависит от наличия в среде аденина, в обоих случаях мутируют примерно с одинаковыми частотами.

Таким образом, в отделе биофизики были проведены многоплановые радиобиологические исследования на базовых установках ОИЯИ. После успешного проведения работ по ускорению тяжелых ядер до релятивистских энергий на синхрофазотроне ЛВЭ и начала физических экспериментов на новом ускорителе этой лаборатории были спланированы радиобиологические эксперименты на пучках высокоэнергетичных тяжелых ионов. Проведение таких работ требовало специальных спектрометрических и дозиметрических исследований пучков релятивистских тяжелых ядер. Большим опытом в данной области обладали сотрудники отдела радиационных исследований и радиационной безопасности ОИЯИ. Дирекция ОИЯИ — В. Г. Кадышевский и А. Н. Сисакян — поддержали инициативу начальника отдела биофизики ЛЯП профессора Е. А. Красавина об объединении отдела биофизики ЛЯП и отдела радиационных исследований и радиационной безопасности ОИЯИ в новое структурное подразделение Института — Отделение радиационных и радиобиологических исследований (приказ № 270 от 27 апреля 1995 г.).

ОТДЕЛЕНИЕ РАДИАЦИОННЫХ И РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ОИЯИ

Основными задачами созданного Отделения радиационных и радиобиологических исследований (ОРПИ) являлось проведение радиационных и радиобиологических исследований в следующих главных направлениях:

— продолжение исследований закономерностей и механизмов генетического действия ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками;

— проведение исследований взаимодействия излучений с веществом и разработка методов радиационного мониторинга;

— исследование радиационной обстановки в подразделениях Института с целью контроля за обеспечением радиационно-безопасных условий труда в ОИЯИ в соответствии с нормами и правилами работы с радиоактивными веществами и другими источниками ионизирующих излучений, действующими в стране местонахождения Института;

— разработка и участие в создании систем радиационного контроля на вновь создаваемых и реконструируемых (модернизируемых) ядерно- и радиационно опасных установках и участках ОИЯИ.

Для реализации основных задач ОРПИ выполняло функции по созданию необходимой аппаратуры для радиационных и радиобиологических исследований, радиационному мониторингу, проведению экспериментов, обработке экспериментальных данных, теоретическим разработкам в области моделирования взаимодействия излучений с веществом.

В области радиобиологии были продолжены ранее начатые исследования мутагенного действия излучений широкого диапазона ЛПЭ. В экспериментах на бактериальных клетках специалистами изучены закономерности и механизмы индукции структурных (делеционных) мутаций (А. В. Борейко). Эта задача является весьма актуальной, поскольку при решении вопросов нормирования лучевых нагрузок от излучений разного качества на персонал, работающий в смешанных полях ионизирующих излучений, решения проблемы обеспечения радиационной безопасности экипажей при длительных космических полетах, других важных практических вопросов весьма важно не только иметь информацию о суммарном выходе различного рода мутаций

в облученных клетках, также исключительный интерес представляют сравнительные данные о частоте образования как генных, так и структурных мутаций. Исследование дозовых зависимостей выхода точковых и хромосомных мутаций при действии ионизирующих излучений в широком диапазоне ЛПЭ у клеток высших эукариот является весьма сложной проблемой, требующей привлечения сложных молекулярно-биологических методов, выполнения большого объема работ. Получение такого рода информации значительно облегчается в экспериментах на клетках прокариот. При использовании ускоренных тяжелых ионов было показано, что частота образования делеционных мутаций линейно возрастает с дозой всех видов излучений, и наибольшей эффективностью по частоте индукции делеционных мутаций обладают ионы с ЛПЭ, равными 60–80 кэВ/мкм. Это обстоятельство свидетельствовало о разном характере повреждений ДНК, лежащих в основе возникновения генных и делеционных мутаций. В первом случае ими являются кластерные повреждения одной нити ДНК, во втором — двунитевые разрывы ДНК.

В экспериментах на дрожжевых клетках были исследованы механизмы адаптивного и индуцированного мутагенеза (В. И. Корогодина, Н. А. Колтовая, В. Л. Корогодина, А. И. Чепурной). В течение ряда лет в литературе шли активные дебаты по поводу природы адаптивных мутаций у микроорганизмов. Первоначально адаптивные мутации (направленные мутации) определили как мутации, возникающие только в присутствии селективного давления или в медленно растущих клетках в стационарной фазе. Однако на клетках бактерий было показано, что и неселективные мутации могут возникать с неожиданно высокой скоростью. Позднее выяснилось, что голодание вызывает повышение частоты как селективных, так и неселективных маркеров. Согласно развитым в ОРПИ представлениям так называемые адаптивные мутации не являются адаптивными, а возникают в результате переходного гипермутационного состояния клеток в условиях стресса: мутации, имеющие преимущество, немедленно отбираются, а другие мутанты быстро гибнут. В Отделении совместно со специалистами Университета в Перуджи (Италия) проводились работы по изучению генетического контроля мутагенеза в условиях голодания, на которые дрожжевые клетки отвечают остановкой деления и вступлением в стационарную фазу роста. Эти исследования тесно связаны с изучением генетического контроля остановки клеточного цикла при получении повреждений ДНК. В последние годы становится более очевидной взаимосвязь различных компонентов интегрального клеточного ответа на повреждения ДНК, обеспечивающего стабильность и целостность генома. Была показана связь механизмов контроля клеточного цикла и механизма репарации повреждений ДНК. Этот механизм (checkpoint-контроль) позволяет клеткам выживать и поддерживать генетическую стабильность и регулируется checkpoint-генами. Считается, что нарушение checkpoint-путей,

приводящее к увеличению мутабельности и геномной нестабильности, имеет важное значение на ранних стадиях карценогенеза.

Разветвленная схема генетического контроля регуляции прохождения и остановки клеточного цикла нуждалась в интенсивных исследованиях. В ОРПИ совместно с Институтом молекулярной генетики РАН (Москва) проводились исследования генетического контроля checkpoint-путей и их влияния на чувствительность клеток к повреждающему действию радиации. Анализ взаимодействия генов RAD9, RAD17, RAD24, RAD53 и CDC28 показал, что гены RAD9, RAD17 и RAD24 относятся к одной ветви пути, определяющей чувствительность к γ -излучению, хотя гены RAD9 и RAD24 относятся к различным ветвям, определяющим чувствительность к УФ-лучам и MMS, и регуляции остановки клеточного цикла. Протеинкиназы RAD53 и CDC28 эпистатичны по отношению к гену RAD9, но, скорее всего, относятся к различным ветвям, определяющим радиочувствительность. По литературным данным гены CDC28 и RAD53 относятся к одной ветви, определяющей остановку клеточного цикла. Полученные данные указывают на несовпадение путей регуляции остановки клеточного цикла и радиочувствительности. Эти данные свидетельствуют о том, что гены многофункциональны и их участие в интегральном ответе не сводится к остановке клеточного цикла, некоторые из них принимают участие и в репарационных процессах.

Широкомасштабные цитогенетические исследования после создания ОРПИ были начаты на клетках млекопитающих и человека (Р. Д. Говорун, Н. Л. Шмакова, И. В. Кошлань, М. В. Репин, Н. В. Кошлань, Т. А. Фадеева). Мутагенное действие излучений с высокой ЛПЭ на клетки высших эукариот, как уже отмечалось, изучено весьма слабо. Основными направлениями исследований в этой области, которые были сформулированы специалистами Отделения, являлось продолжение изучения закономерностей индукции мутации в HPRT-гене клеток млекопитающих при действии ускоренных тяжелых ионов, исследование цитогенетических характеристик HPRT-мутантных субклонов, выращенных из одиночных клеток, сохраняющих возникшие в них HPRT-мутации в последующих поколениях, изучение хромосомных нарушений (нестабильных и стабильных хромосомных aberrаций) в лимфоцитах человека при действии тяжелых заряженных частиц, исследование цитогенетических эффектов малых доз облучения.

Облучение клеток тяжелыми ионами и γ -квантами выявило высокое мутагенное действие этих видов излучений на клетки млекопитающих. Величина ОБЭ для исследованных тяжелых ионов по отношению к действию γ -квантов описывается кривой с локальным максимумом при ЛПЭ ~ 80 – 100 кэВ/мкм. Было сделано интересное наблюдение, которое касается области ЛПЭ излучений около 20 кэВ/мкм, где наблюдался некоторый сдвиг кривой по выходу мутаций к несколько повышенным значениям ОБЭ по сравнению с тестами инактивации клеток и образования хромосомных aberrаций. Ранее в исследованиях

на бактериях было продемонстрировано, что максимум зависимости ОБЭ от ЛПЭ излучений по мутагенному эффекту был существенно сдвинут в область меньших значений ЛПЭ и соответствовал ~ 20 кэВ/мкм, в то время как максимальные значения ОБЭ тяжелых ионов по летальному действию наблюдались при 80–90 кэВ/мкм. Это обстоятельство определялось разным характером молекулярных повреждений, лежащих в основе индуцируемых мутаций и леталей: мутации у бактерий являются в подавляющем большинстве генными и связаны главным образом с повреждениями оснований, летальный же эффект определяется индукцией двунитевых разрывов ДНК. Полученный в исследованиях на клетках млекопитающих аналогичный характер зависимостей ОБЭ от ЛПЭ излучений по тестам индукции мутаций, хромосомных aberrаций и инактивации клеток может указывать на то, что в основе повреждений, приводящих к таким эффектам в клетках млекопитающих, лежат одни и те же события — ДР ДНК. Сдвиг кривой зависимости ОБЭ от ЛПЭ излучений в области значений ЛПЭ ~ 20 кэВ/мкм по индукции мутаций в клетках млекопитающих по сравнению с летальным эффектом определяется повышением вклада точковых мутаций, а при более высоких ЛПЭ излучений превалируют мутации генов, связанные с возникновением разных типов делеций. Аналогичный характер кривых зависимостей ОБЭ от ЛПЭ по этим трем тестам может служить свидетельством того, что в основе этих эффектов в клетках млекопитающих лежат одни и те же повреждения, а именно ДР ДНК. Ими обуславливается возникновение в клетках хромосомных aberrаций и таких мутаций, как макро- и микроделеции генов в ДНК.

В предположении, что мутационный процесс в клетках млекопитающих может сопровождаться нарушением структурной целостности хромосомного аппарата и проявляться в хромосомной нестабильности клеток, предприняты исследования по выделению одиночных мутантных колоний, из которых были выращены субклоны и проведен их цитогенетический анализ (Р.Д. Говорун, И.В. Кошлань). При цитогенетическом анализе наблюдалась гетерогенность спонтанных и радиационно-индуцированных HPRT-мутантных субклонов по исследованным цитогенетическим показателям (митотической активности, анеуплоидии, уровню хромосомных aberrаций). Как показали исследования, последствия мутационных событий проявились в возникновении геномной (по числу хромосом в клетках) и хромосомной (по уровню aberrаций хромосом) нестабильности в популяциях потомков мутантных клеток.

При выявлении и селекции мутантных субклонов было отмечено появление мутантов с замедленным ростом по сравнению с интактным контролем. Замедление роста многих мутантных субклонов в селективной среде могло определяться возникновением мутаций гена, приводящих к снижению активности фермента или синтезу меньшего количества нативного фермента. В этих случаях жизнеспособность мутантной популяции могла

обеспечиваться только за счет клеток, не успевающих в течение клеточного цикла утилизировать пуриновый аналог.

Критериями оценки мутантных субклонов по числу хромосом в клетках являлись модальное число хромосом и процентное содержание клеток с такой модой. Анализ спектров хромосом выявил выраженную анеуплоидию вплоть до полной пloidии. Среди субклонов преобладали образцы с модальным числом, равным 21 или 22 хромосомам. Доля диплоидных мутантов с модальным числом хромосом составляла, как правило, 70 % и более, доходя до 100 %. Доля клеток с такой модой в образцах существенно варьировалась. Для спонтанных мутантов она находилась в пределах 50–80 % и практически не отличалась от контроля. Радиационно-индуцированные мутанты были особенно гетерогенными по спектрам хромосом.

Для объяснения явления хромосомной нестабильности Р.Д.Говорун и И.В.Кошланем была выдвинута «метаболическая гипотеза». Как известно, у клетки есть два пути синтеза пуриновых нуклеотидов: синтез *de novo* (строится поэтапно на рибозо-5'-фосфате) и синтез из готовых продуктов. Второй путь для клетки энергетически более выгоден. Он осуществляется при синтезе нативного hprt-фермента. При мутациях в HPRT-локусе, сопровождающихся прекращением синтеза фермента, образование пуриновых нуклеотидов должно идти по пути *de novo*. В случае синтеза фермента со сниженной активностью или при синтезе недостаточного количества нативного фермента в клетке появляются условия для конкуренции обоих путей. Возникает ситуация, приводящая к нарушению равновесия в метаболизме клетки, когда клетка включает необходимую машинерию для синтеза ДНК с участием hprt-фермента, но он недостаточно функционален и не успевает поставлять необходимые нуклеотиды. Это приводит к метаболическому дисбалансу, что служит сигналом для включения механизмов поиска равновесия, и в результате нехватки пуриновых оснований при застройке цепей ДНК включается путь синтеза *de novo*. Вероятно, такое неустойчивое состояние может сопровождаться хромосомной нестабильностью как этапом в поиске равновесия и адаптации к изменившимся условиям существования. В итоге формируются мутантные субклоны с повышенным по сравнению с контролем выходом хромосомных aberrаций. Из этого следует, что для выживания мутантных клеток более благоприятным будет полное прекращение синтеза фермента (в случае полной или крупной делеции гена), чем синтез фермента со сниженной активностью. В то же время появление и сохранение мутантных клеток в организме приводит к развитию патологических процессов. В настоящее время структурные хромосомные аномалии, затрагивающие определенные гены, привлекают повышенное внимание исследователей, поскольку становится все более очевидной их роль в патогенезе ряда опухолевых заболеваний у человека, в частности в развитии лейкозий. С точки зрения «метаболической гипотезы» становится понятным механизм нестабильности хромосом у потомков

мутантных клеток. Мутации передаются из поколения в поколение и тем самым снимается вопрос о консервации инициирующего события в последующих поколениях мутантных клеток.

Большой объем работ выполнялся по изучению закономерностей индукции разными типами излучений нестабильных и стабильных хромосомных aberrаций в клетках человека (Р. Д. Говорун, М. В. Репин). Для общего числа хромосомных aberrаций была выявлена степенная зависимость эффекта от дозы редкоизионизирующих излучений (протонов и γ -квантов). Она модифицируется в линейную при воздействии тяжелых ионов. Однако наблюдается снижение эффектов при воздействии высоких доз таких излучений, что является следствием существенной задержки митозов, особенно тяжело поврежденных клеток с множественными aberrациями хромосом.

В исследованиях, проведенных в ОРРИ, были использованы ДНК-пробы, специфичные для хромосом 1 и 2 генома лимфоцитов человека. Эти хромосомы являются наиболее крупными в геноме человека, и их повреждения могут происходить с большей вероятностью при воздействии такого неблагоприятного фактора, как ионизирующие излучения. С помощью FISH-анализа выявлена высокая частота образования таких стабильных aberrаций этих хромосом, как транслокации. Коэффициенты ОБЭ излучений с ЛПЭ, равными 80 кэВ/мкм, достигали значения 3 и более.

Обширные исследования на клетках млекопитающих были проведены по определению цитогенетических эффектов малых доз облучения (Н. Л. Шмакова, Т. А. Фадеева). Как известно, оценка биологического действия малых доз ионизирующего излучения является необходимым условием для прогнозирования генетического и канцерогенного риска облучения человека. Беспороговая линейная концепция как наиболее «гуманная», предполагающая опасность любого, даже самого малого облучения, является официально признанной и положена в основу рекомендаций МКРЗ. Однако экспериментальные данные, полученные в последние годы, вступают в явное противоречие с этой концепцией и свидетельствуют о неправомерности линейной экстраполяции эффектов с высоких доз на низкие. При оценке эффектов биологического действия малых доз излучения, как правило, регистрируется частота цитогенетических повреждений, а именно, индукция хромосомных aberrаций (ХА) и микроядер (МЯ) в клетках разного типа, характеризующаяся четкой количественной зависимостью в широком диапазоне доз. Универсальной особенностью дозовых кривых, хорошо воспроизводимой на разных объектах, является наличие дозозависимого участка, расположенного в диапазоне 0,1–0,5 Гр.

В экспериментах, выполненных на лимфоцитах периферической крови человека, на асинхронной и синхронизированной популяции клеток китайского хомячка линии V-79 и клетках меланомы человека линии BRO, было показано, что зависимости количества клеток с хромосомными aberrациями

от дозы облучения имеют сходный ярко выраженный нелинейный характер. При облучении в диапазоне 0–0,05 Гр (лимфоциты), 0–0,1 Гр (клетки меланомы) и 0–0,2 Гр (клетки китайского хомячка) количество хромосомных повреждений резко возрастает по сравнению с контрольным уровнем (диапазон гиперчувствительности, ГЧ), затем значительно снижается, переходя в дозозависимый участок. При дозах выше 0,5 Гр резистентность клеток повышается (индуцированная резистентность, ИР) и дозовая зависимость приобретает линейный характер. Наклон кривых при переходе от ГЧ к ИР снижается в 2–3 раза для клеток китайского хомячка и меланомы и в 5–10 раз для лимфоцитов человека в зависимости от используемого метода анализа ХА. Аналогичные кривые доза–эффект получены при облучении лимфоцитов от других доноров рентгеновскими лучами. Исследование частоты различных типов aberrаций в лимфоцитах человека после γ -облучения свидетельствует о том, что ГЧ обусловлено в основном увеличением числа aberrаций хроматидного типа, которые превалируют при дозах ниже 0,5 Гр.

Исследование природы феномена ГЧ/ИР, проведенное на клетках китайского хомячка и меланомы человека, позволило установить, что форма кривой доза–эффект, показанная на асинхронной популяции клеток китайского хомячка по индукции хромосомных aberrаций, хорошо воспроизводится на синхронизированных клетках, облученных в фазе G_1 клеточного цикла. Это свидетельствует о том, что ГЧ обусловлена высокой радиочувствительностью популяции в целом в узком диапазоне малых доз и не связана с гибелью фракции клеток, находящихся в момент облучения в радиочувствительной фазе клеточного цикла. С ростом дозы облучения все клетки становятся более радиорезистентными, как можно предполагать, вследствие индукции процессов репарации. Таким образом, наиболее вероятное объяснение нелинейности кривой доза–эффект и перехода от ГЧ к ИР состоит в том, что при определенном уровне повреждения клеток запускаются индуцибельные репарационные системы. Следствием этого является уменьшение радиочувствительности клеток и наклона кривых. Сопоставление дозовых зависимостей индукции хромосомных aberrаций у клеток китайского хомячка и меланомы человека дает основание полагать, что индуцибельные системы репарации клеток меланомы включаются при меньших дозах и работают более эффективно, чем у клеток китайского хомячка.

В течение длительного периода совместно с радиохимиками ЛЯП В. А. Халкиным и Ю. В. Норсеевым в Отделении проводились исследования биологического действия астата-211 и возможности его применения в мишенной терапии рака (Н. Л. Шмакова, П. В. Куцало, Т. А. Фадеева). В самых ранних опытах была показана возможность излечения асцитных форм рака с помощью астата-211, адсорбированного на частицах теллура. Эти первые результаты побудили к поиску методов мишенного воздействия α -излучателей на одну из самых агрессивных форм злокачественных

новообразований — меланому, характеризующуюся ранним и обширным метастазированием. Именно для борьбы с микрометастазами наиболее целесообразно мишенное воздействие астата-211, при распаде которого образуются α -частицы с длиной пробега 60 мкм, что составляет несколько клеточных диаметров. В качестве средства, обеспечивающего доставку радионуклида к опухолевым клеткам, использовали полициклическое соединение, известное в медицине под названием метиленовый синий (МС) и характеризующееся высокой связывающей способностью с меланином опухолевых клеток. В системе *in vitro* на клетках меланомы человека и нормальных непигментированных клетках показано избирательное накопление соединения астат-211–МС в меланинсодержащих опухолевых клетках, что вызывало в 15–20 раз более сильное поражение клеток меланомы по сравнению с нормальными клетками. На основе МС был получен препарат йод-131–МС, который показал высокую эффективность для визуализации меланомы и ее метастазов на животных с привитыми опухолями.

В последующем в ОРПИ были сформированы два самостоятельных сектора: фотобиологии (М. А. Островский) и компьютерного молекулярного моделирования (Х. Т. Холмуродов). В секторе фотобиологии начались исследования молекулярных фото- и радиобиологических процессов в структурах глаза (сетчатке и хрусталике). Постановка такого рода задач явилась новым шагом в развитии биофизических исследований в ОИЯИ. Указанные разработки осуществлялись под руководством академика РАН М. А. Островского. Актуальность исследований обусловлена прежде всего необходимостью решения задач космической радиобиологии, поскольку в условиях длительного космического полета возникновение катаракты весьма вероятно. В связи с этим исследование воздействия тяжелых частиц на агрегацию белков хрусталика (кристаллинов) и механизмов такой агрегации представлялось актуальной задачей. Были начаты исследования повреждающего действия тяжелых частиц на зрительный пигмент родопсин и на функциональное состояние сетчатки глаза.

В связи с появлением высокоэффективных компьютеров (суперкомпьютеров и специализированных кластеров, таких как система MDGRAPE-2) и программных пакетов многоцелевого назначения, например, DL_POLY, AMBER и CHARMM, возникли реальные возможности применения методов компьютерного молекулярного моделирования (МД) в физико-химических и биологических системах. Одним из важных аспектов применения методов МД являлись расчеты конформационных изменений белков и определение их пространственной структуры с высокой точностью. В секторе молекулярной динамики были начаты теоретические исследования, касающиеся моделирования белкового окружения различных изомеров ретиналя. К ним относятся исследования хромофорной группы в составе ретинальсодержащих белков, в первую очередь 11-*цис*-ретиналя.

Радиационные исследования. В период, предшествующий формированию ОРРИ, работы по радиационным исследованиям в ОИЯИ велись в отделе радиационной безопасности (с 1975 г. — отдел радиационной безопасности и радиационных исследований). Как известно, 50–60-е гг. прошлого века были временем бурного развития ускорителей частиц как важнейшего инструмента экспериментальной ядерной физики. Непрерывно росли энергии ускоренных частиц и токи выведенных из ускорителей пучков. ОИЯИ с момента своего образования складывался преимущественно как крупнейший ускорительный центр. Запуск реактора ИБР-30 (а в последующем и реактора второго поколения ИБР-2) не изменил кардинально ситуацию, поскольку основу базовых установок ОИЯИ составляют ускорители различных типов, перекрывающих диапазон ускоренных частиц по массе в широком диапазоне и по энергии от нескольких МэВ до 10 ГэВ.

Дозиметрия как научная дисциплина и как практика формировалась в первую очередь из-за необходимости обеспечения радиационной безопасности персонала, работающего на предприятиях ядерного топливного цикла. В масштабах страны численность работников, облучаемых в полях излучений на ускорителях, составляла очень малую долю от общего числа работающих в радиационно опасных условиях. С другой стороны, сложность и разнообразие полей излучения на ускорителях, а также необходимость разработки специфических средств измерений характеристик полей излучения привели к тому, что физика защиты и дозиметрия на ускорителях стала выделяться, по существу, в отдельную область физического знания. ОИЯИ в смысле возможностей для выполнения таких исследований является и по сей день уникальным центром. По этой причине большая часть научных исследований ОРБ ОИЯИ с самого момента его образования в 1963 г. (возглавил отдел М. М. Комочков) была связана с физикой защиты ускорителей, и эта специфика определила направленность как научных, так и практических работ на долгое время. Начало формированию этого направления было положено в 50-х гг. прошлого века в связи с вводом в эксплуатацию ускорителей на средние энергии (Cosmotron в Брукхейвене, Bevatron в Беркли, синхроциклотрон в Дубне). К тому времени относятся первые экспериментальные работы по исследованию защитных свойств материалов, ослаблению высокоэнергетичного излучения в защите и т. д. Тогда еще не были сформированы теоретические подходы для надежного расчета транспорта излучения через массивную защиту, и для прогнозирования радиационной обстановки на ускорителях использовались эмпирические и феноменологические методы расчета защиты. Крайняя ограниченность экспериментального материала по развитию межъядерного каскада в объеме защиты стимулировала постановку экспериментов по физике защиты на ускорителях. В Беркли, ОИЯИ и позднее в ЦЕРН и ИФВЭ был выполнен значительный объем экспериментальных исследований, связанных большей частью с получением и уточнением эмпирических констант для

выполнения расчетов в различных геометриях (т. е. коэффициентов, описывающих накопление излучения в первых слоях вещества и его ослабление с ростом толщины защиты). На синхроциклотроне и синхрофазотроне ОИЯИ в 1960–1970-е гг. М. М. Комочковым, В. Н. Лебедевым, В. Е. Алейниковым проведен цикл комплексных исследований полей излучения как за защитами ускорителей, так и в окружающей их среде. Уже на раннем этапе исследований выяснилась особая роль нейтронов как наиболее проникающего компонента вторичного излучения. Именно нейтроны широкого спектра энергий определяют при работе ускорителей дозу облучения за защитами у персонала и физиков-экспериментаторов.

С целью изучения механизма формирования полей рассеянного нейтронного излучения за защитами на синхроциклотроне и синхрофазотроне ОИЯИ были выполнены модельные эксперименты по прохождению вторичных высокоэнергетичных нейтронов, генерируемых в физических мишенях пучками протонов, через локальные защиты из различных материалов. Трудность заключалась также в том, что для исследований характеристик полей рассеянного излучения за защитами пришлось разрабатывать и специфические методики измерений параметров полей. Был создан многосферный спектрометр нейтронов с широчайшим энергетическим диапазоном, радиометры высокоэнергетичных нейтронов на основе жидкого и пластического сцинтилляторов, дозиметр нейтронов (бэрметр), рекомбинационная ионизационная камера (автор изобретения М. Зельчинский), создана градуировочная линейка для целей метрологического обеспечения измерений и т. д. Развивались и методики прогнозирования радиационной обстановки на ускорителях. Так, Б. С. Сычевым был создан метод расчета защит от нейтронного излучения на основе решения системы интегрально-дифференциальных (кинетических) уравнений переноса излучений в веществе, а М. М. Комочковым, В. Н. Лебедевым и Л. Н. Зайцевым разработана методика инженерных (полуэмпирических) оценок дозы и флюенса нейтронов за защитами.

Весьма сложная проблема заключалась также в создании переносного индивидуального дозиметра, который был бы способен обеспечить корректное измерение дозы человека в полях многокомпонентного (нейтроны, γ -кванты, заряженные частицы) рассеянного излучения широкого энергетического спектра. Выпускавшиеся отечественной промышленностью индивидуальные дозиметры были непригодны для использования в полях излучений на ускорителях. Большая заслуга в разработке комбинированного дозиметра γ -квантов и нейтронов на основе эмульсии типа МК-20 и рентгеновской пленки (кассета ИФКн) принадлежала М. И. Салацкой (руководителю группы индивидуального дозиметрического контроля в ОРБ в тот период). Данный тип индивидуального дозиметра неоднократно участвовал в международных сличениях и подтвердил адекватность своих показаний эквивалентной дозе облучения. Исследовались возможности использования и других типов радиационных

детекторов для измерения индивидуальной дозы человека, в частности, термолюминесцентных детекторов на основе LiF.

Опыт организации радиационного контроля на ускорителях, приобретенный ОРБ, был, по существу, уникален в СССР, и по этой причине основу отдела радиационной безопасности в ИФВЭ на новом ускорителе У-70 составили переехавшие из Дубны в Протвино сотрудники ОРБ ОИЯИ. Благодаря этому, а также общности решаемых проблем сотрудничество и контакты между двумя аналогичными подразделениями ОИЯИ и ИФВЭ были и остаются самыми тесными и плодотворными.

Дальнейшие радиационные исследования в 1970–1980-х гг. связывались главным образом с накоплением экспериментальных данных и одновременным развитием расчетных методик транспорта излучений через защиту. Развитие физики защиты выделось в тесной связи экспериментальных и теоретических исследований, которая питала уверенность в надежности прогнозирования ситуаций на проектируемых установках со все большими мощностями пучков и энергиями ускоренных частиц. Однако большое число накопленных к тому времени экспериментальных данных о характеристиках полей излучения на ускорителях не могло быть использовано для проверки адекватности расчетных методик и имело, по существу, эмпирический характер. Стала очевидной необходимость постановки базовых (benchmark) экспериментов по физике защиты, выполненных в простых (идеализированных), но вместе с тем типичных для ускорителей геометриях, обладающих всей полнотой исходной информации, необходимой для адекватных расчетов. Принципиально важным было также детальное знание характеристик источников излучения (source term), особенно для ускорителей тяжелых ионов из-за практического отсутствия данных об образовании вторичных нейтронов в ядро-ядерных взаимодействиях. Такие базовые эксперименты были выполнены за защитой синхроциклотрона ЛЯП и на пучках релятивистских частиц синхрофазотрона ЛВЭ. В экспериментах на синхроциклотроне Г. Н. Тимошенко впервые исследовал двойные дифференциальные по углу и энергии выходы заряженных частиц из защиты, экспериментально оценил вклад заряженного компонента в полную дозу и флюенс излучения. Для этих исследований был создан малогабаритный dE/dx -спектрометр заряженных частиц и выполнена его градуировка на пучке фазотрона ЛЯП по протонам упругого p – p -рассеяния. С помощью созданной системы датчиков для измерений угловых распределений заряженных частиц исследованы закономерности формирования полей излучения в различных геометриях за защитами фазотрона и синхрофазотрона.

В сравнительных экспериментах на пучках протонов, альфа-частиц и ядер ^{12}C с энергиями 3,65 ГэВ/нуклон получены исходные данные по выходам вторичных заряженных частиц из толстых Cu- и Pb-мишеней. В 1984 г. методом времени пролета впервые измерены спектры вторичных нейтронов с энергией более 10 МэВ под различными углами при взаимодействии релятивистских

ядер ^{12}C с толстой медной мишенью. Эти результаты были использованы для проверки расчета транспорта частиц в веществе, а также для прогнозирования радиационной обстановки при проектировании КУТИ и нуклотрона. Для расчета защит на ускорителях ядер А. Р. Крыловым разработаны программы моделирования межъядерного каскада в толстых мишенях на основе модели ядро-ядерных взаимодействий «файерстрик» и программа расчета транспорта нейтронов в защите с помощью решения системы кинетических уравнений. Степень достоверности расчетов полей вторичного и рассеянного излучения оценивалась в ряде экспериментов, в частности, в базовом эксперименте по физике защиты, выполненном Г. Н. Тимошенко за относительно тонкой ловушкой пучка ядер ^{12}C с энергией 3,65 ГэВ/нуклон на синхрофазотроне ЛВЭ.

Большой вклад в поддержку физических измерений внес В. П. Бамблевский, освоивший активационную методику и создавший набор низкофоновых гамма-спектрометров для измерения активности детекторов.

Особое внимание уделялось развитию спектрометрии нейтронов широкого диапазона энергий как базового метода исследований радиационной обстановки и измерения мощности дозы нейтронов. Восстановление спектров нейтронов по показаниям многосферного спектрометра относится к классу обратных задач, а именно, к отысканию неизвестной причины по ряду известных. На ранней стадии исследований спектрометрии нейтронов для обеспечения единственности решения уравнений задавалась очень «жесткая» априорная информация о характере искомого решения. Позже при восстановлении спектров стал использоваться метод статистической регуляризации, разработанный в 1970-х гг. академиком А. Н. Тихоновым, требующий задания минимальной априорной информации. Была создана программа восстановления спектров нейтронов по показаниям различных модификаций многосферного спектрометра (с активным детектором тепловых нейтронов и с активационными детекторами).

В дальнейшем методика восстановления спектров нейтронов совершенствовалась в направлении расширения рабочего диапазона спектрометра в область высоких энергий нейтронов (сотни МэВ), а также повышения точности расчета функций чувствительности и их экспериментальной проверки. Так, еще в начале 1980-х гг. на пучках ИБР-30 и нейтронного генератора были выполнены экспериментальные измерения функций чувствительности многосферного спектрометра и других нейтронных детекторов, использовавшихся в оперативном радиационном контроле. Тем не менее в силу ряда особенностей многосферный спектрометр малоинформативен в области высоких энергий нейтронов, что во многом ограничивало его применимость при измерениях в жестких полях излучения за защитой фазотрона и синхрофазотрона. Для решения этой задачи Г. Н. Тимошенко и А. Р. Крылов предложили оригинальный метод спектрометрии нейтронов высокой энергии в полях

рассеянного излучения, обладающий высокой чувствительностью. На основе этого метода был создан новый тип спектрометра нейтронов, рассчитаны его функции чувствительности и выполнена градуировка прибора. С его помощью был выполнен большой объем измерений «жестких» спектров нейтронов в реальных полях за защитами ускорителей ОИЯИ и проведена корректировка показаний стационарных нейтронных датчиков радиационного контроля непосредственно на рабочих местах. Высокая чувствительность данного спектрометра к нейтронам позволила также измерить спектр космических нейтронов с энергией более 20 МэВ на поверхности земли. В дальнейшем развитие нейтронной спектрометрии заключалось в совершенствовании расчетов чувствительностей многосферного спектрометра на основе современных транспортных МК-программ (MCNP), включении в состав набора спектрометра гетерогенных сфер и накоплении опыта восстановления спектров нейтронов по показаниям активационных детекторов.

Многосферный спектрометр впервые использовался и для исследования полей вторичных нейтронов вокруг толстой мишени, облучаемой протонами с энергией 660 МэВ. Свинцовая мишень диаметром 8 см и длиной 50 см имитировала сердечник подкритической сборки, управляемой пучком протонов фазотрона ЛЯП (проект SAD). Выбор такой методики спектрометрии позволил получить спектрально-угловые распределения нейтронов из мишени во всем энергетическом диапазоне, начиная с десятков кэВ. Данный эксперимент был выполнен для проверки расчета межъядерного каскада по наиболее известным в настоящее время транспортным программам.

Многосферный спектрометр нейтронов является не только основным прибором для исследований полей рассеянного излучения, но и образцовым средством радиационного контроля. Однако решение проблемы метрологического обеспечения радиационных измерений на ускорителях опирается на создание системы «образцовое средство измерений – образцовый источник нейтронного излучения». На практике в качестве образцовых источников нейтронов применяются радиоизотопные источники ^{239}Pu –Be и ^{252}Cf со средними энергиями нейтронов 4,3 и 2,5 МэВ. Основным их недостатком с точки зрения метрологии является узкий энергетический диапазон, не соответствующий реальным полям излучений за защитами, что не обеспечивает необходимую точность практических измерений. Это обусловило разработку в конце 1980-х гг. специального метрологического обеспечения нейтронных измерений, в основе которого лежало создание эталонных (опорных) полей нейтронов широкого энергетического состава непосредственно на ядерно-физических установках и воспроизведения в них (прямым или косвенным методом) размера единиц государственного специального эталона. По инициативе подсекции «Радиационная защита и работа в условиях высоких уровней ионизирующего излучения» при Совете по проблемам ускорения заряженных частиц АН СССР, возглавляемой в то время М. М. Комочковым,

была поставлена задача создания опорных полей нейтронов на ускорителях. Такая работа проводилась параллельно в ОИЯИ и ИФВЭ с начала 1990-х гг., а немногим позже и в ЦЕРН. В ОИЯИ было создано четыре опорных поля, два — на основе ^{252}Cf -источника нейтронов в замедлителях разного диаметра и два — на основе реальных полей фазотрона ЛЯП. «Мягкое» опорное поле нейтронов было создано в лабиринте туннеля в цокольном этаже под главным залом ускорителя, а «жесткое» опорное поле — за 2-метровой бетонной защитой фазотрона на обваловке западной стены. Были детально исследованы характеристики этих полей, созданы системы контроля их параметров и разработана метрологическая схема градуировки дозиметрических и радиометрических приборов. В опорных полях нейтронов ОИЯИ проводилось сравнение методик и средств измерений дозиметрических и физических характеристик полей нейтронов, используемых в ОИЯИ, ИФВЭ и ИАЭ (Сверк, Польша), а также выполнялась градуировка ряда приборов и методик оперативного и индивидуального контроля.

Ужесточение радиационного нормирования и увеличение объема радиационного контроля на ядерно-физических установках ОИЯИ потребовали от ОРБ в середине 1980-х гг. нового подхода к организации зонного мониторинга, а именно создания автоматизированных систем радиационного контроля (АСРК) на установках ОИЯИ. Следует отметить, что опыта создания подобных систем на ускорителях в то время не существовало. На реакторе ИБР-2 автоматизированная система контроля была создана аналогичной тем, которые использовались на атомных станциях. Однако специфика полей излучения за защитами ускорителей, переменность режимов их работы, изменение статуса зон радиационного наблюдения в зависимости от режимов и т. д. делали невозможным применение систем АЭС на ускорителях. Для решения поставленной задачи в отделе была разработана трехуровневая схема автоматизированной системы, первый уровень которой состоял из десятков стационарных датчиков нейтронов и γ -квантов, второй уровень — из интеллектуальных контроллеров крейтов для сбора информации с датчиков и управления ими и третий уровень — ПК для визуализации и документирования данных и управления работой системы в целом. Были разработаны нейтронные каналы системы со стационарными датчиками нейтронов широкого диапазона энергий на основе коронных счетчиков в замедлителях, отлично зарекомендовавших себя в процессе многолетней эксплуатации, созданы специализированные блоки электроники для второго уровня систем, разработано программное обеспечение для второго и третьего уровней, создана метрологическая схема поверки и градуировки датчиков. АСРК с некоторыми специфическими отличиями были созданы на фазотроне ЛЯП, синхрофазотроне ЛВЭ и ускорителях ЛЯР и работают, постоянно совершенствуясь, уже около 30 лет.

Примерно с середины 1980-х гг. параллельно с созданием АСРК начались работы по перестройке системы индивидуального дозиметрического контроля (ИДК). Традиционные методы фотоконтроля, основанные на использовании рентгеновских пленок для оценки дозы γ -квантов и ядерных эмульсий для регистрации нейтронов, не обладали необходимой оперативностью, при том, что число сотрудников, стоящих на дозконтроле, достигало 2 тыс. человек. Стали проявляться и проблемы, связанные с поставкой пленок с ядерной эмульсией. Выход из ситуации виделся в кардинальном изменении методики ИДК и переходе (частично или полностью) на контроль с помощью термолюминесцентных детекторов (ТЛД). Альтернативой фотодозиметру виделся альбедодозиметр нейтронов с двумя ТЛД на основе ${}^6\text{Li}$ и ${}^7\text{Li}$, регистрирующий мягкие нейтроны, перерассеянные в дозиметр из тела человека. В отделе были развернуты работы по созданию такого дозиметра и автоматизации обработки его данных. Попытки создания прибора для считывания показаний ТЛД предпринимались в ОРБ еще в 1970-х гг., до того как появились промышленные приборы. В ходе работ над созданием альbedo-дозиметра испытывались различные виды ТЛД, выполнялись расчеты чувствительности дозиметра и градуировка, проводились его испытания в реальных полях нейтронов. В итоге в практику дозконтроля ОИЯИ были внедрены новые индивидуальные гамма-нейтронные дозиметры.

Опыт, накопленный в отделе по физике защиты ускорителей, и владение методами расчета транспорта частиц в веществе были использованы при проектировании ряда защит отдельных установок или зданий на ускорителях ОИЯИ. ОРБиРИ принимал участие в проектировании вариантов ускорительных комплексов тяжелых ионов (КУТИ, УКТИ) и нуклотрона ЛФВЭ. В конце 1980-х гг. специалисты отдела принимали участие в проектировании циклотрона института «Vinča» в Белграде (Югославия).

После создания Отделения радиационных и радиобиологических исследований работы по дозиметрии излучений и физике защиты выполнялись в рамках научной темы по радиационным исследованиям. Их основными направлениями были исследования характеристик перспективных детекторов и дозиметров, спектрометрия нейтронов широкого диапазона энергий, оптимизация радиационной безопасности и защиты от излучений, физическая поддержка радиобиологических экспериментов, контроль облучения персонала и мониторинг радиоактивности в окружающей среде, подготовка специалистов по радиационной безопасности.

Были проведены обширные исследования характеристик трековых твердотельных детекторов и детекторов тепловых нейтронов в полиэтиленовых замедлителях. В частности, совместно с сотрудниками Института ядерной физики (Прага, Чешская Республика) была измерена эффективность регистрации тяжелых ядер C, Mg, Ar и Fe трековым детектором из CR-39.

В связи с работами по созданию в Словацкой Республике циклотронного центра для ускорения ионов с $A \leq 130$ и энергией до 72 МэВ/нуклон потребовалось выполнить комплекс исследовательских и проектных работ, чтобы свести к минимуму влияние излучений от ускорителя на окружающую среду. К расчету защиты комплекса и организации мер по радиационной безопасности предъявлялись повышенные требования в связи с тем, что комплекс располагался на территории Братиславы. Была разработана концепция радиационной безопасности Словацкого циклотронного центра, включающая возможные источники ионизирующих излучений, защиту от излучений, радиационный мониторинг, обращение с радиоактивными источниками, анализ возможных радиационных аварий, влияние ускорительного центра на окружающую среду. На основе данной концепции был выполнен проект комплекса в части радиационной безопасности (В. Е. Алейников, В. А. Архипов, Г. Н. Тимошенко, А. Р. Крылов, Л. Г. Бескровная).

Большой объем работ в ОРРИ выполнен по созданию установок для прецизионной дозиметрии пучков заряженных частиц ускорителей ОИЯИ. Для этих измерений на ускорителе У-200 был создан экспериментальный канал и специальная установка, позволяющая проводить автоматическую смену образцов, а также разработана методика измерения поглощенной дозы низкоэнергетичных ионов. Для облучений на нуклотроне ЛФВЭ также разработали методику формирования квазиоднородного дозового поля и измерения поглощенной дозы в образцах, что позволило выполнить цикл исследований на пучках протонов, α -частиц, ядер углерода и магния с энергиями 0,5–1,0 ГэВ/нуклон.

Специалисты ОРРИ помимо работы над темой отделения принимали активное участие в выполнении работ по другим институтским темам, в частности, по трансмутации радиоактивных отходов АЭС, созданию стационарных установок для обнаружения и идентификации взрывчатых и наркотических веществ и т. д.

ЛАБОРАТОРИЯ РАДИАЦИОННОЙ БИОЛОГИИ

В 2005 г. решением дирекции, Ученого совета и Комитета полномочных представителей стран-участниц ОИЯИ Отделение радиационных и радиобиологических исследований было преобразовано в новую, восьмую лабораторию Объединенного института — Лабораторию радиационной биологии (приказ по ОИЯИ № 403 от 20 июня 2005 г.). Это событие явилось закономерным результатом длинного пути становления одного из направлений развития фундаментальной биологии в ОИЯИ и признанием большого вклада специалистов ОРПИ в решение важных научных задач. Очевидно, что радиобиология как междисциплинарная наука нуждается в активном участии в этих разработках специалистов-физиков, и ОИЯИ в этом смысле предоставляет уникальные возможности, поскольку обладает высококвалифицированными кадрами физиков, необходимой аппаратурой и широчайшим спектром самых разнообразных источников излучений. Фактически ни в России, ни в других странах нет более удобного и физически оснащенного для проведения радиобиологических исследований научного центра, чем ОИЯИ. Поэтому в области изучения биологических эффектов ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками Лаборатория радиационной биологии с полным правом может претендовать на лидерство в данной научной области среди других научных организаций России и стран-участниц ОИЯИ. Директором-организатором новой лаборатории был в 2005 г. назначен, а в 2009 г. избран на Ученом совете ОИЯИ доктор биологических наук профессор Е. А. Красавин.

В 2008 г. по предложению академика-секретаря Отделения биологических наук (ОБН) Российской академии наук академика А. И. Григорьева результаты проводимых в ОИЯИ радиобиологических исследований и перспективы работ были доложены Е. А. Красавиным на заседании Бюро ОБН РАН и получили высокую оценку. Общее собрание отделения единогласно поддержало инициативу Бюро ОБН РАН и приняло постановление о научно-методическом руководстве Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ со стороны ОБН РАН (постановление № 5 от 15 декабря 2008 г.). Это важное решение вывело на новый уровень развитие биологических исследований в ОИЯИ с использованием его уникального потенциала.

В структуру ЛРБ вошли два отдела (отдел радиобиологии, отдел радиационных исследований) и три самостоятельных сектора (фоторадиобиологии, космической радиобиологии и компьютерного молекулярного моделирования). Отдел радиобиологии включал четыре группы: группу молекулярной радиобиологии, группу радиобиологии нормальных и опухолевых клеток, группу радиационной генетики и группу математического моделирования. Отдел радиационных исследований включал две исследовательские группы: группу исследования радиационных полей базовых установок и группу моделирования взаимодействий ионизирующих излучений с веществом. Главным направлением исследований новой лаборатории, так же как и ОРРИ, явились вопросы биологического действия излучений с разными физическими характеристиками. Актуальность такого рода исследований, как уже выше указывалось, обусловлена рядом обстоятельств и прежде всего эффективностью применения излучений широкого спектра ЛПЭ при решении ряда фундаментальных и практических задач. Эти задачи касаются фундаментальных вопросов радиобиологии, использования ускоренных ионов в клинике лучевой терапии, совершенствования мер защиты персонала, работающего в смешанных полях ионизирующих излучений, защиты экипажей космических кораблей в условиях длительных межпланетных полетов.

После создания ЛРБ в экспериментах с прокариотическими клетками различного генотипа на новом этапе продолжились сравнительные исследования закономерностей и механизмов индукции генных и структурных мутаций излучениями в широком диапазоне ЛПЭ. Группа радиобиологов (руководитель А. В. Борейко) лаборатории приступила к решению этой важной фундаментальной проблемы. Как известно, на необходимость генетических исследований с использованием ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками для выяснения механизмов индуцированного мутационного процесса, конкретизации физических событий, служащих его пусковыми моментами, неоднократно указывали классики количественной радиобиологии — Н. В. Тимофеев-Ресовский, Д. Ли и др. В связи с этим Н. В. Тимофеев-Ресовский отмечал: «Элементарные дискретные изменения элементарных дискретных компонентов генотипа (генов) у всех в этом отношении изученных живых организмов вызываются всеми типами ионизирующих излучений, следуя при этом одноударной кривой доза–эффект. Опыты с излучениями разных мощностей дозы и разной жесткости позволили в значительной мере конкретизировать то физическое явление, которое служит физическим пусковым механизмом, вызывающим мутации, попадание в определенный эффективный объем в форме одной ионизации». Представление о том, что попаданием является одна ионизация или узколокализованная группа ионизации в генетических структурах, предполагает линейный характер дозовой зависимости выхода мутаций. Действительно, справедливость этого положения была убедительно продемонстрирована в экспериментах на различных организмах.

Однако в более поздних исследованиях наряду с линейными были выявлены и зависимости нелинейного типа. Из этого следует, что попадание или выделение кванта энергии в генах и фиксация возникающего повреждения в виде мутации неоднозначно связаны между собой и, более того, вероятность закрепления премутационного повреждения в мутацию зависит от ряда входящих факторов. Установлено, что эта вероятность в сильной степени зависит от процессов протекания клеточного метаболизма и в конечном счете от систем пострадиационного восстановления.

Ранние работы по учету частоты мутирования у микроорганизмов при облучении в условиях влияния факторов физической, химической и биологической природы выявили важную роль пострадиационного восстановления в индуцированном мутационном процессе. После выделения и идентификации мутантов с различными дефектами в репарации ДНК появилась возможность пристального изучения роли репарационных процессов в индуцированном мутагенезе. На основе полученных результатов можно было прийти к выводу о важной роли как физических, так и биологических факторов в мутагенном действии излучений. Роль физического фактора в мутационном процессе можно было изучать, используя ионизирующие излучения с разными физическими характеристиками, а роль биологического — используя различных репарационных мутантов. В экспериментах на бактериях с различным генотипом было установлено, что нелинейные дозовые кривые мутагенеза наблюдаются довольно часто и выявляются при учете как обратных, так и прямых мутаций. Такого рода зависимости в течение долгого времени являлись мучительной проблемой для специалистов. С учетом этого в ЛРБ были спланированы эксперименты по изучению мутагенного действия излучений широкого диапазона ЛПЭ, генерируемых ускорителями ОИЯИ, на прокариотические клетки с различным генотипом.

Крайне важной задачей в понимании механизмов индуцированного мутационного процесса является сравнительное изучение закономерностей и механизмов образования как генных, так и структурных мутаций у клеток при действии излучений широкого диапазона линейных передач энергии. Получение такого рода данных является крайне трудной задачей в экспериментах на клетках млекопитающих. Конечно, получение данных о выходе различного рода мутаций при действии излучений разного качества в экспериментах на клетках млекопитающих является исключительно важной практической и научной задачей, но исследования такого рода с привлечением различных видов бактериальных клеток, безусловно, представляются необходимой ступенью в решении данной проблемы. У бактерий детально изучена структурно-функциональная организация генетического аппарата, получены различные репарационно-дефицитные мутанты и все это позволяет выяснить молекулярные механизмы формирования генных и структурных мутаций при действии на клетки излучений, различающихся по ЛПЭ в широком диапазоне.

Полученные материалы по мутагенному действию излучений широкого диапазона ЛПЭ позволили понять механизмы, лежащие в основе выявленных закономерностей. На основе исследований индукции как прямых, так и обратных генных мутаций были выявлены линейно-квадратичные зависимости частоты образования мутаций от дозы различных видов излучений. При дозах облучения, превышающих значения $\sim 80\text{--}100$ Гр, наблюдается степенная дозовая зависимость. В логарифмическом масштабе дозовые зависимости представляют собой прямые с тангенсом угла наклона, равным 1,7–1,8, что свидетельствует о степенном, близком к квадратичному, характере этих кривых. Наиболее высокая эффективность в индукции мутаций наблюдается в экспериментах с ускоренными ионами гелия с ЛПЭ $\cong 20$ кэВ/мкм. При действии ионов с большими ЛПЭ мутагенная эффективность снижается. Сохранение квадратичного характера зависимости частоты мутирования от дозы облучения при действии тяжелых заряженных частиц обусловлено рядом обстоятельств.

Микродозиметрический анализ выявляемых закономерностей (С. Козубек) свидетельствует о том, что при действии разных доз ионизирующих излучений в облученной популяции можно выделить три типа субпопуляций клеток: неповрежденные выживающие клетки; летально поврежденные не выживающие клетки; «умеренно» поврежденные клетки, которые после завершения процесса репарации также составляют класс выживающих клеток. При увеличении ЛПЭ излучений возрастает доля неповрежденных клеток, а уменьшается доля летально поврежденных, через которые прошли частицы сердцевинной трека. В результате этого мутации образуются преимущественно в субпопуляции, поврежденной прохождением δ -электронов, и в той небольшой фракции клеток, через которые прошли одна и большее количество частиц сердцевинной трека при условии, что эти клетки смогли отрепарировать возникшие повреждения и не погибли. На основании этого можно было объяснить сохранение характера дозовых зависимостей мутагенеза при действии излучений, различающихся по ЛПЭ. Поскольку характер передачи энергии δ -электронов веществу при действии электромагнитных и корпускулярных излучений не различается между собой, вид зависимости $N_m/N(D)$, где N_m/N — отношение числа мутантных клеток к общему числу клеток в облученной популяции и D — доза, при действии излучений разного качества остается неизменным. Следовательно, при действии тяжелых заряженных частиц с высокими значениями ЛПЭ (ЛПЭ ≥ 100 кэВ/мкм), когда при прямом прохождении треков частиц через чувствительные структуры клетки преимущественно погибают, в выживающих клетках имеет место так называемый δ -электронный мутагенез. При действии же на клетки ускоренных легких ионов или ускоренных тяжелых заряженных частиц высоких энергий с ЛПЭ ≤ 100 кэВ/мкм, когда чувствительные структуры испытывают прямое воздействие треков, имеет место «сердцевинно-трековый мутагенез». С учетом вышеизложенного

становится понятным сохранение характера дозовых кривых мутагенеза у клеток *E. coli* и *Bacillus subtilis* при возрастании ЛПЭ частиц.

Данные, полученные на ускорителях тяжелых ионов, позволили прийти к заключению о том, что квадратичный характер кривых мутагенеза обусловлен необходимостью реализации и «взаимодействия» двух независимых друг от друга событий «попадания». Первое из них связано с возникновением премутационного повреждения в изучаемом локусе, а второе — образование повреждения, индуцирующего систему SOS-репарации, которая и способствует закреплению изменения в бактериальной ДНК в виде мутаций. Так как SOS-репарация является решающим фактором в реализации индуцированного мутационного процесса, важен анализ современных молекулярных механизмов организации SOS-системы у бактерий *E. coli*. С учетом этого была разработана молекулярная модель индуцированного мутагенеза, позволяющая описать магистральные пути трансформации первичных нарушений структуры ДНК (премутационных повреждений) в мутации (А. В. Борейко). В модели закрепление премутационного повреждения в мутацию точкового типа при действии ионизирующих излучений есть результат работы различных ферментатических механизмов, в том числе, как одного из главных, — мультиферментного комплекса, включающего в себя индуцибельную ДНК-полимеразу V ($UmuD_2C$), RecA-протеазу, SSB-белки, субъединицы ДНК-полимеразы III.

На основе молекулярной модели была разработана математическая модель, описывающая мутационный процесс в бактериальных клетках *E. coli* при действии ультрафиолетового излучения (О. В. Белов, Е. А. Красавин, А. Ю. Пархоменко). По сути, был предложен новый подход к теоретическому описанию явления индуцированного мутагенеза в бактериальных клетках. Впервые построена модель, описывающая индуцированный мутационный процесс посредством детального математического описания ключевых белковых взаимодействий в ходе SOS-ответа бактерий *E. coli*. В рамках одного модельного подхода удалось проследить весь путь от возникновения первичного повреждения структуры ДНК до закрепления его в мутацию. Разработанные модельные представления позволили впервые предсказать динамику концентраций димеризованных продуктов гена *umuD*, а также двух регуляторных комплексов SOS-системы: $UmuD_2C$ и $UmuDD'C$. Такой подход позволил детально смоделировать механизм translesion-синтеза (TLS), ответственного за процесс закрепления премутационных повреждений в мутации. В расчетах с применением построенной модели была установлена связь между эффективностью реализации translesion-синтеза и выходом генных мутаций. Вычисления, выполненные на примере регуляторного гена *lacI* бактерий *E. coli*, показали совпадение результатов моделирования с экспериментальными данными о частоте образования мутаций $lacI^-$ в зависимости от флюенса энергии УФ-излучения. На основании этих подходов возможен дальнейший математический анализ основных этапов мутационного процесса при действии

ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками на клетки *E. coli*. Конечно, эта задача гораздо более сложная, но вполне реализуемая. Для ее успешного решения прежде всего необходимы экспериментальные данные, касающиеся кинетики образования и деградации основных генных продуктов, участвующих в формировании мультиферментного комплекса — ДНК-полимеразы V.

В более поздних работах, связанных с исследованиями в области количественной радиобиологии, были развиты подходы, позволяющие конкретизировать дополнительные механизмы восстановления бактериальных клеток после радиационного воздействия (О. В. Белов, М. В. Капралов). В частности, предложено детальное математическое описание механизма эксцизионной репарации поврежденных оснований ДНК в бактериальных клетках, смоделирован механизм удаления повреждений с участием формамидопиримидингликозилазы (белка Frg), обладающей несколькими видами активности. Таким образом, в этих исследованиях не только получен ряд важных результатов, связанных с количественной оценкой кинетики образования и деградации основных генных продуктов в ходе репарации ДНК, но и успешно реализован новый теоретический подход к описанию индуцированного мутационного процесса в клетках бактерий.

В экспериментах с использованием ускоренных тяжелых ионов удалось показать, что в отличие от генных частота образования делеционных мутаций линейно возрастает с дозой для всех видов использованных излучений (А. В. Борейко). Наибольшей эффективностью обладают ионы с ЛПЭ ≈ 50 кэВ/мкм. Ускоренные ионы с большей ЛПЭ вызывают меньший биологический эффект. Следовательно, характер дозовых зависимостей по критерию индукции делеционных мутаций у клеток *E. coli* совершенно отличается от ранее рассмотренных зависимостей, полученных для генных мутаций. В последнем случае наблюдается степенная, близкая к квадратичной, зависимость. Дозовые зависимости индукции делеционных мутаций, описываемые линейными функциями, обусловлены другими механизмами их формирования по сравнению с генными мутациями. Линейный характер зависимости образования делеций при γ -облучении бактериальных клеток объясняется тем, что в отличие от генных мутаций молекулярной основой первичных повреждений, ведущих к образованию делеций, являются не повреждения оснований, а двуниевые разрывы ДНК. Для реализации премутационных повреждений данного типа в структурную мутацию не требуется индукции системы SOS-репарации, которая играет ключевую роль, как показано ранее, в формировании генных мутаций.

На основании выполненных исследований показано, что биологическая эффективность тяжелых заряженных частиц, оцениваемая по индукции делеционных мутаций, возрастает с увеличением ЛПЭ, так же как для летальных эффектов облучения и индукции точковых мутаций. Однако положение

максимумов зависимости ОБЭ от ЛПЭ для рассматриваемых эффектов облучения не является инвариантным. Для летального действия наибольшие значения ОБЭ наблюдаются при облучении частицами с ЛПЭ ≈ 100 кэВ/мкм. По критерию индукции генных мутаций величина максимума приходится на значения ЛПЭ ≈ 20 кэВ/мкм. Для делеционных мутаций эта величина составляет ≈ 50 кэВ/мкм. С учетом этого был сделан вывод о том, что различия в положении максимумов зависимостей ОБЭ от ЛПЭ для летальных и мутагенных эффектов облучения обусловлены разным характером повреждений ДНК, участвующих в реализации генного мутагенеза и летальных эффектов. В первом случае ими являются преимущественно поврежденные основания, во втором — двунитевые разрывы ДНК. Микродозиметрический анализ выхода кластерных ОР и ДР ДНК в зависимости от ЛПЭ (В. Михалик) свидетельствует о том, что оба типа зависимостей описываются кривыми с локальным максимумом. Однако для кластерных ОР положение максимума сдвинуто почти на порядок в область меньших значений ЛПЭ. Это обстоятельство может объяснять различия в положении максимумов зависимостей ОБЭ от ЛПЭ для летальных эффектов облучения и индукции генных мутаций.

Эксперименты по индукции мобильных элементов излучениями с разными физическими характеристиками (А.В. Борейко, Д.В. Журавель) были спланированы с учетом того, что точная эксцизия транспозонов, являясь, с одной стороны, делеционным по молекулярной природе процессом, с другой стороны, зависит от функций генов, контролирующей SOS-репарацию. Поскольку образование делеционных мутаций, в основе которых лежит образование ДР ДНК, не детерминировано индуцибельной SOS-репарацией, представлялось важным изучить закономерности и механизмы точной эксцизии транспозонов у бактерий *E. coli* при действии γ -квантов и ускоренных тяжелых ионов с разными физическими характеристиками. При действии тяжелых заряженных частиц с ростом дозы облучения частота формирования делеций, вызванных точной эксцизией мобильного элемента, описывалась степенными зависимостями. С возрастанием ЛПЭ частиц их биологическая эффективность по сравнению с γ -квантами увеличивалась, и максимум зависимости ОБЭ, определенной по критерию точной эксцизии транспозона Tn10, реализовался в диапазоне ЛПЭ от 20 до 40 кэВ/мкм. Как уже отмечалось, при таких же значениях ЛПЭ наблюдается максимальный выход генных мутаций у бактерий *E. coli* и *Bacillus subtilis*. На основании полученных данных сделан вывод о том, что высокая биологическая эффективность тяжелых заряженных частиц по индукции мобильных элементов, как и в случае индукции генных мутаций, обусловлена двумя обстоятельствами. В основе инициации эксцизии транспозона лежит формирование одностебельных шпилек в его последовательности, образующихся в ходе репарации повреждений ДНК, и формирование повреждения, запускающего SOS-ответ клетки, в результате чего происходит эксцизия мобильного элемента. Различие в характере

премутационных повреждений, являющихся молекулярным субстратом при формировании генных и структурных мутаций, отражается на характере зависимостей ОБЭ(ЛПЭ). Молекулярной основой эксцизии транспозона могут являться кластерные повреждения одной нити ДНК, возникающие на фоне клеточного SOS-ответа. Это обстоятельство находит свое подтверждение в степенном характере дозовой зависимости индукции мобильных элементов излучениями с разными физическими характеристиками, а также в положении локального максимума зависимости ОБЭ от ЛПЭ по данному критерию, коррелирующего с аналогичной зависимостью для генных мутаций.

Результаты выполненных исследований были удостоены Второй премии ОИЯИ за 2008 г.

В группе молекулярной радиобиологии ко времени создания ЛРБ были начаты исследования молекулярных нарушений структуры ДНК в лимфоцитах человека при γ -облучении и действии ускоренных тяжелых ионов, а также исследования апоптотической гибели клеток. С использованием метода ДНК-комет изучены закономерности индукции и репарации двунитевых разрывов ДНК в клетках, облученных γ -квантами ^{60}Co и ускоренными ионами ^7Li и ^{11}B с ЛПЭ 20 и 40 кэВ/мкм соответственно (А. В. Борейко, В. Н. Чаусов, В. А. Тронев). При γ -облучении и при действии ускоренных ионов выявлены линейные дозовые зависимости, и показано, что тяжелые ионы по сравнению с γ -квантами обладают большей биологической эффективностью по критерию индукции ДР ДНК. Величина относительной биологической эффективности ускоренных ионов лития составляет $1,4 \pm 0,1$ и бора $1,6 \pm 0,1$. С целью изучения качественных особенностей индуцируемых ДР ДНК в клетках при действии излучений широкого диапазона ЛПЭ в ЛРБ был использован подход, связанный с применением агентов, влияющих на процессы синтеза ДНК. Известно, что ряд ингибиторов синтеза ДНК (арабинозидцитозин, оксимочевина, фтордезоксигуанидин и некоторые другие) подавляют у клеток млекопитающих не только репликативный, но и репаративный синтез ДНК. В условиях влияния этих агентов в пострadiационный период наблюдается значительное повышение чувствительности клеток к γ -облучению. Молекулярный механизм их сенсibiliзирующего влияния связан с препятствием застройки однонитевых брешей в цепи ДНК. В результате этого оппози́тная с длительно нерепарируемыми брешами нить ДНК может подвергаться атаке эндонуклеаз типа S_1 с формированием энзиматических двунитевых разрывов ДНК. Вместе с тем при действии излучений с высокой ЛПЭ модифицирующее влияние ингибиторов синтеза ДНК на выживаемость клеток млекопитающих отсутствует. Это дало основания полагать, что с увеличением ЛПЭ частиц существенно возрастает количество прямых ДР ДНК, непосредственно индуцируемых тяжелыми заряженными частицами, и их выход определяется лишь физическими свойствами излучений. В связи с этим представлялось важным изучить

закономерности влияния ингибиторов синтеза ДНК на выход двуниевых разрывов при действии на клетки излучений широкого диапазона ЛПЭ.

Полученные данные о влиянии ингибиторов синтеза ДНК — арабинозид-цитозина (Ара-Ц) и гидроксимочевина (ГМ) — на индукцию и репарацию повреждений ДНК свидетельствовали о различном характере их модифицирующего влияния при облучении клеток ионизирующими излучениями разного качества. В нормальных условиях при действии тяжелых ионов наблюдается более эффективная индукция ДР ДНК, и величина ОБЭ составляет $1,6 \pm 0,1$. Полученные результаты свидетельствовали и об эффективной репарации ДР ДНК при действии использованных видов излучений. В условиях влияния ингибиторов наблюдались значительные различия в характере выявленных зависимостей «доза–эффект» при действии на клетки γ -квантов и ускоренных ионов бора. При γ -облучении в присутствии ингибиторов синтеза ДНК наблюдалось не только отсутствие репарации ДР ДНК, но отмечалось некоторое увеличение количества ДР со временем инкубации клеток. Такое положение могло быть объяснено, с одной стороны, возможным ингибированием процессов репарации ДР ДНК, осуществляемой, как известно, двумя механизмами: гомологичной рекомбинацией (ГР) и негомологичным соединением (НГС) концов. С другой стороны, это может быть связано с формированием энзиматических ДР ДНК из одностранных разрывов ДНК, образующихся в процессе инцизии модифицированных нуклеотидов в ходе эксцизионной репарации. Поскольку удаление поврежденных нуклеотидов в процессе эксцизионной репарации у клеток млекопитающих происходит в течение 3–4 ч после облучения, формирующиеся ОР в условиях влияния ингибиторов синтеза ДНК могут быть сайтами для формирования энзиматических ДР в результате атаки S_1 -эндонуклеазами оппозитным инцизионным ОР нитей ДНК. При действии на клетки ускоренных ионов бора в условиях влияния Ара-Ц и ГМ наблюдается репарация ДР ДНК в отличие от облучения γ -квантами, а меньшие значения параметров фактора изменения дозы при облучении клеток тяжелыми ионами объясняются уменьшением количества индуцируемых ОР ДНК с ростом ЛПЭ излучений. А именно этот тип повреждений ДНК является молекулярным субстратом для реализации сенсibiliзирующего влияния использованных ингибиторов синтеза ДНК.

Таким образом, на основании проведенных исследований было показано, что при действии ионизирующих излучений на клетки млекопитающих в условиях действия ингибиторов синтеза ДНК Ара-Ц и ГМ происходит репарация двуниевых разрывов ДНК. Репарация ДР осуществляется как при γ -облучении, так и при действии ускоренных ионов бора. Большой вклад энзиматических ДР ДНК, формирующихся из заблокированных ингибиторами концевых групп прямых ОР и ОР энзиматической природы, образующихся в процессе эксцизионной репарации, по-видимому, перекрывает картину репарации ДР ДНК при γ -облучении, которая видна при действии на клетки

ускоренных ионов бора. С учетом этого в лаборатории были запланированы исследования с более тяжелыми заряженными частицами, с еще более высокими значениями ЛПЭ ≥ 200 кэВ/мкм, при которых индуцируются главным образом «прямые» ДР ДНК, а вклад ДР энзиматической природы минимален.

С целью изучения закономерностей формирования различных типов повреждений ДНК при действии ионизирующих излучений разного качества был развит метод ферментативного комет-анализа ДНК. Применение ферментов репарации эндонуклеазы-III (EndoIII) и формаамидопиримидингликозилазы (Fpg) позволяет трансформировать модифицированные пиримидиновые и пуриновые основания в однонитевые разрывы ДНК. С использованием модифицирующих ферментов в условиях щелочного и нейтрального комет-анализа ДНК получены сравнительные дозовые зависимости формирования ОР ДНК и модифицированных пуринов и пиримидинов, а также двунитевых разрывов ДНК и кластерных двунитевых повреждений ДНК при действии γ -квантов ^{60}Co .

Как неоднократно указывалось ранее, действие тяжелых заряженных частиц индуцирует многие радиационно-индуцированные эффекты, резко отличающиеся от наблюдаемых при облучении электромагнитными видами излучений. В значительной степени это обусловлено спецификой передачи энергии тяжелых заряженных частиц генетическим структурам клеток. В случае облучения γ -квантами поглощенная доза передается объему вещества случайно распределенными многочисленными актами передачи энергии малыми порциями. Та же доза облучения может быть передана равному объему вещества при прохождении через него всего лишь одной тяжелой заряженной частицы. Такой характер передачи энергии тяжелых ионов генетическим структурам обуславливает формирование качественно иных типов повреждений ДНК, нежели при действии электромагнитных видов ионизирующих излучений. Прежде всего это касается формирования наиболее тяжелых нарушений, какими являются двунитевые разрывы ДНК. Пересечение тяжелой заряженной частицей участка ДНК не только приводит к нарушению целостности двух комплементарных нитей ДНК, также при этом повреждаются и другие молекулярные структуры, прилегающих к данному сайту. Такие кластерные повреждения наиболее трудны для репарации восстановительными системами клеток. Они являются молекулярным субстратом клеточной гибели, образования различного рода мутаций хромосом, злокачественной трансформации. Очевидна необходимость тщательного исследования закономерностей и механизмов формирования и репарации такого рода повреждений. С этой целью в группе предприняты исследования индукции и репарации двунитевых разрывов ДНК в клетках человека при действии излучений с разными физическими характеристиками. Для этого были использованы эффективные современные методы, позволяющие проводить изучение формирования ДР ДНК в ядрах отдельных клеток: метод иммуноцитохимического

окрашивания клеток при помощи конъюгированных с разными флуоресцентными красителями антител, специфичных к белкам (метод ДНК-фокусов), и метод ДНК-комет.

Метод ДНК-фокусов, как известно, основан на важном свойстве определенных белков «узнавать» формирующиеся ДР ДНК в ядрах и участвовать в развитии репарационного процесса. Одним из начальных этапов формирования клеточного ответа на возникший ДР ДНК и активации систем репарации является фосфорилирование гистона H2AX. Фосфорилированный гистон H2AX, который называется γ H2AX, может быть определен вблизи ДР ДНК и служит сигналом для привлечения других белков в сайты возникновения ДР ДНК. События фосфорилирования гистона H2AX могут быть визуализированы как отдельные ядерные фокусы методом иммуноокрашивания. Принцип иммуноокрашивания основан на специфичном связывании антител с антигенами. Для каждого белка, или антигена, можно синтезировать специфичное только для него антитело (первичное антитело). Первичное антитело соединяется с исследуемым белком, после чего к первичному антителу присоединяется специфичное для него вторичное антитело. Вторичное антитело несет с собой флуоресцентную метку, которая позволяет визуализировать исследуемый белок. Помимо гистона γ H2AX использование данной методики позволяет визуализировать некоторые белки, участвующие в репарации ДР ДНК (такие как 53BP1). С использованием метода иммуноцитохимического окрашивания и конфокальной микроскопии международной группой радиобиологов (А. В. Борейко, Л. Иезкова, С. Козубек, М. Фальк, М. Г. Заднепрянец, Е. А. Круглякова) были получены трехмерные изображения ядер фибробластов человека, облученных γ -квантами ^{60}Co (ЛПЭ = 0,3 кЭВ/мкм) и ускоренными ионами ^{11}B (ЛПЭ = 135 кЭВ/мкм). Для исследования кинетики репарации повреждений ДНК при действии ионов ^{11}B облучение образцов проводилось фронтально относительно клеточного монослоя. Облучение образцов под малым углом (10°) направления пучка позволило проанализировать формирование и структуру кластерных повреждений ДНК вдоль трека прохождения частицы. Для количественной оценки индукции и репарации повреждений ДНК проводился подсчет колокализованных фокусов γ H2AX и 53BP1, являющихся маркерами двунитевых разрывов ДНК.

В этих экспериментах изучалась кинетика формирования и элиминации радиационно-индуцированных γ H2AX/53BP1-фокусов в ядрах фибробластов при действии γ -квантов ^{60}Co и ускоренных ионов ^{11}B . Продемонстрировано, что при действии ускоренных ионов ^{11}B в фибробластах человека формируется больше фокусов γ H2AX/53BP1, чем при действии γ -квантов ^{60}Co . Максимум выхода радиационно-индуцированных фокусов при γ -облучении достигается через 1 ч (~25 фокусов на клетку) после облучения, и через 4 ч большая часть фокусов (~80%) элиминируется. Наибольший выход фокусов γ H2AX/53BP1 при облучении ускоренными ионами ^{11}B наблюдается через 45 мин постра-

диационной инкубации (~72 фокуса на клетку). Через 24 ч после облучения в клетках, подвергшихся воздействию ускоренных ионов ^{11}B , количество радиационно-индуцированных фокусов значительно превышает это значение в клетках, облученных γ -квантами ^{60}Co , что свидетельствует о наличии более сложных повреждений, индуцированных ускоренными ионами. Различный характер формирования ДР ДНК при γ -облучении клеток и действии тяжелых заряженных частиц был проиллюстрирован при сопоставлении материалов после облучения γ -квантами Co^{60} и ускоренными ионами ^{11}B в дозе 1 Гр в плоскости, перпендикулярной направлению распространения пучка, и под углом 10° . В последнем случае было выявлено, что частица, проходя через ядро, формирует трек, состоящий из нескольких близко расположенных радиационно-индуцированных фокусов. Показано, что кластерные повреждения ДНК формируются вдоль трека прохождения частицы уже в первые минуты после облучения.

Различный характер индуцируемых ДР ДНК при действии излучений электромагнитной природы и тяжелых заряженных частиц, снижение репарационной способности клеток при действии тяжелых ионов отражается на характере проявления апоптотической гибели клеток (Е. В. Баранова, А. В. Борейко, И. И. Равначка, М. Г. Савельева, С. И. Стукова). Иницирующим сигналом в индукции апоптоза — программируемой клеточной гибели, как известно, являются двунитевые разрывы ДНК. Количественные и качественные различия в образовании ДР ДНК при действии ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками должны проявляться в реализации апоптотического ответа клеток. Действительно, в выполненных экспериментах по облучению лимфоцитов крови человека γ -квантами и ускоренными ионами кислорода и неона (ЛПЭ = 170 и 180 кэВ/мкм соответственно) это находит четкое отражение.

В группе радиационной цитогенетики лаборатории проводятся исследования по ряду направлений (Р. Д. Говорун, Е. М. Зайцева, О. В. Комова, И. В. Кошлань, Н. А. Кошлань, П. В. Куцало, Е. А. Насонова, Н. Л. Шмакова, Т. А. Фадеева). На терапевтическом протонном пучке с энергией 170 МэВ с применением цитогенетических методов оценена эффективность воздействия этого вида излучения на клетки человека. В качестве модели использованы лимфоциты периферической крови человека. Образцы цельной крови (клетки в G_0 -фазе) и культуру стимулированных к делению лимфоцитов в сроки, соответствующие прохождению ими разных фаз клеточного цикла, подвергали облучению в двух точках глубинного дозового распределения — на входе пучка в объект (ЛПЭ ~ 0,5 кэВ/мкм) и в области модифицированного пика Брэгга ($E \sim 0\text{--}30$ МэВ, ЛПЭ-спектр до ~ 100 кэВ/мкм). Было установлено, что по критерию частоты образования аберрантных клеток и общего числа аберраций хромосом при облучении в G_0 -фазе клеточного цикла величина ОБЭ протонов в области пика Брэгга составляет ~ 1,2. Определена

наибольшая радиочувствительность лимфоцитов, облученных в G_2 -фазе клеточного цикла протонами в области пика Брэгга, по различным показателям: наиболее продолжительная задержка деления (до 10 ч), высокая частота образования клеток с хромосомными нарушениями и наибольшее общее число aberrаций хромосом, резкое увеличение фрагментоза хромосом (до 85 % от общего числа aberrаций), высокая частота образования клеток со множественными хромосомными aberrациями. Установлены выраженные изменения в соотношениях хромосомных aberrаций разных типов при облучении лимфоцитов в G_0 - и G_2 -фазах клеточного цикла протонами в области пика Брэгга: высокий уровень aberrаций хромосомного типа с преобладанием обменных aberrаций сменяется преимущественным выходом aberrаций хроматидного типа с преобладанием фрагментов. Получены коэффициенты эффективности облучения протонами в области пика Брэгга. С учетом вклада в эффект наиболее радиочувствительной фракции лимфоцитов (облученных в G_2 -фазе клеточного цикла) по сравнению с неделящимися лимфоцитами коэффициенты эффективности протонов с энергией 170 МэВ составляют в среднем $\sim 1,45$.

Выполнен цикл работ по исследованию индивидуальной радиочувствительности хромосомного аппарата клеток человека и биологической дозиметрии. Проведена серия экспериментов по исследованию индивидуальных отклонений распределения повреждений генетических структур в хромосомах 2, 8, 14 (лимфоциты периферической крови человека) в зависимости от ЛПЭ излучений. Использовались ускоренные ионы ^{11}B , ^{17}Li и ^{20}Ne . Результаты экспериментов показывают, что междонорные отличия могут быть причиной ошибки в биодозиметрии при определении полученной дозы облучения. Более того, отношение между выходом центральных колец и дицентриков в хромосоме 2 может являться реперной величиной для оценки дозы облучения при высоких ЛПЭ.

В ходе исследования выявлены существенные различия в радиочувствительности образцов донорской крови, облученных в G_0 - и G_2 -фазах клеточного цикла. В целом результаты показывают более высокую вариабельность между образцами крови доноров по частоте хромосомных aberrаций для ускоренных заряженных частиц, чем для γ -квантов. Были замечены отличия относительно уровня радиочувствительности донора при анализе обычным метафазным методом и преждевременной конденсацией хроматина (РСС). Установлено, что радиочувствительность к излучениям с высокой ЛПЭ индивидуальна для каждого донора.

Фингерпринт-оценка частот F (отношение дицентриков к кольцам) и C (отношение комплексных aberrаций к простым aberrациям) выявила различие между донорами по данным показателям при использовании различных методов цитогенетического анализа. Обнаружена дозовая зависимость фактора F для γ -излучения; в то же время для заряженных частиц не наблюдается его

зависимости от дозы и времени фиксации. При анализе методом PCC+FISH была показана четкая корреляция факторов F и C с ЛПЭ. Установлено, что между донорами выше вариабельность фактора C, чем фактора F. Эти результаты хорошо объясняют различия в данных, полученных в других лабораториях мира, и подтверждают важность анализа методом PCC+FISH при оценке качества излучения для биологической дозиметрии.

В группе были продолжены исследования биологических эффектов малых доз ионизирующей радиации (О. В. Комова, П. В. Куцало, Е. А. Насонова, Н. Л. Шмакова, Т. А. Фадеева). Ранее было показано, что при дозах свыше 30 сГр выход повреждений линейно зависит от дозы, что находится в полном соответствии с общепринятой концепцией. В области меньших доз эта зависимость имеет нелинейный характер. На начальном участке дозовой кривой выявлена аномально высокая радиочувствительность клеток (выход повреждений на единицу дозы), после которого следует участок повышенной радиорезистентности, где выход хромосомных aberrаций имеет фактически обратную зависимость от дозы. Максимальный эффект превышает контрольный уровень в 2–3 раза и достигается при дозах ~5–7 сГр (пик гиперчувствительности). При дальнейшем увеличении дозы до ~10–15 сГр частота хромосомных aberrаций резко снижается — в некоторых случаях практически до контрольного уровня. Аналогичные результаты были получены при облучении лимфоцитов крови человека ионами углерода, где отчетливый пик гиперчувствительности наблюдался при дозах ~5 сГр.

Следует отметить, что в лимфоцитах некоторых доноров гиперчувствительность/повышенная резистентность на начальном участке дозовой зависимости выхода хромосомных aberrаций не наблюдалась, что позволяет рассматривать данный феномен как индивидуальную особенность некоторых доноров. На лимфоцитах было также установлено, что независимо от качества используемого излучения в области гиперчувствительности основным типом повреждений хромосом являются aberrации хроматидного типа.

Согласно представлениям классической радиобиологии aberrации хроматидного типа не индуцируются радиацией в нестимулированных лимфоцитах. В то же время они вносят основной вклад в спонтанный мутагенез, который, как известно, обусловлен действием эндогенных активных форм кислорода (АФК). Основным источником АФК в клетке являются митохондрии, в дыхательной цепи которых в процессе нормального метаболизма 2–3 % кислорода конвертируется в супероксид анион. В результате его взаимодействия с рядом клеточных субстратов образуется целый спектр вторичных активных радикалов, среди которых наибольшую опасность для клетки представляют гидроксил радикал и перекись водорода. Эти обстоятельства были положены в основу гипотезы о механизмах действия малых доз радиации. Главные ее положения следующие: а) наблюдаемая на начальном участке дозовой кривой гиперчувствительность обусловлена возрастанием выхода

оксиповреждений в ДНК клетки в результате радиационно-индуцированной амплификации АФК в клеточных митохондриях; б) повышенная радиорезистентность, проявляющаяся у клеток при дальнейшем увеличении дозы, является следствием активации цитопротекторных механизмов, направленных на подавление окислительного стресса. В качестве такого механизма рассматривался каскад реакций, приводящий к активации сигнал-регулируемой протеинкиназы ERK, который запускается в ответ на возрастание выхода митохондриальных АФК и действие радиации и вызывает увеличение пролиферации клеток.

Для проверки данной гипотезы были использованы различные модификаторы, воздействующие на АФК, митохондриальную дыхательную цепь и ERK. Изменение формы дозовой кривой выхода аберрантных клеток в присутствии этих модификаторов позволило провести оценку вклада вышеперечисленных процессов в явления гиперчувствительности и повышенной радиорезистентности в диапазоне малых доз ионизирующей радиации.

На клетках карциномы молочной железы человека было показано, что вещества, воздействующие на АФК, а именно, DMSO-перехватчик свободных радикалов, циклоспорин А (CsA) — блокатор генерирования АФК митохондриями — и SB203580-ингибитор р38 MAP-киназы, блокирующий пролонгированную генерацию АФК НАДФ-оксидазой, устраняют гиперчувствительность. В то же время антимицин — ингибитор электронного транспорта в митохондриях, широко используемый в качестве генератора АФК в биологических системах, — вызывал еще более резкое увеличение выхода хромосомных аберраций в области малых доз. Для выяснения защитной роли ERK были использованы два ингибитора, подавляющие ее активность: PD98059 и U125. Как и ожидалось, ингибирование ERK предотвращает увеличение радиорезистентности. При дозах 7–8 сГр, соответствующих максимальной радиорезистентности у необработанных клеток, процент аберрантных клеток возрастает в 1,5–2 раза. Все эти факты свидетельствуют о том, что активация данного белка является необходимым фактором для защиты клетки, когда конститутивные цитопротекторные системы не справляются с возросшим числом оксидативных повреждений, наблюдаемых в области гиперчувствительности.

В целом эксперименты с использованием различных модификаторов, влияющих на выход эндогенных АФК, показали, что эти соединения, обладающие высоким мутагенным потенциалом, вносят существенный вклад в индукцию хромосомных повреждений в клетках карциномы молочной железы в области малых доз. Этот факт позволяет предполагать, что радиационно-индуцированный окислительный стресс и, как следствие, нарушение клеточного гомеостаза в целом могут в значительной степени влиять на судьбу облученной клетки.

Вторым направлением в изучении биологических эффектов в области малых доз ионизирующей радиации явились исследования закономерностей

радиоадаптивного ответа, индуцируемого в лимфоцитах крови человека различными дозами γ -излучения (от 2 до 15 сГр). Как известно, адаптивный ответ является одним из специфических эффектов малых доз радиации и заключается в их способности повышать устойчивость клеток и организма к последующему воздействию большими дозами излучения. Адаптивный ответ зависит от многих факторов, таких как величина первичной и основной доз, мощность дозы, стадия клеточного цикла в момент облучения и время между предоблучением и облучением последующей большой дозой. Все эти факторы накладывают весьма существенные ограничения на проявление адаптивного ответа. Кроме того, в повторных экспериментах на тех же самых биологических объектах в идентичных экспериментальных условиях предоблучение малой дозой во многих случаях приводило к противоположным эффектам: от ярко выраженного адаптивного ответа до увеличения эффекта, вызванного облучением большой дозой. Все это ставит под сомнение универсальность данного феномена. Целью исследования было установить, какова воспроизводимость радиоадаптивного ответа и существуют ли оптимальные адаптирующие дозы для каждого конкретного индивидуума, которые, как предполагалось, могут зависеть от индивидуальной радиочувствительности организма в различных диапазонах малых доз. Исследование адаптивного ответа проводили на G_0 -лимфоцитах трех доноров в широком диапазоне адаптирующих доз γ -излучения. Предварительное облучение дозой 1 Гр осуществляли в G_2 -фазе клеточного цикла. В качестве критерия использовался показатель выхода аберрантных лимфоцитов, регистрируемых метафазным методом. В общей сложности было проведено три эксперимента с интервалами в полгода.

Исследование подтвердило высокую степень вариабельности в проявлении данного феномена как между отдельными донорами, так и у одного донора при повторных исследованиях. Было показано, что фактор индивидуальной радиочувствительности не влияет на способность к адаптации при облучении клеток малыми дозами. Более того, оказалось невозможным установить оптимальные для каждого конкретного индивидуума дозы, предварительное облучение которыми оказывало бы радиозащитное действие в каждом из проведенных экспериментов. Очевидно, что существует некий стохастический фактор, влияющий на проявление радиоадаптивного ответа. Его природу трудно установить, поскольку механизм этого феномена неизвестен. Таким образом, крайняя нестабильность адаптивного ответа не позволяет считать его универсальным явлением, которое могло бы быть использовано в клинической практике или учитываться в оценке радиационных рисков.

В группе радиационной цитогенетики продолжены широкомасштабные исследования мутагенного действия ионизирующих излучений разного качества на клетки млекопитающих и проблемы геномной нестабильности (П. Блаха, Р. Д. Говорун, И. В. Кошлань, Н. А. Кошлань). На клетках китайского хомячка при облучении протонами (ЛПЭ 0,22 кэВ/мкм) и ускоренными

ионами ^{11}B , ^{14}N , ^{18}O , ^{20}Ne (диапазон ЛПЭ от 50 до 153 кэВ/мкм) исследованы закономерности формирования HPRT-мутаций. Обнаружено, что проявление мутаций зависит от сроков высева облученных клеток в селективную питательную среду с 6-тиогуанином («времени экспрессии» мутаций) и от ЛПЭ излучений. Частота спонтанного и радиационно-индуцированного мутагенеза при «времени экспрессии» 4 сут составила около $1,2 \cdot 10^{-5}$. При более продолжительном периоде экспрессии отмечено увеличение уровня мутагенеза в ~ 3 раза до максимального значения. Положение этого максимума зависело от ЛПЭ ускоренных ионов. С увеличением ЛПЭ значение максимума смещается в сторону более продолжительного периода экспрессии. Так, максимальный уровень мутагенеза наблюдался через 11 сут после облучения ионами кислорода ^{18}O (ЛПЭ ~ 116 кэВ/мкм) и через 23 сут после облучения ионами неона ^{20}Ne (ЛПЭ ~ 153 кэВ/мкм). Эти сроки соответствуют примерно 40–50 генерациям клеток (один цикл деления клеток китайского хомячка составляет 11–12 ч). В дальнейшем частота радиационно-индуцированных мутантов снижалась до уровня спонтанного мутагенеза при посеве через 30–45 сут. На основании ранее проведенных исследований можно предположить, что повышение уровня радиационно-индуцированного мутагенеза определяется возросшей хромосомной нестабильностью популяции облученных клеток, и его проявление при разных «временах экспрессии» зависит от тяжести первоначальных повреждений.

При выявлении и селекции мутантных субклонов отмечено появление мутантов с замедленным ростом по сравнению с интактным контролем. Замедление роста многих мутантных субклонов в селективной среде с 6-тиогуанином могло определяться возникновением мутаций, приводящих к снижению активности HPRT-фермента или синтезу меньшего его количества. В этих случаях жизнеспособность мутантной популяции могла обеспечиваться только за счет клеток, не успевающих в течение клеточного цикла утилизировать пуриновый аналог. Также обнаружены нестандартные типы роста мутантных субклонов, выделенных из клеток китайского хомячка, облученных ускоренными ионами ^{18}O (ЛПЭ ~ 130 кэВ/мкм) в дозах 0,5, 1 и 2 Гр. В одинаковых условиях роста некоторые мутанты демонстрируют необычные морфологические признаки по сравнению с контрольной популяцией клеток — ажурный, цепочечный и звездчатый характер роста. Зафиксировано появление колоний до достижения монослоя клеток мутантных субклонов. Данные признаки могут свидетельствовать об инициации процесса злокачественной трансформации клеток.

В группе радиационной генетики низших эукариот на культурах одноклеточных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* продолжают исследования закономерностей индукции мутаций различной молекулярной природы при действии разных типов излучений (Н. А. Колтовая). Эти работы ведутся с использованием нескольких генетических систем, позволяющих тестировать

определенные типы повреждений генетических структур. Для тестирования замен пар оснований используются две генетические системы, основанные на замене нуклеотида в кодонах критической аминокислоты в гене *CYC1* — цистеина Cys22 (CAA TGC CAC) и глутаминовой кислоты Glu50 (ATC GAA TTG), позволяющие тестировать все типы транзиций и трансверсий. Генетические системы сконструированы таким образом, что реверсии могут возникать только за счет истинных обратных мутаций. К недостаткам системы *CYC1* относится нарушение дыхания, которое само по себе может оказывать влияние на мутагенез. Кроме того, на частоту ревертирования могут влиять близлежащие нуклеотидные последовательности. В связи с этим начаты работы с другой тестерной системой: *TRP5*. Мутации в этом гене не нарушают дыхание, что позволяет отбирать ревертанты на фоне активного дыхания, и окружение критического кодона гена *TRP5* отличается от нуклеотидной последовательности критического кодона гена *CYC1*. Таким образом, данные, полученные с использованием второй тестерной системы, позволяют обобщить закономерности индукции замен пар оснований под действием излучения.

Были получены кривые выживаемости под действием УФ-света для всех гаплоидных (*YMH1-7*) и диплоидных (*YMH51-57*) штаммов тестерной системы *CYC1*. Кривые выживаемости гаплоидных и диплоидных штаммов имеют сигмоидную форму. Для диплоидного штамма *YMH53* получены кривые мутагенеза под действием УФ-света; они имеют линейно-квадратичный характер. При выживаемости порядка 1 % частота трансверсий АТ-ТА возрастает в 18 раз и составляет 10^{-8} . Для шести штаммов тестерной системы *TRP5* также получены кривые выживаемости и мутагенеза под действием УФ-света. Штаммы не отличаются по выживаемости и имеют типичную форму кривых выживания. У гаплоидных штаммов генетической системы *CYC1* не удалось индуцировать мутации УФ-светом, а в тестерной системе *TRP5* мутации эффективно индуцировались, причем в спектре преобладали транзиции GC-AT и AT-GC.

Для штаммов тестерной системы *CYC1* получены кривые выживания и мутагенеза под действием γ -излучения. Кривые выживания гаплоидных штаммов имеют экспоненциальную форму, а у диплоидных штаммов — сигмоидную. Наблюдаются линейная (для гаплоидов) и степенная (для диплоидов) зависимости индукции мутаций от дозы облучения. γ -излучение эффективно индуцирует все типы замен пар оснований; при выживаемости $\sim 1\%$ максимальная частота мутаций составляла 10^{-6} . У гаплоидных штаммов наиболее эффективно индуцировались трансверсии GC-CG и транзиции GC-AT, а у диплоидных штаммов — транзиции GC-AT и трансверсии GC-TA. В настоящее время проводится изучение индукции замен пар оснований под действием γ -излучения на второй тестерной системе *TRP5*.

Для изучения закономерностей индукции мутаций типа сдвига рамки считывания используются две генетические тестерные системы, в которых

штаммы, несущие мутации сдвига рамки считывания *lys2-Bgl* и *hom3-10* в генах *LYS2* и *НОМ3* соответственно, ревертировали в результате выпадения одного или двух нуклеотидов в треках 5А или 4С у мутанта *lys2-Bgl* и 7Т у мутанта *hom3-10*.

Для тестирования индукции протяженных делеций размером несколько тысяч нуклеотидных пар используется плазмидная система, позволяющая генетическими методами определять выпадение фрагментов ДНК, содержащих несколько генов. В шатл-вектор с регуляторными элементами поддержания плазмиды в бактериальных и дрожжевых клетках были встроены пять генов. Большой размер плазмиды и ее нуклеосомная структура позволяют экстраполировать полученные данные на ДНК хромосомного типа. Размер и локализацию делеции определяли с помощью электрофоретического и рестрикционного анализа плазмидной ДНК.

Эксперименты показали, что делеции индуцируются УФ-светом. Наблюдается экспоненциальная зависимость частоты делеционных мутантов от дозы облучения, причем доля более протяженных делеций возрастает с увеличением дозы. γ -излучение также индуцирует делеционные мутанты, наблюдается нелинейная зависимость частоты мутаций от дозы облучения. При дозе облучения 100 Гр частота составляет 10^{-5} .

В группе проводится изучение влияния генотипа на закономерности индукции делеций. Показано, что у мутанта *rad53* УФ-свет и γ -излучение индуцируют делеции, причем наблюдается степенная зависимость от дозы облучения. Мутация *rad53* в *checkpoint*-гене приводит к снижению частоты индукции делеционных мутаций; таким образом, продемонстрировано участие гена *RAD53* в репарации двунитевых разрывов путем воссоединения концов двунитевого разрыва ДНК.

В секторе фоторадиобиологии были продолжены начатые в ОРРИ исследования радиационных повреждений в структурах глаза млекопитающих (хрусталике и сетчатке). Хрусталик глаза является одним из весьма радиочувствительных органов. Еще в конце XIX в. стало известно, что воздействие радиации (рентгеновское излучение) приводит к его помутнению, т.е. возникновению катаракты. Международной комиссией по радиологической защите приняты пороговые дозы в 2 и 5 Гр для возникновения катаракты при однократном и дробном воздействии радиации на человека. Вместе с тем анализ эпидемиологических данных, собранных в последние годы, позволяет утверждать, что указанные пороговые дозы завышены по крайней мере в 5–10 раз. Поэтому в развитых европейских странах и США активизируются исследования, посвященные изучению как механизмов формирования радиационной катаракты, так и эпидемиологии этого заболевания среди тех групп населения, которые по существующим понятиям не должны входить в группу риска.

50 лет исследования космоса человеком показали, что одним из последствий космических полетов является заболевание космонавтов катарактой. Особую актуальность эта проблема принимает в связи с планами длительных пилотируемых полетов вне магнитосферы Земли. Основная причина — воздействие космических лучей на организм. Космические лучи представляют собой смесь излучений; при этом в условиях космического полета защита от их главного компонента — высокоэнергетических тяжелых заряженных частиц — практически невозможна. Поэтому важным прикладным аспектом проблемы радиационной катаракты является исследование механизма возникновения катаракты под действием такого излучения.

В секторе фоторадиобиологии были продолжены исследования механизмов формирования радиационной катаракты (К. О. Муранов, М. А. Островский). Установлено, что, так же как и при старческой катаракте, при облучении структура слоя эпителия изменяется: в нем появляются пустоты и дефектные клетки, истончается капсула, и в ткани органа возрастает концентрация кислорода. Нарушается морфогенез волоконных клеток, в сформированных клетках остаются ядра, митохондрии и другие клеточные органеллы, которые в норме должны быть элиминированы. Увеличение концентрации кислорода и функционирование митохондрий вызывают усиление образования активных форм кислорода, окислительное повреждение белка и его агрегацию. Обнаружено полное совпадение в хрусталике зон с увеличенной концентрацией активных форм кислорода, агрегатов белка и собственно помутнений. Воздействие радиации вызывает дополнительную «поломку» ядерного аппарата эпителиальных клеток, т. е. еще большее нарушение процесса морфогенеза волоконных клеток. Действие радиации суммируется с естественным процессом старения хрусталика. Облучение возрастающими дозами радиации вызывает пропорциональное уменьшение лаг-периода появления в кортексе хрусталика дефектных волоконных клеток и возникновения катаракты. Проведение этого исследования позволило прийти к принципиальному выводу: понятие пороговой дозы радиации неприменимо для индукции катаракты. Воздействие ионизирующего излучения лишь приближает момент времени, при котором начинает формироваться катаракта.

Среди мишеней высокоэнергетических тяжелых заряженных частиц в хрусталике можно выделить две основные: молекулы белка и молекулы ДНК.

Известно, что для повреждения белка ионизирующим излучением требуются довольно большие дозы радиации. Однако специфическая организация хрусталика, а именно отсутствие обмена белков, может приводить к накоплению повреждений в течение длительного времени, а впоследствии и к денатурации белковой молекулы. Более того, образование в молекуле скрытых внутренних повреждений может снизить ее устойчивость к действию других повреждающих факторов, например ультрафиолета. Поэтому был проведен

цикл исследований по изучению воздействия различных видов излучения на устойчивость β_L -кристаллина.

Основным методом исследования являлось изучение кинетики процесса агрегации этого белка, т. е. кинетики помутнения раствора белка при воздействии денатурирующих белок факторов. Было показано, что воздействие ультрафиолетового излучения на раствор β_L -кристаллина вызывает денатурацию белка по одноударному механизму; при этом кинетика процесса агрегации описывается в рамках кластер-кластерного взаимодействия. Следовательно, сначала молекула накапливает внутренние повреждения, которые никак не отражаются на ее свойствах, но по достижении некоторой дозы происходит одномоментная денатурация. Денатурированные молекулы сначала образуют первичные кластеры размером около 20 нм, которые затем слипаются друг с другом с образованием крупных, рассеивающих свет агрегатов. Было исследовано воздействие следующих видов ионизирующего излучения: γ -лучи, ядра водорода, дейтерия, He, ^{12}C , ^7Li и ^{11}B . Самыми активными среди них оказались ядра лития и бора, т. е. виды излучения с наибольшим значением ЛПЭ. Однако дозы, при которых наблюдали эффект снижения устойчивости белковой молекулы, были достаточно велики и составляли для этих ядер 16 Гр. Очевидно, что такие дозы физиологического значения не имеют, поскольку смертельная доза радиации для человека равняется 10 Гр. Полученные данные позволили сделать вывод о том, что главной мишенью для радиации в хрусталике является ДНК эпителиальных клеток.

На следующем этапе объектом исследования стал хрусталик в условиях *in vivo*, так как именно в динамике роста хрусталика в течение жизни можно отследить последствия радиоактивного повреждения ДНК. Возникновение катаракты в условиях естественной среды обитания является результатом воздействия на организм многих катарактогенных факторов, в частности, ультрафиолета, неправильного питания, курения и т. д. Поэтому в последующем было изучено комплексное воздействие основных катарактогенных факторов — ионизирующей радиации, ультрафиолета и возраста — на формирование катаракты. В сотрудничестве с Институтом глазных болезней РАМН и Институтом биохимической физики РАН им. Н. М. Эмануэля было показано, что в основе образования катаракт различного генеза (старческой, ультрафиолетовой, диабетической и т. д.), по всей видимости, лежит единый механизм. При этом воздействие различных повреждающих факторов на хрусталик, в частности радиации, выражается лишь в ускорении естественного процесса образования возрастной катаракты (К. О. Муранов, М. А. Островский).

В радиобиологических экспериментах на сетчатке в лаборатории применяются молекулярно-биологические, морфологические и электрофизиологические методы исследования. Сетчатку как «часть мозга, помещенную в глаз» правомерно рассматривать в качестве модели и объекта для изучения действия радиации на центральную нервную систему. Изучение механизмов действия

различных видов ионизирующего излучения на сетчатку глаза принципиально важно как для оценки рисков постлучевых осложнений, возникающих при лучевой терапии глаза и мозга, так и вполне реальной опасности, возникающей в ходе длительных космических полетов. В последнем случае речь идет об опасности повреждающего действия тяжелых заряженных частиц галактического происхождения вне магнитосферы Земли. При этом клинически значимые проявления повреждающего эффекта на сетчатку могут возникнуть не сразу, а спустя месяцы и даже годы.

Наряду с изучением механизмов формирования радиационной катаракты в секторе ведутся исследования радиационно-индуцированных эффектов в сетчатке экспериментальных животных (Ю. В. Виноградова, В. А. Тронов). Проведены эксперименты по исследованию связи повреждения и репарации ДНК с дегенеративными изменениями в сетчатке после воздействия на мышью ионизирующей радиации (γ - и протонного излучений) и генотоксического агента метилнитрозомочевины (МНМ). γ -излучение вызывает главным образом одонитевые разрывы ДНК, равномерно распределенные по всему геному. Протоны же более эффективны в индукции двунитевых разрывов, локализующихся в области трека частицы. Двунитевые разрывы являются летальным повреждением из-за их высокой эффективности в индукции апоптоза в делящихся клетках. Метилирующий агент МНМ вызывает в ДНК безразрывные дефекты — метилированные основания, апуриновые и апиридиновые (АП) сайты. В середине 1990-х гг. группой японских исследователей обнаружена способность МНМ индуцировать апоптоз фоторецепторов в сетчатке после однократного внутрибрюшинного введения животным в дозе > 60 мг/кг. В работе использовали МНМ как позитивный контроль на апоптоз в сетчатке. Таким образом, три используемых агента охватывают основные типы повреждений ДНК и механизмы их репарации. Полученные результаты подтверждают тезис о высокой радиоустойчивости зрелой сетчатки мышей. Наблюдается полная репарация ДНК после действия γ - и протонного излучений в дозе 14 Гр. Увеличенная экспрессия в белках сетчатки, ассоциированных с клеточной гибелью (апоптозом), нормализуется спустя 12 ч после облучения. К этому времени завершается репарация индуцированных излучениями разрывов в ДНК. Это говорит о том, что в сетчатке эти белки не индуцируют апоптоз, а, скорее всего, способствуют репарации ДНК и восстановлению поврежденных клеток.

Увеличение дозы воздействия до 25 Гр вызывало заметные морфологические изменения в фоторецепторном слое сетчатки. Эти изменения выражаются в деградации наружных сегментов фоторецепторов, а также в снижении плотности и толщины их ядерного слоя. Деградация нарастает во времени и связана с гибелью фоторецепторов, протекающей по механизму апоптоза. На апоптоз указывает возросшая экспрессия проапоптотических белков. Таким образом, сравнительно высокая радиоустойчивость сетчатки

и активный механизм пострадиационной репарации, удаляющий разрывы ДНК, индуцированные излучениями, указывают на существование генотоксического порога, который обуславливает нелинейный характер зависимости эффекта от дозы облучения.

В генотоксическом действии МНМ также обнаружено проявление дозового порога. Исследование его связи с генотоксическим действием МНМ обнаружило две ранее не описанные особенности сетчатки. Во-первых, это высокая спонтанная поврежденность ДНК в сетчатке мышей. По этому показателю органы мыши располагаются в порядке возрастания поврежденности ДНК: лимфоциты < печень < мозг \ll сетчатка, который совпадает со степенью оксигенации этих тканей.

Вторая обнаруженная особенность сетчатки — активная репарация, удаляющая большую часть повреждений ДНК, индуцированных облучением и МНМ, но не затрагивающая предсуществующие спонтанные повреждения ДНК.

Таким образом, подтверждено наличие генотоксического порога для излучений и метилирующего агента на дифференцированных клетках сетчатки. Результаты также показывают, что, как и для делящихся клеток, одной из причин толерантности постмитотических клеток сетчатки к повреждениям ДНК является репарация. Вторая причина их толерантности — уменьшение физического размера радиочувствительной мишени до размеров транскрибируемого локуса генома. Можно предполагать, что решающая роль в трансформации изначально пермиссивных повреждений ДНК (разрывов после облучения и модифицированных оснований и АП сайтов после действия МНМ) в цитотоксические принадлежит локализованным в транскрибируемых сайтах молекулам топоизомеразы 2.

В последнее время в исследованиях, ведущихся сектором фоторадиобиологии, использовалась электроретинография (ЭРГ) как интегральный физиологический показатель функциональной целостности сетчатки. Регистрация электроретинограммы, индуцируемая вспышками белого света с разной интенсивностью, позволяет получить полную картину функциональной активности сетчатки у мышей при жизни. Оказалось, что профиль ЭРГ более чувствителен к генотоксическому действию, чем морфологические и клеточные показатели. С помощью этого подхода обнаружена способность сетчатки к адаптивному ответу и к восстановлению по показателю функциональной активности. В настоящее время в секторе исследуется возможный вклад в восстановление сетчатки со стороны глиальных клеток Мюллера. Эти клетки являются немногочисленной популяцией ретинальных клеток, сохраняющих способность в ответ на травмирующий стресс увеличивать свою пролиферацию, мигрировать в слои внешней сетчатки, дифференцироваться в фоторецепторы и продуцировать эндогенные нейропротекторы, защищающие фоторецепторы сетчатки.

В **группе математического моделирования** лаборатории продолжают начатые ранее работы по математическому моделированию радиационно-индуцированных эффектов в клетках различных организмов. Как уже указывалось выше, первоначально целью данных исследований была разработка математических моделей, описывающих молекулярные механизмы индуцированного мутационного процесса в относительно простых биологических объектах, которыми являются клетки бактерий. На основе известных экспериментальных данных впервые разработана модель, описывающая индуцированный мутационный процесс посредством детального математического моделирования ключевых белковых взаимодействий в ходе специфического ответа (SOS-ответа) бактериальных клеток *E. coli* на действие ультрафиолетового излучения. Схема модели отвечает современным представлениям о SOS-регуляции (О. В. Белов, Е. А. Красавин, А. Ю. Пархоменко). Впервые рассчитана динамика концентрации всех комплексов, образуемых белками UmuD и UmuC, в частности, ДНК полимеразы V, осуществляющей translesion-синтез (TLS). С помощью модели показано, что величина и временное положение максимумов и минимумов концентрации белков зависят от флюенса энергии ультрафиолетового излучения. В ходе этих исследований впервые установлена связь между молекулярными механизмами бактериальной системы SOS-ответа, эффективностью реализации TLS и выходом генных мутаций. Показано, что возрастание концентрации ДНК полимеразы V ведет к увеличению количества ошибок, возникающих в ходе TLS. На примере регуляторного *lacI*-гена *E. coli* произведен расчет зависимости частоты образования мутаций $lacI^-$ в зависимости от флюенса энергии излучения и выявлено совпадение результатов моделирования с экспериментальными данными.

Для учета стохастической природы биохимических взаимодействий разработана модель SOS-ответа, основанная на использовании алгоритма Гиллеспи, получившего широкое распространение при моделировании сложных биологических систем (О. В. Белов). Преимуществом этого подхода является более корректное описание кинетики белковых взаимодействий на уровне отдельной клетки при малых флюенсах энергии (менее 1 Дж/м^2). Показано, что на уровне отдельной клетки временная динамика концентрации индуцирующего сигнала имеет один и более максимумов в зависимости от флюенса энергии УФ. Данные результаты согласуются с современными прецизионными измерениями отклика отдельных клеток на УФ-повреждения.

Последующие работы были посвящены детальному математическому моделированию репарационных систем, оказывающих влияния на индуцированный мутагенез. С целью дальнейшей конкретизации молекулярных механизмов закрепления премутационных повреждений в мутации проводилось моделирование SOS-ответа в бактериальных клетках *E. coli* с нарушением нормальной функции translesion-синтеза. Смоделировано динамическое

изменение концентраций ключевых белков SOS-системы для *recA*-, *umuD*- и *umuC*-мутантов *E. coli*.

На основании стохастического подхода разработана модель, описывающая ключевые процессы эксцизионной репарации поврежденных оснований (ЭРО) в клетках *E. coli* (О. В. Белов, М. А. Капралов). Смоделирован механизм удаления модификаций вида 8-оксогуанин с участием формамидопиримидин-ДНК-гликозилазы (белка Fpg), обладающей несколькими видами активности. Предложенная модель включила в себя описание таких процессов репарации, как трансформация модифицированных оснований в АП-сайты, β - и δ -элиминация, вырезание 5'-дезоксирибозофосфатного остатка, активность ДНК-полимеразы I и ДНК-лигазы. Такая модель позволила предсказать кинетику ключевых ферментов и промежуточных состояний ДНК в ходе эксцизионной репарации. Результаты моделирования согласуются с экспериментальными данными *in vitro*, характеризующими начальные этапы репарационного процесса с участием формамидопиримидин-ДНК-гликозилазы. Было предсказано динамическое изменение концентрации белка Fpg, ДНК-полимеразы I, ДНК-лигазы и метастабильных состояний в ходе репарации. Выявлена зависимость скорости некоторых этапов работы системы от начальной концентрации 8-оксогуанина. В ходе исследования продемонстрирован частный случай применения разработанной модели к репарации повреждений вида 8-оксогуанин с участием бифункциональной Fpg-гликозилазы. Показано, что построенная модель может быть применена к описанию эксцизионной репарации оснований *E. coli* в общем виде с участием других ДНК-гликозилаз, в том числе и монофункциональных, когда часть активностей, характерных для белка Fpg, осуществляют дополнительные ферменты.

Разработана математическая модель (А. Н. Бугай, Е. А. Красавин, А. Ю. Пархоменко, М. А. Васильева) регуляции SOS-ответа в бактериальных клетках с различными дефектами в системе эксцизионной репарации нуклеотидов (ЭРН). В ходе исследования улучшена первоначальная модель SOS-ответа, причем была разработана детальная кинетическая модель репликации ДНК, применимая к клеткам как прокариот, так и эукариот. Детально смоделирована работа системы ЭРН, проведено количественное описание всех этапов распознавания и удаления УФ-повреждений компонентами эксинуклеазы UvrA, UvrB, UvrC и хеликазой UvrD. Как и в предыдущих работах, моделировалась вся цепочка процессов, происходящих во время работы системы SOS-ответа, начиная с воздействия повреждающего фактора до реализации translesion-синтеза и возникновения мутации в цепи ДНК. Впервые произведен теоретический расчет концентраций всех белков, задействованных в системе ЭРН, а также частоты индуцированных мутаций в клетках дикого типа и в клетках, дефектных по *uvrA*- и *polA*-генам, в зависимости от времени и флюенса энергии УФ. Выявлено отличное согласие расчетов с совокупностью имеющихся экспериментальных данных. Впервые проведено сравнение относительной

эффективности двух пострепликативных систем репарации: гомологичной рекомбинации и TLS. Оказывается, что TLS может быть не более чем в четыре раза эффективнее рекомбинации при восстановлении онДНК. Причем данный результат справедлив как для клеток дикого типа, так и для *uvrA*-мутантных клеток, в которых уровень вторичных повреждений ДНК весьма высок. Модель также предсказывает эффект временной модуляции уровня онДНК как в клетках дикого типа, так и в *uvrA*- и *rolA*-мутантах, что можно связать со взаимным переключением между безошибочной и ошибочной репарациями ДНК.

Проводились также работы по математическому моделированию репарационного процесса при действии ускоренных тяжелых ионов. Была выполнена оценка индуцирующего сигнала SOS-системы *E. coli* при действии ускоренных тяжелых ионов разных видов. Количественно описан процесс образования основных премутационных повреждений ДНК: повреждений оснований, одностранных и двустранных разрывов, кластерных повреждений. В использованной модели ДНК рассматривалась в виде линейной мишени, случайным образом ориентированной относительно трека заряженной частицы. В модели учтен характер радиального распределения энергии в треках частиц, что весьма важно для оценки роли δ -электронов в повреждении ДНК. Проведенные расчеты подтвердили, что характер зависимости выхода повреждений оснований от линейной передачи энергии аналогичен зависимости, полученной для одностранных разрывов. При этом выход повреждений оснований оказался в четыре раза выше выхода одностранных разрывов во всем рассчитанном диапазоне линейных передач энергии, что связано с эффективным увеличением толщины линейной мишени ДНК. Зависимость выхода двустранных разрывов ДНК и кластерных повреждений от ЛПЭ описывается кривой с максимумом, после достижения которого дальнейшее увеличение ЛПЭ становится неэффективным.

Проведено сравнение результатов расчетов, описывающих общий выход кластерных повреждений (независимо от их типа), с экспериментальными данными, характеризующими величину SOS induction potency (SOSIP), оцененную с помощью метода SOS-хромотеста. Выявлено совпадение результатов расчетов с экспериментальными данными. Наряду с этим были выполнены модельные расчеты, описывающие работу основных видов репараций, ведущих к формированию индуцирующего сигнала бактериальной SOS-системы. В частности, получены количественные оценки для *rolA*-зависимой репарации одностранных разрывов, репарации двустранных разрывов путем гомологичной рекомбинации и восстановления модифицированных оснований путем эксцизионной репарации. В предложенных моделях учтена возможность трансформации одних типов повреждений в другие.

Существенное внимание уделено моделированию репарации двустранных разрывов ДНК в клетках млекопитающих и человека (О. В. Белов,

Е. А. Красавин, М. С. Ляшко, М. Батмунх, Н. Свейлам). Сформулированы модели трех основных механизмов восстановления повреждений путем негомологичного воссоединения концов (NHEJ), гомологичной рекомбинации (HR) и одностороннего отжига по прямым повторам (SSA). Предложенный модельный подход применен к описанию кинетики репарации двунитевых разрывов ДНК, индуцированных действием рентгеновского излучения, γ -квантов, ускоренных ионов кислорода, кремния и железа в широком диапазоне значений линейной передачи энергии от 0,2 до 440 кэВ/мкм. Разработанные модели позволили обобщить значительное количество экспериментальных данных о временных характеристиках отдельных этапов NHEJ, HR и SSA. В частности, количественно описана кинетика связывания комплекса Ku70/80 с двунитевыми разрывами ДНК, изменение уровня фосфорилированной ДНК-зависимой протеинкиназы (ДНК-ПКCs), фокусов RPA, Rad51 и γ -H2AX в клетках различных организмов. С использованием предложенного подхода представляется возможным предсказывать эффективность репарации двунитевых разрывов ДНК при действии ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками.

Параллельно исследованию систем репарации повреждений ДНК и конечных механизмов закрепления их в мутации проводятся работы по моделированию первичных актов передачи энергии тяжелых заряженных частиц структурам ДНК с учетом пространственной структуры трека заряженных частиц. Разработаны модельные подходы, связанные с описанием механизма индукции повреждений ДНК в терминах радиального распределения объемной энергии и поглощенной дозы в треке заряженных частиц (О. В. Белов). С использованием данных по молекулярной структуре ДНК смоделирована пространственная геометрия линейного участка двойной спирали, служащего мишенью. Вместе с тем применение транспортных кодов TRIOL и GEANT4 позволило получить пространственные модели треков тяжелых заряженных частиц различных энергий в водной среде. Расчет структуры трека частицы в рассматриваемой мишени дает информацию о начальной локализации энерговыделений в молекулярной структуре двойной спирали. Это дало возможность перейти к следующему этапу расчетов, связанному с моделированием миграции зарядов, возникающих на месте взаимодействия δ -электронов трека частицы с ДНК. Проведен расчет миграции положительного заряда на примере нескольких коротких участков ДНК длиной около десяти пар нуклеотидов, и определены участки двойной спирали, на которых возникновение повреждений ДНК наиболее вероятно.

В рамках разрабатываемых математических моделей стало возможным рассмотреть ключевые молекулярные события с возникновения повреждения ДНК до формирования мутации: рассчитать количество повреждений ДНК, выявить закономерности работы систем репарации, учесть влияние

дефектов в различных генах и в конечном итоге рассчитать частоту мутаций, индуцированных излучениями с различными характеристиками.

Формируется новое направление работ, связанное с математическим моделированием действия тяжелых заряженных частиц на структуры в центральной нервной системе и нарушение ее функций. В целях оценки образования первичных повреждений проведены расчеты энерговыделения в отдельных нейронах головного мозга с использованием предложенных ранее алгоритмов кластерного анализа. Оценено распределение энергии и дозы в объемных моделях пирамидных нейронов области CA1 гиппокампа при действии ускоренных ионов углерода и железа с различной линейной передачей энергии. Для выполнения микродозиметрических расчетов разработаны объемные модели нейронов разных типов, основанные на экспериментальных данных по изучению морфологии клеток головного мозга (А. Н. Бугай, А. Ю. Пархоменко).

Для выяснения молекулярных механизмов, отвечающих за нарушение функциональной активности нейронов после воздействия тяжелых заряженных частиц, разрабатываются динамические модели отдельных молекулярных структур в нервной системе.

Предложена модель экспрессии рецептора NMDA, учитывающая синтез субъединиц рецептора, их сборку и транспорт к синаптической мембране, на основе модели анализируются радиационно-индуцированные изменения уровня субъединиц данного рецептора по экспериментальным данным.

Проводится моделирование электрофизиологических характеристик нейронов головного мозга с учетом влияния транспорта ионов Ca^{2+} , способного изменяться под влиянием разнообразных агентов химической и физической природы, в том числе, предположительно, и при действии ионизирующих излучений. С использованием модели посттетанической эффективности дендритного шипика нейронов области CA3 гиппокампа выполнена оценка синаптического потенциала мембраны при различных значениях градиента Ca^{2+} . Рассчитано изменение проводимости ионных каналов в зависимости от мембранного потенциала Ca^{2+} .

Важнейшие элементы цитоскелета — микротрубочки, будучи метастабильным образованием, зависящим от уровня метаболизма и экспрессии стабилизирующих белков, и участвуя при этом в регуляции работы синапсов, могут являться одной из потенциальных чувствительных мишеней для действия радиации. Разрабатываются модели нелинейной динамики микротрубочек, описывающие развитие структурной неустойчивости, а также их участие в проведении электрических сигналов, транспорте ионов и молекул к синаптической мембране. Рассмотрены основные типы сигналов и структурных переходов.

Высшие нервные функции требуют совокупного участия целого ансамбля одной или нескольких популяций нейронов, представляя пример сложной нелинейной динамической системы с самоорганизацией и саморегуляцией.

Была разработана детальная биофизическая модель популяции нейронов префронтальной области коры головного мозга, отвечающей за кратковременное удержание информации об объекте. Рассматривались два типа клеток — пирамидальные нейроны и интернейроны, связанные друг с другом синапсами с GABA-, AMPA- и NMDA-рецепторами. На основе модели проанализирована пространственно-временная динамика активности всех нейронов из популяции. Выявлен интервал изменения параметров синапсов, когда происходит потеря устойчивости специфических паттернов активности. Сравнение результатов расчетов с результатами экспериментов по изменению синаптических рецепторов и различных типов пластичности, обусловленных действием заряженных частиц, сможет позволить предсказать порог по дозе поглощенного излучения для нарушения рассматриваемого типа активности.

Дальнейшее развитие разрабатываемых математических моделей может быть использовано для теоретической оценки нарушения когнитивных функций при действии ионизирующих излучений различного качества, в том числе при решении задач космической радиобиологии.

В секторе компьютерного молекулярного моделирования лаборатории были продолжены исследования по молекулярно-динамическому моделированию радиационно-индуцированных конформационных изменений в биологических структурах и в конденсированном состоянии вещества (М. А. Островский, Т. Б. Фельдман, Х. Т. Холмуродов). В значительной степени они касались молекулы родопсина. Зрительный пигмент родопсин — типичный представитель большого семейства интегральных мембранных белков-рецепторов, связывающих G-белок (G-protein-coupled receptors, GPCR). Эти белки играют ключевую роль в информационных и регуляторных процессах организма. Были выполнены расчеты молекулярной динамики родопсина, позволившие выявить некоторые особенности конформационного состояния его хромофора, 11-*цис*-ретиная. Как известно, в молекуле родопсина можно выделить по крайней мере три вида конформационных состояний опсина: а) темновое, когда хромофорная группа (11-*цис*-ретинаяль) выступает в качестве мощного лиганда-антагониста, предотвращающего взаимодействие опсина с G-белком; б) световое, мощно активированное, когда на одной из последних стадий фотолиза, а именно на стадии образования метародопсина II, полностью-транс-ретинаяль выступает в качестве мощного агониста, эффективно способствующего взаимодействию опсина с G-белком; и, наконец, в) световое, но в мизерной степени активированное, когда на конечной стадии фотолиза опсин теряет полностью-транс-ретинаяль, и его хромофорное место остается «пустым». В серии работ методом компьютерного моделирования проведено сравнительное исследование молекулярной динамики родопсина, содержащего хромофорную группу (11-*цис*-ретинаяль), свободного опсина (без 11-*цис*-ретинаяля), мутантной версии родопсина, ассоциируемой с возникновением такого офтальмологического заболевания, как пигментная

дегенерация сетчатки, приводящая в конечном итоге к полной слепоте. Следует отметить, что в последние годы практически только методы компьютерного моделирования на основе данных рентгеноструктурного анализа позволили решать подобные задачи. Рентгеноструктурный анализ дает подробную статическую картину трехмерной организации молекулы родопсина в ее темновом кристаллическом состоянии. Метод же молекулярной динамики позволяет описать динамику ее конформационного состояния: например хромофора и его взаимодействия с пятью окружающими аминокислотными остатками, или динамику других доменов молекулы, например цитоплазматического и внутридискowego. Кроме того, в кристаллизованной молекуле белка могут быть нарушены некоторые невалентные связи (водородные, вандерваальсовы, электростатические) в результате деформации α -спиралей, которые могут играть важную роль в функциональных свойствах зрительного пигмента. Другими словами, данные рентгеноструктурного анализа не могут дать объективной картины трехмерной организации молекулы. Более того, разрешение этого метода не позволяет в деталях описать трехмерную организацию хромофора в белке. Таким образом, теоретические подходы могут дать возможность описать молекулярную динамику на атомарном уровне и понять, каким образом реализуется уникальная способность зрительной системы воспринимать квант света.

Полученные в секторе результаты дали детальное представление о конформации молекулы родопсина в темновом состоянии и хорошо согласуются с результатами многих экспериментальных и теоретических работ о его структуре и функциональных свойствах. Таким образом, выявлен внутримолекулярный механизм регенерации родопсина, в ходе которого молекула зрительного пигмента приобретает уникальные фотохимические свойства как белок-фоторецептор и одновременно, будучи рецептором, связывающим G-белок, находится в темноте в неактивном состоянии и практически неспособна к взаимодействию с G-белком. Оба этих функциональных свойства родопсина принципиально важны для осуществления нормального физиологического процесса в темноадаптированной зрительной клетке — процесса фототрансдукции.

В секторе были также выполнены работы по компьютерному моделированию дрожжевой киназы CDC28 и гомологичной киназы человека CDK2. Для дрожжей показаны плеiotропные проявления мутаций в гене CDC28, нарушающие прохождение клеточного цикла, репарацию и checkpoint-контроль, что ведет к повышенному мутагенезу. Для динамического моделирования использовали аминокислотные замены, имеющие плеiotропные проявления в дрожжевых клетках *cdc28-srm* [Gly20Ser] и *cdc28-13* [Arg283Gln]. Полученные результаты показывают, что мутации дестабилизируют локальную структуру в области T-петли. Мутация Arg-концевой области имеет более выраженный

эффект и приводит к разрыхлению структуры киназы и увеличению расстояния между G- и T-петлями.

Радиационные исследования как экспериментального, так и расчетного характера (руководитель Г.Н. Тимошенко) велись в лаборатории в следующих направлениях.

- Участие в проектировании новых ядерно-физических установок ОИЯИ в части конструирования и расчета биологических защит, прогнозирования радиационной обстановки на объектах и в окружающей среде, оценки уровней наведенной активности оборудования, оценки дозовой нагрузки персонала, организации мероприятий по радиационной безопасности, создания систем радиационного контроля.

- Верификация методов Монте-Карло расчета транспорта излучений в веществе путем сравнения результатов расчетов с экспериментальными данными или путем расчетов с помощью программ с разными моделями внутриядерного каскада.

- Физическая поддержка радиобиологических исследований, проводимых ЛРБ на ядерно-физических установках ОИЯИ; совершенствование методов дозиметрии пучков тяжелых ядер.

- Развитие методов спектрометрии нейтронов широкого диапазона значений энергии в рассеянных полях излучения за защитами ядерно-физических установок; прикладные исследования с помощью дозиметров на основе твердотельных детекторов следов повреждений и термолюминесцентных детекторов.

- Участие в программе исследования поверхности планет ядерно-физическими методами.

Итоги работы за 2005–2012 гг. по перечисленным выше направлениям суммированы ниже.

В 2001–2005 гг. сотрудники ЛРБ принимали участие в работах по проектированию установки SAD (Subcritical Assembly in Dubna). В 2005 г. эти работы были в основном закончены, подготовлен раздел проекта «Радиационная безопасность установки SAD». Детально исследована радиационная обстановка на территории вокруг фазотрона ЛЯП и в здании ЯСНАПП при различных режимах работы ускорителя, измерено вертикальное распределение мощности дозы нейтронов по стене фазотрона в районе вентиляционных проемов и на крыше фазотрона, проведены измерения глубинных распределений радиоактивности грунта на обваловке фазотрона. Расчет защиты установки проводился по МК-программе переноса излучений в веществе MCNPX.

Для проверки корректности расчета межъядерного каскада, развивающегося в свинцовом сердечнике подкритической сборки под действием пучка протонов фазотрона с энергией 660 МэВ, выполнен эксперимент по измерению спектров вторичных нейтронов из мишени (в диапазоне энергий 50 кэВ – 660 МэВ) под углами 45°, 75°, 105°, а также угловых распределений адронов

активационными детекторами с различными энергетическими порогами. Сравнение с расчетами методом МК по программам MCNP4B + LANET и MCNPX показало хорошее согласие между расчетными и экспериментальными данными.

При конструировании защиты SAD выполнен большой объем расчетов радиационной обстановки в помещениях здания подкритической сборки с учетом различных радиационных источников: потерь пучка протонов с энергией 660 МэВ в канале транспортировки пучка и в элементах магнитной оптики, нейтронов утечки из защиты активной зоны сборки и из сплошной защиты фазотрона. На основании полученных данных определены зоны радиационного воздействия в здании сборки при разных режимах работы, выполнен расчет мощности дозы нейтронов в окружающей среде, оценены уровни активации материалов и воздуха внутри помещения магнитов, грунта под установкой, а также активность выбросов в атмосферу.

Совместно с Лабораторией физики высоких энергий выполнялись измерения спектров нейтронов, генерируемых протонами с энергией 1 и 1,5 ГэВ в $U + Pb + CH_2$ сборке. Цель экспериментов на установке «Гамма-2» — оценка сечения трансмутации радиоактивных отходов. По просьбе ЛФВЭ выполнялись также исследования эффективности транспортировки пучка протонов и градуировка пропорциональных ионизационных камер с помощью активационных детекторов.

С 2007 г. сотрудники ЛРБ Г. Н. Тимошенко и М. Парайпан (Румыния) участвуют в проектировании радиационной защиты и разработке мероприятий по радиационной безопасности ускорительного комплекса NICA. Необходимые требования, источники излучения, исходные данные для расчета защиты и предварительная конструкция защит бустера, нуклотрона, коллайдера и каналов транспортировки пучка, определенные ими, составили содержание разд. 8 (Биологическая защита и радиационный контроль) IV тома технического задания на проектирование комплекса NICA (2009).

Кардинальным вопросом при прогнозировании радиационной обстановки на комплексе являлось корректное описание источников вторичного излучения, генерируемого в веществе сверхтяжелыми ядрами релятивистской энергии. Для этой цели была предварительно выполнена верификация универсальных МК-программ транспорта излучений в веществе SHIELD, FLUKA и GEANT4 на основе уникальных экспериментальных данных по выходу нейтронов из толстой железной мишени, облучаемой ядрами ^{238}U с энергией 1 ГэВ/нуклон. По результатам верификации в качестве базовой выбрана программа GEANT4.

В процессе работы над проектом NICA многократно менялись концепция комплекса, схема размещения коллайдера, источники вторичного излучения и, как следствие, критерии расчета радиационной обстановки. Были выполнены различные варианты расчета каньона коллайдера (коллайдер внутри

корпуса 205, полузаглубленный в грунте коллайдер, отдельное строение и т. д.), и предложены различные конструкции перехватчиков пучка ядер, являющихся основными источниками вторичного излучения вдоль колец коллайдера. Для рабочей группы исполнителей проекта из ЗАО «Комета» были подготовлены исходные данные для расчета защит, а именно: выполнены расчеты двойных дифференциальных выходов нейтронов и протонов в реакции $^{197}\text{Au} + \text{natFe}$ при энергии ядер 4,5 ГэВ/нуклон, спектрально-угловых распределений адронов из тонкой мишени и из перехватчика, зависимостей ослабления флюенса и дозы нейтронов соответствующих спектров в бетоне и другой справочный материал. Расчеты по GEANT4 сравнивались с аналогичными расчетами по программе SHIELD; согласие между результатами оказалось хорошим. Это позволило проектировщикам использовать при выполнении проекта коллайдера NICA (2011) приближенные инженерные методы расчета защиты.

Сотрудники ЛРБ принимали участие в разработке мероприятий по радиационной безопасности на всех этапах проекта. Произведены расчеты энерговыделения в сверхпроводящих обмотках магнитных диполей и в линзах для оценки вероятности квенчирования, сделан расчет защиты от тормозного излучения системы электронного охлаждения коллайдера. Была решена нетривиальная проблема активации оборудования колец коллайдера первичными ядрами и вторичными адронами межъядерного каскада. Экспериментальные данные, пригодные для проверки расчета наведенной радиоактивности, крайне ограничены, а точность моделирования сечений образования радионуклидов в результате ядерных реакций пока оставляет желать лучшего. Поэтому предварительно было проведено сравнение результатов расчета по GEANT4 и SHIELD парциальных активностей в толстых железной и медной мишенях, облученных пучком ядер ^{238}U с энергией 0,95 ГэВ/нуклон, и показано, что достоверность расчетов суммарной активности средне- и долгоживущих радионуклидов по GEANT4 находится в приемлемых пределах. Расчеты наведенной активности с учетом проектного расписания работы коллайдера в течение 10 лет позволили сделать прогноз динамики радиационной обстановки внутри каньона при неработающем коллайдере и определить критерии отнесения оборудования колец коллайдера к радиоактивным отходам по удельной активности радионуклидов.

К настоящему времени по программе GEANT4 произведен детальный расчет в 3D-геометрии радиационной обстановки на коллайдере с целью определения погрешности инженерных методов расчета и при необходимости уточнения защиты на стадии рабочего проектирования.

Выполнены расчеты и разработана конструкция радиационной защиты от нейтронного излучения для передвижной и стационарной установок таможенного контроля, предназначенных для идентификации скрытых наркотических

или взрывчатых веществ. Разработана локальная защита электронного ускорителя установки ИРЕН.

На нуклотроне ЛФВЭ, циклотроне У-400М ЛЯР, медицинском пучке фазотрона и γ -терапевтической установке «Рокус-М» ЛЯП выполнялись радиобиологические эксперименты по облучению биологических объектов частицами с разными физическими характеристиками: протонами с энергией 170 и 1000 МэВ, дейтронами с энергией 1000 МэВ/нуклон, ядрами ^4He , ^{12}C и ^{24}Mg с энергиями 1000 и 500 МэВ/нуклон, ядрами ^7Li , ^{11}B , ^{14}N , ^{20}Ne низких энергий и γ -квантами ^{60}Co . В качестве объектов облучения использовались лимфоциты периферической крови человека, клетки растений и организмов, белки глаза, а также мелкие лабораторные животные. К сожалению, из-за затянувшейся модернизации нуклотрона радиобиологические сеансы на его пучках ядер не проводились с 2007 по 2011 г.

Для быстрого облучения набора тонких образцов на циклотроне У-400М использовалась автоматизированная облучательная установка «Геном». В 2010–2011 гг. была проведена ее полная модернизация. В настоящее время установка смонтирована на отводе канала масс-спектрометра ACCULINNA. Для градуировки дозиметрической ионизационной камеры используется сцинтилляционный датчик со сверхбыстрым АЦП. Измерение спектров энергосодержания рассеянных тонкой фольгой ионов создает возможность непрерывного контроля качества пучка в процессе облучения образцов.

На нуклотроне ЛФВЭ стационарной облучательной установки нет, поэтому сборка установки и ее градуировка производятся в каждом сеансе заново. К тому же в месте облучения образцов (фокус F3 пучка высокоэнергетичных частиц в разрыве ионопровода) коллимация пучка невозможна, что ограничивает экспериментальные возможности. Задача ближайшего будущего в экспериментах ЛРБ на нуклотроне — обеспечение высокого качества пучков тяжелых ядер и точная дозиметрия при наборе малых значений поглощенных доз в условиях импульсности пучка ядер. Для этой цели необходимо произвести анализ пучка по энергосодержанию ядер в тонком детекторе, обеспечить прецизионное измерение потока ядер с учетом временной микроструктуры пучка телескопом сцинтилляционных счетчиков и откалибровать показания ионизационных камер с высокочувствительными преобразователями ток-частота в широком диапазоне токов пучков различных ядер. В полном объеме решить эту задачу можно, лишь имея стационарную облучательную установку на специализированном медико-биологическом канале нуклотрона или бустера. В данное время готовится проект создания такого специализированного канала.

Развитие методов спектрометрии нейтронов широкого энергетического диапазона (от тепловых нейтронов до нейтронов с энергией в несколько сотен МэВ) в смешанных и рассеянных полях излучения остается приоритетным направлением радиационных исследований в силу важности и актуальности задачи. Многоферный спектрометр является единственным инструментом

для измерения спектров (и, соответственно, дозы) нейтронов в слабых полях излучения за защитой ускорителей. Важность сохранения и развития этой методики заключается также в том, что такой спектрометр на основе кристалла ${}^6\text{LiI}(\text{Eu})$ и опыт работы с ним имеются только в ЛРБ ОИЯИ и ОРИ ИФВЭ.

Развитие многосферной методики в ЛРБ шло в направлении уточнения расчетных функций чувствительности спектрометра, расширения энергетического диапазона измерений спектров в область высоких энергий и создания переносного варианта спектрометра для полевых измерений. Были выполнены прецизионные расчеты по программе MCNP функций чувствительности спектрометра ЛРБ до энергии нейтронов 20 МэВ для случаев мононаправленного и изотропного облучения, а также изготовлена дополнительная 10-дюймовая полиэтиленовая сфера со свинцовым вкладышем диаметром 8 см для повышения чувствительности спектрометра в области высоких энергий.

ЛРБ совместно с ООО «Парсек» разработан и изготовлен портативный автономный вариант многосферного спектрометра с монитором для измерений в полевых условиях. В качестве монитора нейтронного поля используется пропорциональный ${}^3\text{He}$ -счетчик нейтронов с зарядочувствительным преусилителем в цилиндрическом полиэтиленовом замедлителе. Для увеличения длительности автономной работы спектрометра с монитором используется дополнительная перезаряжаемая литиевая батарея, имеющая USB-порт, что позволяет подключать к ней как нетбук, так и непосредственно внешние устройства. Для снижения массы и габаритов спектрометра для полевых измерений был изготовлен единый составной полиэтиленовый замедлитель, состоящий из концентрических полусфер и позволяющий быстро собрать замедлители любого нужного диаметра.

Еще одной методикой, которая длительное время поддерживалась и развивалась в ЛРБ, являлись трековые детекторы следов повреждений. Исследованы чувствительности детекторов PADC (полиалилдигликолькарбонат) и PETF (полиэтилентерефталат), а также зависимость диаметра треков от ЛПЭ разных ядер на пучках ускорителей ОИЯИ. Плодотворное сотрудничество по изучению характеристик детекторов сложилось у А. Н. Головченко с Национальным институтом радиологических исследований в Японии (Чиба). Обработаны результаты сличения различных пассивных детекторов, используемых в космической дозиметрии, проведенного на пучках ядер ${}^4\text{He}$, ${}^{12}\text{C}$, ${}^{28}\text{Si}$ и ${}^{56}\text{Fe}$ с различными энергиями на медицинском ускорителе HIMAC. Совместно с ИЯФ ЧАН (Прага, Чехия) обработаны детекторы CR-39, облученные в 2005 г. внутри российского модуля Международной космической станции (МКС), и получены пространственные распределения поглощенной и эквивалентной доз от ГКИ внутри модуля. Детекторы CR-39 использовались для исследования фрагментации высокоэнергетичных ядер ${}^{20}\text{Ne}$ и ${}^{24}\text{Mg}$ в легких мишенях.

Сотрудник ЛРБ В. Е. Алейников принимал участие в проекте по синтезу новых нанокристаллических термолюминесцентных детекторов для

применения в дозиметрии тяжелых заряженных частиц и электромагнитного излучения в рамках выполнения Межгосударственного научного соглашения России и Индии. Изготовленные в Индии нанофосфоры были облучены на протонном пучке с энергией 150 МэВ фазотрона ЛЯП, на γ -источниках ^{60}Co в Дубне и Нью-Дели и на пучках ионов электростатического ускорителя Pelletron в Межуниверситетском ускорительном центре Нью-Дели. Изучены зависимости чувствительности термолюминесцентных детекторов к протонам, ионам и γ -излучению от величины поглощенной дозы.

Показано, что при уменьшении размеров термолюминесцентных кристаллов до ~ 10 нм нанофосфоры приобретают лучшие по сравнению с микрофосфорами свойства для использования в качестве дозиметров высоких доз ионизирующих излучений.

Исследована адекватность показаний широко применяемых в ОИЯИ инспекционного дозиметра нейтронов оперативного контроля на основе борного счетчика СНМ-14 в комбинированном замедлителе и промышленного индивидуального альбедного дозиметра ДВГН-01 амбиентному и индивидуальному эквивалентам доз. Исследование проводилось расчетным методом с использованием энергетических зависимостей чувствительности дозиметров и спектров нейтронов на ядерно-физических установках ОИЯИ — как измеренных сотрудниками ЛРБ, так и взятых из литературы. Большую помощь в этой работе оказал атлас нейтронных спектров на установках ОИЯИ, подготовленный Л. Г. Бескровной. Рассчитывались показания приборов для полей с известными спектрами и значения доз облучения в этих спектрах. По полученным результатам определялись погрешности, с которыми находились значения доз облучения по показаниям приборов. На их основании вычислены поправочные коэффициенты для коррекции показаний дозиметров. Авторы работы награждены второй премией ОИЯИ в области научно-технических прикладных исследований за 2011 г.

М. Парайпан была предложена методика приближенного расчета гребенчатого фильтра для мишенной терапии опухолей ядрами углерода. Гребенчатый фильтр обеспечивает формирование в опухоли пространственного распределения энерговыделения ядер, соответствующего модифицированной кривой Брэгга. Расчет формы гребенчатого фильтра проводился аналитическим методом и сравнивался с данными расчета методом Монте-Карло по программе GEANT4. Исследовано влияние на форму фильтра энергии пучка ядер углерода и вида зависимости относительной биологической эффективности от линейной передачи энергии ядер углерода в ткани.

Центром ядерной планетологии в России является Лаборатория ядерной планетологии Института космических исследований (ИКИ) РАН. Лабораторией разработан ряд приборов для исследования ядерно-физическими методами поверхностей планет. Некоторые из них установлены, а другие планируются к установке на бортах как российских, так и зарубежных космических аппаратов. Российские эксперименты реализуются на аппаратах NASA

и ESA на основе межправительственных соглашений Роскосмоса с этими организациями. Коллаборантами Лаборатории ядерной планетологии ИКИ является ряд научных организаций России, в том числе ОИЯИ. В задачи ОИЯИ входит участие в разработке приборов на стадии проектирования, расчетное моделирование с помощью универсальных программ транспорта излучений в веществе (MCNPX, SCINFUL-R) радиационной обстановки на орбитах планет, характеристик приборов и их откликов, подготовка и проведение калибровок приборов с помощью источников излучения на модельных стендах и в полевых условиях.

С момента начала сотрудничества ИКИ–ОИЯИ в 1998 г. по настоящее время сотрудники ЛРБ А.Р.Крылов и Г.Н.Тимошенко участвуют в работах по исследованию характеристик и градуировке нейтронных детекторов и γ -спектрометров для миссий 2001 Mars Odyssey (HEND), LRO (LEND), «Фобос-Грунт» (HEND Phobos), MSL (DAN), ISS (BTN-Neutron) и BepiColombo (MGNS).

Прибор HEND (High Energy Neutron Detector), установленный на борту орбитера 2001 Mars Odyssey, впервые показал, что у полюсов Марса и даже в средних широтах существуют огромные запасы подповерхностного водяного льда, что явилось очень значимым научным результатом.

Другой прибор LEND (Lunar Exploration Neutron Detector) был установлен на борту лунного разведывательного орбитера NASA, запущенного к Луне летом 2009 г. LEND предназначался для исследований элементного состава грунта Луны с орбиты и являлся первым в истории космических исследований нейтронным телескопом с высоким пространственным разрешением. Его основной целью был поиск воды в лунном грунте или на поверхности. Работа прибора была плодотворной, и сотрудники ЛРБ были награждены грамотами NASA за успешную реализацию миссии.

Разработаны новые приборы для определения элементного состава вещества спутника Марса Фобоса (прибор HEND-Phobos, проект Роскосмоса «Фобос-Грунт») и поверхности Меркурия (прибор Mercurian Gamma and Neutron Spectrometer, проект Европейского космического агентства BepiColombo). В состав этих приборов помимо нейтронных детекторов входит γ -спектрометр высокого разрешения на основе сцинтиллятора LaBr₃. Запуск аппарата ESA намечен на 2015 г.

Создан комплекс приборов DAN (Dynamic Albedo of Neutrons) для марсианского мобильного аппарата Mars Science Laboratory (Curiosity) NASA. Цель миссии заключается в исследовании содержания в грунте Марса воды вдоль трассы движения аппарата с пространственным разрешением около 1 м по горизонтали и до 1,5 м в глубину. В настоящее время прибор успешно работает на поверхности Марса в районе кратера Гейла.

На борту служебного модуля российского сегмента МКС с 2006 г. по настоящее время работает бортовой телескоп нейтронов высоких энергий для проведения космического эксперимента «БТН-Нейтрон». Целями этого

эксперимента являются: исследование вторичного нейтронного излучения верхней атмосферы Земли, генерируемого высокоэнергетическими заряженными частицами; исследование нейтронной компоненты солнечных вспышек и исследование нейтронной компоненты радиационного фона на борту МКС.

Ведутся работы по созданию приборов нового поколения (АДРОН-ЛР), предназначенных для исследования элементного состава поверхности Луны в месте посадки космических аппаратов методами активной нейтронной и гамма-спектроскопии. Запуск космических аппаратов намечается на 2015 и 2017 гг.

Экспериментальные работы по калибровке приборов и исследованию их физических характеристик выполнялись в ОИЯИ с использованием как радиоизотопных источников нейтронов ^{252}Cf и $^{239}\text{Pu-Be}$, так и моноэнергетических нейтронов в диапазоне 0,2–15,3 МэВ из реакций $p + ^7\text{Li} = n + ^7\text{Be}$, $d(D, n)^3\text{He}$ и $T(d, n)^4\text{He}$ на электростатическом генераторе ЭГ-5. Использовались также модифицированные источники нейтронов на основе ^{252}Cf в сферических полиэтиленовых замедлителях диаметром 3 и 5 дюймов.

Для калибровки энергетических шкал аппаратурных спектров импульсов стильбенового детектора нейтронов высоких энергий и γ -детектора на основе кристалла LaBr_3 использовались γ -кванты изотопных источников и γ -кванты, возникающие в результате реакций захвата и неупругого рассеяния нейтронов в железе, никеле, азоте. Измерения проводились как на изотопных источниках нейтронов, так и на пучке тепловых нейтронов реактора ИБР-2.

При выполнении модельных экспериментов слой грунта, содержащего воду (лед), имитировался сборкой из силикатного кирпича со слоем полиэтилена на различной глубине (до 1 м). Проводились также натурные испытания на открытой ровной поверхности с бетонным покрытием и слоями полиэтилена, имитирующими лед.

К настоящему времени для модельных испытаний приборов ядерной планетологии с использованием нейтронного генератора в ЛРБ создан специальный стенд ДАН, который позволяет моделировать различные составы марсианского грунта с большой вариабельностью и облучать их быстрыми нейтронами, производящимися нейтронным генератором. С целью снижения фона рассеянных нейтронов стенд размещен в легком ангаре, оснащенный системой блокировок и сигнализации для обеспечения радиационной безопасности. На стенде организованы радиационные зоны, контроль дозы производится стационарными гамма-нейтронными дозиметрами.

В качестве модели абсолютно «сухого» грунта на стенде использован массив силикатного стекла общей массой около 25 т. Содержание воды (льда) в грунте имитируется слоями полиэтилена на различной глубине сборки стекла. Добавление в сборку слоев других веществ позволит с хорошей точностью воспроизводить состав реального марсианского грунта.

Астробиологические исследования. В 2013 г. в Лаборатории радиационной биологии был создан сектор астробиологии. Возглавил его академик РАН

А. Ю. Розанов. Задачами новой структуры лаборатории являются биогеохимические исследования космического вещества на Земле и в ближайшем космосе и исследование биологических и геохимических особенностей ранней Земли. Основные объекты изучения — космические материалы, входящие в состав метеоритов, космические пылевые частицы микромиллиметрового размера, а также породы и ископаемые организмы ранней Земли. В связи с этим специалисты сектора проводят исследования в следующих направлениях:

- биогеохимические исследования космической пыли;
- исследования биофоссилий и органических соединений в метеоритах и в древних земных породах;
- исследования синтеза пребиотических соединений на Земле и в космосе из формамида под действием космических видов радиации.

Первое направление ориентировано на изучение космической пыли (КП) в различных природных планшетах на Земле, сбор КП в верхних слоях атмосферы и околоземном пространстве. Исследования КП позволяют получить данные о закономерностях временного распределения выпадающего на поверхность Земли космического пылевого вещества, что является важным для реконструкции геологической истории Земли и получения данных о палеоклимате. Изучение структуры, минералогического, элементного, изотопного состава и биологических свойств космической пыли позволит продвигнуться в решении таких фундаментальных проблем, как природа межпланетного вещества и его роль в происхождении жизни.

В рамках данного направления был осуществлен сбор образцов КП в различных природных планшетах (снег и ледники горных вершин, снег и ледники Арктики и Антарктики, мох сфагнум, толща земных пород, донные отложения, верхняя атмосфера, околоземное и межпланетное пространство); проведено выделение (обогащение) космической составляющей из собранных образцов пыли. Проводится комплексное исследование космической составляющей пыли, включающее

- исследование минералогического, химического и элементного состава КП;
- исследование изотопного состава элементов, референтных для КП;
- поиск биомаркеров: биофоссилий, органических веществ, метаболитов, нуклеиновых кислот, жизнеспособных клеток в КП;
- оценку общего количества КП, выпадающей на поверхность Земли;
- изучение пространственного распределения КП по поверхности Земли;
- исследование временных вариаций;
- изучение вариаций состава КП в геологической истории Земли;
- сравнительный анализ ископаемой КП и межпланетной пыли, собранной космическими аппаратами.

Следующим направлением в рамках сектора астробиологии является исследование биофоссилий и органических соединений в метеоритах и древних земных породах. Биофоссилии представляют собой окаменевшие

микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности. Они являются важным средством исследования распространенности бактериальной жизни. Изучение биофоссилий в метеоритах и древних земных породах позволяет получить данные о формах древней земной и внеземной жизни и пролить свет на проблему происхождения жизни. Важное открытие было сделано учеными из Палеонтологического института Российской академии наук — найдены следы микроорганизмов в метеоритах. Важно отметить, что возраст некоторых метеоритных пород, в которых были обнаружены следы бактериальной жизни, превышает возраст Земли. Отсюда с необходимостью вытекает вывод, что жизнь на Земле не уникальна; в каких-то областях Солнечной системы (а может быть, где-то за ее пределами) она возникла раньше, чем образовалась Земля. В рамках данного направления в секторе астробиологии проводятся:

- отбор образцов метаосадочных, вулканогенно-осадочных, вулканогенных пород зеленокаменных поясов Карелии и Кольского полуострова;
- подготовка образцов для изучения на сканирующих электронных микроскопах;
- изучение и фотографирование образцов на электронных сканирующих микроскопах.

Одним из важных направлений исследований сектора является изучение закономерностей и механизмов формирования пребиотических соединений из формамида (NH_2COH), одного из простейших химических соединений, широко распространенных как в межзвездной, так и в межпланетной средах. Совместно со специалистами университетов Италии (Тосканский университет, профессор Р. Саладино; Ла Сапиенца, профессор Э. Ди Мауро) проводятся эксперименты по облучению образцов различных метеоритов в смеси с формамидом ионизирующей радиацией (протонами высоких энергий, тяжелыми ионами). На сегодняшний день в ходе экспериментов установлено образование нуклеиновых оснований, карбоновых кислот, аминокислот, сахаров и других сложных соединений, вплоть до нуклеозидов. В настоящее время планируются эксперименты по синтезу нуклеотидов из этих продуктов.

В секторе астробиологии совместно с Лабораторией нейтронной физики им. И. М. Франка на импульсном реакторе ИБР-2 проводится нейтронно-активационный анализ (НАА) элементного состава метеоритов, используемых в ходе исследований (М. В. Фронтасьева).

МЕЖДУНАРОДНОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО

Сразу после образования сектора биологических исследований (СБИ) ЛЯП в 1978 г. радиобиологи ОИЯИ начали активно сотрудничать со специалистами стран-участниц ОИЯИ. Среди радиобиологов, участвовавших в работах сектора в тот период, были сотрудники Института Берлин-Буха (ГДР, Берлин). Возглавляли эту группу профессор Х. Абель и доктор Г. Эрцгребер. Начало сотрудничеству с немецкими специалистами из Берлин-Буха положили контакты между радиобиологами этого института и Научно-исследовательского института медицинской радиологии (НИИМР, Обнинск). В 1960-е и 1970-е гг. в НИИМР работал всемирно известный генетик и радиобиолог профессор Н. В. Тимофеев-Ресовский. Под влиянием его работ в довоенный период в Берлин-Бухе сформировалась активно работавшая школа радиобиологов. Поэтому после создания СБИ ЛЯП, который возглавил профессор В. И. Корогодин, ранее много лет работавший с Н. В. Тимофеевым-Ресовским, совместные работы с немецкими коллегами были начаты и в ОИЯИ.

Областью исследований, проводимых в сотрудничестве с Институтом Берлин-Бух, было изучение молекулярных механизмов повреждений ДНК в клетках высших организмов при действии ускоренных тяжелых ионов. В короткие сроки был создан комплекс аппаратуры, который позволил изучать закономерности и механизмы образования двунитевых разрывов ДНК в клетках млекопитающих, культивируемых *in vitro*. Получены уникальные материалы, позволившие расшифровать различные аспекты летального действия излучений с разными физическими характеристиками на клетки высших организмов.

В этот же период в СБИ проводились совместные работы с Институтом ядерной химии и технологии (Варшава, Польша). Возглавлял эти работы с польской стороны доктор О. Росек. Целью этих исследований было сравнительное изучение летального действия излучений широкого диапазона ЛПЭ на две линии клеток лимфомы, обладающих разной способностью к репарации повреждений ДНК. В ходе этих работ было показано существенное различие в радиочувствительности двух линий клеток (радиорезистентной — с нормальной способностью к репарации ДНК, и радиочувствительной — имеющей дефект в репарационной системе). При возрастании ЛПЭ тяжелых заряженных частиц наблюдалось нивелирование радиочувствительности

двух клеточных линий, свидетельствующее об индукции прямых двунитевых разрывов ДНК излучениями с высокой ЛПЭ.

Цитологическое действие ионизирующих излучений на растительные клетки, культивируемые *in vitro*, изучалось в СБИ специалистом из Университета им. Я. А. Коменского в Братиславе (Чехословакия) Е. Глинковой.

Теоретическими разработками, направленными на моделирование спонтанного мутационного процесса в клетках низших эукариот, в начале 1980-х гг. в СБИ успешно занимался математик из Венгрии Ф. Чаба (ЦИФИ, Будапешт). В этот же период в СБИ активно работал другой теоретик из Чехословакии — В. Лисы (Университет в г. Кошице), занятый анализом проблемы наличия давидовских солитонов в ДНК.

В начале 1980-х гг. в секторе начали активно развиваться радиобиологические исследования на ускорителях тяжелых ионов ЛЯР. Основной задачей этих исследований являлось выяснение механизмов, определяющих различия в биологической эффективности ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками. В решение этой проблемы активно включились специалисты из Чехословакии — С. Козубек (ИБФ ЧАН, Брно) и несколько позднее В. Михалик (Институт радиационной дозиметрии (ИРД), Прага).

С. Козубек интенсивно работал над созданием модели, описывающей закономерности летального действия излучений широкого диапазона ЛПЭ на клетки бактерий с разной способностью репарации повреждений ДНК. В рамках этой модели удалось описать летальные радиационные эффекты в бактериальных клетках (форма кривой выживаемости клеток, зависимость радиочувствительности от ЛПЭ, кислородный эффект, действие радиопротекторов различных классов), индуцируемые тяжелыми заряженными частицами. Было показано, что специфика действия многозарядных ионов на генетический аппарат клеток может определяться кластерным типом повреждений ДНК, индуцируемых тяжелыми ионами.

Микродозиметрический анализ выхода различных типов повреждений ДНК при действии ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками был выполнен В. Михаликом (ИРД, Прага). Показано, что с ростом ЛПЭ увеличивается выход кластерных повреждений одно- и двунитевой ДНК. Эта зависимость описывается кривой с локальным максимумом, и положение максимума для различных типов кластерных повреждений различно. Эти работы явились пионерскими и впоследствии получили продолжение во многих западных научных центрах.

Широкий фронт исследований, касающийся мутагенного действия излучений с разной ЛПЭ на клетки, в период 1985–1990 гг. проводила интернациональная группа специалистов-физиков и радиобиологов (М. Бонев — ИЯИЯЭ, Болгария, С. Козубек — ЧССР, Б. Токарова — ЧССР, Ф. Чаба — ВНР). Для выяснения относительной роли физического и биологического факторов в индуцированном мутационном процессе С. Козубеком были предприняты исследования индукции прямых и обратных мутаций у бактерий. Установлено, что дозовая зависимость частоты мутирования клеток имеет

линейно-квадратичный характер. При облучении клеток частицами с возрастающими значениями ЛПЭ показано, что характер зависимости частоты мутирования от дозы облучения не меняется с ростом ЛПЭ, но изменяется лишь относительная генетическая эффективность (ОГЭ) излучений. Зависимость ОГЭ от ЛПЭ описывается кривой с локальным максимумом. В рамках развитых С. Козубеком теоретических подходов нашли объяснение различия в положении максимумов зависимостей относительной биологической эффективности по критерию летального и мутагенного действия от ЛПЭ. Они обусловлены разным характером повреждений ДНК, участвующих в реализации мутагенеза, и летальных эффектов облучения. В первом случае ими являются преимущественно поврежденные основания, во втором — двунитевые разрывы ДНК. В 1989 г. С. Козубеком была успешно защищена докторская диссертация по данной теме.

М. Боневым были детально изучены закономерности и механизмы индукции профага λ -излучениями с разными физическими характеристиками. Эти работы позволили оценить роль индуцибельной системы репарации у клеток прокариот в реализации мутационного процесса, вызванного ионизирующими излучениями разного качества.

С 1985 г. и по настоящее время осуществляется плодотворное сотрудничество с группой радиобиологов из GSI (Дармштадт, Германия), руководимых профессорами Г. Крафтом и С. Риттер. На протяжении многих лет специалисты ОРПИ проводят совместные эксперименты на пучках тяжелых ионов ускорителя GSI. Целью этих работ является изучение цитогенетического воздействия ускоренных тяжелых ионов на клетки млекопитающих в культуре и лимфоциты крови человека. Активное участие сотрудники ОРПИ принимали в предклиническом исследовании радиобиологических характеристик пучков ускоренных многозарядных ионов, предназначенных для терапии рака.

Активное сотрудничество в области генетического действия тяжелых заряженных частиц в период с 1990 по 1998 г. осуществлялось с Радиобиологическим отделением Института аэрокосмической медицины (Кёльн, Германия) Германского аэрокосмического центра. С немецкой стороны в этих работах участвовала группа специалистов во главе с доктором Г. Хорнеком. Эти исследования касались разработки нового метода изучения кинетики экспрессии индуцибельных оперонов клеток на основе люциферазной реакции. Интернациональная группа разработала эффективный и простой в использовании метод (SOS-Lux test), позволяющий в режиме реального времени определять степень повреждения генетического аппарата живых клеток при действии ионизирующего излучения, ультрафиолетового света и химических канцерогенов. Для этой цели была создана генетическая конструкция, включающая в себя гены светящихся бактерий, контролирующие синтез белков, участвующих в реакции свечения (lux-гены). При возникновении повреждений в ДНК репрессия работы генов снимается, что приводит к запуску реакции свечения. В результате этого клетки, несущие указанную генетическую конструкцию, испускают свет в видимой области, причем

световой выход прямо зависит от степени повреждения ДНК и может легко измеряться. Таким образом, по своей сути SOS-Lux test оказался уникальным биологическим дозиметром и мог быть широко использован в различных областях: в экологических целях для экспресс-анализа загрязнений химическими канцерогенами и мутагенами, в фармакологии — для исследования возможной мутагенности новых лекарств, а также в химической и пищевой промышленности.

Для развития этих перспективных разработок группа получила финансовую поддержку в виде гранта по программе «Коперникус» (Брюссель, Бельгия). В результате был создан прибор, позволяющий в режиме online регистрировать наличие в среде обитания мутагенных факторов физической и химической природы.

В области генетики дрожжевых клеток на протяжении ряда лет проводятся совместные работы с профессором Н. Бабудри из Университета в г. Перудже (Италия). Они связаны с изучением генетического контроля мутагенеза в условиях голодания клеток. Эта задача касается проблемы генетического контроля остановки клеточного цикла при получении повреждений ДНК. В последние годы становится более видимой взаимосвязь различных компонентов интегрального клеточного ответа на повреждения ДНК, обеспечивающего стабильность и целостность генома. Показана связь механизмов контроля клеточного цикла и механизма репарации повреждений ДНК. Механизм, обеспечивающий контроль и координацию этих процессов, был открыт в конце 1980-х гг. и назван checkpoint-контролем. Этот механизм позволяет клеткам выживать и поддерживать генетическую стабильность и регулируется checkpoint-генами. Считается, что нарушение checkpoint-путей, приводящее к увеличению мутабельности и геномной нестабильности, имеет важное значение на ранних стадиях канцерогенеза.

На протяжении ряда лет (1988–1997 гг.) радиобиологи ОРПИ плодотворно сотрудничали с NASA (США). Руководителем этих работ со стороны NASA являлся доктор Т. Янг. В рамках совместного научного соглашения о сотрудничестве между ОИЯИ и NASA успешно проводились эксперименты на синхрофазотроне. Цель этих исследований — установление величины относительной биологической эффективности протонов с энергией 1–5 ГэВ. В экспериментах на лимфоцитах крови человека изучались закономерности индукции нестабильных и стабильных хромосомных aberrаций. Было установлено, что величины ОБЭ протонов релятивистских энергий не превышают значения биологической эффективности γ -излучения.

В настоящее время ОРПИ продолжает активное сотрудничество с Институтом биофизики ЧАН (Брно). Эти исследования касаются проблемы цитогенетических механизмов индукции стабильных хромосомных aberrаций в клетках человека излучениями широкого диапазона ЛПЭ. С чешской стороны работы возглавляются профессором С. Козубеком и доктором М. Фальком. Продолжаются совместные со специалистами Университета им. Я. А. Коменского (Братислава, Словакия) исследования цитологического

действия тяжелых заряженных частиц на растительные клетки. Плодотворно развивается сотрудничество с Институтом ядерной химии и технологии (Варшава, Польша), возглавляемое с польской стороны профессором А. Войциком. В его рамках ведется изучение закономерностей и механизмов возникновения различных видов хромосомных aberrаций (нестабильных повреждений хромосом и транслокаций) при действии различных доз ускоренных заряженных частиц. Близкие по задачам исследования ОРПИ систематически проводит с GSI (Дармштадт, Германия). Активное сотрудничество в последнее время налажено с Белорусским государственным университетом (Минск). Эти работы нацелены на изучение механизмов катарактогенного действия тяжелых заряженных частиц высоких энергий и исследование механизмов воздействия излучений разного качества на зрительный пигмент — родопсин.

Уникальность ядерно-физических установок ОИЯИ и создаваемые ими поля ионизирующих излучений потребовали разработки и создания новых средств радиометрии и дозиметрии ионизирующих излучений. Созданный в ОРБ сотрудником из Польши М. Зельчинским в 1960-х гг. рекомбинационный дозиметр смешанного ионизирующего излучения позволил измерить поглощенные и эквивалентные дозы, а также коэффициенты качества излучений в пучках и полях рассеянного излучения ускорителей и импульсного быстрого реактора.

Информация об энергетических зависимостях чувствительности дозиметров является основой при измерениях характеристик сложных по компонентному составу и энергетическому распределению полей ионизирующих излучений. Поэтому одним из основных направлений международного сотрудничества на протяжении последних десятилетий является исследование характеристик дозиметров и детекторов, используемых в странах-участницах ОИЯИ. Совместно с болгарскими из Софии (И. Мишев, М. Гелев), немецкими из Дрездена (Л. Ветцель, Г. Таут, Б. Дершель, Г. Хан и др.), польскими из Сверка (М. Зельчинский, С. Пшона), словацкими из Братиславы (Д. Никодемова, М. Фюлоп, Й. Мартинкович), чешскими из Праги (Ф. Спурны, З. Спурны и др.) специалистами были исследованы энергетические зависимости чувствительности многосферного спектрометра Боннера, твердотельных и эмульсионных трековых детекторов, термолюминесцентных детекторов.

С целью определения точности измерения радиационных характеристик полей излучения приборами, используемыми в странах-участницах ОИЯИ, в 1970-х гг. проведена серия сравнительных измерений в полях излучений ускорителей протонов ОИЯИ, в пучке реактора ИБР-30 и полях на основе ^{252}Cf в полиэтиленовых замедлителях и полях излучения ускорителей ЦЕРН. В этих измерениях участвовали специалисты из Болгарии, Польши, Румынии, СССР и Чехословакии. Результаты этих исследований показали, что регламентированная точность измерения радиационных характеристик полей излучения достигается лишь в отдельных случаях. Эти исследования позволили скорректировать методы дозиметрии, используемые в странах-участницах ОИЯИ.

После создания Отделения радиационных и радиобиологических исследований расширилось сотрудничество ОИЯИ с Международным агентством по атомной энергии по трем направлениям: выполнение целевых исследований по просьбе МАГАТЭ; участие в программах координационных исследований МАГАТЭ; организация и проведение образовательных курсов МАГАТЭ.

Как известно, контроль за нераспространением ядерного оружия осуществляет МАГАТЭ. Одной из проблем данного контроля является измерение слабых потоков нейтронов в интенсивных полях γ -излучения при перемещении делящихся материалов. По заказу МАГАТЭ в ОРБиРИ проведены исследования характеристик различных детекторов тепловых нейтронов с полиэтиленовыми замедлителями, оптимизированы параметры аппаратуры, изготовлен и испытан в интенсивных полях γ -излучения прототип монитора нейтронов на основе «коронного» счетчика для регистрации возможного перемещения ядерных материалов.

В новых международных стандартах по радиационной безопасности приняты новые операционные величины для целей радиационного мониторинга. В частности, для индивидуальной дозиметрии сильно проникающего излучения в соответствии с этими стандартами следует использовать новую операционную величину — индивидуальный дозовый эквивалент, $H_p(10)$, чтобы гарантировать выполнение требования непревышения установленных пределов доз облучения. Принимая во внимание технические трудности, связанные с введением новых радиационных величин для измерений доз облучений, МАГАТЭ организовало исследовательскую программу по сравнению индивидуальных дозиметров, используемых в государствах-членах МАГАТЭ из Восточной Европы. В связи с большим опытом в исследовании характеристик индивидуальных дозиметров и возможностями ОРБиРИ по метрологическому обеспечению дозиметрических измерений по просьбе МАГАТЭ ОИЯИ принял участие в этой программе в качестве метрологической лаборатории. Была проверена возможность 23 служб индивидуальной дозиметрии измерять $H_p(10)$ в полях γ -излучения с различными энергетическими распределениями частиц, а также измерены энергетические и угловые функции чувствительности используемых дозиметров в терминах индивидуального дозового эквивалента. Выполненные исследования позволили существенно повысить достоверность измерения индивидуального дозового эквивалента в государствах-членах МАГАТЭ из Восточной Европы.

В 1996 и 1999 гг. по просьбе МАГАТЭ совместно с УНЦ ОИЯИ были проведены региональные образовательные курсы для молодых специалистов по радиационной безопасности. На этих курсах прошли подготовку несколько десятков специалистов практически из всех стран-участниц ОИЯИ, а также из Эстонии, Литвы и Латвии.

ПОДГОТОВКА КАДРОВ

На протяжении 25 лет в ОИЯИ ведется работа по подготовке молодых специалистов в области радиобиологии, физики защиты и дозиметрии. С первых шагов по организации УНЦ ОИЯИ была сформирована кафедра радиобиологии как филиал кафедры МИФИ, открыта аспирантура по специальности «Радиобиология». На кафедре проходили обучение после 7-го семестра студенты физических факультетов различных вузов (МИФИ, МГУ, МФТИ и др.). Многие после защиты дипломов продолжили обучение в аспирантуре и защитили кандидатские диссертации.

В 1998 г. по инициативе дирекции ОИЯИ в университете «Дубна» была открыта кафедра биофизики. В задачу кафедры входит подготовка дипломированных специалистов по направлению «Радиационная безопасность человека и окружающей среды» со специализацией «Радиационная биофизика» и «Биофизика фотобиологических процессов». В рамках специализаций осуществляется подготовка специалистов-физиков, самостоятельно работающих в области биологии и решающих ее экспериментальные, теоретические и прикладные задачи. Кафедра обеспечивает математическое, физическое, химическое и биологическое образование по базовым и специальным курсам: «Общая биология», «Молекулярная биология», «Общая радиобиология», «Клиническая радиобиология», «Физиология», «Цитология», «Микробиология», «Биофизика», «Биохимия», «Повреждения и репарация ДНК», «Радиационная генетика», «Фотохимия и фотобиология первичных процессов зрения», «Радиационная защита», «Дозиметрия излучений», «Математические методы моделирования в радиационной физике, биологии, экологии», и другим курсам. Кафедра осуществляет научно-исследовательские работы в области радиобиологии, радиационной генетики, кинетики первичных фотобиологических процессов, цитологии, молекулярной биологии, использования радионуклидов в медицинских целях, микродозиметрии, математического моделирования динамических биологических процессов. Кафедра проводит учебные и производственные практики в учебно-экспериментальных лабораториях на базе Объединенного института ядерных исследований с целью закрепления теоретических знаний. В число учебно-экспериментальных лабораторий входят: лаборатория микробиологии, лаборатория

цитологии, лаборатория молекулярной биологии, лаборатория фотобиологии, лаборатория дозиметрии и физики защиты, лаборатория экспериментальных методов ядерной физики. На кафедре открыта аспирантура по специальности «Радиобиология».

Профессорско-преподавательский состав кафедры — специалисты высшей квалификации: академик РАН М. А. Островский, профессора, ученые Объединенного института ядерных исследований, Московского инженерно-физического института, Института общей генетики РАН, других крупнейших научных центров. Большое число курсов читается ведущими сотрудниками ЛРБ. Заведует кафедрой член-корреспондент РАН профессор Е. А. Красавин.

В настоящее время в ЛРБ работает большое число молодых специалистов из числа бывших выпускников кафедры биофизики.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в издании материалы отражают широкий спектр радиобиологических исследований, проводимых в Лаборатории радиационной биологии Объединенного института ядерных исследований. Наличие в институте разнообразных источников излучений с различными физическими характеристиками и прежде всего ускорителей тяжелых заряженных частиц предопределило основную направленность радиобиологических исследований лаборатории: изучение закономерностей и механизмов биологического действия излучений широкого диапазона линейных передач энергии. С использованием ускорителей тяжелых ионов была решена одна из ключевых проблем радиационной биологии — проблема относительной биологической эффективности ионизирующих излучений. Первые радиобиологические исследования в ОИЯИ, как отмечалось в начале книги, были предприняты более 60 лет назад. Они проводились специалистами из Института профзаболеваний, Онкологического научного центра и ряда других московских институтов. В 1963 г. после образования Института медико-биологических проблем МЗ СССР специалисты этого института начали проводить исследования на ускорителях ОИЯИ. Их целью являлось изучение закономерностей и механизмов биологического действия протонов высоких энергий. Необходимость такого рода работ, как указывалось, обуславливалась наличием в космическом пространстве протонов высоких энергий, которые представляли значительную опасность для здоровья космонавтов. Моделировать биологическое действие протонов высоких энергий космического происхождения можно было в ОИЯИ на первом ускорителе Объединенного института — синхроциклотроне, обладающем таким энергетическим диапазоном. Специалистами ИМБП при поддержке дирекции ОИЯИ и прежде всего директора Лаборатории ядерных проблем члена-корреспондента АН СССР В. П. Желепова был выполнен огромный объем радиобиологических исследований по изучению относительной биологической эффективности протонов высоких энергий. Позже на ускорителе тяжелых ионов низких энергий в Лаборатории ядерных реакций при активной поддержке и внимании к этим работам директора лаборатории академика Г. Н. Флерова, а затем академика Ю. Ц. Оганесяна были начаты исследования биологических эффектов, индуцируемых воздействием ускоренных многозарядных ионов. Такие работы имели целью изучить особенности

действия плотноионизирующих излучений на разные типы живых клеток: микроорганизмы (дрожжевые и бактериальные клетки), ткани экспериментальных животных (роговица, кожа), растительные объекты. Были получены важные результаты по летальному действию тяжелых ионов на клетки, возникновению хромосомных поломок в облученных клетках. После создания в 1978 г. сектора биологических исследований в ОИЯИ сотрудничество с ИМБП продолжалось уже на новом уровне. Часть специалистов этого института перешла работать в образованный сектор биологических исследований Объединенного института, который был создан при активной поддержке директора ЛЯП В. П. Дзепепова. Поэтому традиционные связи, органичность и преемственность контактов между специалистами ИМБП и ОИЯИ продолжались. И тематика исследований, связанных с решением задач космической радиобиологии, всегда присутствовала в тех направлениях работ, которые выполнялись специалистами-радиобиологами ОИЯИ.

На современном этапе в связи с постановкой человечеством амбициозных программ освоения Луны и экспедиции на Марс тема объединения усилий в исследованиях, связанных с космической радиобиологией, приобрела особую актуальность, потому что реализация таких длительных полетов в первую очередь связана с решением проблемы преодоления радиационного барьера, который создает галактическое космическое излучение. Фактор микрогравитации, по-видимому, не будет являться главным препятствием к выполнению длительных полетов вне магнитосферы Земли. Многие вопросы, связанные с воздействием невесомости на человеческий организм, к настоящему времени успешно решены. А полностью защититься от галактического излучения при полете в дальнем космосе пока невозможно. За год такого полета на 1 см^2 тела космонавта попадает до 10^5 тяжелых заряженных частиц группы углерода и железа. Биологическая эффективность ядер железа очень высока. В результате их воздействия с большой вероятностью возникают раковые заболевания, образуются мутации, они действуют и на хрусталик, в результате чего образуется катаракта, и на сетчатку глаза, поражают клетки центральной нервной системы.

Изучать в космосе последствия такого воздействия невозможно, их можно только моделировать на ускорителях заряженных частиц, каким является, например, нуклотрон ОИЯИ. В задачах моделирования биологических эффектов тяжелых заряженных частиц на ускорителях нового поколения на первый план выходят исследования молекулярных механизмов повреждения генетического аппарата, в результате чего можно сделать оценку характера индуцируемых нарушений структуры ДНК, поскольку повреждения от галактического излучения качественно и количественно отличаются от воздействий электромагнитных видов ионизирующих излучений. Надо точно знать, какие мутации возникают и насколько они опасны, оценить вероятность возникновения раковых заболеваний и риск возникновения катаракты, оценить риск повреждения структур мозга, поскольку воздействие тяжелых заряженных частиц может привести к нарушению важных функций центральной нервной

системы. Решение всех этих вопросов — это фундаментальные радиобиологические исследования на ускорителях многозарядных ионов высоких энергий. Тяжелые заряженные частицы являются уникальным инструментом, позволяющим решать многие вопросы организации живых систем. Радиобиология тяжелых заряженных частиц — новая радиационная биология, отличная от классической, имеющей дело с электромагнитным излучением. Сейчас разрабатываются эффективные методы радиобиологических исследований, и можно ожидать решения не только вопросов прикладного характера, связанных, например, с полетом на Марс, но и решения фундаментальных проблем, которыми занимается радиационная генетика как часть Life science — наук о Земле.

В Лаборатории радиационной биологии новые устремления связаны с работой Отделения физиологии РАН. Большой импульс для развития радиобиологических исследований в лаборатории дала выездная сессия бюро Отделения, проходившая летом 2013 г. в Дубне. Работа сессии была направлена на разработку новой концепции радиационной безопасности при пилотируемых межпланетных полетах. Речь шла о формировании новых взглядов на решение проблемы «радиационного барьера» при полетах человека к другим планетам, о принципиальной возможности таких полетов на современном этапе развития космической техники. В отличие от устоявшихся взглядов, которыми до настоящего времени руководствуются специалисты NASA, европейского и других космических агентств, когда риск радиационного воздействия рассматривается как вероятность возникновения прежде всего раковых заболеваний в результате отдаленных эффектов облучения, в ЛРБ разрабатываются новые подходы к решению проблемы.

Концепция радиационного риска для космонавтов в условиях орбитального и межпланетного полетов, используемая в настоящее время, основана на введении обобщенного дозиметрического функционала в качестве критерия и количественной меры радиационной опасности. Обобщенная доза складывается из доз облучения, вызывающих непосредственные и отдаленные эффекты. Ближайшие радиационно-индуцированные эффекты возникают в ходе полета, а отдаленные нарушения формируются в течение последующей жизни. При расчете дозы для ближайших и отдаленных эффектов облучения вводятся коэффициенты, учитывающие влияние на радиобиологический эффект качества излучения (куда входят и тяжелые заряженные частицы различных энергий), коэффициенты, учитывающие распределение дозы во времени, распределение дозы по телу человека, и коэффициенты модификации лучевой реакции организма за счет других факторов космического полета. Однако такой подход к оценке неприемлем для полетов на другие планеты. Это связано с тем, что действие тяжелых ядер отличается от воздействия излучений электромагнитной природы: прохождение трека только одной частицы можно сравнить с прохождением «пули», выделяющей огромное количество локальной энергии, тогда как второе — с электромагнитным «дождем». Действие тяжелых заряженных частиц на структуры мозга в дозах, соответствующих реальным потокам тяжелых частиц при полете к Марсу, вызывают выраженные

нарушения пространственной ориентации, нарушения когнитивных функций. Было выяснено, что тяжелые ионы повреждают важнейшую структуру мозга, ответственную за формирование оперативной памяти, — гиппокамп. В этом отделе центральной нервной системы постоянно происходит нейрогенез — образование новых нейронов, участвующих в формировании «оперативной» и «долговременной» памяти. С учетом новейших результатов, полученных нейрофизиологами, необходимо пересмотреть ранее разработанные концепции, связанные с оценкой риска облучения экипажей при межпланетных полетах. Изучение нейрофизиологических эффектов космических излучений становится одной из главных задач, сложной и интересной, требующей широкого спектра исследований — от повреждений генетических структур до изучения нарушений высших поведенческих функций.

Первые шаги в этом направлении предприняты ЛРБ в 2013 г., когда на медицинском пучке фазотрона ЛЯП с энергией 170 МэВ и на пучке ядер углерода нуклотрона ЛФВЭ с энергией 500 МэВ/нуклон были облучены по три макаки-резус, предоставленные ИМБП. Область головы (мозг) обезьян облучались поглощенной дозой 1 Гр. Животные предварительно обучались решению тестовых задач на компьютере. Целью экспериментов было выявление нарушений приобретенных ими навыков в результате воздействия на мозг тяжелых заряженных частиц со сравнительно небольшими значениями ЛПЭ. После облучения обезьяны возвращены в ИМБП для продолжения исследований.

Предстоит большая дальнейшая экспериментальная работа на ускорителях, поскольку вопросов здесь возникает очень много. Например, необходимо изучить повреждаемость в клетках генетических структур, которые контролируют синтез белков, участвующих в работе мембранных каналов и обеспечивающих взаимодействие нейронов между собой в синапсах. Радиобиологам лаборатории крайне нужно широкое сотрудничество со специалистами в области нейробиологии. Решить поставленную суперзадачу без такого сотрудничества в нашей стране будет крайне сложно.

С учетом новых планов, стоящих перед Лабораторией радиационной биологии, в начале 2015 г. была утверждена ее новая структура.

Отдел радиационной биологии и физиологии включает пять секторов и одну группу, в задачи которых входят:

- исследования механизмов формирования молекулярных нарушений структуры ДНК и их репарации при действии тяжелых заряженных частиц различных энергий;
- исследования закономерностей и механизмов образования генных и структурных мутаций в клетках высших и низших эукариот при действии тяжелых заряженных частиц; выяснение механизма «генетической нестабильности» клеток млекопитающих и человека;
- исследование механизмов повреждения и восстановления морфологических и функциональных нарушений в различных отделах центральной

нервной системы и сетчатке глаза при действии тяжелых заряженных частиц высоких энергий;

- математическое моделирование радиационно-индуцированных эффектов ионизирующих излучений с разной ЛПЭ на молекулярном и клеточном уровнях;

- разработка и анализ математических моделей молекулярных механизмов нарушений структуры и функций центральной нервной системы в результате действия заряженных частиц высоких энергий.

Сектор молекулярной радиобиологии. Задачи сектора:

- изучение закономерностей формирования повреждений ДНК в клетках млекопитающих и человека при действии ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками с использованием флуоресцентной микроскопии, иммуноцитохимических, цитометрических и молекулярно-биологических методов;

- изучение закономерностей и механизмов репарации повреждений ДНК в клетках млекопитающих и человека при действии ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками с использованием флуоресцентной микроскопии, иммуноцитохимических, цитометрических и молекулярно-биологических методов;

- изучение закономерностей функционирования белков, участвующих в формировании клеточного ответа на радиационное воздействие (репарация ДНК, апоптоз), методами цитометрии и ПЦР.

Сектор радиационной цитологии. Задачи сектора:

- изучение действия редко- и плотноионизирующих излучений на клетки млекопитающих и человека, в том числе исследование биологических эффектов малых доз ионизирующих излучений разного качества и механизмов их реализации в нормальных и опухолевых клетках; оценка первичных повреждений и хромосомных aberrаций, индуцированных излучениями разного качества;

- исследование мутагенного действия редко- и плотноионизирующих излучений на клетки млекопитающих и человека; анализ хромосомной и геномной нестабильности в отдаленные сроки после облучения.

Сектор радиационной физиологии. Задачи сектора:

- исследования морфологических и цитологических нарушений в центральной нервной системе млекопитающих при действии ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками;

- исследования функциональных нарушений в центральной нервной системе млекопитающих при действии ускоренных заряженных частиц различных энергий;

- исследования морфофункциональных нарушений в сетчатке глаза млекопитающих при действии ионизирующих излучений электромагнитной и корпускулярной природы.

Сектор радиационной нейрoхимии. Задачи сектора:

- изучение нейрoхимических нарушений в различных отделах центральной нервной системы лабораторных животных при действии ионизирующих излучений разного качества;
- исследование нарушений поведения, дискриминантного обучения и вызванных потенциалов у лабораторных животных после воздействия различных видов ионизирующих излучений;
- исследование коррелятивных связей между нейрoхимическими нарушениями в различных отделах центральной нервной системы и модификацией поведенческих функций при действии ионизирующих излучений.

Сектор математического моделирования радиационно-индуцированных эффектов. Задачей сектора является математическое моделирование радиационно-индуцированных эффектов на молекулярном и клеточном уровне, в частности:

- моделирование повреждений структуры ДНК излучениями с разными физическими характеристиками;
- моделирование мутагенного воздействия ионизирующих излучений с различной линейной передачей энергии в клетках млекопитающих и человека;
- моделирование молекулярных механизмов нарушений структуры и функций центральной нервной системы в результате действия ионизирующих излучений.

Группа радиационной генетики низших эукариот. Задачи группы:

- исследование механизмов мутагенного действия ионизирующего излучения разного качества на клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*;
- изучение закономерностей возникновения генных и структурных мутаций у дрожжевых клеток при действии излучений с разной линейной передачей энергии;
- исследование влияния на мутагенез дрожжевых клеток генетических и физиологических факторов.

Отдел радиационных исследований. Задачи отдела:

- теоретические и экспериментальные исследования взаимодействия ионизирующего излучения с веществом, моделирование радиационных эффектов в веществе;
- развитие методов расчета транспорта излучений в веществе, расчет защит ядерно-физических установок и космических аппаратов, расчет откликов детекторов (приборов) для регистрации излучений;
- участие в экспертизе проектов ядерно-физических установок и крупных экспериментальных установок в части радиационной безопасности;
- экспериментальные исследования по физике защиты и дозиметрии на ядерно-физических установках ОИЯИ, разработка и совершенствование средств радиационных измерений;
- физическая поддержка радиобиологических исследований на пучках заряженных частиц ядерно-физических установок ОИЯИ;

- участие в работах по тематике ядерной планетологии совместно с ЛНФ ОИЯИ и ИКИ РАН.

Группа моделирования взаимодействий ионизирующих излучений с веществом. Задачи группы:

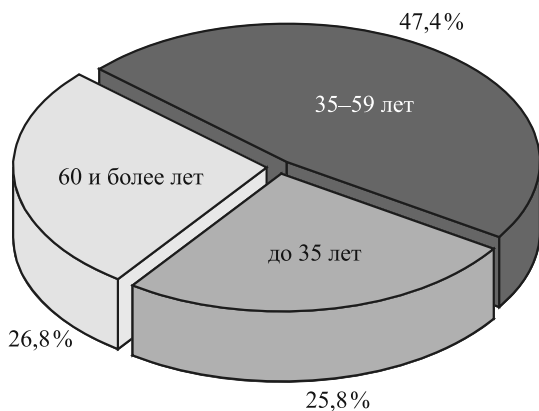
- освоение и внедрение современных методов расчета транспорта излучений в веществе и наведенной активности, моделирование радиационных эффектов в веществе;
- расчет защит ядерно-физических установок и космических аппаратов, экспертиза проектов ядерно-физических установок и крупных экспериментальных установок в части радиационной безопасности;
- расчет откликов радиационных детекторов (приборов) к ионизирующим излучениям.

Группа исследований радиационных полей базовых установок ОИЯИ и окружающей среды. Задачи группы:

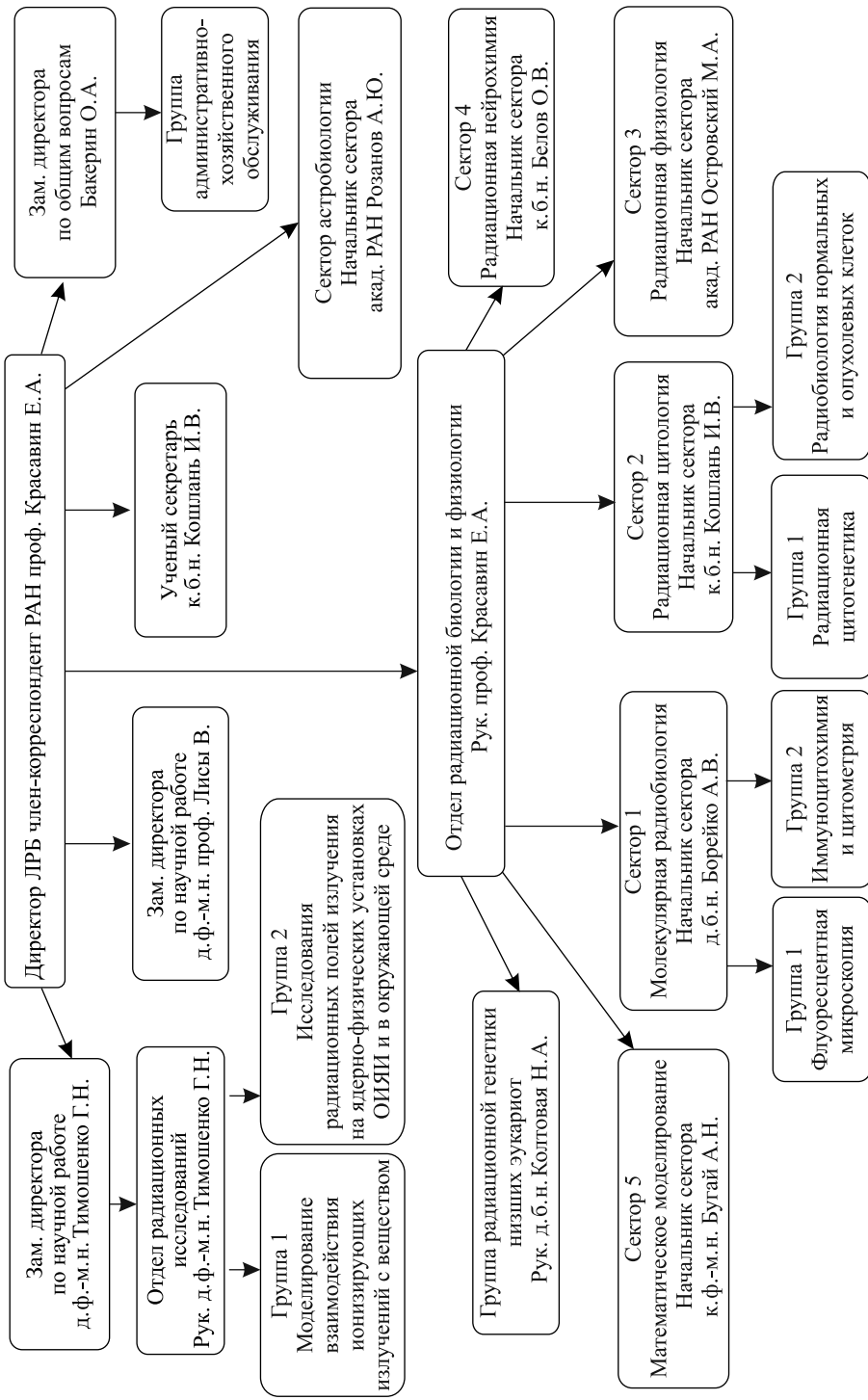
- исследование характеристик полей излучения на базовых ядерно-физических установках ОИЯИ и в окружающей среде;
- разработка и совершенствование средств радиационных измерений;
- физическая поддержка радиобиологических экспериментов на базовых физических установках ОИЯИ;
- участие в работах по тематике ядерной планетологии совместно с ЛНФ ОИЯИ и ИКИ РАН.

Сектор астробиологии. Основная научная задача сектора состоит в биологическом и геохимическом исследовании ранних этапов развития Земли, в исследовании космического вещества на Земле и в ближайшем космосе, в том числе:

- в комплексном исследовании биологических проявлений и геохимических особенностей на ранней Земле;
- в комплексном исследовании космической пыли;
- в комплексном исследовании метеоритов;
- в изучении космического вещества в межпланетном пространстве, на кометах, астероидах и планетах;
- в изучении ранних стадий формирования органических соединений во Вселенной.



В настоящее время в ЛРБ работают 2 действительных члена РАН, 1 член-корреспондент РАН, 6 докторов биологических наук, 2 доктора медицинских наук, 2 доктора физико-математических наук, 9 кандидатов биологических наук, 8 кандидатов физико-математических наук. Средний возраст сотрудников Лаборатории представлен на диаграмме.



ПРИЛОЖЕНИЯ

Список кандидатских диссертаций сотрудников ЛРБ

1) 1971 г. Красавин Е. А. «Радиобиологические эффекты тяжелых ионов и изучение воздействия модифицирующих факторов». Ученая степень кандидата медицинских наук. Диссертационный совет Института медико-биологических проблем МЗ СССР, Москва.

2) 1972 г. Говорун Р. Д. «Цитогенетическая характеристика биологического действия протонов с энергией 50, 120, 645 МэВ и гамма-лучей на костный мозг животных (к оценке радиационной опасности космических полетов)». Ученая степень кандидата биологических наук. Диссертационный совет Института медико-биологических проблем МЗ СССР, Москва.

3) 1983 г. Колтовая Н. А. «Генетическое изучение изменчивости митохондриального генома дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*». Ученая степень кандидата биологических наук. Специализированный совет при Институте общей генетики АН СССР, Москва.

4) 1985 г. Амиртаев К. Г. «Закономерности действия на клетки ионизирующих излучений, различающихся по ЛПЭ (исследования на *Escherichia coli*)». Ученая степень кандидата биологических наук. Специализированный совет по радиобиологии при Всесоюзном НИИ сельскохозяйственной радиологии, Обнинск.

5) 1987 г. Лобачевский П. Н. «Чувствительность клеток дрожжей к действию ионизирующих излучений, различающихся по ЛПЭ, и фактор плоидности». Ученая степень кандидата биологических наук. Специализированный совет по радиобиологии при Всесоюзном НИИ сельскохозяйственной радиологии, Обнинск.

6) 1988 г. Лисы В. Н. «Статические и динамические свойства частиц с внутренней динамикой». Ученая степень кандидата физико-математических наук. Диссертационный совет ЛТФ ОИЯИ, Дубна.

7) 1988 г. Чепурной А. И. «Зависимость спонтанного и индуцированного облучением мутагенеза у *Saccharomyces cerevisiae* от фазы роста и фазы клеточного цикла». Ученая степень кандидата биологических наук.

Специализированный совет по радиобиологии при Всесоюзном НИИ сельскохозяйственной радиологии, Обнинск.

8) 1989 г. Бонев М. Н. «Закономерности индукции профага лямбда у клеток *Escherichia coli* излучениями с разной ЛПЭ». Ученая степень кандидата биологических наук. Специализированный совет при Институте проблем онкологии АН УССР, Киев.

9) 1989 г. Токарова Б. «Закономерности мутагенного действия излучений с разной ЛПЭ на клетки *Escherichia coli*». Ученая степень кандидата биологических наук. Специализированный совет при Институте проблем онкологии АН УССР, Киев.

10) 1989 г. Корогодина В. Л. «Влияние содержания аденина в питательной среде на частоту возникновения реверсов у гаплоидных дрожжей». Ученая степень кандидата биологических наук. Специализированный совет при Всесоюзном НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва.

11) 1990 г. Александрова М. В. «Распределение умеренных повторов и сайтов радиационно-индуцированного хромосомного мутагенеза в геноме *Drosophila melanogaster*». Ученая степень кандидата биологических наук. Специализированный совет по радиобиологии при Всесоюзном НИИ сельскохозяйственной радиологии, Обнинск.

12) 1991 г. Насонова Е. А. «Летальное и цитогенетическое действие ускоренных тяжелых ионов на клетки млекопитающих в условиях влияния ингибиторов синтеза ДНК». Ученая степень кандидата биологических наук. Специализированный совет по радиобиологии при Всесоюзном НИИ сельскохозяйственной радиологии, Обнинск.

13) 1991 г. Борейко А. В. «Постгипертермическое и пострadiационное восстановление дрожжевых клеток (сравнительный анализ)». Ученая степень кандидата биологических наук. Специализированный совет по радиобиологии при Всесоюзном НИИ сельскохозяйственной радиологии, Обнинск.

14) 1991 г. Баша С. Г. «Закономерности мутагенного действия излучений с разной ЛПЭ на клетки *Salmonella typhimurium* в условиях влияния радиомодификаторов». Ученая степень кандидата биологических наук. Специализированный совет по радиобиологии при Всесоюзном НИИ сельскохозяйственной радиологии, Обнинск.

15) 1993 г. Сапогов А. С. «Некоторые закономерности воздействия магнитных полей на семена злаков». Ученая степень кандидата биологических наук. Диссертационный совет Агрофизического НИИ, Санкт-Петербург.

16) 1998 г. Зюзиков Н. А. «Реакция популяций дрожжевых клеток на длительное воздействие излучением». Ученая степень кандидата биологических наук. Специализированный совет по радиобиологии при Всесоюзном НИИ сельскохозяйственной радиологии, Обнинск.

17) 1998 г. Мокров Ю. В. «Разработка методов и средств метрологического обеспечения радиационного контроля нейтронного излучения на ускорителях и импульсных реакторах». Ученая степень кандидата технических наук. Диссертационный совет Всероссийского НИИ физико-технических и радиотехнических исследований (ВНИИФТРИ), пос. Менделеево Московской обл.

18) 1999 г. Аксенов С. В. «Математическое моделирование генетической регуляторной системы SOS-ответа у бактерий *Escherichia coli*». Ученая степень кандидата физико-математических наук. Диссертационный совет МГУ, физический факультет, Москва.

19) 2000 г. Репин М. В. «Стабильные и нестабильные хромосомные аберрации в лимфоцитах крови человека, индуцируемые излучениями с разными ЛПЭ». Ученая степень кандидата биологических наук. Диссертационный совет по радиобиологии при Всероссийском НИИСХРАЭ РАСХН, Обнинск.

20) 2002 г. Кошлань И. В. «Мутагенное действие излучений с разной ЛПЭ на клетки млекопитающих и хромосомная нестабильность HPRT-мутантных субклонов». Ученая степень кандидата биологических наук. Диссертационный совет МГУ, биологический факультет, Москва.

21) 2002 г. Комова О. В. «Закономерности SOS-индукции в клетках бактерий *Escherichia coli* при действии ультрафиолетового света и ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками». Ученая степень кандидата биологических наук. Диссертационный совет МГУ, биологический факультет, Москва.

22) 2002 г. Куцало П. В. «Экспериментальное обоснование мишенной терапии и диагностики пигментной меланомы с использованием α - и β -излучающих радионуклидов». Ученая степень кандидата биологических наук. Диссертационный совет МГУ, биологический факультет, Москва.

23) 2004 г. Журавель Д. В. «Закономерности эксцизии транспозонов при действии излучений с разными физическими характеристиками». Ученая степень кандидата биологических наук. Диссертационный совет МГУ, биологический факультет, Москва.

24) 2010 г. Белов О. В. «Математическое моделирование индуцированного мутационного процесса в клетках *Escherichia coli* при действии ультрафиолетового излучения». Ученая степень кандидата биологических наук. Диссертационный совет МГУ, биологический факультет, Москва.

25) 2012 г. Зайцева Е. М. «Цитогенетическое действие протонного терапевтического пучка с энергией 170 МэВ на клетки человека». Ученая степень кандидата биологических наук. Диссертационный совет при ФГБУ «Медицинский радиологический научный центр» Министерства здравоохранения и социального развития РФ, Обнинск.

Список докторских диссертаций сотрудников ЛРБ

1) 1985 г. Красавин Е. А. «Механизмы, определяющие различия в биологической эффективности излучений с разными физическими характеристиками». Ученая степень доктора биологических наук. Специализированный совет при Институте проблем онкологии АН УССР, Киев.

2) 1989 г. Глазунов А. В. «Репарация лучевых повреждений и радиочувствительность клеток». Ученая степень доктора биологических наук. Специализированный совет по радиобиологии при Всесоюзном НИИ сельскохозяйственной радиологии, Обнинск.

3) 1989 г. Козубек С. «Закономерности и механизмы мутагенного действия ионизирующих излучений с разной линейной передачей энергии на клетки прокариот». Ученая степень доктора биологических наук. Специализированный совет при Институте проблем онкологии АН УССР, Киев.

4) 1991 г. Александров И. Д. «Радиационный локус-специфический мутагенез у *Drosophila melanogaster*». Ученая степень доктора биологических наук. Специализированный совет по радиобиологии при Всесоюзном НИИ сельскохозяйственной радиологии, Обнинск.

5) 2005 г. Борейко А. В. «Генетическое действие ускоренных тяжелых ионов». Ученая степень доктора биологических наук. Диссертационный совет МГУ, биологический факультет, Москва.

6) 2005 г. Тимошенко Г. Н. «Радиометрия нуклонов в полях излучений, генерируемых ускорителями тяжелых заряженных частиц». Ученая степень доктора физико-математических наук. Диссертационный совет ЛФВЭ ОИЯИ, Дубна.

7) 2006 г. Колтовая Н. А. «Регуляторные гены, опосредующие генетическую стабильность и радиочувствительность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*». Ученая степень доктора биологических наук. Диссертационный совет МГУ, биологический факультет, Москва.

8) 2007 г. Алтайский М. В. «Вейвлет-преобразование в теории случайных процессов и квантовой теории поля». Ученая степень доктора физико-математических наук. Диссертационный совет Института космических исследований РАН, Москва.

Премии ОИЯИ, присужденные сотрудникам ЛРБ

1981. Р.-Д. Арльт, В. С. Евсеев, А. Л. Карповский, Е. А. Красавин, Т. Н. Мамедов, А. Минкова, Х.-Г. Ортлепп, В. С. Роганов, Б. М. Сабиров, П. Экштейн. «Элементный анализ живых организмов по мезорентгеновскому излучению (мюонная диагностика)».

Научно-технические прикладные работы. Вторая премия.

1987. К. Г. Амиртаев, Р. Д. Говорун, С. Козубек, В. И. Корогодин, Е. А. Красавин, П. Н. Лобачевский, Е. А. Насонова, Б. Токарова, А. П. Череватенко. «Механизмы действия на клетки ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками».

Научно-технические прикладные работы. Первая премия.

1991. М. Н. Бонев, С. Козубек, Е. А. Красавин, М. М. Огиевецкая, Б. Токарова. «Исследование мутагенного действия ионизирующих излучений с разными физическими характеристиками».

Научно-технические прикладные работы. Первая премия.

1999. Р. Д. Говорун, И. В. Кошлань, Н. А. Кошлань, Е. А. Красавин, М. В. Репин, Т. А. Фадеева, Н. Л. Шмакова. «Мутагенное действие излучений с разной линейной передачей энергии на клетки млекопитающих» (цикл статей).

В области экспериментальной физики. Поощрительная премия.

2008. О. В. Белов, А. В. Борейко, Н. А. Колтовая, Е. А. Красавин, А. Ю. Пархоменко. «Механизмы мутационного процесса у микроорганизмов при действии излучений с разными физическими характеристиками».

В области экспериментальной физики. Вторая премия.

2009. О. В. Комова, Е. А. Красавин, Л. А. Мельникова, Е. А. Насонова, Т. А. Фадеева, Н. Л. Шмакова. «Цитогенетические эффекты малых доз ионизирующей радиации».

В области научно-технических прикладных исследований. Первая премия.

2010. М. А. Островский, Х. Т. Холмуродов, Т. Б. Фельдман. «Применение метода молекулярной динамики к исследованию состояния светочувствительного белка родопсина зрительных клеток сетчатки глаза при темновой адаптации».

В области научно-технических прикладных исследований. Вторая премия.

2011. В. Е. Алейников, Л. Г. Бескровная, Ю. В. Мокров. «Исследование адекватности показаний дозиметров нейтронов новым дозиметрическим величинам при проведении радиационного контроля на ядерно-физических установках ОИЯИ».

В области научно-технических прикладных исследований. Вторая премия.

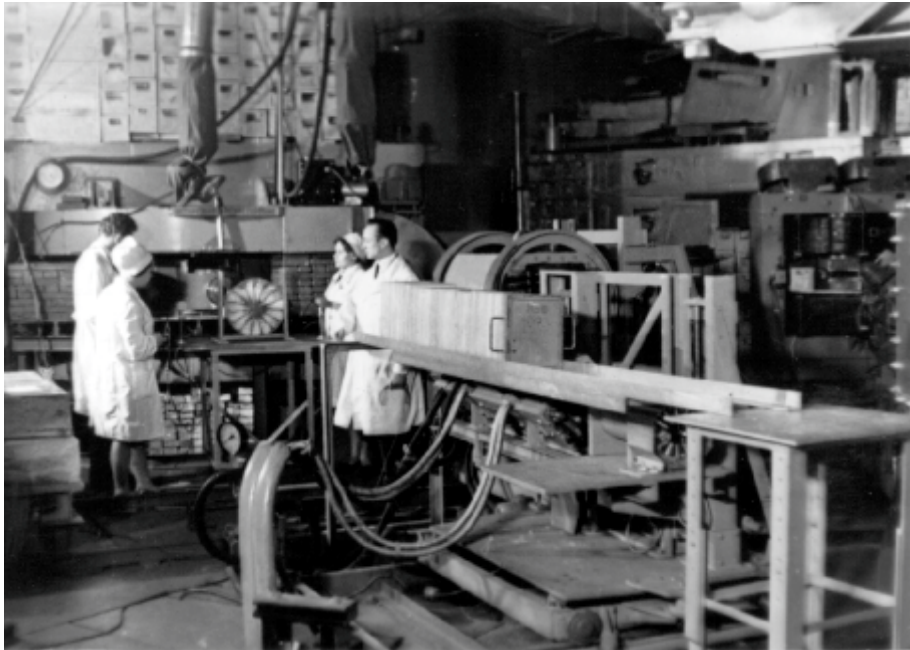


Визит специалистов ИМБП МЗ СССР во главе с директором института академиком В. В. Париным на синхроциклотрон ЛЯП (в центре группы академик В. В. Парин и директор ЛЯП член-корреспондент АН СССР В. П. Дзелепов). 1968 г.

A visit by specialists of the Institute of Biomedical Problems (IBMP) (the USSR Ministry of Health) to the Synchrocyclotron, the Laboratory of Nuclear Problems (LNP). Center: IBMP Director V. V. Parin, Academician of the USSR Academy of Sciences, and LNP Director V. P. Dzheleпов, Corresponding Member of the USSR Academy of Sciences. 1968

Директор ИМБП МЗ СССР академик АН СССР О. Г. Газенко и директор ЛЯП ОИЯИ член-корреспондент АН СССР В. П. Дзелепов
IBMP Director O. G. Gzenko, Academician of the USSR Academy of Sciences,
and LNP JINR Director V. P. Dzheleпов,
Corresponding Member of the USSR Academy of Sciences

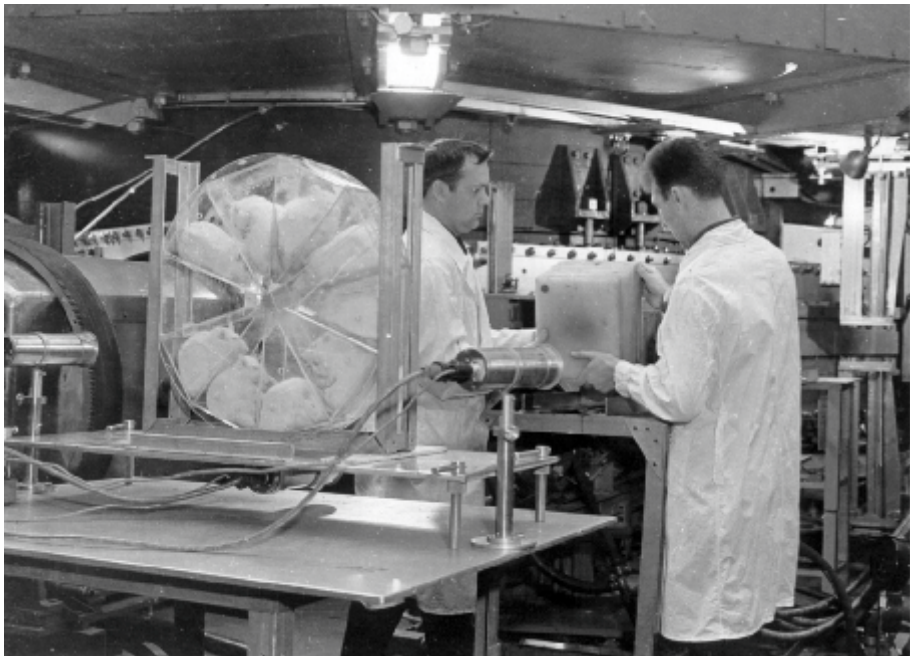




Первые радиобиологические эксперименты
на синхроциклотроне ЛЯП ОИЯИ. 1965 г.

The first radiobiological experiments at the Synchrocyclotron, LNP JINR. 1965

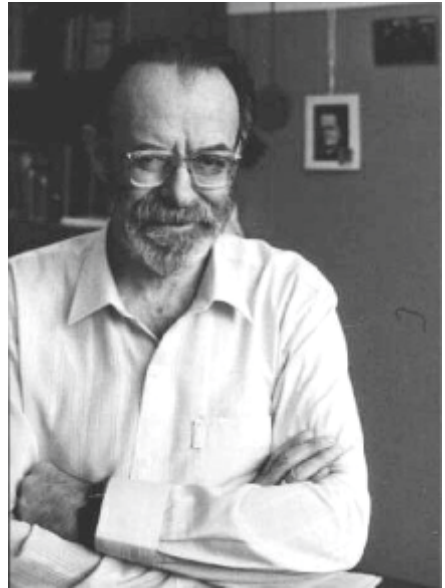
Подготовка животных к облучению на синхроциклотроне ЛЯП ОИЯИ, 1960-е гг.
Preparation of animals for irradiation at the Synchrocyclotron, LNP JINR. 1960s





Начальник отдела
синхроциклотрона ЛЯП доктор
физико-математических наук
В. И. Данилов. 1980-е гг.

Head of the LNP Synchrocyclotron
Department V. I. Danilov,
Dr. Phys. and Math. 1980s



Начальник сектора
биологических исследований ЛЯП
профессор В. И. Корогодин. 1979 г.

Head of the Biological Research Sector,
LNP, Prof. V. I. Korogodin. 1979

Обсуждение результатов радиобиоло-
гических экспериментов с ускоренными
тяжелыми ионами. С. Козубек
(Чехословакия), А. П. Череватенко (СССР),
М. Бонев (Болгария). 1980-е гг.

Discussion of the results of accelerated
heavy ion radiobiological experiments.
S. Kozubek (Czechoslovakia),
A. P. Cherevatenko (USSR),
M. Bonev (Bulgaria). 1980s



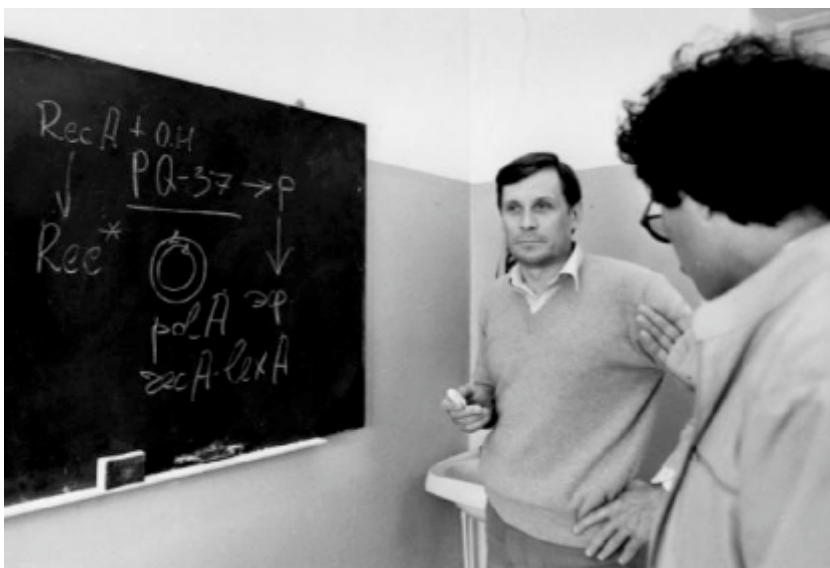


Эксперименты по изучению радиационного мутагенеза у бактерий.
Доктор М. Бонев (Болгария). 1980-е гг.

Experiments on studying radiation mutagenesis in bacteria.
Dr. M. Bonev (Bulgaria). 1980s

Обсуждение результатов экспериментов с бактериальными клетками.
Е. А. Красавин, К. Г. Амиртаев (СССР). 1980-е гг.

Discussion of the results of bacterial cell experiments.
E. A. Krasavin, K. G. Amirtaev (USSR). 1980s

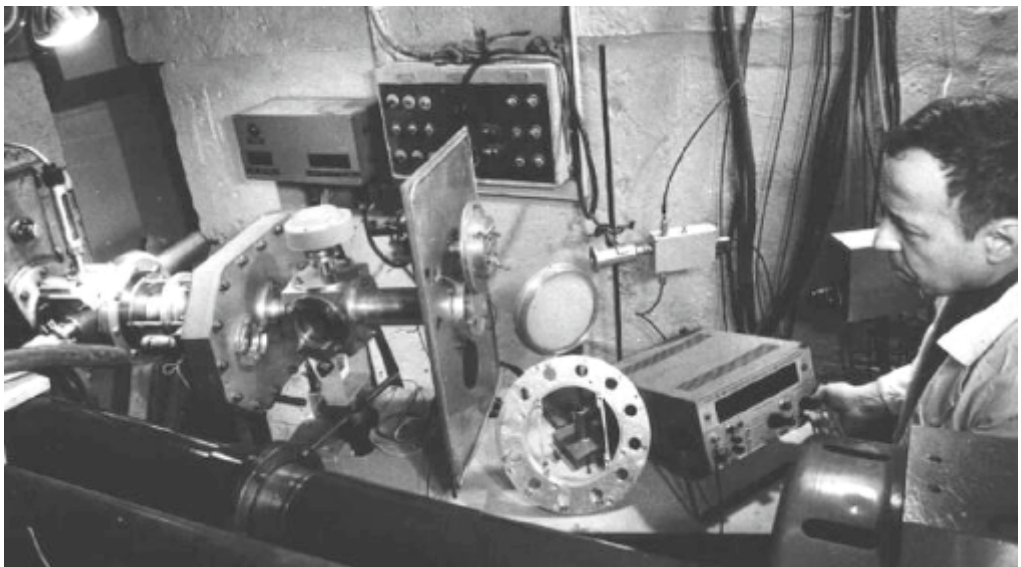


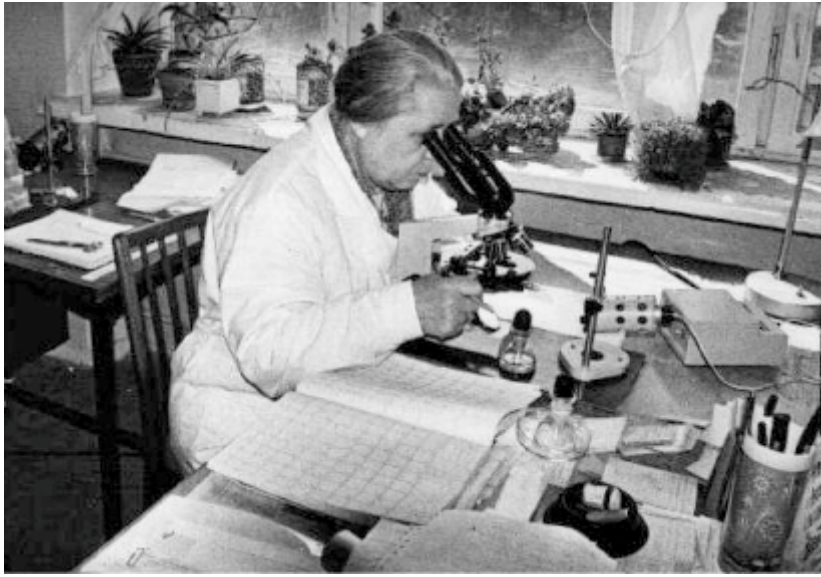


Интернациональная группа радиобиологии микроорганизмов. 1980-е гг.
International Group of Microorganism Radiobiology. 1980s

Ведущий инженер А. П. Череватенко – разработчик установки «Геном»
для облучения биообъектов на ускорителе У-200. 1980-е гг.

Leading Engineer A. P. Cherevatenko, the designer of the Genome facility
for irradiation of biological objects at the U-200 accelerator. 1980s





Кандидат биологических наук цитогенетик Р. Д. Говорун проводит анализ облученных клеток. 1980-е гг.

Cytogeneticist R. D. Govorun, Cand. Biol., is studying irradiated cells. 1980s

Группа радиобиологов после вручения первой премии ОИЯИ вместе с директором ЛЯП В. П. Дзелеповым. 1987 г.

A group of radiobiologists and LNP Director V. P. Dzhelepov (first row, left) after receiving the JINR First Prize. 1987





Первые монографии по радиационной биологии тяжелых ионов

The first monographs on heavy ion radiation biology (in Russian):
“The Problem of Relative Biological Effectiveness and DNA Repair” by E. A. Krasavin
(M.: Energoatomizdat, 1989); “The Mutagenic Action of Radiations with Different
Linear Energy Transfer” by E. A. Krasavin, S. Kozubek (M.: Energoatomizdat, 1991)



Визит в Дубну профессора К. Тобайеса (США, Беркли). Справа Е. А. Красавин. 1972 г.
A visit by Prof. C. Tobias (Berkeley, the U. S.) to Dubna. On the right E. A. Krasavin. 1972

Визит доктора Т. Янга (NASA) на конференцию в Дубну. 1986 г.
A visit by Dr. T. Yang (NASA) to a conference in Dubna. 1986





Международная конференция COSPAR. Коллоквиум «Радиационная безопасность пилотируемого полета к Марсу». Дубна, 2003 г.

Colloquium "Radiation safety of the manned flight to the Mars" as part of the international COSPAR conference. Dubna, 2003

Эксперимент с культурой клеток млекопитающих. 1980-е гг.
An experiment with a mammalian cell culture. 1980s





Советник директора ЛРБ, основатель отдела радиационной безопасности и радиационных исследований ОИЯИ
кандидат физико-математических наук М. М. Комочков

Adviser to the LRB Director, the founder of JINR's Department
of Radiation Protection and Radiation Research
M. M. Komochkov, Cand. Phys. and Math.

Группа физиков в ходе радиобиологического эксперимента
на синхрофазотроне. 1990-е гг.

A group of physicists at a radiobiological experiment at the Synchrophasotron. 1990s

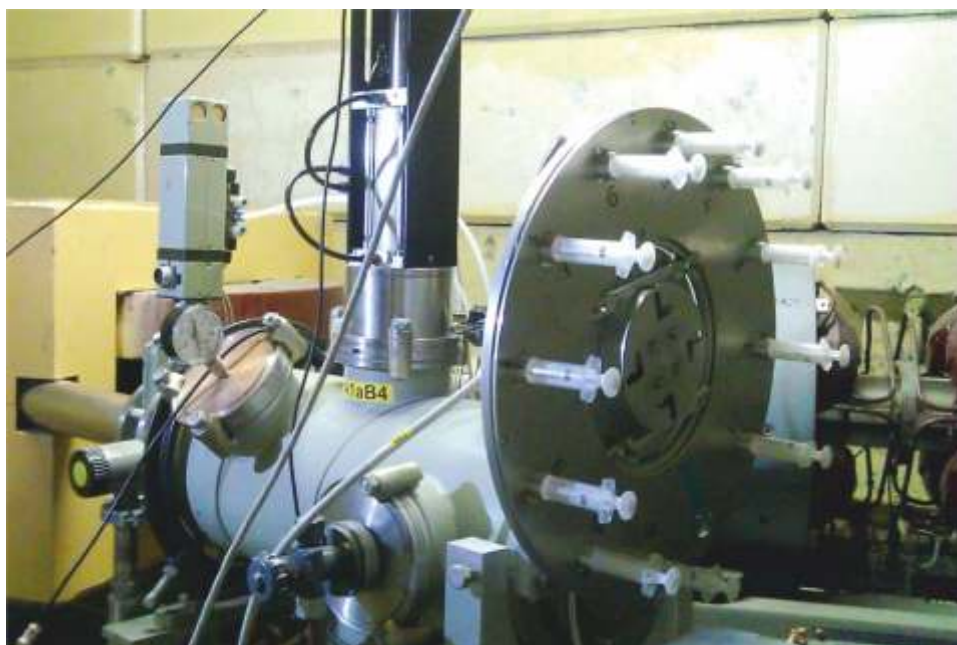




Доктор физико-математических наук Г. Н. Тимошенко и сотрудник из Словакии Й. Мартинкович готовят оборудование для радиобиологического эксперимента на нуклотроне. 1990-е гг.

G. N. Timoshenko, Dr. Phys. and Math., and J. Martinkovič (Slovakia) are preparing equipment for a radiobiological experiment at the Nuclotron. 1990s

Общий вид установки «Геном-М» для облучения клеток на циклотроне У-400М
A general view of the Genome-M facility for cell irradiation at the U-400M cyclotron





Оборудование для облучения приматов на ускорителе нуклотрон
Equipment for primate irradiation at the Nuclotron

Эксперимент по облучению приматов
протонами на медицинском пучке ЛЯП. 2013 г.

An experiment on primate irradiation with protons at the LNP medical beam. 2013





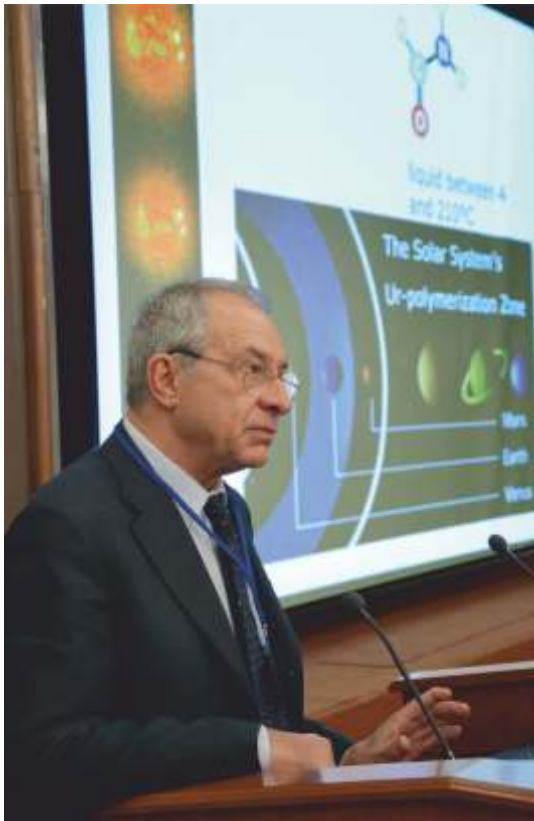
Отбор проб для оценки радиоактивности окружающей среды. 2000-е гг.
Sampling for the evaluation of environmental radioactivity. 2000s



Академики РАН М. А. Островский и А. Ю. Розанов на конференции по астробиологии. Дубна, 2011 г.

Academicians of the Russian Academy of Sciences (RAS) M. A. Ostrovsky (left) and A. Yu. Rozanov at a conference on astrobiology. Dubna, 2011

Академик РАН В. Г. Кадышевский
RAS Acad. V. G. Kadyshevsky



Профессор Э. Ди Мауро
(Университет Ла Сапиенца, Рим)
на конференции по астробиологии.
Дубна, 2011 г.

Prof. E. Di Mauro
(La Sapienza University, Rome)
at a conference on astrobiology.
Dubna, 2011



Профессор Р. Саладино
(Тосканский университет,
Витербо, Италия)
на конференции по астробиологии.
Дубна, 2011 г.

Prof. R. Saladino
(Tuscia University, Viterbo, Italy)
at a conference on astrobiology.
Dubna, 2011

Круглый стол Италия–Россия «Астробиология: новые идеи и тенденции в исследованиях». Дубна, 2011 г.

The Italian–Russian round-table meeting on new ideas and research trends in astrobiology. Dubna, 2011





Открытие конференции «Актуальные вопросы радиационной безопасности длительных космических полетов» (К 50-летию первого полета человека в космос).
В центре Герой России летчик-космонавт С. В. Авдеев. Дубна, 2011 г.

Opening of the conference “Topical Issues of the Radiation Safety of Long-Term Space Flights” (timed to the 50th anniversary of the first manned space flight).
Center: cosmonaut S. V. Avdeev, Hero of Russia. Dubna, 2011



Открытие выездной сессии бюро Отделения физиологии и фундаментальной медицины РАН. Дубна, 2012 г.

Opening of a visiting session of the Bureau of the RAS Department of Physiology and Fundamental Medicine. Dubna, 2012



Приветственное слово
вице-президента РАН
академика А. И. Григорьева
на открытии выездной сессии бюро
Отделения физиологии
и фундаментальной медицины РАН.
Дубна, 2012 г.

Welcoming speech of the
RAS Vice-President
Acad. A. I. Grigoryev
at the opening of a visiting session
of the Bureau of the RAS Department
of Physiology and Fundamental Medicine.
Dubna, 2012

Вступительное слово директора ОИЯИ
академика РАН В. А. Матвеева
на открытии выездной сессии бюро
Отделения физиологии
и фундаментальной медицины РАН.
Дубна, 2012 г.

The opening speech by JINR Director
V. A. Matveev, Acad. RAS,
at a visiting session of the Bureau
of the RAS Department
of Physiology and Fundamental Medicine.
Dubna, 2012



Выступление академика-секретаря
Отделения физиологии
и фундаментальной медицины РАН
академика Ю. В. Наточина
на выездной сессии бюро Отделения
физиологии и фундаментальной
медицины РАН. Дубна, 2012 г.

Secretary Academician
of the RAS Department of Physiology
and Fundamental Medicine
Acad. Yu. V. Natochin addresses
a visiting session of the Bureau
of the RAS Department of Physiology
and Fundamental Medicine. Dubna, 2012



Эксперименты в группе молекулярной радиобиологии. 2010-е гг.
Experiments at the Molecular Radiobiology Group. 2010s



Работа в стерильном боксе
с культурой клеток
млекопитающих. 2010-е гг.

Working in a sterile box
with a mammalian
cell culture. 2010s



Цитологический анализ
облученных образцов
клеток млекопитающих.
2010-е гг.

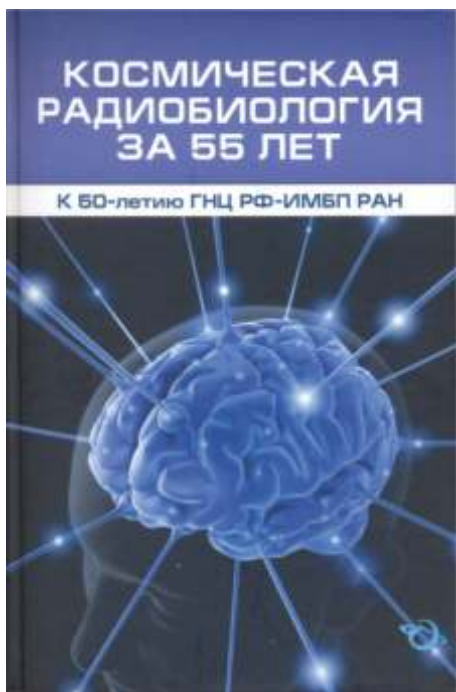
Cytological studies
of irradiated
mammalian cells. 2010s





Заведующий кафедрой биофизики университета «Дубна» профессор Е. А. Красавин с выпускниками кафедры после защиты дипломных проектов. 2010 г.

Head of the Department of Biophysics at Dubna University Prof. E. A. Krasavin with the Department's graduates after diploma thesis defense. 2010



Монография Ю. Г. Григорьева, И. Б. Ушакова, Е. А. Красавина, Б. И. Давыдова, А. В. Шафиркина «Космическая радиобиология за 55 лет» (М., 2013).

На фото справа директор ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН академик И. Б. Ушаков

The monograph “55 Years of Space Biology” by Yu. G. Grigoryev, I. B. Ushakov, E. A. Krasavin, B. I. Davydov, A. V. Shafirkin (M., 2013). On the right: Acad. I. B. Ushakov, Director of the RAS Institute of Biomedical Problems



Директор ЛРБ член-корреспондент РАН Е. А. Красавин
LRB Director E. A. Krasavin, RAS Corresponding Member

Заместитель директора ЛРБ по науке
доктор физико-математических наук
Г. Н. Тимошенко

LRB Deputy Director for Science
G. N. Timoshenko, Dr. Phys. and Math.



Заместитель директора ЛРБ по науке
профессор В. Лисы (Словакия)

LRB Deputy Director for Science
Prof. V. Lisy (Slovakia)



Лаборатория радиационной биологии Объединенного института ядерных исследований (вверху главный корпус, внизу корпус радиационной физиологии и астробиологии)

Top: The Main Building of the Laboratory of Radiation Biology, the Joint Institute for Nuclear Research. Bottom: The Radiation Physiology and Astrobiology Building of the Laboratory of Radiation Biology, the Joint Institute for Nuclear Research



INTRODUCTION

The Joint Institute for Nuclear Research (JINR) is a unique international scientific center hosting a diversity of nuclear physics facilities, which generate ionizing radiations with different physical characteristics. For many years, it has attracted specialists from many countries to conduct fundamental research not only in physics, but also in biology. Accelerated charged particles are an efficient tool for solving a lot of urgent problems of modern radiobiology.

Already at the early stages of radiation genetics, its classics N. V. Timofeev-Ressovsky, D. Lea, K. Zimmer and others pointed out the necessity and potential fruitfulness of using different ionizing radiations for solving *fundamental problems* of radiation biology and genetics, including clearing up the mechanisms of biological action of ionizing radiations and induced mutation process, and finding the physical events that trigger mutation formation. Classics of quantitative radiobiology repeatedly called for using ionizing radiations of different quality in genetic research. In this connection, N. V. Timofeev-Ressovsky wrote, “The elementary discrete changes in the elementary discrete components of the genotype (genes) of all the living organisms studied in this respect are induced by all types of ionizing radiation and form a one-hit dose–effect curve. Experiments with radiations of different dose rates and different hardness allowed quite a precise identification of the physical phenomenon that triggers mutations: a one-ionization hit into a certain effective volume.”

Indeed, the use of isotope alpha-sources and, later, neutron generators in radiobiological experiments allowed beginning the solution of a number of tasks within research on the mechanisms of the lethal action of ionizing radiations on cells of different organisms, biological effectiveness of radiations of different quality, and regularities of the induced mutation process. The emergence of charged particle accelerators — first of all, multicharged ion accelerators — opened wide opportunities for studying the most topical problems of modern radiation biology. The use of multicharged ion beams generated by JINR’s accelerators allowed the Institute’s specialists to solve one of the main issues of radiobiology: the problem of the relative biological effectiveness (RBE) of radiations of different quality.

The results of the Laboratory’s fundamental research carried out in past years were fruitful for solving numerous *practical tasks*. The accumulated experimental material is of very high value for high-energy corpuscular radiation therapy (proton and

carbon ion beams) of malignant neoplasms; however, further research on the RBE problem is needed. Accelerator-based radiobiological experiments are important for the *standardization of the radiation exposure* of staff working in mixed ionizing radiation fields, which is especially urgent due to the necessity of taking into account the stochastic effects induced by radiations with different linear energy transfer.

Plans for deep space exploration set new problems for specialists in *space radiobiology*. In this respect, *the use of JINR's basic facilities is considered as a unique opportunity for modeling the biological action of space radiations*. It is becoming clear that during manned interplanetary flights heavy charged particles that are part of the galactic cosmic rays will be highly dangerous for the crews. The energy range of the particles coming from the depth of the Galaxy is extremely wide as it extends to ultrahigh energies of the order of magnitude of 10^{20} eV. In the near-term outlook, it does not seem possible to provide protection of the organism from their damaging effect by physical shielding methods. Therefore, accelerator-based modeling of the biological action of space types of radiation will help solving these important practical problems of space radiobiology.

The book presents an account of the beginning and development of biological research at JINR's accelerators during several decades.

FIRST RADIOBIOLOGICAL EXPERIMENTS AT JINR

JINR's first radiobiological experiments were performed as early as 1959 — at the six-meter proton synchrocyclotron of the Laboratory of Nuclear Problems (LNP). The experiments were performed by scientists of the Laboratory of Radiation Toxicology and clinicians of the Institute of Industrial Hygiene and Occupational Diseases under the supervision of the Head of its Laboratory Prof. E. B. Kurlyandskaya and Director of the Institute Acad. A. A. Letavet. In early 1960, a laboratory base of the Institute was established at the territory of the LNP; a small house was built in the yard of the Laboratory of Neutron Physics near now the former physical measurement hall of the Laboratory of Nuclear Problems (which is still there). With these facilities, the first staff began to work, who were permanent residents of Dubna with the status of LNP-attached staff. The researchers were performing comparative evaluation of the effect of proton and gamma irradiation on experimental animal organisms. Such data were a necessary basis for the development of measures of reducing the harmful effect of corpuscular radiation on the human organism and, ultimately, establishment of the standards for staff working in the mixed fields of ionizing radiation.

In the same years, a number of topical issues emerged in the Soviet Union which were related to the beginning of the space exploration era. An urgent need of the fast solution of these problems stimulated conducting large-scale radiobiological research and determined ultimately the work program of JINR's facilities. The Earth satellites and spacecraft launched at that time found a high level of ionizing radiation in the near-Earth space. It was found that there are different types of radiation in space; they have complicated charge and energy spectra. During the preparations for the first animal and manned space flights, it was not known how multicomponent radiation of complicated charge and energy spectra, including high-energy protons produced by the Sun and coming from the depths of the Galaxy, would influence living organisms. It became possible to solve this problem in the terrestrial conditions by irradiating biological objects at the six-meter proton accelerator (the first one in Dubna), which generated proton beams with an energy of up to 660 MeV. This research was aimed at estimating the relative biological effectiveness (RBE) of high-energy protons — that is, it was necessary to find how effective high-energy protons are in comparison with X- or gamma-radiation as regards their effect on living

organisms. In short flights in circumterrestrial space, radiation danger is mainly associated with protons making up the Earth radiation belt or generated by solar chromospheric flares. The maximal contribution to the dose is made by protons in the energy range of 100–700 MeV. Therefore, the most urgent task was to study the influence of protons of different energies on the human organism and look for ways of protecting the cosmonauts from their adverse influence.

During discussions on the whole set of these issues in the USSR government, a program of research and ways of its fulfillment were worked out. In December 1963, the Institute of Biomedical Problems of the USSR Ministry of Health (IBMP) and a special structure, headed, respectively, by Acad. A. V. Lebedinsky and Prof. Yu. G. Grigoryev, were established in Moscow. In Dubna, a stationary laboratory — a branch of the IBMP subdivision — was opened at the LNP. This newly opened laboratory was in fact a research base where different animals (rats, mice, dogs, and even monkeys), vegetable objects, and cultivated mammalian and human cells were irradiated at the LNP Synchrocyclotron with protons in the energy range of 25–645 MeV. A group of IBMP physicists provided the guiding of proton beams of different energies and dosimetry of the irradiation of biological objects based on using tissue-equivalent absorber units.

At this accelerator, experiments were performed by scientists of not only IBMP but also of other institutes of the USSR Academy of Sciences (AS USSR), the Academy of Medical Sciences, and the Ministry of Health. According to the *Intercosmos* program worked out by the AS USSR, this research was actively participated by scientists of Bulgaria, Czechoslovakia, East Germany, Hungary, Poland, and Romania. In these experiments, reactions were studied of different cellular and tissue systems to acute, fractionated, and chronic proton irradiation. Also, modifying influence was studied of different types of physical and chemical agents on radiation effects. Much work was done to evaluate radiation danger in short- and long-term space flights, to set acceptable radiation levels, to develop methods of physical protection from cosmic radiation, etc.

In 1967, the first collection of articles entitled “Biological Effect of High-Energy Protons” was published under the editorship of Yu. G. Grigoryev, which reviewed the results of research at the Synchrocyclotron of the LNP, JINR. On the basis on these materials, tens of Candidate’s and Doctor’s theses were defended and a lot of papers and monographs were published. Analysis of the data on the response of organisms’ cells and tissue systems showed that the effect of high-energy protons is similar to that of electromagnetic radiation — gamma- and X-rays. However, the relative biological effectiveness of protons was observed to grow as their energy decreased to 25 MeV and below.

In the long-term space flights, as it turned out, galactic cosmic radiation (GCR) can be the greatest danger. It was found that the GCR consists of almost all elements of the Mendeleev Periodic Table. The maximal contribution to the integral flux of the GCR heavy nuclei is made by nuclei of the carbon and iron groups, which

are accelerated in the space to huge energies. Though the fluxes of these particles are not intense (beyond the Earth's magnetosphere, their total yearly flux is about 10^5 particles/cm²), their damaging effect on the organism can be very strong. In that period, the U-300 heavy ion accelerator of the Laboratory of Nuclear Reactions, JINR, allowed studying the specifics of, and thus modeling, the biological effect of GCR nuclei on living systems. G.N. Flerov actively supported a proposal by two consecutive IBMP Directors — Acad. V. V. Parin and, after his death, Acad. O. G. Gzenko — and offered the recently launched accelerator for radiobiological experiments.

It should be noted that the arrangement of radiobiological experiments at the U-300 accelerator was rather complicated. Heavy ions could not be accelerated above 10 MeV/nucleon. To perform radiobiological experiments, an installation was constructed which allowed transporting accelerated beams of nuclei into the atmosphere. Using this facility, it was possible to carry out the precise dosimetry of particles. As the range of accelerated ions in living tissues is not greater than 300 μ m, special techniques of preparing biological samples (cell monolayers) for irradiation had to be developed. In experiments on microorganisms, mammalian cells in culture, and cornea tissues of small laboratory animals, heavy ions were observed to have higher biological effectiveness than gamma rays and high-energy protons against many tests, including the criterion of inducing chromosome apparatus damage in mammalian cells.

Besides specialists in space radiobiology, a group of radiobiologists from the All-Union Oncological Research Center (ORC), the USSR Academy of Sciences, worked at JINR. In 1966, on V. P. Dzhelepov's initiative, work was started at the LNP Synchrocyclotron to create the Soviet Union's first medical proton beam for irradiating oncological patients. A team of physicists involved in this work was headed by LNP's scientist O. V. Savchenko; on the ORC part, the work was headed by Prof. I. I. Ruderman, Head of the Radiation Therapy Department. A proton beam was soon constructed, where the first preclinical radiobiological research had to be performed. For this purpose, a team of the Institute of Industrial Hygiene and Occupational Diseases working permanently in Dubna was invited to work at the ORC. In Dubna, the team studied the biological effect of high-energy protons; it was headed by S. P. Yarmonenko (then Candidate of Biological Sciences). The Laboratory of Tumor Radiobiology was established at the ORC; its staff worked in close contact with the team in Dubna.

Radiobiological research at the medical proton beam was started in 1968. In experiments on cell cultures and animals with tumors, the main radiobiological parameters of 180-MeV protons were determined, which soon allowed radiation therapy of patients.

The next stage of research by radiobiologists and oncologists in Dubna was studying the biological effect of π^- mesons at a beam of the same LNP's accelerator. Priority data were obtained on the relative biological effectiveness (RBE) and oxygen coefficient of this type of radiation, which was considered promising for the therapy

of tumors. Later, the biological effect of superhigh-energy neutrons was studied with the long view of using them for irradiating large radioresistant tumors.

Radiobiologists of Dubna worked in constant contact with their colleagues in Moscow. As before, research was headed by S.P. Yarmonenko, then already Professor. Joint work was done to prove experimentally the method of hypoxyradiotherapy, which was introduced into the clinical practice of radiation therapy at many oncological institutions of the Soviet Union and abroad.

Later, radiobiological research at JINR's basic facilities was successfully continued by JINR's own biologists, who worked at the Biological Research Sector, LNP (established in 1978).

ESTABLISHMENT OF THE BIOLOGICAL RESEARCH SECTOR

The Biological Research Sector was established on the initiative of Dr. Phys. and Math. V.I. Danilov, Head of the Synchrotron Department, Laboratory of Nuclear Problems (LNP). Dr. V.I. Danilov was then actively studying the effect of magnetic fields of different characteristics on biological objects. Biologists organized into the Magnetic Research Group worked to a special order of the Ministry of Middle Engineering Industry (the USSR Ministry of Nuclear Engineering). They studied the effect of pulsed and alternating magnetic fields on plants, bacteria, phages, human blood lymphocytes, and neural cells (using a mollusk neuron model). Reactions of vegetable objects to the geomagnetic field screening were another subject of research. In these studies, the "Magnetic Screen" installation designed and fabricated at JINR was used. It reduced the field 10^5 – 10^6 times. This work was performed jointly with scientists of the N.G. Kholodny Institute of Botany, the Ukrainian Academy of Sciences (Kiev).

Under the conditions of the geomagnetic field screening, a delay in the germination of seeds of different plants and in the growth of their germs was the dominating reaction. A decrease in the pool of proliferative cells and extension of their reproduction cycle duration due to prolongation of some phases (mainly the presynthetic and — in some plants — postsynthetic ones) were observed. Studies of the synthesis dynamics of RNA and proteins dominating in these phases of the cell cycle revealed a decrease in the functional activity of the genome in all the studied plants during the early prereplicative period. The obtained results show that the geomagnetic field is a biologically important factor as it has a certain effect on the processes of transcription and translation and on the proliferative processes in a plant cell.

Preliminary research on the effect of a magnetic field alternating in time in a sawtooth mode with the maximum of 300 Oe on human peripheral blood lymphocyte chromosomes showed that the magnetic field effectiveness depends strongly on the temperature of cell culturing. In the lymphocytes cultured at temperatures from 37 to 41.5 °C, a growth in the number of cells with chromosome aberrations was observed with temperature increasing from 38.5 °C, especially under the joint effect of the magnetic field and high temperatures.

On the basis of these results, to coordinate activities in biology and medicine and to develop new research fields, the Biological Research Sector was established at the Synchrocyclotron Department, LNP (JINR Order No.3388 of 29 November 1977). Prof. V.I.Korogodin was invited to head the Sector; since 1986, the sector was headed by Prof. E. A. Krasavin.

Along with continuing magnetobiological research, the Sector started active research at JINR's basic facilities. The main task was to find out the mechanisms determining the differences in the effectiveness of ionizing radiations of different physical characteristics. For several decades, the problem of the relative biological effectiveness (RBE) of ionizing radiations of different physical characteristics had been one of the key problems in radiation biology. Although intense research on the RBE problem concerning radiations of different linear energy transfer (LET) was performed at many laboratories around the world, the mechanisms determining these differences were not found out. Numerous mathematical models were proposed to explain the regularities in the lethal effect of radiations of different LET on cells of different origins. However, it turned out to be impossible to explain the ambiguous dependence of RBE on LET within the framework of the developed models. The main difficulty blocking clearing up the RBE nature was that RBE is determined ambiguously by both physical factors, which underlie the specifics of energy transfer to matter, and by different biological factors. Although it had long ago been established that RBE has double nature, and, moreover, attempts had been made to separate the physical and biological components in order to derive formulas for calculating the RBE coefficients, the mechanisms determining the differences in the RBE of ionizing radiations of different types were not found out. It was so because the following important fact was not taken into account: the biological component itself can depend on LET. It led to a mistaken belief that the dependence of RBE on LET is completely determined by the microscopic distribution of the energy of radiation transferred to the genetic structures responsible for the realization of the radiation-induced effect.

In experiments performed at heavy ion accelerators, it was found that the biological effectiveness of different types of ionizing radiation as regards their lethal action of pro- and eukaryote cells is determined by two factors of different nature: physical characteristics of specific types of radiation and biological properties of cells: their ability to recover from radiation damage (E. A. Krasavin, S. Kozubek, K. G. Amirtaev, P. N. Lobachevsky). The main conclusion made as a result of experimental and theoretical research, on the basis of which the RBE problem was solved, was that *DNA's ability to repair depends on LET because the character of lethal lesions also changes and depends on LET.*

In the late 1970s, it was discovered in the Soviet Union and abroad that the main DNA structure lesions resulting in cell death are double-strand breaks (DSBs). Later, it was also shown that *E. coli* bacterial cells die at certain conditions as a result of at least one DNA DSB in a chromosome. Taking into account

the revealed facts, it was possible to substantiate experimentally the proposition that the lethal damage character changes with changing LET. It was facilitated by the circumstance that various repair-deficient mutants of *E. coli* cells had been obtained by that time. Their use allowed studying the influence of different stages of the repair process on the specifics of the lethal effect of radiation in a wide LET range.

On the basis of the known regularities in the induction and repair of primary lesions in the DNA of *E. coli* bacteria under radiation, a mathematical model of the radiation inactivation of bacteria was developed. With the use of microdosimetry methods, it was shown that in *E. coli* cells the DNA lethal lesions of the main type forming under gamma irradiation — DSBs — develop in the process of single-strand break (SSB) repair; they are enzymatic DNA DSBs. The yield of the DNA DSBs induced immediately by gamma radiation is much lower. With particle LET increasing, the DNA DSB quality related to an increase in the complex DSB yield changes. When a heavy particle passes through a DNA strand, the complex DSBs are characterized not only by simultaneous breaks in the main valency chain, but also by lesions in the bases in the places of the breaks and by sugar lesions. For *E. coli* cells of different genotypes, the proposed biophysical model explained how radiosensitivity, survival curves, and different modifying factors depend on LET. It was shown that in the case of gamma radiation, radiosensitivity is determined by the efficiency of the cell repair systems; in the case of heavy charged particles, radiosensitivity is determined only by the physical properties of radiation. The character of the dependence of the radiosensitivity of cells on LET is closely related to the *E. coli* sensitivity to gamma radiation.

Experimental tests confirmed all the corollaries to the model (E. A. Krasavin, S. Kozubek, K. G. Amirtaev). It was found that

- the character of the radiosensitivity of *E. coli* cells is genetically determined and depends on the type and yield of lethal lesions induced by gamma radiation;
- the dependence of the radiosensitivity of the cells with a normal repair genotype on LET can be described by a curve either with a local maximum or without it, depending on the conditions determining the yield of DNA DSBs of enzymatic nature;
- the dependence of the radiosensitivity of mutants with a DNA slow repair block has a drooping character for all LET values; the RBE coefficients of different types of radiation are no greater than 1;
- for a mutant with an efficient repair system, a dependence with a sharp maximum is characteristic. For $LET \geq 100 \text{ keV}/\mu\text{m}$, the radiosensitivity of all the cell strains levels off independently of the repair genotype due to the induction of straight complex DNA DSBs.

The developed model conceptions became a basis for studying the factors determining the shape of the survival (S) curves of *E. coli* cells depending on the dose (D) of radiations of different LET. Research on the influence of different factors

of different nature on the shape of the dependence $S(D)$ in *E. coli* cells showed that this dependence is exponential when in the process of the repair of each radiation-induced lesion, nonrepaired lesions remain which are described by the Poisson distribution. The slope of the exponential curve describing cell radiosensitivity corresponds in this case to the yield of irreparable DNA damage. The limits of cell sensitivity to gamma radiation are determined by the yield of the direct DSBs and the size of the sensitive target. The survival curves of *E. coli* bacteria are nonlinear on a semilogarithmic scale, which can be caused by a number of biological mechanisms realized at the population, cell, and molecular levels. The most significant reasons determining the sigmoid character of the $S(D)$ dependence are the specifics of the bacterial chromosome replication that lead to genome amplification. Along with the amplification factor, the recombination type of repair on homologous parts of DNA can participate in the formation of the arm of the survival curve of cells with a normal repair genotype. With an increase in LET, the survival curves of *E. coli* bacteria, which are sigmoid in the case of gamma irradiation, undergo characteristic changes: the curve arm diminishes; the slope increases in the intermediate energies and slowly decreases with a further increase in LET. It was found that the transformation of sigmoid curves into exponential ones is caused by an increase in the fluctuation of heavy charged particle energy over the sensitive microvolumes of cells, which leads to the following: as a result of a heavy particle hitting a nucleoid of a bacterial cell containing several copies of the genome, all the sensitive targets are inactivated.

The different role of physical and biological factors in the lethal effect of radiations differing in LET is clearly seen under a number of modifying factors. First of all, it applies to the modifying influence of oxygen and the influence of two classes of radioprotectors: aminothiols and polyatomic alcohols. Within the framework of the proposed biophysical model, an analysis of the realization of the oxygen effect in *E. coli* bacteria with different repair genotype and the effect of radioprotectors was performed. It was shown that the diversity of the displays of the oxygen effect in cells with different repair genotype is determined in different conditions by the yield of lesions that are not modified by oxygen and lesions that are not eliminated by pol A-dependent repair. It was also shown that the yield of such lesions grows as cells are exposed to radiation with increasing LET, which results in the sharp attenuation of the oxygen effect when cells are irradiated with heavy charged particles.

Results of research on the action of radioprotectors (cysteamine and glycerin) show that their protective effect is determined genetically: most of the mutations leading to a greater radiosensitivity of cells eliminate or sharply diminish the protective effect of amiothiols. This is because their radioprotective effect is realized at the level of enzymatic repair processes, not at the level of physical and chemical processes. The radioprotective effect of glycerin is also genetically determined, but, unlike the case of cysteamine, this determinancy does not consist in the diminishing or disappearance of the effect of radioprotectors; rather, it consists in its enhancement in the following *E. coli* strain sequence: rec A-mutant — wild type —

pol A-mutant. A similar trend was also found for the oxygen effect. Investigations of repair mutants confirmed the understanding that the protective effect of glycerin is a result of physical and chemical processes which is determined by the protector's ability to block OH radicals and decrease the yield of damage eliminated by the pol A-dependent repair. The established differences between the reactions of the strain triad rec A-mutant — wild type — pol A-mutant to protectors functioning at the level of physical and chemical reactions and protectors whose effect is based on enzymatic repair processes allowed proposing a scheme of experiments to find out the mechanism of the effect of radioprotectors of different classes.

The main conclusion which was made based on studies of *E. coli* cells was that the RBE of ionizing radiations of different LET is determined not only by physical characteristics of radiation, but also by biological properties of cells — that is, their ability to repair radiation-induced damage. This ability depends on LET, as the character of lethal damage also changes depending on LET.

Since this conclusion had been based on the research performed on prokaryote cells, it seemed important to find out if it was true for eukaryote cells. Experiments on isogenic strains of haploid yeasts — wild-type cells and the rad 6 radiosensitive mutant — showed that the dependence of cell radiosensitivity on LET, like in the case of prokaryotes, is determined by the genotype of cells (P.N. Lobachevsky). Contrary to a wild strain, for which this dependence has a local maximum, the rad 6 mutant was for the first time shown to have a drooping dependence. The RBE coefficients of radiation differing in LET are not greater than 1 for this mutant. As haploid yeasts do not have DNA DSBs repaired in the stationary phase, and the formation of one DSB in the genome of such cells results in a lethal event, the higher sensitivity of the rad 6 haploid mutants to gamma radiation is caused by disorder in specific stages of DNA SSB repair. It was shown that this fact can lead to an increase in the yield of lethal DNA DSBs in such cells. Therefore, the dependence of cell radiosensitivity on LET with a local maximum is observed to transform into a drooping curve. On the basis of the performed research, a conclusion was made that the mechanisms determining the difference in the biological effectiveness of radiation for bacteria and haploid yeasts are much alike.

The important role of restoration processes in the biological effectiveness of radiations of different quality in mammalian cells was revealed in investigations of the radiosensitivity of Chinese hamster cells, which were irradiated with heavy charged particles of a wide LET range in the presence of inhibitors of DNA reparative synthesis: cytosine arabinoside (Ara-C) and hydroxyurea (HU) (R. D. Govorun, E. A. Nasonova). The mechanism of the sensitizing effect of Ara-C in aggregate with HU consists in suppressing the reparative synthesis of short gaps in DNA, which results in an increase in the yield of enzymatic DNA DSBs under the gamma irradiation of cells. During the use of radiations in a wide LET range, it was found that under the effect of these agents, the radiosensitivity of cells to gamma radiation increases, while to heavy charged particles, it does not. This causes a decrease

in the RBE coefficients of heavy particles when cells are irradiated in the presence of DNA synthesis inhibitors. On the basis of this research, it was shown that, like in the case of prokaryote and lower eukaryote cells, changes occur in the spectrum of the lethal DNA lesions induced in mammalian cells by radiations of different LET: cluster-type DNA DSBs are formed, the repair of which by cells is either impossible or is extremely obstructed. The analysis of the obtained experimental data based on the concepts admitting the induction of only one type of DNA DSBs (direct DSBs) by different types of radiation showed that such model concepts do not match experimental results.

The research performed for the first time on lower and higher eukaryotes, as well as on prokaryotes, showed that the differences in the biological effectiveness of radiations of different LET are determined not only by the physical nature factor — the character of the energy deposition by ionizing radiations in genetic structures — but also by the ability of the cells to repair DNA damage. Taking it into account, a conclusion was made that the mechanisms determining the RBE nature in pro- and eukaryote cells are similar in their basic features. But there is no doubt that a more complicated organization of the eukaryote cell genome determines a more complicated radiobiological response of these cells to radiations of different LET.

On the basis of the obtained knowledge of the specifics of the lethal effect of radiations of different quality on cells with different genotype, experiments had been planned to study the mechanisms of the mutagenic effect of radiations in a wide LET range. The mutagenic effect of radiations of different LET was not actually studied in the 1980s. Although it was known that mutagenesis induced by radiations of different physical characteristics is influenced by physical and biological factors, the regularities in the mutation process and the relative role of physical and biological factors in it were not studied. To solve these problems, mathematical models of the lethal and mutagenic effect of different radiations on bacteria were developed; and research was performed on the regularities and mechanisms of the induction of direct and reverse mutations in prokaryote cells (E. A. Krasavin, S. Kozubek, K. G. Amirtaev, M. N. Bonev, B. Tokarova). The results of these studies are the following:

- The dose dependence of the cell mutation frequency under gamma irradiation has a linear quadratic character, which does not change as LET increases.
- The relative genetic effectiveness of radiations increases with an increase in LET and is described by a curve with a local maximum, which is shifted to a lower LET range as compared to a similar dependence for the lethal effects of irradiation.
- Mutagenesis induced by radiations of different LET is determined by the efficiency of the cell repair systems, with inducible SOS repair playing the decisive role in mutagenesis.
- An increase in the genetic effectiveness of radiations with an increase in LET is caused by a rise in the yield of DNA lesions that are repaired only with the participation of the mutagenic branch of SOS repair.

- Gene mutations in prokaryotes associated with heavy particle tracks are induced by the delta-electron region.
- The difference in the locations of the maximums of the RBE dependence on LET for the mutagenic and lethal effects of radiation is determined by the different character of DNA lesions. In the former case, they are mainly damaged bases; in the latter, DSBs.
- The biological effectiveness of radiations of different LET concerning gene mutation induction is determined by the specifics of the microdistribution of energy in the genetic structure, genome condition, and efficiency of the means of repair.
- The influence of the biological factor on mutagenesis depends on LET.

The series of research on the mechanisms of the mutagenic effect of ionizing radiations of different physical characteristics on cells with different levels of the genome organization won JINR's First Prize in 1987.

DEVELOPMENT OF THE BIOPHYSICS DEPARTMENT AT THE LABORATORY OF NUCLEAR PROBLEMS

The expansion of the scope of radiobiological research at JINR's basic facilities required a structural reorganization of the subdivision performing this research. In 1988, the Biological Research Sector, at the initiative of its Head Prof. E. A. Krasavin, was restructured into the Biophysics Department of the Laboratory of Nuclear Problems (LNP) (JINR Order No. 248 of 25 March 1988). At that time, one of the priority research fields of the Biophysics Department was the mutagenic effect of radiations on cells of higher eukaryotes, including humans. It was found that ionizing radiation induces the widest spectrum of mutational variability as compared with other mutagens. It increases the frequency of chromosome aberrations, as well as gene and genome mutations. It is the mutagenic effect of radiations on cells of higher eukaryotes including humans that is studied the least. Although this effect was discovered in the mid-1920s, it is still poorly studied. First of all, it is so as regards the mutagenic effect of different ionizing radiations with high linear energy transfer (LET) — in particular, accelerated heavy ions.

Induced mutagenesis is a real health and life hazard because not only do newly emerging mutations have an immediate negative effect, they also influence following generations. Mutagens of physical and chemical nature induce a wide spectrum of hereditary lesions, which, as it is generally acknowledged, underlie the malignant transformation of cells and carcinogenesis, and the development of hereditary diseases in following generations. In both cases, the biological consequences are significantly delayed in time from the immediate action of damaging agents.

The task of studying the mutagenic effect of ionizing radiations, especially on mammalian and human cells, is quite complicated and requires both a wide use of the existing methods and the development of new approaches to its solution. A wide variety of techniques and test systems are now available to geneticists (polymerase chain reaction, preparative column chromatography, blot analysis, fluorescent *in situ* hybridization technique, and a number of methods of chromosome aberration analysis), which allow studying the mechanisms and the main regularities in radiation mutagenesis in human and mammalian cells.

JINR accelerators offer unique opportunities for conducting research in these fields. At beams of different types of charged particles of wide energy and LET

ranges, the Biophysics Department started experiments on cultures of mammalian cells and human peripheral blood lymphocytes. The experiments allowed the main regularities to be found out in the formation of the so-called unstable chromosome aberrations (dicentrics and rings, some types of exchanges between chromosomes), which are detected with a commonly used, classical metaphase method of chromosome analysis. As is known, the quantitative analysis of dicentrics is used for biological dosimetry purposes in cases of accidental uncontrolled irradiations of people. This technique is also recommended by the World Health Organization to evaluate the state of the environment. But the possibility of estimating the absorbed dose is restricted in this case by the acute period following an irradiation exposure because the chromosome aberrations lead to disorders in cell division processes and are rapidly eliminated from the irradiated cell population.

It had long been impossible to detect the so-called chromosome aberrations (for example, translocations), which can remain for a long time in a population of irradiated cells and transfer distorted genetic information from one generation of cells to another. It is only the fluorescent *in situ* hybridization (FISH) technique that allowed such stable aberrations to be detected using DNA samples that are specific for separate chromosomes of the human genome. Experiments at proton and heavy ion accelerators involving this technique allowed a quantitative analysis of the frequency of the formation of the translocations of some chromosomes depending on the radiation dose and LET (protons, nitrogen ions, and gamma rays). It is the formation of stable chromosome aberrations that are considered now to initiate a number of oncological diseases, for example, chronic and acute myeloid leukemia. The quantitative assessment of stable chromosome aberrations in organism's cells can also be considered a reliable method of retrospective biological dosimetry for accidental uncontrolled irradiations of an organism.

At the Biophysics Department, comparative studies were performed of the regularities in the induction of mutations in the mammalian cell gene HPRT depending on the initiating dose of radiation, including heavy ions, in a wide LET range (R. D. Govorun, P. N. Lobachevsky, N. L. Shmakova). It was found that heavy ions and gamma rays have a high mutagenic effect on mammalian cells. The obtained data on the survival rate of Chinese hamster cells and the frequency of mutations induced by gamma rays and accelerated ^4He and ^{12}C ions of different LET showed that the character of the mutation induction dependence on the radiation dose and LET is ambiguous: for gamma radiation, the dose-effect curve has, according to the mutation induction criterion, a pronounced nonlinear (power law) behavior. The curves were also observed to be nonlinear for heavy ions with LET values of 20 and 50 keV/ μm . For higher LET, depending on the dose, the mutation induction curves become linear. The survival rate curves are, respectively, sigmoid and become exponential. These experiments showed that as regards both the cell survival rate and the mutagenic effect (chromosome aberrations and gene mutations), the maximal biological effectiveness corresponds to LET of about 100 keV/ μm ,

RBE with respect to the mutagenic effect being twice as high as RBE with respect to the survival rate.

In that period, a great amount of preclinical radiobiological research were performed at the medical beams of the LNP Synchrocyclotron (N.L. Shmakova, T.A. Fadeeva). It required evaluating the biological effect of charged particles on normal and tumor cells of mammals. It was possible to perform this kind of research on animals inoculated with tumors. Experimental animals can be inoculated with a great amount of different tumor lines; then it is possible to study their response to irradiation and estimate the damage to normal tissues, for example, marrow, which is the critical radiosensitive system in radiotherapy. It is such experiments that were performed first of all. But experiments *in vivo* on whole organisms showed that it is impossible to make a precise quantitative estimation of the main parameters of the biological effect of particles: RBE and oxygen enhancement ratio (OER) — because the individual radiosensitivity of cells and the organism's general influence on the tumor's response had a too strong impact on the experiment results. In this connection, a task arose of studying the main biological parameters of medical beams using cells that had been isolated from an organism and were growing *in vitro* on artificial nutrient media — that is, cell cultures. It required construction of special rooms and sterile boxes because a possibility of bacterial contamination of cell is very high.

The clonogenic ability of cells and chromosome apparatus damage were taken as the main quantitative indicators for evaluating the biological effect of radiation. The RBE of protons and π^- mesons in the Bragg peak and at the beam entrance were compared with the effect of gamma and X-rays that are commonly used in radiotherapy.

A major problem in radiation therapy consists in overcoming the radioresistance of hypoxic cells, which are, as a rule, present in the tumors due to the poor development of the vascular network of the neoplasms. Under sparsely ionizing radiations, gamma and X-rays, and protons, the difference in the radiosensitivity of oxygenated and anoxic cells is notable; OER is then equal to 3. Under radiations with high LET, the OER decreases. By that time, no data had been published on the OER for π^+ and π^- mesons. It should be noted that determining this magnitude, which is very important in radiotherapy, requires complicated technical contrivances. It is necessary to compare the radiosensitivity of oxygenated and anoxic cells, where the oxygen content should not exceed 20–30 parts per million. For this purpose, special equipment was designed that evacuated the gas mixture from vessels containing cell suspensions and then filled them with nitrogen. Although this procedure was performed repeatedly, attempts to achieve an OER value of 3 under gamma radiation failed. It is only after the replacement of “superpure” nitrogen with argon and increasing the metabolic consumption of oxygen from the environment by providing a high cell concentration that the necessary OER value of 3 was achieved for gamma

radiation, and the OER was found to be 1.7 for π^- mesons. It was the world's first research of this kind; later, the data were confirmed by American scientists.

In parallel with these studies, intensive work was being done to master the use of artificial hyperglycemia (HG) to increase the efficiency of radiation therapy of tumors (V.I. Korogodin, N. L. Shmakova, T. A. Fadeeva). It is known that the metabolism of the tumor cells, contrary to that of the normal cells, exhibits an increased glycolysis. As the glycolysis product, the lactic acid is produced; its accumulation results in tumors' self-acidulation. The research on animals inoculated with tumors performed by von Ardenne (Germany) and scientists of the Byelorussian Oncological Institute showed that, if the sugar content in blood is artificially raised, the radiation therapy efficiency significantly increases. This dependence was generally believed to be associated with the suppression of postirradiation repair in decreased pH. However, no experimental facilities adequate to the clinical application of the method and stable reproduction of results were available. The aim of the Biophysics Department's experimental research was to study the cell mechanisms of HG. The experiments were performed *in vitro* on tumor cells taken from animals immediately before an experiment. By applying a graduated glucose load and changing the oxygenation level, it was possible to control the level of acidulation and survival rate of the tumor cells. The experiments yielded remarkable results. It was shown that as the degree of acidulation observed in hypoxia is achieved, tumor cells die on a mass scale without any external influence, in particular, irradiation. Quantitative estimations showed that the additivity of two effects exists: hypoxic cells die due to self-acidulation; well-oxygenated cells, which undergo glycolysis slowly, die as a result of irradiation. No HG influence on postirradiation was observed. These results were confirmed by a number of specialized oncological laboratories.

The use of vasoconstrictors, which additionally increase hypoxia in tumors and enhance glycolysis, doubled the efficiency of therapy. Unfortunately, this research was not continued, because due to the circumstances of the early 1990s the teams concerned with this subject broke up.

Along with radiobiological research on cells of higher organisms, the Biophysics Department performed comprehensive work on cells of lower eukaryotes: yeast cells (V.I. Korogodin, N. A. Koltovaya, V. L. Ilyina). Yeast, which is a type of fungus, is one of the most common objects of research on living organisms. Man has always faced adverse effects of different pathogenic organisms, but yeast seems to have been the first microorganism to be used for man's practical needs.

It is well known that ploidy is one of the main factors determining the specifics of yeast cell response to irradiation. The diploid cells differ from the haploid ones in radiosensitivity, the survival curve shape, RBE, and manifestations of the mutations increasing the cell sensitivity to ionizing radiations. Attempts to interpret these regularities led to a suggestion that diploid cells have the so-called diploid-specific damage repair. This problem has an important general biological aspect. During evolution, the transition from haploid organisms to diploid ones led to a significant

increase in the stability of the genetic apparatus against different external damaging factors.

At the Biophysics Department, research was performed on the role of the factors determined by the diploid condition of the genome in the sensitivity of yeast cells with different genotypes to ionizing radiations of different LET. It was shown that the regularities in the lethal effect of ionizing radiations of different quality on diploid yeast cells are caused by at least two diploid-specific processes: damage repair underlying the postirradiation restoration of cells and the processes determining the aftergrowth effect. The research allowed a conclusion to be made that the processes of radiation damage induction and repair are mutually independent. For the first time, an evaluation was made of the role of diploid-specific repair in the radiosensitivity of cells under high-LET radiations, and the dependence of the efficiency of repair processes on the radiation quality was studied. It was shown that under high-LET radiations the sigmoid form of the survival rate curve of diploid cells is determined exclusively by the aftergrowth effect.

Later, research on the mutagenic effect of ionizing radiation in yeast cells was continued (N. A. Koltovaya). The problem was that it is rather difficult to establish the nature of a mutation-type lesion. During this work, genetic systems were developed that allowed the exact determination of the nature of a mutation event without using expensive and labor-intensive techniques.

As a model system for studying total mutagenesis, the CAN1 gene was used. It codes arginine-permase and is 1800 base pair-long. Mutations of any nature lead to a disorder in the functioning of this gene and development of antibiotic resistance.

For testing large restructurings, two test systems were used that allowed detecting mitotic crossingover and conversion. As is known, mitotic recombination is induced by double-strand breaks (DSBs). Recombination results in the formation of extended changes in genetic material.

The analysis of microdeletions was based on using reversions in strains that have frameshift mutations. The used strain carries an insertion of the fourth base into the LYS2 gene and +1T insertion into the 6T sequence in the HOM3 gene.

To evaluate the induction of the nucleotide substitution type of point mutations, a test system developed by Prof. M. Hampsey (Louisiana State University) was used. The system is based on the position of cysteine 22 in the cytochrome-c protein being critical. Six strains were constructed with base substitutions in this position, which led to enzyme inactivation and impossibility of growth on a medium with an unfermentable source of carbon. The functional activity can be restored only by true reversions restoring the cysteine codon in position 22. Reversions in the CYC1 gene of each of the six strains represent one of the six possible substitutions of base pairs. Thus, a simple and reliable system was created which allows identifying changes in the DNA nucleotide sequence without using complicated molecular and genetic techniques.

In experiments on this system, the spectrum of mutations induced by gamma irradiation was studied in most detail. Most efficiently, ionizing radiation induces large restructurings, whose frequency is of the order of 1%. Among the nonextensive mutation events, it is, of course, mutations in the CAN1 gene that are induced most efficiently, which reflects the sum character of the mutations. A linear dependence of forward mutation yield in the CAN1 gene on the gamma radiation dose was observed. An analysis of the mutation spectrum showed that compared with spontaneous mutations, the gamma-induced mutation spectrum has an increased proportion of the AT–TA transversions. The spectrum of the base pair substitutions in haploid and diploid yeast strains is the same. The maximal contribution (more than 30%) is provided by the GC–AT transitions. The induced mutation spectrum does not depend on the dose.

Another field of research concerned the repair mechanisms of radiation-induced DNA double-strand breaks (DSBs). It was found that yeast cells have not only a slow type of DSB repair, but also a fast one. It was shown that both slow and fast types of DSB repair are efficiently realized only in diploid yeast cells.

A third field of research was focused on the regularities in spontaneous mutagenesis (V. I. Korogodin, A. I. Chepurnoy, V. L. Korogodina). For research, genes were chosen that control the synthesis of adenine and leucine. The initial strains are auxotrophic and are unable to grow on a medium without an addition of the corresponding product. Reversions to prototrophicity can be realized in two ways: by the formation of reverse mutations in the gene controlling its synthesis and by forward mutations in suppressor genes. It was found in special experiments that, when the activity of the gene is suppressed, the frequencies of this gene forming mutations are two orders of magnitude lower than when it functions actively. At the same time, suppressor genes, whose activity does not depend on the adenine presence in the medium, mutate with approximately the same frequencies in both cases.

Thus, the Biophysics Department performed versatile radiobiological research at JINR's basic facilities. After it had become possible to accelerate heavy nuclei to relativistic energies at the Phasotron of the Laboratory of High Energies and physical experiments had been started there, radiobiological experiments were proposed for high-energy heavy ion beams. This required special spectrometry and dosimetry studies of relativistic heavy nuclear beams. The staff of the JINR Department of Radiation Protection and Radiation Research already had great experience in this field. The JINR Directorate — V. G. Kadyshesky and A. N. Sissakian (JINR Director and Vice-Director of the time, respectively) — supported an idea to merge the LNP Biophysics Department and JINR Department of Radiation Protection and Radiation Research into JINR's new subdivision: the Department of Radiation and Radiobiological Research (JINR Order No. 270 of 27 April 1995).

JINR'S DEPARTMENT OF RADIATION AND RADIOBIOLOGICAL RESEARCH

The main tasks of the Department of Radiation and Radiobiological Research (DRRR) were the following:

- continuation of research on the regularities and mechanisms of the genetic effect of ionizing radiations with different physical characteristics;
- research on the interaction of radiation with matter and development of radiation monitoring methods;
- monitoring of radiation environment at JINR's subdivisions to provide radiation safety according to the standards and regulations on the use of radioactive materials and other sources of ionizing radiations in force in the country of JINR's location;
- development of radiation monitoring systems for JINR's new and reconstructed (upgraded) nuclear research and radiation-dangerous facilities and sites.

To realize its main functions, the DRRR, in particular, designed equipment for radiation and radiobiological research, performed experimental data processing, and carried out theoretical research to model the interaction of radiation with matter.

Radiobiological research

In radiobiology, research on the mutagenic effect of radiations in a wide linear energy transfer (LET) range was continued. In experiments on bacterial cells, regularities in structure (deletion) mutations and mechanisms of their induction were studied (A.V. Boreyko). It is quite a topical issue because to standardize the loads of radiations of different quality on staff working in mixed ionizing radiation fields, to provide radiation safety of cosmonauts on long-term missions, and to solve a number of other important practical problems is very important not only to have information on the total yield of different kinds of mutations in irradiated cells; also, comparative data on the frequency of gene and structure mutations are extremely interesting. Studying the dose dependences of the point and chromosome mutation yield in higher eukaryote cells under ionizing radiations in a wide LET range

is a rather difficult and laborious task requiring the use of complicated molecular biology methods. Obtaining this kind of information is much easier in experiments on prokaryote cells. Using accelerated heavy ions, it was shown that deletion mutation formation frequency increases linearly with the dose for all types of radiation; deletion mutations are induced most efficiently by ions with a LET of 60–80 keV/ μ m. It pointed to the different character of the DNA lesions underlying the induction of gene and deletion mutations. The former are cluster lesions of a DNA strand; the latter, DNA double-strand breaks (DSBs).

In experiments on yeast cells, adaptive and induced mutagenesis mechanisms were studied (V.I. Korogodin, N.A. Koltovaya, V.L. Korogodina, A.I. Chepurnoy). During several years, lively debates about the nature of adaptive mutations in microorganisms took place in literature. At first, the adaptive (directed) mutations were determined as mutations emerging only in the presence of selective pressure or in slowly growing cells in the stationary phase. But it was shown on *E. coli* bacterial cells that nonselective mutations can also emerge at an unexpectedly high rate. It was shown later that starvation increases the frequency of both selective and nonselective markers. According to the concepts developed at the DRRR, the so-called adaptive mutations are not adaptive; rather, they emerge due to the transitional hypermutable state of cells under stress: the advantaged mutations are immediately selected; other mutants die quickly. In cooperation with the specialists of the University of Perugia (Italy), research was done on the genetic control of mutagenesis under starvation, to which yeast cells respond by stopping division and entering the stationary growth phase. This research was closely related to studying the genetic control of the cell cycle arrest following DNA damage. In recent years, a connection becomes more obvious between different components of the integral cell response to DNA lesions, which provides genome stability and integrity. The relation was shown between the cell cycle control mechanisms and the DNA damage repair mechanism. This relation — checkpoint control — allows cells to survive and maintain genetic stability; it is regulated by checkpoint genes. It is believed that a disorder in checkpoint ways that leads to an increase in mutability and genome instability is very important at the early stages of carcinogenesis.

Research performed by different laboratories resulted in the understanding of the molecular mechanisms of checkpoint control responding to DNA damage. It is assumed that the RAD9, RAD17, and RAD24 genes participate in the early stages of DNA lesion detection. The RFC-Rad24 protein complex seems to realize the loading of the Rad17-Mec3-Dbc1 protein complex or repair enzymes into the place of a DNA lesion. The kinases — in particular, RAD53 — participate in signal transmission; the CDC28 kinase functions at the final stages of the cell cycle arrest regulation, which is necessary to repair the damage. It is assumed that a disorder in cell cycle arrest leads to genetic instability and an increase in cell sensitivity to the damaging agents. The latter was observed in most of the mutants with a deficient regulation of cell cycle arrest. This increase in cell sensitivity to the damaging

agents, though, could be related not only with the absence of cell cycle arrest after a lesion, but also with the participation of some checkpoint genes in repair. The branched scheme of the genetic control of cell cycle progression and arrest needs intensive research. Jointly with the Institute of Molecular Genetics (the Russian Academy of Sciences), the DRRR studies the genetic control of the checkpoint ways and their influence on cell sensitivity to the damaging effect of radiation. An analysis of the interaction between the RAD9, RAD17, RAD24, RAD53, and CDC28 genes showed that the RAD9, RAD17, and RAD24 genes belong to the same branch which determines cell sensitivity to gamma radiation, although the RAD9 and RAD24 genes belong to different branches which determine cell sensitivity to UV rays and MMS and cell cycle arrest. The RAD53 and CDC28 protein kinases are epistatic relative to the RAD9 gene, but they are more likely to belong to different branches determining radiosensitivity. According to literature data, the CDC28 and RAD53 genes belong to the same branch determining cell cycle arrest. The data obtained point to the divergence of the ways of the regulation of cell cycle arrest and radiosensitivity. These data show that the genes are multifunctional, and their participation in the integral response does not add up to cell cycle arrest; some of them also take part in repair processes.

After DRRR establishment, large-scale cytogenetic research was started on mammalian and human cells (R. D. Govorun, N. L. Shmakova, I. V. Koshlan, M. V. Repin, N. V. Koshlan, T. A. Fadeeva). As was already mentioned, the mutagenic effect of high-LET radiations on higher eukaryote cells had been studied rather poorly. The main tasks in this field formulated by the DRRR's specialists were further research on the regularities in the induction of mutations in the HPRT gene of mammalian cells by accelerated heavy ions, studying the cytogenetic characteristics of the HPRT-mutant subclones grown from single cells keeping in the following generations the HPRT mutations that developed in them, investigation of unstable and stable chromosome aberrations in human lymphocytes induced by heavy charged particles, and research on the cytogenetic effects of low doses of radiation.

Irradiation of cells with heavy ions and gamma rays revealed the high mutagenic effect of these radiations on mammalian cells. The relative biological effectiveness (RBE) of the studied heavy ions against the effect of gamma rays is described by a curve with a local maximum at a LET of about 80–100 keV/ μ m. An interesting observation was made in a LET range near 20 keV/ μ m for different radiations, where the mutation yield curve shifted to higher RBE against tests of cell inactivation and chromosome aberration formation. It had been shown earlier in research on bacteria that the mutagenic effect maximum of the RBE dependence on the LET of different radiations was significantly shifted to lower LET and corresponded to about 20 keV/ μ m, while the maximal RBE values for heavy ions as regards the lethal effect were observed at 80–90 keV/ μ m. This fact was determined by the different character of the molecular lesions underlying the induced mutations and lethals: in bacteria, the vast majority of the mutations are gene mutations and are mainly

related to the lesions of bases, while the lethal effect is determined by the induction of DNA DSBs. In research on mammalian cells, a similar character of the RBE dependences on the LET of different radiations was obtained against the tests of the induction of mutations, chromosome aberrations, and cell inactivation, which can point to the fact that the same events — DNA DSBs — underlie the lesions leading to the same effects in mammalian cells. A shift of the curve of the RBE dependence on LET of different radiations in a LET range near $20 \text{ keV}/\mu\text{m}$ against the induction of mutations in mammalian cells, as compared with the lethal effect, is determined by an increase in the contribution by the point mutations; at higher LET, gene mutations prevail that are related to different types of division. A similar character of the curves of the RBE dependences on LET against these three tests can point to the same lesions — DNA DSBs — underlying these effects in mammalian cells. They induce chromosome aberrations and mutations like macro- and microdeletion of genes in DNA.

Under the assumption that the mutation process in cells can be accompanied with a disorder in the structure integrity of the chromosome apparatus and show up as the chromosome instability of cells, research had been performed to isolate single mutant colonies, from which subclones were grown. Then, a cytogenetic analysis of the subclones was made (R. D. Govorun, I. V. Koshlan), which revealed the heterogeneity of the spontaneous and radiation-induced HPRT-mutant subclones concerning the studied cytogenetic indicators (mitotic activity, aneuploidy, and chromosome aberration level). It was found that the consequences of the mutation events appeared as the development of the genome (against the number of chromosomes in cells) and chromosome (against the chromosome aberration level) instabilities in populations of the progeny of mutant cells.

In the detection and selection of mutant subclones, mutants with retarded growth, as compared with the intact control, were observed. Retardation of the growth of many mutant subclones in a selective medium could have been determined by the formation of gene mutations leading to a decrease in enzyme activity or synthesis of a lower amount of the native enzyme. In such cases, the viability of a mutant population could have been provided only at the expense of the cells which could not have utilized the purine analog during the cell cycle.

As the criteria of evaluating the mutant subclones with respect to the number of chromosomes in cells, the modal number of chromosomes and the percentage of cells in the corresponding mode were chosen. An analysis of the chromosome spectra revealed marked aneuploidy — up to full ploidy. Among the subclones, samples prevailed with the modal number of 21 or 22 chromosomes. The share of diploid mutants with the modal number of chromosomes was 70% and more — up to 100%. The share of cells in this mode varied largely between the samples. Spontaneous mutants made up 50–80%, which actually did not differ from the reference value. The radiation-induced mutants were especially heterogeneous as regards the chromosome spectra.

To explain the phenomenon of chromosome instability, R. D. Govorun and I. V. Koshlan proposed a “metabolic hypothesis.” As is known, the cell has two ways of the synthesis of purine nucleotides: the *de novo* synthesis (a phased synthesis based on ribose-5'-phosphate) and the synthesis from finished products. For the cell, the latter is more advantageous concerning energy. It is realized with the participation of the native HPRT enzyme. When mutations take place in the *hprt* locus and are accompanied with the termination of the enzyme synthesis, the production of purine nucleotides has to be realized *de novo*. When the enzyme with decreased activity, or an insufficient amount of the enzyme is synthesized, conditions for the competition of the two ways are formed in the cell. A situation develops leading to the violation of the cell metabolism equilibrium. The cell activates the mechanism of DNA synthesis involving the *hprt* enzyme, but this enzyme is not functional enough and fails to produce the necessary nucleotides. It leads to metabolic imbalance, which is a signal for the activation of the equilibrium search mechanisms. The deficiency of purine bases in the build-up of DNA chains results in the activation of synthesis *de novo*. This labile state might be accompanied with chromosome instability as a stage of the search for equilibrium and adaptation to changed existence conditions. Finally, mutant subclones will be formed with an increased yield of chromosome aberrations against the reference value. Hence, for the survival of mutant cells, the full termination of the enzyme synthesis is more favorable (in the case of a full or a major deletion of a gene) than the synthesis of the enzyme with decreased activity. However, the formation and survival of mutant cells in the organism leads to the development of pathologies. Structural chromosome anomalies affecting specific genes attract special attention as the objects of research because their role in the pathogenesis of tumors in humans — in particular, in the development of leukemia — is becoming increasingly obvious. From the point of view of the metabolic hypothesis, the chromosome instability mechanism in the progeny of mutant cells is getting clearer. Mutations are passed on from one generation to another; thus, the issue of the conservation of the triggering event in the following generations of mutant cells is resolved.

Much work was done on studying the regularities in the induction of unstable and stable chromosome aberrations in human cells by different types of radiation (R. D. Govorun, M. V. Repin). The unstable aberrations include different types of chromatid and chromosome exchanges leading to the formation of changed chromosomes that are atypical to the cell population: dicentrics, polycentrics, rings, and different fragments of chromosomes. Their appearance goes along with disorders in cell division processes and, as a rule, fast cell death. Unstable chromosome aberrations are analyzed with the standard metaphase method, which allows their detection over the whole genome of the cell during microcopying lymphocytes with a usual light microscope. A linear dependence of the frequency of the formation of cells with chromosome aberrations on the irradiation dose was observed for all the studied types of radiation. For the total number of chromosome aberrations, a power

dependence of the effect on the dose of sparsely ionizing radiations (protons and gamma rays) was established. Under heavy ions, it modifies into a linear one. However, under high doses of such radiations, the effects weaken due to a significant delay in mitoses, especially of the heavily damaged cells with numerous chromosome aberrations.

The stable chromosome aberrations form as a result of a symmetric exchange of sections between two damaged chromosomes that does not lead to a disorder in the behavior of chromosomes during cell division. In the following cell divisions, such chromosomes behave like normal ones and, with distorted genetic information, are passed on to the following generations of cells. Stable chromosome aberrations, like translocations and insertions (inserting into a chromosome a section of another chromosome), are long kept in cell generations to follow. It is generally recognized that such chromosome restructurings later can lead to the development of mutagenic processes and carcinogenesis in the human organism. In the early 20th century, the development of the fluorescent *in situ* hybridization (FISH) technique allowed detecting stable chromosome aberrations. Stable aberrations of separate chromosomes stained with fluorescent dyes are detected with luminescent microscopes in the cell genome. For this purpose, the chromosomes are stained with dyes using specific samples with unique DNA sequences.

In research performed at the DRRR, DNA samples were used that are specific to chromosomes 1 and 2 of the human lymphocyte genome — its largest chromosomes. Their damage is more probable under ionizing radiations. With the FISH technique, a high frequency of the formation of translocations (stable aberrations) in these chromosomes was observed. The RBE coefficients of radiations with a LET of 80 keV/ μ m were 3 and more.

Extensive research was performed on mammalian cells to evaluate the cytogenetic effects of low doses of radiation (N. L. Shmakova, T. A. Fadeeva). As is known, the evaluation of the biological effect of low doses of ionizing radiation is necessary to predict the genetic and carcinogenic risk of irradiation. The difficulties of estimating the effects and determining the dose–effect curve of low doses are related to the problem of the acquisition of the reliable statistics of mild damage induced by such doses. Therefore, the risk associated with low doses is estimated based on the extrapolation of high dose effects to low doses; the results thus depend on the model underlying an extrapolation. The nonthreshold linear concept, which is the most conservative as it suggests that any — even the smallest — excess of the natural radiation background presents danger, is officially accepted and is the basis of the recommendations by the International Commission on Radiological Protection. But experimental data of recent years explicitly contradict this concept and show that it is incorrect to extrapolate the effects linearly from high doses to low ones. In estimating the biological effects of low doses, it is the frequency of cytogenetic lesions — namely, chromosome aberrations (CA) and micronuclei (MN) in cells of different types — that, as a rule, is registered. It is characterized by a clear quantitative dependence in a wide

dose range. The dose curves can be reproduced well on different objects; they have a unique feature that consists in the presence of a dose-independent part in the dose range of 0.1–0.5 Gy.

In experiments on peripheral human blood lymphocytes, asynchronous and synchronized populations of V-79 Chinese hamster cells and BRO human melanoma cells, it was shown that the dependences of the quantity of cells with CA on the radiation dose have a similar pronounced nonlinear character. Under irradiation with a dose of 0–0.05 Gy (lymphocytes), 0–0.1 Gy (melanoma cells), and 0–0.2 Gy (Chinese hamster cells), the chromosome lesion yield sharply increases against the reference level (the hypersensitivity (HS) range); then it notably decreases and passes into the dose-independent range. Above 0.5 Gy, cell resistance increases (which is the induced resistance (IR)), and the dose dependence becomes linear. In going from the HS range to the IR range, the slope of the curves decreases 2–3 times for Chinese hamster cells and melanoma and 5–10 times for human lymphocytes depending on the method used for analyzing CA. Similar dose–effect curves were obtained as other donors' lymphocytes were irradiated with X-rays. Research on the frequency of different types of gamma-induced aberrations in human lymphocytes showed that HS is determined mainly by an increase in the yield of chromatid aberrations, which prevail below 0.5 Gy.

A study of the nature of the HS and IR phenomena performed on Chinese hamster and human melanoma cells allowed a conclusion to be made that the shape of the dose–effect curve of an asynchronous population of Chinese hamster cells concerning CA induction is reproduced well on synchronized cells irradiated in the G_1 phase of the cell cycle. It points to HS being determined by the high radiosensitivity of the population as a whole in a narrow range of low doses and not being related to the death of the fraction of cells that were irradiated in the radiosensitive phase of the cell cycle. As the irradiation dose increases, all cells become more radioresistant, probably, due to the induction of repair processes. Thus, the most plausible explanation of the nonlinearity of the dose–effect curve and the transition from HS to IR is that at a certain level of cell damage inducible repair systems are triggered. It results in a decrease in the radiosensitivity of cells and slope of the curves. Comparing dose dependences of CA induction in Chinese hamster and human melanoma cells provides the grounds to suggest that the inducible systems of melanoma cell repair are triggered at lower doses and work more efficiently than in Chinese hamster cells.

Jointly with radiochemists of the Laboratory of Nuclear Problems V. A. Khalkin and Yu. V. Norseev, an extended research was performed on the biological effect of astatine-211 and possibility of its use in targeted cancer therapy (N. L. Shmakova, P. V. Kutsalo, T. A. Fadeeva). In the earliest experiments, it was shown that ascitic forms of cancer can be extracted with astatine-211 adsorbed by tellurium. These results inspired a search for methods of the targeted action of alpha emitters on the melanoma — one of the most aggressive forms of malignant neoplasms,

which is characterized by early and vast metastases. For treating metastases, the targeted use of astatine-211 is the most efficient technique as its decay produces alpha particles with a range of 60 μm , which makes up several cell diameters. As a means of transporting the radionuclide to the tumor cells, a polycyclic compound, which is known in medicine as methylene blue (MB), was used as it has a high capacity of binding the tumor cell melanin. It was shown *in vitro* using human melanoma cells and normal nonpigmented cells that an astatine-211–MB compound was accumulating selectively in melanin-containing tumor cells, which resulted in 15–20-fold higher damage of melanoma cells as compared to that of healthy cells. An MB-based iodine-131–MB preparation was obtained, which proved to be highly efficient in visualizing a melanoma and its metastases in animals with an inoculated melanoma. This research was continued for the purpose of introducing this diagnostic preparation in clinical practice and the development of methods of using the astatine–MS compound to prevent melanoma metastases.

Later, two separate sectors were established at the DRRR: the Photobiology Sector (headed by M. A. Ostrovsky) and Computer Molecular Modeling Sector (headed by Kh. T. Kholmurodov). At the Photobiology Sector, research was started under the direction of Acad. M. A. Ostrovsky (Russian Academy of Sciences) on molecular photo and radiobiological processes in eye structures (the lens and retina). Taking up such tasks is a new step in the progress of JINR's biophysical studies. The urgency of this research is first of all related to the necessity of solving the problems of space radiobiology. It is increasingly evident that in a long-term space flight, there is a high risk of cataract development. In this connection, studying the effect of heavy particles on the aggregation of the lens proteins (crystallins) and the mechanisms of such an aggregation is a topical problem. Research was started on the damaging effect of heavy particles on the visual pigment rhodopsin and the functional state of the retina.

In connection with the emergence of high-performance computers (supercomputers and specialized clusters, for example, the MDGRAPE-2 system) and multi-purpose software packages (DL_POLY, AMBER, CHARMM), it became possible to use computer molecular dynamics (MD) modeling methods in physicochemical and biological systems. One of the important applications of MD methods is calculating conformational changes in proteins and determining the spatial structure of proteins with high precision. The MD methods allow modeling mutational changes in biological structures at the molecular level with high spatial and temporal resolution.

The MD Sector conducts theoretical research to model the protein surroundings of different isomers of retinal. This research is focused, in particular, on the chromophore group within the retinal-containing proteins — first of all, the 11-*cis* retinal.

Radiation research

Before the establishment of DRRR, JINR's radiation research was carried out at the Radiation Protection Department (RPD; since 1975, the Department of Radiation Protection and Radiation Research). The 1950s–60s was the time of the rapid development of particle accelerators as the most important nuclear physics instruments. The energies of the accelerated particles and the currents of the extracted beams were continuously growing. Since its establishment, JINR has been developing mainly as a major accelerator center. The IBR-30 reactor did not change this situation in the main, nor later did the second-generation reactor IBR-2 because JINR's basic facilities include accelerators of different types offering a wide mass range and a several MeV–10 GeV energy range of accelerated particles.

As a scientific discipline and as an activity, dosimetry was formed, first of all, to provide the radiation safety of the nuclear industry personnel. On a national scale, the staff exposed to accelerator radiation fields made up a tiny fraction of the occupationally irradiated people. Moreover, the complexity and diversity of accelerator radiation fields and the necessity of the development of specific means of measuring their characteristics resulted in accelerator-related protection physics and dosimetry growing into a separate area of physics. As regards opportunities for conducting this kind of research, JINR has always been a unique center. For this reason, since the establishment of JINR's RPD in 1963 (the Department was first headed by M. M. Komochkov), most of its activity has been related to accelerator protection physics. This specificity has determined the character of RPD's scientific and practical work for a long time. The formation of this field of science was initiated in the 1950s in connection with the start-up of medium-energy accelerators (the Cosmotron in Brookhaven, Bevatron in Berkeley, and Synchrocyclotron in Dubna). The first experimental studies of the protecting properties of materials, high-energy radiation attenuation by shielding, and other related research were performed at that time. No theoretical approaches were then available to calculate reliably radiation transport through massive shielding. To predict the accelerator radiation environment, empirical and phenomenological methods of shielding calculation were used. Experimental data on the development of the internuclear cascade in the shielding volume were very scarce, which stimulated accelerator-based protection physics experiments. At Berkeley and JINR, and later at CERN and the Institute of High Energy Physics (Protvino), a great amount of studies were done mainly to obtain and refine the empirical constants for doing calculations in different geometries (the coefficients describing the accumulation of radiation in the first layers and attenuation of radiation with an increase in the shielding thickness). In the 1960s–70s, at the JINR Synchrocyclotron and Synchrophasotron, M. M. Komochkov, V. N. Lebedev, and V. E. Aleinikov performed a cycle of studies of radiation fields beyond the shielding and in the environment of the accelerators. It was found already in the beginning of the research that neutrons are the most penetrating component of secondary

radiation. It is neutrons of a wide energy spectrum that determine the radiation dose received by experimenters and other staff beyond the shielding during the operation of accelerators.

To determine the mechanism of scattered neutron field formation beyond shielding, experiments were performed at the JINR Synchrocyclotron and Synchrophasotron to study secondary high-energy neutrons (that are generated in physical targets by proton beams) passing through local shieldings made of different materials. A particular difficulty consisted in the necessity to develop specific techniques of field measurements for studying the characteristics of scattered radiation fields beyond shieldings. In particular, the broadest energy range multisphere neutron spectrometer, liquid and plastic scintillator-based high-energy neutron radiometers, a neutron dosimeter (remmeter), a recombination ionization chamber (designed by M. Zelchinsky), and a calibration ruler for metrological support of measurements were designed and produced. Also, the methodology of predicting accelerator radiation environment was developing. For example, B. S. Sychev worked out a method of calculating neutron radiation shieldings based on solving a system of integro-differential (kinetic) equations of radiation transport in matter; M. M. Komochkov, V. N. Lebedev, and L. N. Zaytsev developed an engineering (semiempirical) technique of estimating neutron fluence and dose values beyond shieldings.

Another rather difficult problem was that a portable personal dosimeter had to be created which would correctly measure personal doses in a multicomponent (neutrons, gamma rays, and charged particles) scattered radiation field with a broad energy spectrum. The Soviet-made personal dosimeters were nonserviceable in accelerator radiation fields. Much credit goes to M. I. Salatskaya (then Head of the Personal Dosimetry Monitoring Group at the RPD) for the development of a combined gamma and neutron dosimeter on the basis of the MK-20 emulsion and an X-ray film (the IFKn cassette). In a number of international collations, the adequacy of its equivalent dose readings was confirmed. Possibilities were also studied of using other types of detectors to measure personal doses — in particular, LiF-based thermoluminescent detectors.

The experience of radiation monitoring of accelerators acquired by JINR's RPD was unique to the Soviet Union; therefore, the basis of the RPD at the U-70 accelerator, the Institute of High Energy Physics (IHEP), was formed by JINR's RPD specialists who moved from Dubna to Protvino. Due to this, along with the community of the problems being solved, the cooperation and contacts between the two similar subdivisions of JINR and IHEP have been closest and most fruitful.

In the 1970s–80s, further radiation research was mainly aimed at the accumulation of experimental data and, in parallel, development of techniques of calculating radiation transport through shielding. It was assumed that protection physics would develop in close connection between experimental and theoretical research, which supported confidence in the reliability of predicting the situations

at the facilities that were then being designed — with continuously increasing beam powers and accelerated particle energies. But the great amount of experimental data that had been acquired by that time could not have been used to test the adequacy of the calculation techniques and were in fact empirical. It became clear that benchmark experiments in protection physics had to be performed in simple (idealized) geometries which, at the same time, would be typical for accelerators and correspond to all the initial information necessary for adequate calculations. Of principal importance was the detailed knowledge of the source terms, especially for heavy ion accelerators, because there had been no data on the production of secondary neutrons in nucleus–nucleus interactions. Such experiments were performed beyond the LNP Synchrocyclotron shielding and at the relativistic particle beams of the Synchrophasotron, the Laboratory of High Energies (LHE). It was in experiments at the Synchrocyclotron (G. N. Timoshenko) that for the first time double differential by angle and energy yields of charged particles from shielding were obtained, and the charged component contribution to the total dose and fluence was evaluated. For these purposes, a compact dE/dx charged particle spectrometer was made; its calibration was performed based on elastic p – p scattering at a beam of the LNP Phasotron. Using a system of sensors for measuring the angular distributions of charged particles, regularities were studied of the formation of radiation fields in different geometries beyond the Phasotron and Synchrophasotron shieldings.

In comparative experiments at proton, alpha particle, and 3.65-GeV/nucleon ^{12}C beams, initial data were obtained on the yield of secondary charged particles from thick Cu and Pb targets. Using the time-of-flight method, spectra of secondary neutrons with energies above 10 MeV were measured at different angles in the interaction of relativistic nuclei with a thick target for the first time. These results were used to check the calculations of particle transport in matter and to predict the radiation environment at the Collective Heavy Ion Accelerator and Nuclotron as part of their design. To calculate the shieldings for accelerators of nuclei, A. R. Krylov developed software which modeled an internuclear cascade in thick targets based on the “firestreak” model of nucleus–nucleus interactions and a program for calculating neutron transport in shielding based on solving a system of kinetic equations. The reliability of calculating the primary and secondary radiation fields was evaluated in a series of experiments — in particular, in a benchmark experiment in protection physics performed by G. N. Timoshenko beyond a relatively thin catcher of a 3.65-GeV/nucleon beam of ^{12}C nuclei at the LHE Synchrophasotron.

A notable contribution to the methodology of physical measurements was made by V. P. Bamblevsky, who had mastered activation techniques and created a set of low-background gamma-spectrometers for detector activity measurement.

Special attention was given to the development of neutron spectrometry in a broad energy range as the basic method of studying the radiation environment and measuring the neutron dose rate. The reconstruction of neutron spectra based

on the multisphere spectrometer readings belongs to the class of inverse problems. It consists in finding the unknown quantity on the grounds of a number of known effects and is reduced to solving a system of algebraic equations. In the beginning of neutron spectrometry research, for the uniqueness of the solution the spectrum was represented a priori by a linear combination of several known functions (the Maxwell distribution of thermal neutrons, the $1/E$ falling of the moderated neutron spectrum, evaporation spectra of different temperatures, etc.); that is, information on the character of the solution was a priori very rigid. Later, the statistical regularization method, developed in the 1970s by Acad. A. N. Tikhonov, began to be used to reconstruct the spectra. This method requires minimal information a priori. A program was developed of neutron spectrum reconstruction from readings of different modifications of the multisphere spectrometer (with an active thermal neutron detector and activation detectors). The neutron spectrum reconstruction technique was then being improved to extend the spectrometer's operating range to high energies of neutrons (hundreds of MeV), as well as to increase the precision of calculating the sensitivity functions and check them experimentally. Thus, in the early 1980s, at the IBR-30 reactor beams and at the neutron generator, experimental measurements were performed of the sensitivity functions of the multisphere spectrometer and other neutron detectors used in on-line radiation monitoring. Nevertheless, the multi-sphere spectrometer, due to its specifics, yields low-value information on high-energy neutrons, which largely limited its applicability in the measurements in high-energy radiation fields beyond the Phasotron and Synchrophasotron shieldings. For solving this problem, G. N. Timoshenko and A. R. Krylov proposed an original highly sensitive technique of high-energy neutron spectrometry in scattered radiation fields. Based on this technique, a neutron spectrometer of a new type was developed, had its sensitivity functions calculated, and was calibrated. With its help, a great amount of hard neutron spectrum measurements were done beyond JINR's shieldings and the readings of the stationary neutron radiation monitors immediately at work places were corrected. The high neutron sensitivity of this spectrometer also allowed a spectrum of space neutrons with energies above 20 MeV to be measured on the Earth's surface. In recent years, the development of neutron spectroscopy consists in the improvement of calculating the sensitivity of the multisphere spectrometers on the basis of modern Monte Carlo particle transport software MCNP, inclusion of heterogeneous spheres in the spectrometer configuration, and acquiring the experience of neutron spectrum reconstruction based on readings of activation detectors. The multisphere spectrometer was also used for the first time for studying secondary neutron fields around a thick target irradiated with 660-MeV protons. A 8 cm thick and 50 cm long lead target was imitating the core of a subcritical assembly monitored by a proton beam of the LNP Phasotron (the SAD project). This methodology of spectrometry allowed obtaining spectral and angular distributions of neutrons from the target in the whole energy

range beginning with tens of keV. This experiment was performed to check inter-nuclear cascade calculations using the most common transport software.

As was already noted, the multisphere spectrometer was in fact not only the main instrument for studying scattered radiation fields, but also a reference instrument of radiation monitoring. But metrological support to accelerator radiation research needs both a reference measurement instrument and a reference source of neutron radiation. In practice, it is ^{239}Pu -Be and ^{252}Cf radioisotope sources with the average neutron energy of 4.3 and 2.5 MeV, respectively, that are used as reference neutron sources. As regards metrology, their main disadvantage is their narrow energy range not matching the real radiation fields beyond shieldings, which does not provide the necessary precision of practical measurements. In the 1980s, it led to the development of special metrological support of neutron measurements that was based on the generation of reference neutron fields of a wide energy spectrum immediately at the nuclear physics facilities and reproduction of the special State standard units there (by a direct or indirect method). The first reference neutron fields had been generated at reactors several years before and were used as reference neutron energy spectra. On the initiative of the subsection "Radiation Protection and Work under High Levels of Ionizing Radiation" of the Council on Accelerating Charged Particles of the USSR Academy of Sciences, which was then headed by M. M. Komochkov, a task was set to produce reference neutron fields at accelerators. This work was started in parallel at JINR and IHEP in the early 1990s and, later, at CERN. At JINR, four reference fields were generated: two, on the basis of ^{252}Cf neutron sources surrounded by moderators of different diameters; and two, on the basis of real fields of the LNP Phasotron. A "soft" reference neutron field was generated in the tunnel labyrinth on the basement floor under the main accelerator hall; a "hard" one, beyond the two-meter thick concrete shielding of the Phasotron — at the banking of the western wall. The characteristics of these fields were measured in detail; systems of tracking their parameters were created; a methodological outline of calibrating dosimetric and radiometric instruments was proposed. In JINR's reference neutron fields, a collation was made of the neutron fields' dosimetric and physical characteristic measurement techniques and the equipment used at JINR and the Institute of Atomic Energy (Swierk, Poland); also, a number of instruments and methods of operational and personal monitoring were calibrated.

A toughening of radiation standards and an increase in the amount of radiation monitoring at JINR's nuclear facilities required in the mid-1980s that the RPD took a new approach to the organization of zone monitoring — namely, that automated radiation monitoring systems (ARMSs) be provided for JINR's facilities. It should be noted that there was no experience in developing such systems for accelerators at that time. The ARMS of the IBR-2 reactor had been developed similarly to those of the nuclear power plants. But the specifics of the radiation fields beyond accelerator shieldings, variability of accelerator operation modes, changes in the statuses of the radiation monitoring zones depending on the operation modes, etc.

made it impossible to use the nuclear power plant ARMSs at accelerators. To solve this task, a three-level structure of an automated system was proposed: the first level included tens of stationary neutron and gamma sensors; the second, intellectual crate controllers to acquire information from the sensors and to control them; the third, personal computers for data visualization and documentation and for controlling the system as a whole. The system's neutron channels with stationary wide-energy range neutron sensors based on corona counters in moderators, which had shown themselves to the best advantage during many years' operation, were developed; special electronics units were created for the system's second level; software was developed for the system's second and third levels; a metrological scheme of sensor check and calibration was worked out. ARMSs with specific differences were provided for the LNP Phasotron, LHE Synchrophasotron, and accelerators of the Laboratory of Nuclear Reactions, where, undergoing continuous improvement, they have been in operation for about 20 years.

Approximately in the mid-1980s, in parallel with ARMS development, work was begun to restructure the personal dosimetry monitoring (PDM) system. The traditional photometric monitoring methods based on using X-ray films to evaluate the gamma dose and nuclear emulsions to evaluate the neutron dose miss the necessary immediacy — with the radiation-monitored JINR staff being about 2000. Also, film and emulsion supplies became irregular. It was suggested that the PDM methodology be radically changed and monitoring be done, in part or in full, with thermoluminescent detectors (TLDs). As an alternative to the film dosimeter, the albedo neutron dosimeter with two ^6Li - and ^7Li -based TLDs was proposed, which detects soft neutrons rescattered from the body into the dosimeter. The RPD began the development of such a dosimeter and the automation of processing its data. In the 1970s, when there were no industrial instruments for reading TLD data, the RPD tried to design its own instrument of this kind. During the development of an albedo dosimeter, different types of TLDs were tested; the dosimeter sensitivity calculations and calibration were performed; the dosimeter was tested in real neutron fields. Due to the disadvantages inherent in the TLDs, it turned out to be impossible to completely drop photometric monitoring. Thus, a new combined PDM cassette was designed (its TLD is processed using equipment produced by the Harshaw company).

The Department's experience in accelerator shielding development and methodology of calculating particle transport in matter were used to design the shielding of several facilities and buildings of JINR's accelerators. The RPD participated in the design of different versions of LHE's heavy ion accelerating complexes (the Collective Heavy Ion Accelerator and Heavy Ion Accelerator Complex) and the Nuclotron. In the late 1980s, the Department's specialists contributed to the development of Vinča Institute's cyclotron (Belgrade, Yugoslavia).

After the establishment of the Department of Radiation and Radiobiological Research (1995), investigations on the dosimetry of different types of radiation and

protection physics were conducted within the radiation research project. Its main fields included studying the performances of advanced detectors and dosimeters; wide energy range neutron spectrometry; optimization of radiation safety measures and shieldings; physical support of radiobiological experiments; staff and environment radiation monitoring; and training specialists in radiation protection.

Extensive research was done concerning the performances of solid state track detectors and thermal neutron detectors in polyethylene moderators. In particular, in joint work with specialists of the Institute of Nuclear Physics (Prague, the Czech Republic), the efficiency of detecting heavy nuclei (C, Mg, Ar, and Fe) by a CR-39 track detector was measured.

In connection with the Slovak Cyclotron Center (SCC) project for accelerating ions with $A \leq 130$ up to 72 MeV/nucleon, it was necessary to do research and development to minimize accelerator-generated radiation influence on the environment. The shielding design and radiation protection measures had to meet rigid requirements due to the complex being located in the city of Bratislava. A radiation concept was developed for the SCC, which took into account the possible ionizing radiation sources, protection from different types of radiation, radiation monitoring, the management of radiation sources, the analysis of possible radiation disasters, and the SCC influence on the environment. Based on this concept, the radiation protection part of the SCC project was developed (V. E. Aleinikov, V. A. Arkhipov, G. N. Timoshenko, A. R. Krylov, L. G. Beskrovnaya).

The DRRR did much work to create devices for the precision dosimetry of charged particle beams of JINR's accelerators. For these measurements, an experimental channel and an automated sample change facility were made at the U-200 accelerator. Also, a methodology of measuring the absorbed low-energy ion dose was developed. For experiments at the LHE Nuclotron, a methodology was developed of the formation of a quasiplanar dose field and the measurement of the absorbed dose in samples, which allowed a cycle of research to be done at the proton, alpha particle, and carbon and magnesium nuclear beams with energies of 0.5–1 GeV/nucleon.

Besides carrying out the Department's own research, DRRR specialists actively worked in JINR's other fields: transmutation of radioactive waste produced by nuclear power plants; designing stationary facilities for the detection and identification of explosives and drugs; etc.

LABORATORY OF RADIATION BIOLOGY

In 2005, by a resolution of the JINR Directorate, Scientific Council, and the Committee of Plenipotentiaries of the Governments of the JINR Member States, the Department of Radiation and Radiobiological Research (DRRR) was reorganized into the Institute's new — the eighth — Laboratory: the Laboratory of Radiation Biology (LRB; JINR Order No. 403 of 20 June 2005). This event was consistent with the long development of one of the fields of fundamental biology at JINR and came as recognition of the great contribution of the DRRR specialists to solving important scientific problems. It is clear that as an interdisciplinary science radiobiology needs support from physicists; in this regard, JINR offers unique opportunities because it has highly competent physicists, necessary equipment, and the widest spectrum of very diverse sources of radiation. In fact, no other scientific center, either in Russia or abroad, is better suited and equipped physically for conducting radiobiological research than JINR. The LRB has thus all the rights to claim to be the leader in research on the genetic effects of ionizing radiations with different physical characteristics among other scientific institutions of Russia and JINR Member States. Prof. Evgeny Krasavin, Dr. Biol., was appointed in 2005 Organizing Director, and elected in 2009 Director of the new Laboratory by the JINR Scientific Council.

In 2008, at the proposal by Acad. A. I. Grigoryev, the Academician Secretary of the Section of Biological Sciences of the Russian Academy of Sciences (SBS RAS), E. A. Krasavin presented the results of radiobiological research conducted at JINR to a session of the SBS RAS Bureau, where they were highly appreciated. A general SBS meeting unanimously supported a proposal of the SBS RAS Bureau and resolved to provide the scientific and methodological supervision of LRB by SBS RAS (Resolution No. 5 of 15 December 2008). This step raised JINR's biological research to a new level, providing the use of the Institute's unique potential.

The LRB was formed by two Departments (Radiobiology and Radiation Research) and three separate Sectors (Photoradiobiology, Space Radiobiology, and Computer Molecular Modeling). The Department of Radiobiology consists of four Groups: Molecular Radiobiology, Radiobiology of Normal and Tumor Cells, Radiation Genetics, and Mathematical Modeling. The Department of Radiation Research includes two Groups: Research on the Radiation Fields of JINR Basic Facilities and

Calculation of Physical Protection from Radiation Effects. The biological effects of radiations with different physical characteristics remained the LRB's main field of research. Its topicality, as said earlier, is determined by a number of circumstances — first of all, the efficiency of using radiations in a wide range of linear energy transfer (LET) for solving different fundamental and practical problems. These problems are related to fundamental issues of radiobiology, radiation therapy with accelerated ions, improvement of the protection of staff working in mixed ionizing radiation fields, and protection of the spacecraft crews in the conditions of long interplanetary flights.

After the establishment of the LRB, comparative research on the regularities and mechanisms of the induction of gene and structural mutations by radiations in a wide LET range was continued in experiments on prokaryotic cells with different genotypes (A. V. Boreyko). In early works on the mutation frequency in microorganisms under irradiation in the presence of physical, chemical, and biological factors, an important role of postirradiation recovery in the induced mutation process was shown. After mutants with different DNA repair defects had been isolated and identified, it became possible to study closely the role of the repair processes in induced mutagenesis. The obtained results allowed concluding that both physical and biological factors play an important role in the mutagenic effect of radiations. The role of the physical factor in the mutation process could be studied with the use of ionizing radiations of different physical characteristics; that of the biological one, with the use of different repair mutants. In experiments on bacteria with different genotypes it was found that nonlinear dose curves of mutagenesis are observed quite often and are revealed in taking into account both reverse and direct mutations. Such dependences had long been a vexing problem for specialists. For this reason, experiments were planned at the LRB to study the mutagenic effect of radiations in a wide LET range generated by JINR's accelerators on prokaryotic cells with different genotypes.

For understanding the mechanisms of the induced mutation process, an extremely important task is the comparative study of the regularities and mechanisms of the formation of both gene and structural mutations in cells under radiations in a wide LET range. Indeed, to solve a number of topical practical and scientific problems related to the genetic effect of ionizing radiations of different physical characteristics, not only is it necessary to have information on the total yield of mutations of different types in irradiated cells; the data on the frequency of both gene and structural mutation formation in cells with different genotypes are exceptionally interesting. Obtaining this kind of data is extremely difficult in experiments on mammalian cells. Of course, the acquisition of data on the yield of different types of mutations induced by radiations of different qualities in experiments on mammalian cells is an imperative practical and scientific problem; though, research of this kind on different types of bacterial cells is a necessary step in solving it. The structural and functional organization of bacteria had already been studied in detail; their different repair-deficient mutants had been obtained. This all allows ascertaining

the molecular mechanisms of the formation of gene and structural mutations in cells under radiations in a wide LET range.

The obtained information on the mutagenic effect of radiations in a wide LET range allowed understanding the mechanisms underlying the revealed regularities. On the basis of studying the induction of both direct and reverse gene mutations, it was found that the dose dependences of the mutation frequency are linear-quadratic for different radiations. For irradiation doses above $\approx 80\text{--}100$ Gy, a power dose dependence is observed. On a logarithmic scale, the dose dependences are straight lines with a slope ratio of 1.7–1.8, which points to a near-quadratic power character of these curves. The most efficient mutation induction was observed in experiments with accelerated helium ions with a LET of ≈ 20 keV/ μm ; ions with greater LET have lower mutagenic efficiency. The heavy charged particle dose dependence of the mutation frequency maintaining a quadratic law is determined by a number of factors. A microdosimetric analysis of the revealed regularities (S. Kozubek) shows that three types of cell subpopulation can be singled out for different doses of ionizing radiations in an irradiated population: undamaged surviving cells; lethally damaged nonsurviving cells; and “moderately” damaged cells that complete the repair process and join the surviving cell pool. With increasing LET, the nondamaged cell fraction increases, and the fraction of lethally damaged cells hit by particle track cores decreases. Consequently, mutations mainly develop in the subpopulation damaged by delta-electron passage and in the small fraction of cells through which at least one particle passed hitting the cell with the track core, provided that these cells have repaired the induced damage and survived. On this basis, it became possible to explain the conservation of the character of the mutagenesis dose dependences for radiations of different LET. As the electromagnetic and corpuscular radiations do not differ in the character of delta-electron energy transfer to matter, the type of the $N_m/N(D)$ dependence, where N_m/N is the ratio of the mutant cell number to the total cell number in the irradiated cell population and D is the dose, remains the same for radiations of different qualities. Therefore, under exposure to high-LET heavy charged particles ($\text{LET} \geq 100$ keV/ μm), when particle tracks pass through the cell sensitive structures, cells mainly die; in surviving cells, the so-called delta-electron mutagenesis takes place. When cells are irradiated with accelerated light ions or high-energy charged particles of $\text{LET} \leq 100$ keV/ μm , the sensitive structures are exposed to the direct effect of tracks; then mutagenesis of the track core type takes place. The above having been taken into account, it becomes clear why the character of the dose curves of mutagenesis in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* cells remains the same with increasing particle LET.

The data obtained at heavy ion accelerators allowed concluding that the quadratic character of the mutagenesis curves is explained by the necessity of the realization and “interaction” of two mutually independent hitting events. The first of them is connected with the appearance of a premutation lesion in the locus under study; the second one is the formation of a lesion that induces the SOS repair

system — the system that facilitates the fixation of changes in the bacterial DNA chain as mutations. Since SOS repair is the deciding factor in the realization of the induced mutation process, the analysis of the molecular mechanisms of SOS system organization in *E. coli* bacteria is important. Based on this, a molecular model of induced mutagenesis was developed, which allows describing the main ways of the transformation of the primary disorders in the DNA structure (premutation lesions) into mutations (A. V. Boreyko). In this model, the fixation of an ionizing radiation-induced premutation lesion as a point mutation results from the functioning of different enzymatic mechanisms, one of the most important of which is a multienzyme complex that includes inducible DNA polymerase V (UmuD₂C), RecA protease, SSB proteins, and DNA polymerase III subunits.

Based on the molecular model, a mathematical model of the ultraviolet radiation-induced mutation process in *E. coli* bacterial cells was created (O. V. Belov, E. A. Krasavin, A. Yu. Parkhomenko). Actually, a new approach to the theoretical description of induced mutagenesis in bacterial cells was proposed. It was the first time that a model of the induced mutation process was developed based on the detailed mathematical description of the key protein interactions in the course of the SOS response of *E. coli* bacteria. Within one model approach, the whole way was traced from the appearance of an original DNA structure lesion to its fixation as a mutation. The developed model concepts for the first time allowed prediction of the dynamics of the concentrations of the umuD gene dimerized products and two regulatory complexes of the SOS system: UmuD₂C and UmuDD'C. Such an approach allowed a detailed modeling of the translesion synthesis mechanism, which is responsible for the process of fixing premutation lesions as mutations. Calculations based on this model resulted in the detection of a link between the efficiency of translesion synthesis realization and gene mutation yield. Calculations performed on the example of the lacI regulatory gene in *E. coli* bacteria showed concurrence of the modeling results and experimental data on the UV radiation energy fluence dependence of the lacI⁻ mutation frequency. On the grounds of these approaches, it is possible to do further mathematical analysis of the main types of the mutation process induced by ionizing radiations with different physical characteristics in *E. coli* cells. Of course, it is a much more complicated problem, but it is quite possible to solve it. The successful solution of this problem requires, first of all, experimental data on the kinetics of the production and degradation of the main gene products participating in the formation of a multienzyme complex: DNA polymerase V.

In later papers on research in quantitative radiobiology, approaches were developed that allow identification of additional mechanisms of bacterial cell repair after radiation exposure. In particular, a detailed mathematical description was proposed of the excision repair of damaged DNA bases in bacterial cells; and the mechanism was modeled of damage removal involving formamidopyrimidine glycosylase (the Fpg protein), which has several activity types. In this research, thus, not only were significant results obtained on the quantitative estimation of the production

and degradation kinetics of the main gene products in the course of DNA repair, but a new theoretical approach to the description of the induced mutation process in bacterial cells was successfully realized.

In experiments with accelerated heavy ions, it was shown that the frequency of the deletion mutations, unlike that of the gene mutations, increases linearly with the dose for all the used types of radiation. The most effective are ions of $LET \approx 50 \text{ keV}/\mu\text{m}$. Accelerated heavy ions of higher LET have a weaker biological effect. Therefore, the character of the dose dependences by the criterion of deletion mutation induction in *E. coli* cells is completely different from the character of the dependences obtained for gene mutations, which were examined earlier. In the latter case, a near-quadratic power dependence is observed. The dose dependences of deletion mutation induction, which are described by linear functions, are determined by other mutation formation mechanisms than the dose dependences of gene mutation induction. The linear character of the dose dependence of deletion formation in bacterial cells under gamma irradiation is explained by the fact that it is DNA double-strand breaks (DSBs) that is the molecular basis of the primary lesions leading to deletions (unlike that, it is base damage that is the molecular basis of the primary lesions leading to gene mutations). To turn premutation lesions of the DSB type into a structural mutation, there is no need in the induction of the SOS repair system, which, as shown earlier, plays the key role in gene mutation formation.

On the basis of the performed research, it was shown that the biological effectiveness of heavy charged particles evaluated by the induction of deletion mutations increases with increasing LET, like it does if evaluated by the lethal effects of irradiation and point mutation induction. But the location of the maximums of the LET dependence of the relative biological effectiveness (RBE) of the considered irradiation effects is not invariant. With respect to the lethal effect, the highest RBE levels are observed for irradiation with particles of $LET \approx 100 \text{ keV}/\mu\text{m}$. By the criterion of gene mutation induction, the maximum is located at $\approx 20 \text{ keV}/\mu\text{m}$. For deletion mutations, this value is $LET \approx 50 \text{ keV}/\mu\text{m}$. On these grounds, a conclusion was made that the differences in the maximum locations of the RBE(LET) dependences for the lethal and mutagenic effects of radiation are determined by the different character of the DNA lesions participating in the realization of gene mutagenesis and lethal effects. In the former case, those are mainly damaged bases; in the latter, DNA DSBs. The microdosimetric analysis of the LET dependence of clustered single- and double-strand break yield shows that both types of dependences are described by curves with a local maximum (V. Michalik). The clustered single-strand break RBE maximum, however, is shifted by almost an order of magnitude to lower LET, which can explain the difference in the locations of the maximums of the RBE dependences on LET for the lethal effects of radiation and gene mutation induction.

Experiments on the induction of mobile elements by radiations of different physical characteristics (A. V. Boreyko, D. V. Zhuravel) were planned taking into account the fact that the precise excision of transposons, while being a deletion process

by its molecular nature, depends on the functions of the genes controlling SOS repair. As the formation of the deletion mutations, which are based on DNA DSBs, is not determined by inducible SOS repair, it seemed important to study the regularities and mechanisms of the precise excision of transposons in *E. coli* bacteria induced by gamma radiation and accelerated heavy ions of different physical characteristics. With increasing the dose of irradiation with heavy charged particles, the frequency of the deletions caused by the precise excision of the mobile element was described by power dependences. With increasing LET of the particles, their biological effectiveness compared to that of gamma rays increased, and the RBE maximum calculated by the criterion of the precise excision of the Tn10 transposon was realized in the LET range of 20–40 keV/ μ m. As was mentioned before, the maximal gene mutation yield in *E. coli* and *Bacillus subtilis* bacteria is observed at the same LET values. On the grounds of the obtained data, a conclusion was made that the high biological effectiveness of heavy charged particles with respect to the induction of mobile elements and gene mutations is determined by two circumstances. The precise excision of the transposon is on the one part a deletion event; on the other, it is determined by SOS-dependent mechanisms. The transposon excision initiation is based on the formation of single-strand pins in its sequence, which are produced in the course of DNA damage repair; and the formation of a lesion that triggers cell SOS response, which leads to the excision of the mobile element. The difference in the characters of the premutation lesions — the molecular substrate for the formation of the gene and structural mutations — has an effect on the character of the RBE dependences on LET. Clustered lesions of a DNA strand that appear against the cell SOS response background can be the molecular basis of transposon excision. The evidences of this circumstance are the power character of the dose dependence of the induction of mobile elements by radiations of different physical characteristics and the position of a local RBE(LET) dependence maximum determined by this criterion, which correlates with the similar dependence for the gene mutations.

By the establishment of the LRB, the **Molecular Radiobiology Group** had started research on molecular disorders in the human lymphocyte DNA structure under irradiation with gamma rays and accelerated heavy ions and research on apoptotic cell death. With the use of the DNA comet assay, regularities were studied in the induction and repair of DNA DSBs in cells irradiated with ^{60}Co gamma rays and accelerated ^7Li and ^{11}B ions with LET of 20 and 40 keV/ μ m, respectively (A. V. Boreyko, V. N. Chausov, V. A. Tronov). For gamma rays and accelerated ions, the dose dependences were found to be linear; it was shown that heavy ions have greater biological effectiveness than gamma rays by the criterion of DNA DSB induction. The RBE of accelerated Li and B ions is 1.4 ± 0.1 and 1.6 ± 0.1 , respectively. To study the qualitative specifics of DNA DSBs induced in cells by radiations in a wide LET range, an approach involving the use of agents that influence DNA synthesis was used at the LRB. It is known that a number of DNA synthesis

inhibitors (cytosine arabinoside, oxyurea, fluorodeoxyuridine, and some others) suppress not only replicative, but also reparative DNA synthesis in mammalian cells. In the presence of such agents, a significant increase in cell sensitivity to gamma radiation is observed in the postirradiation period. The molecular mechanism of their sensitizing effect consists in blocking the build-up of single-strand gaps in the DNA chain. As a result, the opposite DNA strand with continuously unrepaired gaps can be attacked by S_1 endonucleases, and enzymatic DSBs will form. Along with this, there is no influence of the DNA synthesis inhibitors on mammalian cell survival under radiations with high LET. This prompted a suggestion that with increasing particle LET, the yield of direct DNA DSBs induced immediately by heavy charged particles significantly increases, and their yield is determined only by the physical properties of radiations. In this connection, it seemed important to study the regularities in the effect of DNA synthesis inhibitors on the yield of DSBs induced in cells by radiations in a wide LET range. The data obtained on the effect of DNA synthesis inhibitors (cytosine arabinoside (Ara-C) and hydroxyurea (HU)) on DNA damage induction and repair indicated that the character of their modifying effect is different under cell exposure to ionizing radiations of different quality. It was observed that under normal conditions DNA DSBs are induced more efficiently by heavy ions, the RBE of which is 1.6 ± 0.1 . The obtained results also pointed to the efficient repair of DNA DSBs induced by the used radiations. In the presence of inhibitors, significant differences were observed in the character of the established dose-effect dependences for cell irradiation with gamma rays and accelerated boron ions. For gamma irradiation in the presence of DNA synthesis inhibitors, not only DNA DSB repair was not observed, but DSB yield increased somewhat with cell incubation time. It could be explained, on the one part, by possible inhibition of DNA DSB repair, which, as is known, is realized by two mechanisms: homologous recombination (HR) and nonhomologous end joining (NHEJ). On the other part, it could be connected with the formation of enzymatic DNA DSBs from DNA single-strand breaks (SSBs), which emerge during the incision of modified nucleotides in the process of excision repair. As the removal of damaged nucleotides in mammalian cells in the process of excision repair lasts 3–4 hours after irradiation, the SSBs forming in the presence of DNA synthesis inhibitors can become the sites for enzymatic DSB formation caused by S_1 endonucleases attacking DNA strands that are opposite to incision SSBs. When cells are irradiated with accelerated boron ions in the presence of Ara-C and HU, DNA DSB repair is observed, which is not so in the case of gamma irradiation; the lower values of dose change factor parameters in the case of cell irradiation with heavy ions are explained by a decrease in the number of the induced DNA SSBs with increasing LET of radiations. It is exactly this type of DNA damage that makes up the molecular substrate for the realization of the sensitizing effect of the used DNA synthesis inhibitors.

Thus, on the grounds of the conducted research, it was shown that when mammalian cells are exposed to ionizing radiations in the presence of DNA synthesis

inhibitors Ara-C and HU, DNA DSB repair takes place, which was observed for both gamma rays and accelerated boron ions. The great contribution of enzymatic DNA DSBs developing from inhibitor-blocked joining groups of the direct SSBs and enzymatic SSBs forming in the course of excision repair seem to overlap DSB repair under gamma radiation, which is observed when cells are irradiated with accelerated boron ions. On these grounds, experiments were planned at the LRB with heavier charged particles of yet higher LET ($\geq 200 \text{ keV}/\mu\text{m}$) which induce mainly direct DNA DSBs, while the enzymatic DSB contribution is minimal.

For studying regularities in the formation of DNA damage of different types under ionizing radiations of different quality, the enzymatic DNA comet assay technique was developed. The use of the enzymes of endonuclease III (EndoIII) and formamidopyrimidine glycosylase (Fpg) repair makes it possible to transform modified pyrimidine and purine bases into DNA SSBs. With the use of modifying enzymes in alkaline and neutral DNA comet assay, comparative dose dependences were obtained of the formation of DNA SSBs and modified purines and pyrimidines, as well as DNA DSBs and clustered DNA DSBs under ^{60}Co gamma irradiation.

As was already noted on different occasions, accelerated heavy particles induce many effects that are strongly different from the ones induced by electromagnetic radiations. To a large extent, it is connected with the specifics of heavy charged particle energy transfer to the cell genetic structures. When cells are irradiated with gamma rays, the absorbed dose is delivered to the matter's volume as numerous randomly distributed acts of energy transfer. The same dose of radiation can be transferred to the same matter's volume by a single heavy charged particle passing through it. This character of heavy ion energy transfer to the genetic structures determines the formation of DNA damage types that essentially differ from the ones typical for the electromagnetic ionizing radiations. Among the most severe heavy ion-induced lesions, considered first should be the DNA double-strand breaks (DSBs). A heavy charged particle crossing a DNA section results not only in the violation of the integrity of DNA's two complementary strands, but also in the damage of other molecular structures adjacent to this site. For cell repair systems, such clustered lesions are the most difficult to repair. They are the molecular substrate of cell death, induction of different types of chromosome mutations, and malignant transformations. The necessity of studying the regularities and mechanisms of the formation and repair of such a damage is clear. Therefore, the Molecular Radiobiology Group started research on the induction of DNA DSBs in human cells by radiations with different physical characteristics and their repair. Efficient modern techniques were used which allow studying the formation of DNA DSBs in the nuclei of individual cells: immunocytochemical cell staining by protein-specific antibodies conjugated with different fluorescent dyes (the method of DNA foci) and the DNA comet method.

The method of DNA foci is based on an important property of some proteins to "recognize" the appearing DNA DSBs in nuclei and participate in the progression of the repair process. One of the initial stages of the formation of cell response

to the appearance of a DNA DSB and activation of the repair systems is the phosphorylation of the H2AX histone. A phosphorylated histone, which is called γ H2AX, can be detected near a DNA DSB. It is a signal attracting other proteins to the DNA DSB appearance sites. H2AX histone phosphorylation events can be visualized as isolated nuclear foci by the immunostaining method. The immunostaining principle is based on a specific binding of antibodies to antigens. For each protein, or antigen, an antibody (a primary antibody) can be synthesized that would be specific only to this protein. The primary antibody binds with the studied protein; then, a secondary antibody specific to the primary one binds with this primary antibody. The secondary antibody carries a fluorescent label, which allows the studied protein to be visualized. Besides the γ H2AX histone, this method allows visualization of some proteins participating in DNA DSB repair (like 53BP1). Using the immunocytochemical staining technique and confocal microscopy, an international team of radiobiologists (A. V. Boreyko, L. Jezkova, S. Kozubek, M. Falk, M. G. Zadnepryanets, E. A. Kruglyakova) obtained three-dimensional images of human fibroblast nuclei irradiated with ^{60}Co gamma rays (LET 0.3 keV/ μm) and accelerated ^{11}B ions (LET 135 keV/ μm). For studying the kinetics of ^{11}B ion-induced DNA DSB damage repair, the samples were irradiated normally to the cell monolayer. Irradiation at a small angle (10°) allowed an analysis of the formation and structure of clustered DNA damage along the ion track. For the quantitative evaluation of DNA damage induction and repair, the co-localized γ H2AX and 53BP1 foci, which are the DNA DSB markers, were calculated.

In these experiments, the kinetics was studied of the formation and elimination of the γ H2AX/53BP1 foci induced in fibroblast nuclei by ^{60}Co gamma rays and accelerated ^{11}B ions. It was shown that in human fibroblasts accelerated ^{11}B ions induce more γ H2AX/53BP1 foci than ^{60}Co gamma rays. For gamma irradiation, the maximal radiation-induced γ H2AX/53BP1 foci yield is reached one hour after exposure (~ 25 foci/cell); after four hours, most of the foci ($\sim 80\%$) are eliminated. For accelerated ^{11}B ions, the maximal yield of these foci is observed after 45 minutes of postirradiation incubation (~ 72 foci/cell). 24 hours after irradiation, the amount of the radiation-induced foci was much higher in the cells exposed to accelerated ^{11}B ions than in the cells exposed to ^{60}Co gamma rays, which indicates that the accelerated ion-induced damage is more complicated. The different character of DNA DSB induction by gamma rays and accelerated heavy charged particles was illustrated by comparing the results of the ^{60}Co gamma ray and ^{11}B ion irradiation at 1 Gy, the beam hitting the sample surface perpendicularly and at 10° in different exposures. For the angle of 10° , it was found that a particle, when passing through a nucleus, produces a track consisting of several neighboring foci; and clustered DNA lesions develop along the track in the first minutes after irradiation.

The different character of DNA DSBs induced by electromagnetic radiations and accelerated heavy charged particles and decreased cell repair ability after exposure to heavy ions determine the character of the apoptotic cell death display

(E. V. Baranova, A. V. Boreyko, I. I. Ravnachka, M. G. Savelyeva, S. I. Stukova). As is known, DNA DSBs are the initiating signal of apoptosis — programmed cell death. The quantitative and qualitative differences in DNA DSB induction by ionizing radiations with different physical characteristics must show up in cells' apoptotic response. Indeed, it is clearly observed in experiments on human blood lymphocyte irradiation with gamma rays and accelerated oxygen and neon ions (LET 170 and 180 keV/ μm , respectively).

The **Radiation Cytogenetics Group** carried out the research in several fields. The biological effectiveness of JINR's therapeutic proton beam was estimated; investigations were started of the individual radiosensitivity of the human cell chromosome apparatus, mutagenic effect of ionizing radiations on mammalian cells, and genome instability.

As is known, proton therapy is one of the most promising areas of modern radiation medicine. A therapeutic proton beam was constructed at the Phasotron of the Laboratory of Nuclear Problems, JINR; it has long been used for radiation therapy. Its effectiveness on human cells was estimated by cytogenetic methods. As a model, human peripheral blood lymphocytes were used. Whole blood samples (cells in the G_0 -phase) and a culture of lymphocytes stimulated to divide were irradiated at the times of different phases of the cell cycle. The cells were irradiated at the 170-MeV proton beam adjusted to perform proton therapy at two points of the depth dose distribution: at the place of the beam entering the object (LET ~ 0.5 keV/ μm) and near the modified Bragg peak ($E \sim 0\text{--}30$ MeV; the LET spectrum is up to 100 keV/ μm). Specific quantitative and qualitative features of the response of human peripheral blood lymphocytes to irradiation were revealed based on cytogenetic indicators. It was found that, by the criterion of the aberrant cell formation frequency and total chromosome aberration yield, the relative biological effectiveness of Bragg peak protons is ~ 1.2 for irradiation in the G_0 -phase of the cell cycle. It was determined that G_2 -phase lymphocytes have the highest radiosensitivity to Bragg peak protons; this conclusion was based on different indicators: the longest (up to ten hours) division arrest, a high frequency of the formation of cells with chromosome aberrations and the highest total chromosome yield, a sharp increase in chromosome fragmentosis (up to 85% of the total number of aberrations), and a high frequency of the formation of cells with multiple chromosome aberrations. It was established that the pronounced changes in the ratio of different types of chromosome aberrations take place when G_0 - and G_2 -lymphocytes are irradiated with Bragg peak protons: a high level of chromosome-type aberrations with the prevalence of exchange aberrations is replaced by a high level of chromatid-type aberrations with the prevalence of fragments. Effectiveness coefficients of Bragg peak protons were obtained. Taking into account the most radiosensitive fraction of lymphocytes (G_2 -lymphocytes) as opposed to nondividing ones, the effectiveness coefficients of 170-MeV protons are ~ 1.45 on the average.

A cycle of studies was conducted on the individual radiosensitivity of the human cell chromosome apparatus and biological dosimetry. A series of experiments were performed to study individual dispersions of the genetic structure damage distribution in chromosomes 2, 8, and 14 (human peripheral blood lymphocytes) depending on radiation LET. The accelerated ions used included ^{11}B , ^{17}Li , and ^{20}Ne . The results of the experiments show that the interdonor differences can underlie the biodosimetric error in determining the received radiation dose. Moreover, the ratio of centric ring and dicentric yield in chromosome 2 can be used as a reference quantity to evaluate the radiation dose for high LET.

In this research, significant differences were revealed in the radiosensitivity of donor blood samples irradiated in the G_0 - and G_2 -phases of the cell cycle. Overall, the results show that for accelerated charged particles interdonor sample variability in the chromosome aberration frequency is higher than for gamma rays. Differences were observed between donor radiosensitivity levels evaluated by the usual metaphase method and premature chromatin condensation method (PCC). It was established that sensitivity to high-LET radiations is individual for each donor.

With the use of different cytogenetic analysis techniques, fingerprint estimations of the dicentric-to-ring and complex-to-simple aberration ratios (the F and C frequencies, respectively) revealed differences between donors with respect to these indicators. It was found that the F factor is dose-dependent for gamma radiation, while no dependence of F on the dose and fixation time was observed for charged particles. A combined analysis with the PCC and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) techniques (PCC + FISH) showed that there is a clear F and C factor correlation with LET. It was established that the C factor is more variable between the donors than F. These results explain well the differences between the data obtained at different laboratories worldwide and confirm the efficiency of the PCC + FISH technique for evaluating the quality of radiations in biological dosimetry.

The Radiation Cytogenetics Group studies the biological effects of low doses of ionizing radiation (O. V. Komova, P. V. Kutsalo, E. A. Nasonova, N. L. Shmakova, T. A. Fadeeva). It was found earlier that above 30 cGy damage yield linearly depends on the dose, which is in full agreement with the generally accepted concept. For lower doses, this dependence is nonlinear. In the beginning of the dose curve, abnormally high cell radiosensitivity was observed (damage yield per unit dose), which is followed by an increased radioresistance region, where chromosome aberration yield, in fact, depends inversely on the dose. The maximal effect is 2–3 times higher than the control; it is reached at $\sim 5\text{--}7$ cGy (the hypersensitivity peak). With further increasing the dose up to $\sim 10\text{--}15$ Gy, the chromosome aberration frequency sharply decreases — in some cases, practically to the control level. Similar results were obtained for the irradiation of human blood lymphocytes with carbon ions, where a distinct hypersensitivity peak was observed at the doses of ~ 5 cGy. It should be noted that in lymphocytes of some donors no hypersensitivity or increased resistance was observed in the beginning of the dose dependence of the chromosome

aberration yield, which allows this phenomenon to be considered an individual feature of these donors.

It was also found in research on lymphocytes that independently on the radiation quality, chromatid aberrations are the main type of chromosome damage in the hypersensitivity region. According to the concepts of classical radiobiology, aberrations of the chromatid type are not induced by radiation in nonstimulated lymphocytes. At the same time, they make the main contribution to spontaneous mutagenesis, which, as is known, is determined by the effect of endogenous reactive oxygen species (ROS). Mitochondria, in whose respiratory chain 2–3% of oxygen is converted into the superoxide anion in the process of normal metabolism, are the main ROS source in the cell. As a result of its interaction with a number of cell substrates, a spectrum of secondary active radicals are formed, among which the most dangerous for the cell are the hydroxyl radical and hydrogen peroxide. It was shown earlier that ionizing radiation can cause a sharp increase in mitochondrial superoxide anion yield during several seconds after irradiation (the so-called mitochondrial oxidative stress). Evolutionally, a powerful protein complex formed in cells which protects them from endogenous ROS, but under irradiation its potential may not be sufficient to neutralize such a significant amount of the produced radicals; therefore, additional cytoprotective pathways have to be activated. All these facts made up the basis of the hypothesis on the mechanisms of the action of low doses of ionizing radiation. Its main points are the following: a) hypersensitivity observed in the beginning of the dose curve is caused by an increase in the yield of oxidative damage in cell DNA, which results from radiation-induced ROS amplification in cell mitochondria; b) increased radioresistance observed in cells with further increasing the dose is the consequence of the activation of the cytoprotective mechanisms aimed at suppressing oxidative stress. In the capacity of such a mechanism, a cascade of reactions leading to the activation of the signal-regulated ERK protein kinase was examined. The cascade is triggered in response to an increase in the mitochondrial ROS yield and the action of radiation; it causes the enhancement of cell proliferation.

To test this hypothesis, different modifiers influencing ROS, the mitochondrial respiratory chain, and ERK were used. A change in the shape of the dose dependence of aberrant cell yield in the presence of these modifiers allowed the evaluation of the contribution of the above mentioned processes to the phenomena of hypersensitivity and increased radioresistance at low doses of ionizing radiation.

In research on human breast carcinoma cells, it was shown that the substances having an effect on ROS eliminate hypersensitivity. They include the DMSO interceptor of free radicals, cyclosporine A (CsA) — a blocker of ROS generation by mitochondria, and the SB203580 inhibitor of the p38 MAP kinase, which blocks the prolonged generation of ROS by the NADPH oxidase. At the same time, anti-mycin — an electron transport inhibitor in mitochondria, which is widely used as a ROS generator in biological systems — led to a yet greater increase in chromosome aberration yield at low doses. To clarify the protective role of ERK, two inhibitors

suppressing its activity were used: PD98059 and U125. As expected, ERK inhibition prevents an increase in radioresistance. At the doses of 7–8 Gy, which corresponds to the maximum radioresistance of nontreated cells, the percentage of aberrant cells increases 1.5–2-fold. All these facts indicate that the activation of this protein is a necessary factor of cell protection when the constitutive cytoprotective systems cannot manage an increased number of oxidative lesions observed in the hypersensitivity region.

Overall, experiments with different modifiers influencing the endogenous ROS yield showed that these compounds, which have a high mutagenic potential, make a significant contribution to chromosome damage induction in breast carcinoma cells at low doses. This fact allows one to suggest that radiation-induced oxidative stress and its consequence, cell homeostasis disorder in general, can notably affect the irradiated cell fate.

Another field of studying biological effects at low doses of ionizing radiation is the research on the regularities in adaptive response induced in human blood lymphocytes by different doses of gamma radiation (2–15 cGy). As is known, adaptive response is one of the specific effects of low doses of radiation. It consists in an increase in cell and organism resistance to the subsequent exposure to greater doses of radiation. Adaptive response depends on many factors, including the primary and main dose values, dose rate, cell cycle stage at the moment of irradiation, and the time between the primary irradiation and the subsequent irradiation with a higher dose. All these factors impose tight constraints on the adaptive response manifestation. Besides, in repeated experiments on the same biological objects in the same conditions, preirradiation with a low dose often resulted in opposite effects: from pronounced adaptive response to the enhancement of the effect caused by irradiation with a high dose. It is thus doubtful that this is a universal phenomenon. The aim of the study was to evaluate the reproducibility of adaptive response and determine whether an optimal priming dose exists for any individual, which, as had been suggested, can depend on the organism's individual radiosensitivity in different low-dose ranges. An adaptive response research was conducted on three donors' G₀-lymphocytes in a wide range of gamma radiation priming doses. Irradiation with the major dose of 1 Gy was performed in the G₂-phase of the cell cycle. As the criterion, aberrant lymphocyte yield registered by the metaphase method was used. Altogether, three experiments were conducted with six-month intervals.

The research confirmed a high degree of variability in adaptive response manifestations — between different donors and in different tests of the same donor. It was shown that the individual radiosensitivity factor has no influence on the adaptive ability associated with the irradiation of cells at low doses. Moreover, it turned out to be impossible to find optimal doses for any specific individual, the priming irradiation with which would have had a radioprotective effect in each experiment. Obviously, there is some stochastic factor that affects the radioadaptive response manifestation. Its nature is difficult to establish, because its mechanism is unknown.

Thus, adaptive response, due to its extreme instability, cannot be considered as a universal phenomenon that could be used in clinical practice or taken into account when evaluating radiation risks.

The Radiation Cytogenetics Group performs large-scale research on the mutagenic action of ionizing radiations of different quality on mammalian cells and the problem of genome instability (P. Blaha, R. D. Govorun, I. V. Koshlan, N. A. Koshlan). Chinese hamster cells irradiated with protons (LET 0.22 keV/ μm) and accelerated ^{11}B , ^{14}N , ^{18}O , and ^{20}Ne ions (LET 50–153 keV/ μm) were used to study regularities in HPRT mutation induction. It was found that the manifestation of mutations depends on the time of seeding irradiated cells into a selective nutrient medium with 6-thioguanine (mutation expression time) and radiation LET. For a four-day expression, the frequency of spontaneous and radiation-induced mutagenesis was about $1.2 \cdot 10^{-5}$. For a longer expression, the mutagenesis level increased approximately threefold, reaching a maximum. The maximum location depended on accelerated ion LET. With increasing LET, the maximum shifts towards longer expression times. In particular, the maximal level of mutagenesis was observed 11 days after irradiation with ^{18}O ions (LET ~ 116 keV/ μm) and 23 days after irradiation with ^{20}Ne ions (LET ~ 153 keV/ μm). These terms correspond to 40–50 cell generations (one Chinese hamster cell division cycle takes 11–12 hours). Later, the radiation-induced mutagenesis frequency decreased to the spontaneous mutagenesis level when the seeding was done 30–45 days after the exposure. Based on earlier research, there are grounds to suggest that an increase in the radiation-induced mutagenesis level is determined by the increased chromosome instability of the irradiated cell population; and its display at different expression times depends on initial damage severity.

During the identification and selection of mutant subclones, mutants were observed that grew slower than the intact control cells. The slowdown of the growth of many mutant subclones in a selective nutrient medium with 6-thioguanine could be determined by the appearance of mutations leading to a decrease in HPRT enzyme activity or to the synthesis of a lower amount of the HPRT enzyme. In these cases, the viability of the mutant population could be provided only by the cells that have no time to utilize the purine analog during their cell cycle. Also observed were nonstandard types of the growth of mutant subclones isolated from Chinese hamster cells irradiated with accelerated ^{18}O ions (LET ~ 153 keV/ μm) at 0.5, 1, and 2 Gy. In the same growth conditions, some mutants show unusual morphology compared with the control cell population: the laced, chain, and stellar character of growth. Emergence of colonies was observed before the formation of the mutant subclone cell monolayer. These signs can indicate the initiation of the malignant transformation of cells.

The Group of Lower Eukaryote Radiation Genetics studies regularities in the induction of mutations of different molecular nature in cultures of the unicellular yeast *Saccharomyces cerevisiae* by different types of radiation (N. A. Koltovaya). Several

genetic systems are used which allow testing specific types of genetic structure damage. Base pair substitution is tested with two genetic systems which are based on the substitution of a nucleotide in critical amino acid codons in the CYC1 gene: Cys 22 cysteine (CAA TGC CAC) and glutamic acid Glu50 (ATC GAA TTG). These systems allow testing all the transition and transversion types; they are constructed in such a way that the reversions can emerge only at the expense of true reverse mutations. The disadvantages of the CYC1 system include respiratory impairment, which itself can have an effect on mutagenesis. Besides, the reverting frequency can be affected by neighboring nucleotide sequences. In this connection, work was started with another test system: TRP5. The mutations in this gene do not disturb respiration, which allows selecting the revertants against the active respiration background; and the surrounding of the critical codon of the TRP5 gene differs from the nucleotide sequence of the critical codon of the CYC1 gene. So, the data obtained with the latter test system allow generalization of the regularities in the induction of base pair substitutions by radiation.

Survival curves were obtained for all the haploid (YMH1-7) and diploid (YMH51-57) strains of the CYC1 test system under ultraviolet (UV) light. The survival curves of the haploid and diploid strains are sigmoid. For the YMH53 diploid strain, UV-induced mutagenesis curves were obtained; they have a linear quadratic character. With the survival rate of about 1%, the AT-TA transversion frequency increases 18-fold, reaching 10^{-8} . Survival and mutagenesis curves were also obtained for six strains of the TRP5 test system under UV light. The strains do not differ in their survival rate, and their survival curves have a typical shape. Attempts to induce mutations in haploid strains of the CYC1 genetic system with UV light failed, while mutations were efficiently induced in the TRP5 test system, the GC-AT and AT-GC transitions prevailing in the spectrum.

For the CYC1 test system strains, survival and mutagenesis curves were obtained under gamma irradiation. The haploid strain survival curves have an exponential shape; the diploid ones are sigmoid. A linear (for haploids) and power (for diploids) dose dependence of mutation induction is observed. Gamma radiation efficiently induces all types of base pair substitution; at the survival rate of $\sim 1\%$, the maximal mutation frequency was 10^{-6} . In haploid strains, GC-CG transversions and GC-AT transitions were induced most efficiently; in diploid strains, GC-AT transitions and GC-TA transversions. The induction of base pair substitution by gamma radiation is now studied on a second TRP5 test system.

To study regularities in the induction of frameshift mutations, two genetic test systems are used in which the strains carrying the *lys2-Bgl* and *hom3-10* frameshift mutations in the *LYS2* and *HOM3* genes, respectively, reverted due to the omission of one or two nucleotides in the 5A or 4C tracks in the *lys2-Bgl* mutant and 7T in the *hom3-10* mutant.

The analysis of the mutagenic effect of UV radiation revealed the following regularities. The gene mutation dependences on UV fluence are nonlinear for all types of mutations. Frameshift mutations are induced by UV radiation equally efficiently

in both test systems: LYS2 and HOM3. However, the genetic systems for testing base pair substitution mutations are different, the induction of the GC-AT transitions taking place with the same efficiency as the induction of frameshift mutations in the LYS2 and HOM3 test systems. These results show that in the used test systems — LYS2, HOM3, and TRP5 — the context of the nucleotide surrounding of the mutations is the most suitable for testing frameshift and base pair substitution mutations induced by UV radiation. For gamma radiation, it was established that the dose dependence of frameshift mutation induction is linear.

To test the induction of extended deletions sized approximately several thousand nucleotide pairs, a plasmid system is used which, based on genetic methods, allows detecting the omission of DNA fragments with several genes. Five genes were inserted into a shuttle vector that had regulatory elements of plasmid support in bacterial and yeast cells. A large size of the plasmid and its nucleosome structure allow extrapolation of the obtained data on chromosome-type DNA. The size and localization of the deletion are determined with the electrophoretic and restriction analysis of plasmid DNA.

Experiments showed that deletions are induced by UV light. An exponential dependence of the deletion mutant frequency on the irradiation dose is observed, and the fraction of more extended deletions increases with increasing the dose. Gamma radiation also induces deletion mutants; the dependence of their frequency on the dose is nonlinear. At the irradiation dose of 100 Gy, the mutation frequency was 10^{-5} . Research is conducted on genotype influence on deletion induction regularities. It was shown that UV light and gamma radiation induce deletions in the rad53 mutant, the dose dependence of mutation yield being power-like. The rad53 mutation in the checkpoint gene leads to a decrease in the deletion mutation frequency; thus, the participation is proved of the RAD53 gene in double-strand break (DSB) repair by DNA DSB end joining.

These results were obtained in the conditions when one of the inserted genes (URA3) was used as a selective marker, and the omission of the other four genes was studied. Mutants with different omitted gene spectra were isolated. plDNA was taken from 20 mutants; the size and precise localization of deletions are being determined.

During acquisition of results on a testing system with disordered respiration (CYC1), the issue emerged of the influence of respiration disorder on the lethal and mutagenic effects of radiation. Besides, a high level (up to several percent) of respiratory failure mutations is typical of budding yeasts, which is caused by mitochondrial genome mutations. For this reason, the influence of mitochondrial genome disorders causing respiratory failure on nuclear genome mutability was analyzed. It was shown that respiration disorder caused by mitochondrial genome damage (ρ^- and ρ^0 mutations) decreases the survival rate under gamma irradiation, but has no effect on the survival rate under UV irradiation. Respiration disorder did not influence frameshift mutation induction (LYS2 and HOM3) by UV light and

gamma radiation. In respiration mutants, however, the induced deletion mutant frequency increased both under UV light and gamma rays. In the plasmid system used in this work, deletions emerge as the result of repair by DNA nonhomologous end joining (NHEJ). To clear up the mechanism of this effect, further research is needed as to whether respiration disorder influences the efficiency of DNA DSB repair due to the blocking of ATP energy molecule synthesis, or the formation of NHEJ-repaired lesions decreases.

The Photoradiobiology Sector conducts research on radiation lesions in mammalian eye structures (the lens and retina). The lens is a very radiosensitive organ. As early as the late 19th century, it was clear that exposure of the lens to X-rays leads to its opacity — that is, cataract development. The International Commission on Radiological Protection (ICRP) established that the threshold doses for cataract development are 2 and 5 Gy for a single and fractionated exposure, respectively. The analysis of epidemiological data collected in recent years, however, allows suggesting that these threshold values are overestimated at least by a factor of 5–10. For this reason, research has been stimulated in developed European countries and the U.S. on radiation cataract development mechanisms and cataract epidemiology in population groups which should not be included in the risk group according to the modern concepts.

50 years of the manned exploration of space showed that space flights are associated with an increased risk of cataract development in spacecraft crew members. This problem is especially pressing since the idea of long manned flights beyond the Earth's magnetosphere is considered. The main factor is the organism's exposure to the cosmic rays, which consist of different radiations. In the space flight conditions, it is practically impossible to provide protection from their main component — high-energy heavy charged particles. Thus, research on the mechanism of cataract development under such radiation is an important applied aspect of the radiation cataract problem.

The Photoradiobiology Sector conducts research on the mechanisms of radiation cataract formation (K. O. Muranov, M. A. Ostrovsky). It was established that, like in the case of senile cataract, the epithelium structure changes under irradiation — cavities and defective cells emerge there, the capsule becomes thin, and oxygen concentration in the tissue increases. Fiber cell morphogenesis gets disordered; nuclei, mitochondria, and other cell organelles, which should normally be eliminated, remain in the formed cells. An increase in oxygen concentration and the functioning of mitochondria lead to the enhanced production of reactive oxygen species (ROS), oxidative damage of the protein, and its aggregation. Full coincidence was found between the lens regions with an increased ROS concentration, protein aggregates, and opacities proper. Radiation induces additional “destruction” of the nuclear apparatus of epithelial cells — that is, yet greater disorder in fiber cell morphogenesis. Radiation action is summed with the natural aging of the lens. Irradiation with

increasing doses leads to a proportional decrease in the lag period of the formation of defective fiber cells in the lens cortex and cataract development. This study resulted in an essential conclusion that the idea of a threshold radiation dose is unacceptable as regards cataract induction. Exposure to ionizing radiation only brings closer the beginning of cataract formation.

Among the targets of high-energy heavy charged particles in the lens, the protein and DNA molecules can be determined as the main ones. It is known that to damage a protein by ionizing radiation, relatively high doses are needed. But the special structure of the lens — namely, the absence of protein exchange — can result in long-term damage accumulation and, later, protein molecule denaturation. Moreover, hidden internal damage of the molecule can weaken its resistance to other damaging factors — in particular, ultraviolet (UV) light. For this reason, a cycle of research was performed to study the effect of different types of radiation on β_L crystallin stability. The main method consisted in studying the kinetics of this protein's aggregation — that is, the kinetics of the protein solution's opacity under factors denaturing the protein. It was shown that β_L crystallin exposure to UV light leads to one-hit protein denaturation; in this case, aggregation kinetics is described in terms of cluster-cluster interaction. It means that the molecule accumulates internal damage, which in no way affects its properties, but upon reaching some dose, single-step denaturation takes place. First, denatured molecules form primary clusters with a size of about 20 nm; then, clusters stick together to form large light-scattering aggregates. The action of the following types of ionizing radiation was studied: gamma rays and H, D, He, ^{12}C , ^7Li , and ^{11}B nuclei. The most active were lithium and boron nuclei that is, radiations with the highest linear energy transfer. However, the doses for which a decrease in protein molecule stability was observed were quite high: 16 Gy for these nuclei. It is obvious that such doses have no physiological sense as the lethal dose for humans is 10 Gy. The data allowed concluding that epithelial cell DNA is the main target for radiation in the lens.

At the next stage, the lens *in vivo* became the object of research because the life-long dynamics of its condition allows tracking DNA radiation damage.

In the natural environment, cataract results from organism exposure to many cataractogenic factors — in particular, UV light, malnutrition, smoking, etc. Therefore, at the next stage, the integrated effect of the main cataractogenic factors on cataract formation was studied — radiation, UV light, and age. In cooperation with the Institute of Eye Diseases of the Russian Academy of Medical Sciences and Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences, it was shown that the development of cataracts of different genesis (senile, UV, diabetic, etc.) seems to be underlain by the same mechanism. The influence of different damaging factors on the lens — in particular, radiation — manifests itself as acceleration of the natural process of senile cataract development (K. O. Muranov, M. A. Ostrovsky).

Radiobiological experiments on the retina involve molecular biological, morphological, and electrophysiological research techniques. As a brain part placed

in the eye (Ramón y Cajal, 1901), the retina can rightfully be considered a model and object for studying the effect of radiation on the central nervous system. Research on the mechanisms of the effect of different types of ionizing radiation on the retina is of principal importance for evaluating the risk of postirradiation complications in the radiation therapy of the eye and brain as well as the real danger of long space flights. The latter is associated with the damaging effect of heavy charged particles of the galactic origin on the retina beyond the Earth's magnetosphere, the clinically apparent manifestations of which can develop months and even years afterwards.

Along with studying the mechanism of radiation cataract development, the Sector conducts research on the radiation-induced effects in experimental animals' retina (Yu. V. Vinogradova, V. A. Tronov). Experiments were conducted to study the link between DNA damage and repair on the one part and, on the other, degenerative changes in the mouse retina induced by ionizing radiation (gamma and proton radiation) and the genotoxic agent methylnitrosourea (MNU). Gamma radiation induces mainly DNA single-strand breaks, which are uniformly distributed over the genome. Protons are more efficient in the induction of double-strand breaks, which localize near the particle track. Double-strand breaks are lethal lesions because of their high efficiency in apoptosis induction in dividing cells. The methylating agent MNU causes breakless lesions in DNA: methylated bases along with apurine and apyrimidine (AP) sites. In the mid-1990s, a research team in Japan discovered MNU's ability to induce photoreceptor apoptosis in the retina after single intraperitoneal introduction in animals at a dose of > 60 mg/kg. MNU was used as a positive test of apoptosis in the retina. Thus, the three used agents are associated with the main DNA damage types and their repair pathways.

The obtained results confirm the thesis that the mature mouse retina is highly radioresistant. Full DNA repair is observed after exposure to gamma and proton radiation at a dose of 14 Gy. Increased expression in retinal proteins that are associated with cell death (apoptosis) is normalized 12 hours after irradiation. By this time, radiation-induced DNA break repair is finished. Most likely, it indicates that these proteins facilitate DNA repair and damaged cell renovation rather than induce apoptosis.

Increasing the exposure dose to 25 Gy caused notable morphological changes in the photoreceptor layer of the retina. The changes include the degradation of the outer segments of the photoreceptors and a decrease in the density and thickness of their nuclear layer. Degradation progresses in time and is connected with photoreceptor death, which follows the apoptotic pathway. Apoptosis is indicated by the increased expression of proapoptotic proteins. Thus, the relatively high radioresistance of the retina and the active mechanism of postirradiation repair, which removes radiation-induced DNA breaks, point to the existence of the genotoxic threshold that determines a nonlinear character of the effect dependence on the irradiation dose.

In the genotoxic effect of MNU, dose threshold existence was also established. Research on its connection with the genotoxic effect of MNU revealed two specific features of the retina that had not been described before. First, it is a high DNA damage level in the mouse retina. In the increasing order of the DNA damage level, mouse organs are ranged as follows: lymphocytes < liver < brain << retina. This order is the same for the degree of the oxygenation of these tissues.

The second peculiarity of the retina found in the Sector's research is its capability of active repair, which removes most of DNA damage induced by radiation and MNU but has no effect on the earlier spontaneous DNA damage.

Thus, these results confirm that in the differentiated retina cells, there is a genotoxic threshold for the used radiations and methylate. They also show that, like for the dividing cells, repair is one of the causes of postmitotic retinal cell tolerance to DNA damage. Another cause of this tolerance is a decrease in the physical size of the radiosensitive target to that of the transcribed locus of the genome. There are grounds to assume that the decisive role in the transformation of the originally permissive DNA lesions (postirradiation breaks along with modified bases and AP sites emerging after exposure to MNU) into cytotoxic ones belongs to the topoisomerase 2 molecules localized in the transcribed sites.

In recent research performed by the Photoradiobiology Sector, electroretinography (ERG) has been used as an overall physiological indicator of the retina's functional integrity. Recording an electroretinogram induced by white light pulses of different intensity allows obtaining a full picture of the lifetime activity of the mouse retina. It was found that the ERG profile is more sensitive to a genotoxic effect than the morphological and cell indicators. With this approach, it was found that the retina is capable of adaptive response and recovery with respect to the functional activity indicator. The Sector's current research is focused on a possible contribution of Müller glial cells to the retina recovery. These cells make up a small population of retinal cells which, in response to traumatic stress, retain the ability to increase their proliferation, migrate to the outer retina layers, differentiate into photoreceptors, and produce endogenous neuroprotectors for the retinal photoreceptors.

The Laboratory's **Mathematical Modeling Group** performs mathematical modeling of radiation-induced effects in cells of different organisms. As was already said, the initial aim of these studies was the development of mathematical models of molecular mechanisms of the induced mutation process in relatively simple biological objects like bacterial cells. Based on experimental data, an original model was developed that described the induced mutation process by detailed mathematical modeling of the key protein interactions during the specific response of *E. coli* bacterial cells to ultraviolet irradiation (SOS response) (O. V. Belov, E. A. Krasavin, A. Yu. Parkhomenko). Using this model, it was shown that the magnitudes and time locations of the protein concentration maximums and minimums depend on the ultraviolet radiation energy fluence. It was found that the concentration

dynamics of the UmuD₂, UmuD'₂, and UmuDD' dimers is described by a curve with a local maximum, which shifts towards longer times with increasing the radiation energy fluence. Typical for the UmuD₂ dimer is a decrease in the protein concentration at the early stages of SOS system functioning. It was shown that if the energy fluence is greater than 30 J/m² for the UmuD protein and greater than 49 J/m² for the UmuD₂C protein, two concentration peaks are observed; their location depends on the magnitude of the radiation energy fluence.

In this research, for the first time a relationship was established between the molecular mechanisms of the bacterial system of SOS response, translesion synthesis (TLS) efficiency, and gene mutation yield. It was shown that an increase in the concentration of DNA polymerase V results in more errors in the course of TLS. With the use of the lacI regulatory gene of *E. coli* as an example, the dependence of the lacI⁻ mutation frequency on the radiation energy fluence was calculated; the modeling results agreed with experimental data.

The research was based on the modern concept of SOS regulation, which suggests considering cell SOS response in terms of system biology. The aim of this approach was to provide insight into the biology of SOS response at the system level by formalizing the mechanisms of the protein interactions in the cell. The developed model approaches have two main features that make them applicable for the future development of the SOS regulation theory: first, they contain a descriptive function — that is, a topologic presentation of the system components and their relations; second, they can predict the dynamic behavior of a biological system in time.

For a more precise identification of the molecular mechanisms of fixing pre-mutational lesions as mutations, approaches were developed to the detailed description of induced SOS response in bacterial cells *E. coli* with the impaired translesion synthesis function. A dynamic change in the concentrations of the key proteins of the SOS system for the recA, umuD, and umuC mutants of *E. coli* was modeled.

Then, to take into account the stochastic nature of biochemical interactions, a SOS response model was developed based on the Gillespie algorithm, which had become widely used in modeling complex biological systems. The advantage of this approach is a more correct description of protein interaction kinetics at the level of a specific cell at low energy fluence values (< 1 J/m²).

Further work was concerned with mathematical modeling of other repair systems that have an influence on the magnitude of the bacterial SOS system's inducing signal. In particular, with the use of a stochastic approach, a model was developed that describes the key processes of the excision repair of damaged bases in *E. coli* cells (O.V. Belov, M.A. Kapralov). The mechanism of the removal of 8-oxoguanine modifications was modeled involving formamidopyrimidine DNA glycosylase (the Fpg protein), which has several types of activity. The proposed model included the description of repair processes like modified base transformation into AP sites, β - and δ -elimination, 5'-deoxyribose phosphate residue excision, and DNA polymerase I and DNA ligase activity. Such a model, which takes into account

the stochastic nature of the biochemical reactions, allowed predicting the kinetics of the key enzymes and intermediate DNA states during excision repair. The modeling results agree with *in vitro* experimental data that characterize the initial stages of the repair process involving the Fpg protein. Predicted were the dynamic change in the Fpg protein concentration, DNA polymerase I, DNA ligase, and metastable states during repair. It was found that the rate of some stages of the system's functioning depends on the initial concentration of 8-oxoguanine.

In the course of this research, a particular example was considered of applying the proposed model to the repair of 8-oxoguanine lesions involving bifunctional Fpg glycosylase. It was shown that the model can describe an excision repair of *E. coli* in the general view with the participation of other DNA glycosylases, including multifunctional ones, in which case some of the activities typical of Fpg are realized by additional enzymes.

An important aspect of this work is the introduction of the magnitude equal to the fraction of lesions that were not removed at the Fpg-dependent stages of repair. Thus, it is possible to do a probabilistic study of the excision repair stages at which a system failure can happen. In fact, the research shows that the introduced magnitude can be a reliability characteristic of this repair system, and a search for similar parameters of other repair systems is an important approach to the evaluation of repair process reliability in whole.

The results of these studies were published in the cycle of works "Mathematical Modeling of Radiation-Induced Mutagenesis in Bacterial Cells," which won the 2011 First Prize of the journal "Particles and Nuclei, Letters." The specifics of these works included using modern data on the role of genes and proteins participating in the regulation of the repair processes and obtaining results that can be verified experimentally. On the basis of the developed model concepts, a number of important regularities were predicted concerning the character of the expression of some proteins during the functioning of the inducible repair systems. The proposed approaches can be widely used to describe the acquired experimental and theoretical knowledge of the induced mutation process. In particular, clearing up the radiation-induced mutagenesis mechanisms in complex organisms and the human is hardly possible without a detailed analysis of the mutation process in relatively simple biological objects like bacterial cells.

In parallel, work was being performed on mathematical modeling of the repair process under accelerated heavy ions. The inducing signal of the SOS system of *E. coli* was evaluated for different types of accelerated ions. Formation of the main premutational DNA lesions — base damage, single- and double-strand breaks, and clustered lesions — was described quantitatively. DNA was considered as a linear target randomly positioned relative to the charged particle track. The model takes into account the character of the radial distribution of energy in the particle tracks, which is very important for assessment of delta electrons' role in damaging DNA. Calculations confirmed that the character of the base damage yield dependence on linear

energy transfer is similar to that obtained for single-strand breaks. Base damage yield turned out to be 4 times greater than single-strand break yield throughout all the calculated linear energy transfer range, which is connected with an effective increase in the thickness of DNA linear target. The dependence of DNA double-strand break yield and clustered damage on linear energy transfer (LET) are described by a curve with a maximum, after which a further LET increase becomes inefficient. The calculation results, which describe the total yield of clustered lesions (independent of their type), are compared with experimental data on SOS induction potency (SOSIP) evaluated with a SOS chromotest. The calculated and experimental results agree well. Along with these studies, preliminary model calculations were performed that describe the main repair processes leading to the generation of the inducing signal of the bacterial SOS system. In particular, preliminary quantitative estimations were obtained of the pol A-dependent repair of single-strand breaks, double-strand break repair by homologous recombination, and excision repair of modified bases. The proposed models take into account the possibility of different damage types transforming into the other ones.

The final stage of research on modeling induced mutagenesis in bacterial cells was the development of models substantiating the presence of additional elements in the hierarchy of the repair systems regulating the fixation of premutation DNA lesions as mutations. On the basis of the constructed models, important conclusions were made on the role of mismatched base repair in the realization of radiation-induced SOS response. Described in detail was the interaction between SOS repair and mismatched base repair, which leads to the significant leveling of the mutagenic effect of DNA polymerase V. In earlier studies concerned with SOS response modeling, a discrepancy was revealed between a high level of mistakes emerging during DNA polymerase V functioning and the relatively low efficiency of the fixation of these mistakes as mutation. It was assumed that there is an additional molecular mechanism decreasing the number of bases the matching of which took place with the violation of the complementarity principle in the course of DNA resynthesis on single-strand sections. Experimental results obtained over past several years allowed concluding that this mechanism is a mismatched base repair, which identifies and removes a noncomplementary nucleotide and then fills the formed gap. It remained unclear, though, how these two repair systems interact and how their mutual regulation is realized. The lack of understanding how these repair processes interact was caused, first of all, by the absence of a system view of the functioning of these mechanisms.

It became possible to resolve these issues by working out a mathematical model of mismatched base repair and combining it with the induced mutagenesis model developed earlier. It was shown in detail which protein interactions play a role in the mutual regulation of the two systems and how this regulation influences the final yield of radiation-induced mutations. As a specific radiation type, ultraviolet was chosen because it allows one to exclude quite efficiently the influence of other systems

whose functioning is observed under ionizing radiation or in the presence of some chemical agents. The research was performed by turning on or off specific proteins responsible for different stages of repair and, afterwards, comparing the modeling results and experimental data. The model was used to study mutagenesis in bacterial cells with defects in the *mutS*, *mutL*, *mutH*, and *umuC* genes in different combinations. The results, which were based on a detailed model description of the molecular mechanisms of the two systems, confirmed the hypothesis about the role of mismatched base repair in induced mutagenesis. Not only did the performed research allow a better understanding of the interconnection between the two repair processes, which are different in nature, but it also cleared up the issue of what molecular mechanisms are behind the parameters of the classical exponential dependence describing radiation-induced mutagenesis in bacterial cells.

In parallel, primary interactions of heavy charged particles with DNA were modeled. Work on the stated tasks led to the formation of a new field of research on modeling DNA damage induction, where the spatial structure of the charged particle track and — more precisely than before — the geometry of the target are taken into account. At the first stage, model approaches were developed in which the DNA damage induction mechanism is described in terms of the radial distribution of spatial energy and absorbed dose in a charged particle track. As an example, a comparison was performed of the spatial location of the atoms of an adenine–thymine nucleotide pair with a calculated radial distribution. It was established that the proposed approach would be more efficient with the use of tools for modeling the spatial structure of a charged particle track, which would allow describing the mechanisms of the induction of primary lesions of different types taking into account the precise atomic structure of DNA. In the studies to follow, it was necessary to take into account the influence of the mechanism of the bond break between DNA atoms on the specifics of damage yield. Using the obtained results, it seemed possible to evaluate the probability of the induction of different types of lesions by heavy charged particles. It required, however, complicated computational techniques connected with clearing up the quantum mechanical nature of DNA damage formation.

The stated task was solved by combining several model approaches. With the use of data on the DNA molecular structure, the exact spatial geometry of the linear section of the double spiral was modeled. Alongside with this, the use of transport codes TRIOL and GEANT4 allowed obtaining spatial models of tracks of heavy charged particles of different energies. The superposition of the geometric model of the target, which is a DNA section, and the spatial structure of the particle track yield information on the initial localization of energy deposition in the molecular structure of the double spiral. This made it possible to go over to the next stage: modeling the migration of the positive charges formed at the places of interaction between the particle track delta electrons and DNA atoms. With the use of the quantum mechanical apparatus, the probability of positive charge migration was evaluated, for which several short — about 10 nucleotide pairs — DNA sections had been chosen.

The dependence of the shift of the chain bases on time was calculated. It was shown that a deviation from equilibrium can point to a local destruction of the chain — that is, DNA damage of different types. Also, double spiral sections were identified, where DNA damage development is the most probable. In other words, the proposed model approach allowed performing a probabilistic analysis of the emergence of base lesions and DNA single- and double-strand breaks, which form heavy charged particle-induced clustered damage. Actually, this research cleared up the nature of energy fluctuations in sensitive microvolumes of cells, of which classics of quantitative radiobiology spoke.

Thus, since the beginning of research on the mathematical modeling of radiobiological effects, a wide range of issues have been considered and significant results have been obtained, which are topical and carry novelty. On these model approaches, hands-on classes were based that were offered at practical courses held at JINR for Russian and foreign young specialists. Materials of the research were included in graduate programs of Dubna University and Lomonosov Moscow State University.

The Molecular Dynamics Sector performed research on molecular dynamics modeling of radiation-induced conformation changes in protein structures and condensed matter (M. A. Ostrovsky, T. B. Feldman, Kh. T. Kholmurodov). The main obstacle on the way to the efficient MD application to extended macromolecules like proteins is well known. It consists in the huge size of the system (from tens of thousands to millions of atoms) and the time scale of calculating dynamic conformations of proteins (from femtoseconds to nanoseconds and longer). It is thus impossible to go without powerful computational resources and the newest processors and platforms, which have to be adequately adapted to MD tasks. Finding relaxed conformation states of mutant proteins based on classical computational approaches can take years even for one protein structure.

The visual pigment rhodopsin is a typical representative of the large family of integral membrane receptor proteins, which bind the G-protein (G-protein-coupled receptors, GPCR). These proteins play the key role in the information and regulatory processes in the organism. Calculations of rhodopsin molecular dynamics allowed finding out some special features of the conformational state of its chromophore: 11-*cis*-retinal. As is known, at least three types of opsin conformation states can be identified in the rhodopsin molecule: a) dark-adapted, where the chromophore group (11-*cis*-retinal) functions as a powerful ligand antagonist preventing opsin interaction with the G-protein; b) strongly activated light-adapted, where at one of the final stages of photolysis — metarhodopsin II formation — all-*trans*-retinal functions as a powerful agonist efficiently facilitating opsin interaction with the G-protein; c) scantily activated light-adapted, where at the photolysis final stage opsin completely loses all-*trans*-retinal, and its chromophore place remains empty. In a series of computer modeling studies, a comparative research was performed on the molecular dynamics of rhodopsin that contained the chromophore group

(11-*cis*-retinal), free opsin (without 11-*cis*-retinal), and the rhodopsin mutant version associated with the development of the pigmental degeneration of the retina, which ultimately leads to complete blindness.

It is remarkable that in recent years only computer modeling based on X-ray structure analysis data allowed solving such problems. X-ray structure analysis yields a detailed three-dimensional static picture of the rhodopsin molecule in its dark-adapted crystal state. The molecular dynamics method allows describing the dynamics of the molecule's conformational state, for example, chromophore and its interaction with five surrounding amino acid residues or the dynamics of other domains of the molecule (like the cytoplasmic or intradisk ones). Besides, some nonvalence bonds (hydrogen, van der Waals, and electrostatic) in a crystallized protein molecule can be disordered due to the deformation of α -spirals, which can play an important role in the functional properties of the visual pigment. In other words, the X-ray structure analysis data cannot provide an unbiased three-dimensional picture of the molecule. Moreover, the resolution of this method does not allow a detailed description of chromophore's three-dimensional ordering in the protein. Theoretical approaches can thus make it possible to describe the molecular dynamics at the atomic level and understand how the visual system's unique ability to perceive a light quantum is realized.

Thus, the intramolecular mechanism of rhodopsin regeneration was disclosed. During this process, the rhodopsin molecule acquires unique photochemical properties, which results in the visual pigment becoming a photoreceptor. Being at the same time a G-protein binding receptor, it is inactive in darkness and is practically incapable of interaction with the G-protein. Both of these functional properties of rhodopsin are of principal importance for the realization of phototransduction — a normal physiological process in the dark-adapted visual cell.

Another field of the Sector's research is computer modeling of the CDC28 yeast kinase and homologous human CDK2 kinase. For yeasts, pleiotropic manifestations of mutations were shown to take place in the CDC28 gene. These mutations disturb the cell cycle, repair, and checkpoint control, thus leading to enhanced mutagenesis. For dynamic modeling, amino acid substitutions were used which have pleiotropic manifestations in the yeast cells *cdc28-srm* [Gly20Ser] and *cdc28-13* [Arg283Gln]. The *cdc28-13* mutation is localized in the large domain of the kinase and is remote from the site interacting with cyclin and ATP. The *cdc28-srm* mutation is a substitution for the third glycine in the conservative sequence GxGxxG in the so-called G-rich loop in the small domain of the kinase subunit; it is located against the T-loop in the large domain of the kinase subunit. It was found that the G- and T-loops are important, but their specific role has not been cleared up yet. Molecular dynamics modeling of the human CDK2 kinase (native protein: model I) was performed with substitutions for the respective amino acids CDK2-Gly16Ser (a mutant protein: model II) and CDK-7 Arg284Gln (a mutant protein: model III); nanosecond dynamics of the CDK2/ATP complex was analyzed. The importance

of these amino acids was shown; their influence on CDK2 kinase conformation was clarified: it is indicated by an increase in the distance between the G- and T-loops in the respective mutant forms. The obtained results show that mutations destabilize the local structure in the region of the T-loop. The Arg-end region mutation has a more pronounced effect; it leads to the loosening of the kinase structure and an increase in the distance between the G- and T-loops.

The Laboratory conducts **radiation research** (headed by G.N. Timoshenko) in the following areas both of experimental and computational character:

- participation in the development of JINR's new nuclear physics facilities as regards the design and calculation of biological shielding, prediction of the radiation environment at specific facilities and their environment, evaluation of the induced radioactivity of the equipment, evaluation of the staff's exposure, provision of radiation safety measures, and designing radiation monitoring systems;
- verification of Monte Carlo methods of calculating radiation transport in matter by comparing the calculation results and experimental data or by using software with different intranuclear cascade models;
- physics support of the LRB's research conducted at JINR's nuclear physics facilities; improvement of heavy nuclear beam dosimetry methods;
- development of neutron spectroscopy methods in a wide energy range in scattered radiation fields beyond the shielding of nuclear physics facilities; applied research using dosimeters based on solid-state detectors of damage marks and thermoluminescent detectors;
- participation in the program of planet surface research with nuclear physics methods.

Following below are the 2005–2012 results in these fields of research.

In 2001–2005, LRB staff participated in designing the Subcritical Assembly in Dubna (SAD). In 2005, the work was mainly completed and the SAD project section "Radiation Safety of the SAD Facility" was prepared. The radiation environment was studied in detail on the territory around the Phasotron accelerator and the proton beam-based nuclear spectroscopy facility YASNAPP buildings (the Laboratory of Nuclear Problems) at different operation modes of the accelerator; the vertical distribution of the neutron dose rate over the Phasotron wall was measured in the region of the vents and on the Phasotron roof; and the depth distributions of the soil radioactivity in the Phasotron levee were measured. The shielding calculations were done using the MCNPX radiation transport code.

To check the correctness of the calculation of the internuclear cascade that develops in the lead core of the subcritical assembly under exposure to 660-MeV protons from the Phasotron, an experiment was performed on measuring spectra of secondary neutrons from the target in the energy range of 50 keV–660 MeV at angles of 45°, 75°, and 105° and angular distributions of hadrons by activation detectors with

different energy thresholds. A comparison of this experiment's results with Monte Carlo calculations using the MCNP4B + LAHET and MCNPX codes showed a good agreement between the calculated and experimental data.

As part of designing SAD shielding, a great amount of calculations of the radiation environment in the subcritical assembly building were done taking into account different radiation sources: 660-MeV proton beam losses in the beam transportation channel and in the magnetic optics elements; leakage neutrons from the assembly core shielding and from the Phasotron continuous shielding. On the basis of the obtained data, the radiation exposure zones in the assembly building were determined for different operation modes; the neutron dose rate in the environment was calculated; and the activation of air and materials in the magnet room and soil under the facility, as well as atmospheric emission activity, were evaluated.

In cooperation with the Laboratory of High Energy Physics, measurements were continued of spectra of neutrons generated by 1 and 1.5 GeV protons in the U + Pb + CH₂ assembly. The aim of the experiments at the Gamma-2 facility was to estimate the cross section of radioactive waste transmutation. Also at the LHEP's request, the efficiency of proton beam transportation was studied and proportional ionization chambers were calibrated with the use of activation detectors.

From 2007, LRB staff members G.N. Timoshenko and M. Paraipan (Romania) participated in designing radiation shielding and developing radiation safety measures for the NICA complex. The requirements, information on radiation sources, the initial data for shielding calculations, and the tentative layout of the shieldings of the booster, the Nuclotron, collider, and beam transportation channels made up the contents of Section 8 (Biological Shielding and Radiation Monitoring) of Volume IV of the NICA draft proposal (2009).

In forecasting the radiation environment at the NICA complex, of cardinal importance is the correct description of the sources of secondary radiation generated in matter by relativistic superheavy nuclei. For this purpose, Monte Carlo codes SHIELD, FLUKA, and GEANT4 for calculating radiation transport in matter were verified using unique experimental data on neutron yield from a thick iron target irradiated with 1 GeV/nucleon ²³⁸U nuclei. On the grounds of the verification results, GEANT4 was chosen as the basic code.

During work on the project, numerous versions of the complex concept, collider layout, and secondary radiation sources were considered; the criteria of radiation environment evaluation were changed accordingly. Different placements of the collider canyon were examined: Building 205, a semiunderground construction, a separate building, etc.; different designs were proposed of the nuclear beam catchers, which are the main secondary radiation sources along the collider rings. For a work team of the Comet Close Corporation, source data for the shielding design were prepared. In particular, the double differential yield of neutrons and protons in the reaction ¹⁹⁷Au + ^{nat}Fe at an energy of nuclei of 4.5 GeV/nucleon, spectral and angular distributions of hadrons from a thin target and a catcher, and neutron fluence and dose attenuation in concrete for the corresponding spectra were calculated. Also,

other reference materials were provided. Agreement between the results obtained using the GEANT4 and SHIELD codes was good, which allowed the designers to use approximate engineering methods of shielding calculation for the NICA collider project (2011).

LRB staff participated in the development of the radiation safety measures at all the project's stages. Energy deposition in the superconducting coils of the magnetic dipoles and in the lenses was calculated for quenching probability evaluation; the shielding against bremsstrahlung from the collider's system of electron cooling was calculated. A nontrivial problem of the activation of the collider rings by primary nuclei and secondary hadrons of the internuclear cascade was solved. The experimental data suitable for verifying induced radioactivity calculations are scarce, and the accuracy of simulating radionuclide production cross sections in nuclear reactions is poor. For this reason, a comparison was performed of partial activities in a thick iron and copper targets irradiated with a beam of 0.95 GeV/nucleon ^{238}U nuclei as calculated using the GEANT4 and SHIELD codes. It was shown that the GEANT4 calculations of the total activity of the medium- and long-lived isotopes are acceptably reliable. The induced activity calculations based on the planned schedule of the collider's 10-year operation allowed prediction of radiation environment dynamics inside the canyon when the collider is off and elaboration of the criteria of classifying the collider ring equipment as radioactive waste with reference to specific radionuclide activities.

A detailed 3D calculation of the collider's radiation environment is being done using GEANT4. The errors of the engineering methods of shielding calculation and, if necessary, refinement at the detail planning stage are evaluated taking into account the shielding proposed by the designers.

The layout of the shielding against neutrons was proposed and calculated for a stationary and mobile customs control facilities for detecting hidden drugs and explosives. A local shielding of two scrapers of the IREN facility's electron accelerator was designed.

At the Nuclotron (the Laboratory of High Energy Physics), U-400M cyclotron (the Laboratory of Nuclear Reactions), and the medical beam of the Phasotron and Rocus-M therapeutic gamma-facility (the Laboratory of Nuclear Problems), radiobiological experiments were performed, in which biological objects were irradiated with particles of different physical characteristics: 170- and 1000-MeV protons; 1000 MeV/nucleon deuterons; 200, 500, and 1000 MeV/nucleon ^4He , ^{12}C , and ^{24}Mg nuclei; low-energy ^7Li , ^{11}B , ^{14}N , and ^{20}Ne nuclei; and ^{60}Co gamma rays. The irradiated objects included human peripheral blood lymphocytes, plant and organism cells, eye proteins, and small laboratory animals. Unfortunately, due to the long drawn-out upgrade of the Nuclotron, no radiobiological research was carried out at its nuclear beams in 2007–2011.

For fast irradiation of a set of thin samples at the U-400M cyclotron, the "Genome" automated irradiation facility was used. In 2010–2011, it was completely upgraded. It was installed at a beam branch of the ACCULINNA fragment-separator

and underwent first tests. For the calibration of its dosimetric ionization chamber, a scintillation detector with an ultrafast analog-to-digital converter is used. Changes in the spectra of nuclear energy deposition in the detector allow beam quality control during sample irradiation.

There is no stationary irradiation facility at the Nuclotron, so it has to be assembled and calibrated before each experiment from the very outset. In addition, at the sample irradiation place (the F3 focus of the high-energy particle beam in the ion guide gap), beam collimation is impossible; the experimental opportunities are thus limited. The short-term task of the LRB's experiments at the Nuclotron is to provide a high quality of the heavy nuclear beam and precise low absorbed dose dosimetry for pulsed beam operation. For this purpose, it is necessary to carry out the analysis of the beam with respect to nuclear energy deposition in a thin detector, to ensure the precision measurement of the nuclear flux taking into account the time microstructure of the beam with the use of a telescope of scintillation counters, and to calibrate the readings of the ionization chambers equipped with highly sensitive current-frequency transformers in a wide range of currents of different nuclear beams. The complete fulfillment of this task would be possible if there were a stationary irradiation chamber at a special medical and biological channel of the Nuclotron or booster.

The development of neutron spectrometry methods in a wide energy range — from thermal to several hundred MeV — for mixed and scattered radiation fields has been a top priority area of radiation research due to its practical importance. Such a spectrometry is based on a multisphere methodology that uses the energy dependence of the neutron slowing-down length in a hydrogenous material. Overall, the multisphere neutron spectrometer is a small slow neutron detector placed inside spherical polyethylene moderators of different diameters. The slow neutron detector options include ^6Li -enriched $\text{LiI}(\text{Eu})$ scintillator, proportional spherical ^3He counter, ^{198}Au and ^{115}I activation detectors, and a pair of ^6LiF and ^7LiF thermoluminescent detectors. The multisphere spectrometer is the only instrument to measure the neutron spectra (and, correspondingly, the dose) in the weak radiation fields beyond the accelerator shielding. The importance of the retention and development of this methodology consists also in that it is only the LRB and the Department of Radiation Research of the Institute of High-Energy Physics that have such $^6\text{LiI}(\text{Eu})$ crystal-based spectrometer and experience in operating it.

At the LRB, the multisphere technique developed towards the refinement of the spectrometer's rated sensitivity functions, extension of the spectrum measurement energy range into high energies, and the creation of a portable version of the spectrometer for field measurements. With the use of the MCNP code, precision calculations were performed of the spectrometer sensitivity functions for neutron energies up to 20 MeV for monodirectional and isotropic radiation. An additional 10-inch polyethylene sphere with a lead insert 8 cm in diameter was manufactured for increasing spectrometer sensitivity at high energies.

In cooperation with Parsec Ltd., a portable stand-alone version of the multisphere spectrometer with a monitor was designed and manufactured. As the neutron field monitor, a proportional ^3He neutron counter in a cylindrical polyethylene moderator is used with a charge-sensitive preamplifier. The spectrometer's scintillation sensor with a $^6\text{LiI}(\text{Eu})$ crystal is connected to the multichannel analyzer through a spectrometric analog-to-digital converter (ADC). The ADC, which has a large-capacity increment memory unit, is an external device hooking up to a USB port. The ADC memory unit is divided into two parts with independent inputs; so, in fact, there are two separate ADCs: for the spectrometer and monitor. The multichannel analyzer is based on the Lenovo S9 netbook. Another external USB-fed unit includes two high-voltage sources: for the photoelectronic multiplier of the spectrometer's sensor and for the ^3He counter of the monitor. To extend the stand-alone operation of the monitor-equipped spectrometer, an additional rechargeable lithium battery is used. The battery has a USB port, to which the netbook or external units can be connected. To reduce the weight and size of the spectrometer for field measurements, an integrated multicomponent polyethylene moderator was made. It consists of concentric hemispheres; such a design allows a quick assembly of moderators of a required diameter. This multisphere spectrometer has a much lower total mass than the preceding version and can work for 12 hours in the mode of measuring neutron spectra without an external power supply. The Lenovo S9 netbook is powerful enough to run the Reconst software, which uses the statistical regularization method to solve the inverse problem, for the quick reconstruction of neutron spectra from spectrometer measurements done with different moderators.

Another experimental technique that was developed at the LRB for a long time was track detectors of damage traces. At JINR's accelerator beams, the sensitivities of polyalyl diglycol carbonate (PADC) and polyethylene terephthalate (PETF) detectors and LET dependences of track diameters for different nuclei were studied.

Fruitful cooperation was established between the LRB and the National Institute of Radiological Sciences in Chiba, Japan. Results of a comparison of different passive detectors used in space dosimetry were processed. The comparison was performed at ^4He , ^{12}C , ^{28}Si , and ^{56}Fe nuclear beams of the HIMAC medical accelerator. In a research performed jointly with the Institute of Nuclear Physics in Prague, the Czech Republic, CR-39 detectors were processed that had been irradiated inside the Russian module of the International Space Station (ISS) in 2005. Spatial distributions were obtained of the absorbed and equivalent galactic cosmic ray doses inside the module. The CR-39 detectors were used to study the fragmentation of high-energy ^{20}Ne and ^{24}Mg nuclei in light targets.

Within the framework of an interstate agreement on cooperation in science between Russia and India, LRB staff (V.E. Aleinikov) participated in a project on the synthesis of new nanocrystal thermoluminescent detectors for the dosimetry of heavy charged particles and electromagnetic radiation. The nanophosphors fabricated in India were irradiated with 150-MeV protons at the Phasotron

of the Laboratory of Nuclear Problems, ^{60}Co gamma rays at sources in Dubna and New Delhi, and at ion beams of the Pelletron electrostatic accelerator of the Inter-University Accelerator Centre in New Delhi. Dependences of thermoluminescent detector sensitivity to protons, ions, and gamma rays on the absorbed dose were studied. It was shown that with decreasing the thermoluminescent crystal size to ~ 10 nm, nanophosphors become more practical than microphosphors for the measurement of high doses of ionizing radiation.

The adequacy of indications of two gauges widely used at JINR to the ambient and individual dose equivalents was evaluated: the operational inspection neutron dosimeter based on the SNM-14 boron counter in a combined moderator and the industrial DVGN-01 personal albedo dosimeter. The study was a series of calculations using energy dependences of dosimeter sensitivities and neutron spectra of JINR's nuclear physics facilities — both measured by LRB staff and taken from the literature. Gauge readings for fields with known spectra and radiation dose values for these spectra were calculated. With the use of the obtained results, radiation dose reading errors were determined, which allowed finding correction coefficients for dosimeter readings. 24 neutron spectra measured at JINR's basic nuclear physics facilities were used that correspond mainly to the neutron spectra at the most probable staff locations. The authors of this study won JINR's 2011 Second Prize for Applied Research.

A technique was proposed for the approximate calculation of a comb-shaped filter used in targeted tumor therapy with carbon nuclei (M. Paraipan). This type of filter provides a spatial distribution of nuclear energy deposition in the tumor that corresponds to a modified Bragg curve. The filter shape was calculated analytically and compared with the results of a Monte Carlo calculation performed using the GEANT4 code. Two versions of the comb-shaped filter were considered: stationary and movable. It was studied how the filter shape is determined by carbon nuclear beam energy and the mode of the relative biological effectiveness dependence on the LET of carbon nuclei in a tissue.

The Cosmic Gamma-Spectroscopy Laboratory of the Institute of Space Research (ISR), the Russian Academy of Sciences, is Russia's planetology center. The Laboratory designed a number of instruments for planet surface studies by nuclear physics methods. Some of them were, and some are planned to be, installed on board Russian and foreign spacecraft. Russian experiments are conducted on board the spacecraft of the National Aeronautics and Space Administration (NASA), the U.S., and the European Space Agency (ESA) on the basis of Intergovernmental Agreements between the Russian Federal Space Agency (Roscosmos) and these agencies. The Laboratory's collaborators are a number of scientific organizations in Russia, including JINR. The latter's tasks are the following: participation in instrument development at the design stage; computational modeling of radiation environment at planets' orbits and performances of instruments and their responses using universal codes of radiation transport in matter (MCNPX and SCINFUL-R); and

the preparation and fulfillment of instrument calibration using radiation sources at modeling benches and in the field conditions.

Since the beginning of ISR–JINR cooperation in 1998, LRB staff (A. R. Krylov and G. N. Timoshenko) have participated in the evaluation of the characteristics and calibration of neutron detectors and gamma spectrometers for the following missions: the High Energy Neutron Detector (HEND) for 2001 Mars Odyssey, HEND Phobos for Phobos–Ground, the Lunar Exploration Neutron Detector (LEND) for the Lunar Reconnaissance Orbiter (LRO), the Dynamic Albedo of Neutrons (DAN) complex for the Mars Science Laboratory (MSL), the on-board neutron telescope BTN–Neutron for the International Space Station (ISS), and the Mercurian Gamma and Neutron Spectrometer (MGNS) for BepiColombo.

The HEND instrument on board the 2001 Mars Odyssey orbiter was the first to show that there are huge subsurface water ice deposits in the polar and even middle latitudes of the Mars, which was a very significant scientific result.

The LEND instrument was installed at NASA's LRO, which was launched in the summer of 2009. LEND was intended for studying the chemical composition of the lunar ground; it was the first high spatial resolution neutron telescope in space research history. Its main task was the search for water in the lunar ground or on the surface. The instrument worked efficiently; two LRB staff members were awarded NASA's letter of commendation for the successful realization of the mission.

New instruments were designed for the evaluation of the chemical composition of the Mars's moon Phobos (HEND Phobos for Roscosmos's Phobos–Ground mission) and the Mercury's surface (MGNS for ESA's BepiColombo mission, which is planned to be launched in 2015). Besides neutron detectors, these instruments include LaBr_3 scintillator-based high-resolution gamma spectrometer.

The DAN complex was created for NASA's MSL Curiosity rover. The mission is aimed at the evaluation of water content in the Martian ground on the rover's path with a horizontal resolution of about 1 m at depths of up to 1.5 m. The instrument is successfully performing on the Martian surface near Gale Crater.

On board the service module of the Russian segment of ISS, the high-energy neutron telescope for the BTN–Neutron experiment has been operating since 2006. The aims of this experiment include research on secondary neutron radiation in the Earth's upper atmosphere generated by high-energy charged particles, the neutron component of solar flares, and the neutron component of the radiation background on board ISS.

New-generation instruments (ADRON-LR) are being designed for the evaluation of the elemental composition of the Moon's surface at the spacecraft landing site by active neutron and gamma spectroscopy. The spacecraft are planned to be launched in 2015 and 2017.

Experimental work was performed at JINR's EG-5 electrostatic generator to calibrate instruments and study their physical characteristics using ^{252}Cf and

^{239}Pu -Be radioisotope neutron sources and 0.2–15.3 MeV monoenergetic neutrons from the reactions $p + {}^7\text{Li} = n + {}^7\text{Be}$; $d(D, n){}^3\text{He}$; and $T(d, n){}^4\text{He}$. Modified ^{252}Cf -based neutron sources in spherical polyethylene moderators 3 and 5 inches in diameter were also used.

To calibrate the energy scales of the instrument spectra of the pulses of the stilbene-based high-energy neutron detector and LaBr_3 crystal-based gamma detector, gamma rays from isotope sources and neutron capture and inelastic neutron scattering reactions on iron, nickel, and nitrogen were used. The measurements were carried out both using isotope neutron sources and at a thermal neutron beam of the IBR-2 reactor.

In model experiments, the water or ice-containing ground layer was simulated by a calcium silicate brick assembly with a polyethylene layer at different depths of up to 1 m. Also, full-scale tests were conducted on a concrete-covered flat open surface with ice-simulating polyethylene layers. For model tests with a neutron generator, a special bench was made that will allow simulation of different compositions of the Martian ground with great variability.

In 2013, the **Astrobiology Sector** was established at the LRB. It has been headed by A. Yu. Rozanov, Academician of the Russian Academy of Sciences. The scope of the Laboratory's new unit includes biogeochemical studies of cosmic matter on the Earth and in nearby space and research on the biological and geochemical specifics of the early Earth. The main objects of research are the cosmic materials that are parts of meteorite composition, micron-sized cosmic dust particles, and rocks and fossil organisms of the early Earth. The Sector is active in the following fields:

- biogeochemical studies of cosmic dust;
- studies of biofossils and organic compounds in meteorites and in ancient terrestrial rocks;
- research on the synthesis of prebiotic compounds from formamide under exposure to space types of radiation — on the Earth and in space.

The first area involves studying cosmic dust (CD) in different terrestrial terrains and CD collection in the upper atmosphere and in nearby space. CD research allows evaluating the regularities in the time distribution of cosmic dust falling on the Earth's surface, which is important for the reconstruction of the geological history of the Earth and obtaining data on the paleoclimate. Studying the CD structure, mineralogical, elemental, and isotope composition, and biological properties will help solving fundamental problems like the nature of interplanetary matter and its role in the origin of life.

In the course of the work in this field, CD samples were collected in different terrestrial terrains (Arctic and Antarctic snow and ice, high mountain snow and ice, peat moss, rock strata, bottom sediments, the upper atmosphere, near-Earth space, and interplanetary space); isolation (enrichment) of the space component

of the collected dust samples was performed. A comprehensive analysis of the space component of dust has been underway, which includes:

- studying the mineralogical, chemical, and elemental composition of CD;
- determination of the isotope composition of CD reference elements;
- search for biomarkers in CD: biofossils, organic compounds, metabolites, nucleic acids, and viable cells;
- estimation of the total amount of CD falling on the Earth surface;
- evaluation of the CD spatial distribution over the the Earth surface and its temporal variations; studying CD composition variations in the Earth's geological history;
- comparative analysis of fossil CD and interplanetary CD collected by spacecraft.

Biofossils and organic compounds in meteorites and ancient terrestrial rocks are another field of the Astrobiology Sector's research. Biofossils are petrified microorganisms and products of their vital activity. They are an important tool for studying bacterial life occurrence. Studying biofossils in meteorites and ancient terrestrial rocks allows obtaining data on the forms of ancient terrestrial and extraterrestrial life and clearing up the problem of the origin of life. An important discovery was made by scientists of the Paleontological Institute of the Russian Academy of Sciences: microorganism traces were found in meteorites. It is remarkable that some of the meteorite rocks with bacterial life traces are older than the Earth. It is a strong reason to suggest that life on the Earth is not unique: somewhere in the Solar system (or beyond) it had emerged earlier than the Earth formed. Within this field of research, the Sector performs the following specific activities:

- selection of samples of metasedimentary, volcanogenic sedimentary, and volcanogenic rocks of the greenstone belts of Karelia and Kola Peninsula;
- preparation of samples for scanning electron microscope studies;
- scanning electron microscopy of the samples.

An important field of the Sector's research is studying the regularities and mechanisms of the formation of prebiotic compounds from formamide (NH_2COH) — one of the simplest chemical compounds abundant in the interstellar and interplanetary medium. In cooperation with specialists of Italian universities (Prof. R. Saladino of Tuscia University, Viterbo, and Prof. E. Di Mauro of La Sapienza University, Rome), experiments are conducted in which samples of different meteorites, mixed with formamide, are exposed to ionizing radiation (high-energy protons and heavy ions). In these conditions, production of nucleic bases, carboxylic acids, amino acids, sugars, and other complicated compounds — up to nucleosides — was observed. Experiments are planned on the synthesis of nucleotides from these products.

The elemental composition of the meteorites used in this research is determined by neutron activation analysis, which is performed jointly by the LRB Astrobiology Sector and the Laboratory of Neutron Physics at the IBR-2 pulsed reactor (M. V. Frontasyeva).

INTERNATIONAL COOPERATION

From the first steps towards the establishment of the Biological Research Sector (BRS) at the Laboratory of Nuclear Problems (LNP) in 1978, JINR's radiobiologists began an active cooperation with specialists of JINR Member States. Among the radiobiologists who participated in research conducted by the BRS was a team of scientists of Berlin-Buch Institute. The team was headed by Prof. H. Abel and Dr. G. Erzgreber. JINR's cooperation with Berlin-Buch Institute grew from contacts between radiobiologists of this institute and the Institute of Medical Radiology in Obninsk, where in the 1960s–70s the world-renowned geneticist and radiobiologist Prof. N. V. Timofeev-Ressovsky worked. Under the influence of his studies, an actively working school of radiobiologists was formed in Berlin-Buch before the Second World War. Therefore, after the establishment of the BRS, which was then headed by Prof. V.I. Korogodin, who had earlier worked for many years with N. V. Timofeev-Ressovsky, JINR started its own collaboration with German scientists.

The research conducted jointly with Berlin-Buch Institute was focused on the molecular mechanisms of DNA lesions in higher organism cells induced by accelerated heavy ions. During a short time, a set of equipment was created, which made it possible to study regularities and mechanisms of DNA double-strand breaks (DSBs) in mammalian cells cultivated *in vitro*. Unique results were obtained, which allowed finding out different aspects of the lethal effect of radiations of different physical characteristics on higher organism cells.

At the same period, the BRS collaborated with the Institute of Nuclear Chemistry and Technology (Warsaw, Poland). On the Polish side, this work was headed by Dr. O. Rosek. The research was aimed at making a comparative study of the lethal effect of radiations in a wide range of linear energy transfer (LET) on two lymphoma cell lines that had different repairability of DNA damage. It was shown that there is a significant difference between the radiosensitivity of these two cell lines: the radioresistant one had a normal repairability of DNA damage; the radiosensitive one had a defect in the repair system. With an increase in heavy charged particle LET, the radiosensitivity of both cell lines was observed to level off, which pointed to the induction of direct DNA DSBs by high-LET radiations.

The cytological effect of ionizing radiations on plant cells cultivated *in vitro* was studied at the BRS by E. Hlinkova of the Comenius University (Bratislava, then Czechoslovakia). In the early 1980s, F. Czaba, a mathematician at the Central Institute for Physics (Budapest, Hungary), did at the BRS theoretical research on modeling the spontaneous mutation process in lower eukaryote cells. At the same time, V. Lisy, a theoretician at the University of Košice (then Czechoslovakia), studied at the BRS the problem of the presence of Davydov solitons in DNA.

In the early 1980s, the BRS began the active development of radiobiological research at the accelerators of the Laboratory of Nuclear Reactions, JINR. The main aim was to find out the mechanisms determining the differences in the biological effectiveness of ionizing radiations of different physical characteristics. This work was joined by two scientists of then Czechoslovakia: S. Kozubek (the Institute of Biophysics, Czechoslovak Academy of Sciences, Brno) and, later, V. Michalik (the Institute of Radiation Dosimetry (IRD), Prague).

S. Kozubek developed a model describing the regularities in the lethal effect of radiations in a wide LET range on bacterial cells with different reparability of DNA damage. This model allowed the description of the lethal radiation effects in bacterial cells (the cell survival shape, radiosensitivity dependence on LET, oxygen effect, and effect of radioprotectors of different classes) induced by heavy charged particles. It was shown that the specifics of the effect of multicharged ions on the genetic apparatus of cells can be determined by the cluster type of the DNA damage induced by heavy ions.

A microdosimetry analysis of the yield of DNA lesions of different types under ionizing radiations of different physical characteristics was performed by V. Michalik (IRD). It was shown that with increasing LET, the yield of cluster lesions of single- and double-strand DNA increases. This dependence is described by a curve with a local maximum, the maximum location being different for different types of cluster lesions. It was a pioneering study, which was later continued in many research centers of the West.

A wide range of research was conducted in 1985–1990 to study the mutagenic effect of radiations of different LET on cells by an international team of physicists and radiobiologists, which included M. Bonev (the Institute of Nuclear Physics and Nuclear Energy, Bulgaria), S. Kozubek (then Czechoslovakia), B. Tokarova (then Czechoslovakia), and F. Czaba (Hungary). To find out the relative role of the physical and biological factors in the induced mutation process, S. Kozubek initiated research on the induction of forward and reverse mutations in bacterial cells. It was found that the dose dependence of the cell mutation frequency has a linear quadratic character. It was shown that with an increase in particle LET, the character of the mutation frequency dependence on the irradiation dose does not change; it is only the relative genetic efficiency (RGE) of radiations that changes. The RGE dependence on LET is described by a curve with a local maximum. Within the framework of the theoretical approach developed by S. Kozubek, the difference was explained

in the locations of the maximums of the relative biological effectiveness dependence on LET against the lethal and mutagenic effect criteria. It is determined by the different character of the DNA lesions participating in mutagenesis and the lethal effects of radiation. The former are mainly damaged bases; the latter, DNA DSBs. In 1989, S. Kozubek successfully defended a doctoral thesis on this subject.

M. Bonev studied in detail the regularities and mechanisms of prophage lambda induction by radiations of different physical characteristics. This research allowed an evaluation of the role of the inducible repair system in prokaryote cells during the mutation process caused by ionizing radiations of different quality.

Since 1985, effective cooperation has been going on with a group of GSI radiobiologists (Darmstadt, Germany) headed by Profs. G. Kraft and S. Ritter. Specialists of the Department of Radiation and Radiobiological Research (DRRR) and their German colleagues have been performing experiments at heavy ion beams of the GSI accelerator to study the cytogenetic effect of accelerated heavy ions on mammalian cells in culture and human lymphocytes. DRRR specialists made a notable contribution to the preclinical investigations of the radiobiological characteristics of multicharged ion beams designed for cancer therapy.

In 1990–1998, close collaboration was maintained with the Radiation Biology Division, the Institute of Aerospace Medicine (Cologne, Germany), of the German Aerospace Center. On the German side, a team headed by Dr. G. Horneck participated in this research, which was concerned with the development of a new method of studying the kinetics of the expression of the inducible cell operons based on the luciferase reaction. The international team developed an efficient and simple method (SOS-Lux test), which allowed a real-time evaluation of damage in the genetic apparatus of living cells under ionizing radiation, ultraviolet light, and chemical carcinogens. For this purpose, a genetic construction was assembled which contained genes of luminescent bacteria controlling the synthesis of proteins involved in the luminescence reaction (lux genes). When DNA is damaged, gene functioning repression is removed, which triggers the luminescence reaction. As a result, the cells carrying the mentioned genetic construction emit visible light; the light yield depends directly on the degree of DNA damage and can be easily measured. Thus, the SOS-Lux test, in its essence, proved to be a unique biological dosimeter; it can be widely used in different areas: in ecology — for the rapid analysis of chemical carcinogen and mutagen contaminations; in pharmacology — for evaluating the possible mutagenicity of new medicines; in chemical and food industry.

To advance these promising studies, the team got financial support in the form of a grant from the Copernicus program (Brussels, Belgium). The research resulted in the creation of a device which allows on-line detection of physical and chemical mutagenic factors in the environment.

In the genetics of yeast cells, joint work was performed during several years with Prof. N. Babudri of the University of Perugia (Italy) to investigate the genetic control of mutagenesis under cell starvation. This task was related to the problem

of the genetic control of cell cycle arrest after DNA damage induction. In recent years, the interrelation has been more evident between different components of the integral cell response to DNA damage, which stands behind genome stability and integrity. A relation is shown between the cell cycle control mechanisms and DNA repair mechanisms. The mechanism of the control and coordination of these processes was discovered in the late 1980s; it was called checkpoint control. This mechanism allows the cells to survive and maintain genetic stability and is regulated by the checkpoint genes. It is believed that a disorder in checkpoint ways that leads to an increase in mutability and genome instability is important in the early stages of carcinogenesis.

In 1988–1997, DRRR radiobiologists productively collaborated with the National Aeronautics and Space Administration (NASA) of the U.S. On the NASA side, this work was headed by Dr. T. Young. Within the framework of the Agreement of Cooperation between JINR and NASA, a series of experiments were performed at the JINR Synchrophasotron to determine the relative biological effectiveness (RBE) of 1–5 GeV protons. In experiments on human blood lymphocytes, regularities of the induction of stable and unstable chromosome aberrations were studied. The RBE values of relativistic protons were found to be not higher than those of gamma radiation.

The DRRR has been actively cooperating with the Institute of Biophysics of the Academy of Sciences of the Czech Republic (the city of Brno) to study the cytogenetic mechanisms of the induction of stable chromosome aberrations in human cells by radiations in a wide LET range. On the Czech side, the collaboration is headed by Prof. S. Kozubek. Joint research on the cytological effect of heavy charged particles on plant cells has been conducted with specialists of Comenius University (Bratislava, Slovakia). Fruitful cooperation has been developing with the Institute of Nuclear Chemistry and Technology (Warsaw, Poland). This work, which, on the Polish side, is headed by Prof. A. Wojcik, is focused on studying regularities and mechanisms of the induction of different types of chromosome aberrations (unstable chromosome lesions and translocations) by different doses of accelerated charged particles. Also, the DRRR regularly performs similar research jointly with the GSI (Darmstadt, Germany). Active cooperation has been formed with Minsk State University (Belarus): the joint work is aimed at studying the cataractogenic mechanisms of high-energy heavy charged particles and mechanisms of the effect of radiations of different quality on the visual pigment rhodopsin.

The uniqueness of JINR's nuclear physics facilities and their ionizing radiation fields required the development and production of new means of radiometry and ionizing radiation dosimetry. In the 1960s, M. Zielczynski, a JINR scientist from Poland, created a recombination dosimeter of mixed ionizing radiation, which allowed measuring absorbed and equivalent doses and radiation quality coefficients for beams and scattered radiation fields of the accelerators and pulsed fast neutron reactor.

Information on the energy dependences of dosimeter sensitivity is essential for measuring the characteristics of ionizing radiation fields that are complicated in terms of their component make-up and energy distribution. For this reason, studying the performances of the dosimeters and detectors that are in use in the JINR Member States has been one of the main fields of international cooperation over the past decades. The energy dependences of the sensitivity of a Bonner spectrometer, solid state and emulsion track detectors, and thermoluminescent detectors were studied in cooperation with many specialists of these countries, including M. Gelev and I. Mishev (Sofia, Bulgaria); B. Derschel, G. Hahn, H. Taut, L. Wetzel et al. (Dresden, Germany); S. Pszon and M. Zielczynski (Swierk, Poland); D. Nikodemova and M. Fulop (Bratislava, Slovakia); F. Spurny, Z. Spurny et al. (Prague, the Czech Republic); and others.

To evaluate the accuracy of measuring the characteristics of radiation fields by instruments that are in use in the JINR Member States, a series of comparative measurements were made in the 1970s in the fields of JINR proton accelerators, in a beam of the IBR-30 reactor, in ^{252}Cf -based fields in polyethylene moderators, and in the fields of CERN accelerators. These measurements were performed by specialists of Bulgaria, Czechoslovakia, Poland, Romania, and the Soviet Union. The results showed that the required accuracy of measuring the characteristics of radiation fields can only be achieved occasionally. This research resulted in improving the dosimetry techniques used in the JINR Member States.

After DRRR establishment, the cooperation between JINR and the International Atomic Energy Agency (IAEA) was broadened. This cooperation included the following fields: specific research at the request of the IAEA; JINR's participation in the IAEA-coordinated research programs; and the organization and conduction of the IAEA training courses.

The IAEA, in particular, exercises control over nuclear nonproliferation. In this regard, measuring weak neutron fluxes in intense gamma radiation fields to track the movement of fissile materials is an important task. To an order by the IAEA, performances were studied of different thermal neutron detectors with polyethylene moderators, equipment parameters were optimized, and a corona counter-based prototype neutron monitor for detecting the movements of nuclear materials was manufactured and tested in intense gamma fields.

The monitoring of staff irradiation using personal dosimeters is a significant component of evaluating the efficiency of any radiation safety program aimed at limiting occupational exposure. A change in the radiation safety concept that followed the publication of new recommendations by the International Commission on Radiological Protection (1990) encouraged the development of new international radiation safety standards, which were prepared by international organizations, approved by the IAEA Board of Directors, and published in 1996.

These standards introduced new operational quantities for radiation monitoring. In particular, the standards direct that a new operational quantity be used

for the personal dosimetry of strongly penetrating radiation: the $H_p(10)$ personal dose equivalent, which ensures that the requirement not to exceed the established dose limits is met. Taking into account the technical difficulties of introducing new radiation quantities for the measurements of radiation doses, the IAEA launched a research program to compare the personal dosimeters used in its member countries of Eastern Europe. The aim of the program was to enable the personal dosimetry services to evaluate the energy and angular dependences of the sensitivity of dosimeters and to measure the radiation field characteristics in terms of the $H_p(10)$ personal dose equivalent.

At the request of the IAEA, due to the DRRR's great experience in studying the performances of personal dosimeters and capabilities of providing metrological support for dosimetry measurements, JINR took part in this program as a metrology laboratory. Within the framework of this activity, the readiness was checked of 23 personal dosimetry services for measuring $H_p(10)$ in gamma radiation fields with different energy distributions of particles; also, the energy and angular sensitivity functions of the dosimeters in use were measured in terms of the personal dose equivalent. The performed research led to a significant improvement of the reliability of the measurements of the personal dose equivalent made in the IAEA member countries of Eastern Europe.

In 1996 and 1999, the IAEA's training courses for young specialists were conducted on the basis of the JINR University Center. The courses were attended by several tens of specialists of most of the JINR Member States and Estonia, Latvia, and Lithuania.

EDUCATION

For about 25 years, programs of training specialists in radiobiology, as well as in protection physics and dosimetry, have been offered at JINR. At the early stages of the formation of the JINR University Center (UC), the Department of Radiobiology was established there as a branch of the respective Department of Moscow Engineering Physics Institute (MEPI); also, postgraduate programs in the specialty of *Radiobiology* were started. The Department's enrollment was made up of physics students who had completed seven semesters at MEPI, Moscow State University, Moscow Institute of Physics and Technology, and a number of other institutions of higher education. After thesis defense, many of them were enrolled in postgraduate programs and defended their Candidate's theses.

In 1998, on the initiative of the JINR Directorate, the Department of Biophysics was established at Dubna University. The Department trains certified specialists in the field of *Human and Environmental Radiation Safety* with the following specializations: *Radiation Biophysics* and *The Biophysics of Photobiological Processes*. The Department provides mathematical, physical, chemical, and biological education through the following general and special courses: general biology; molecular biology; general radiobiology; clinical radiobiology; physiology; cytology; microbiology; biophysics; biochemistry; DNA damage and repair; radiation genetics; the photochemistry and photobiology of the primary processes of vision; radiation protection; radiation dosimetry; mathematical modeling in radiation physics, biology, and ecology; and some others. The Department conducts research in radiobiology, radiation genetics, the kinetics of the primary photobiological processes, cytology, molecular biology, medical uses of radionuclides, microdosimetry, and mathematical modeling of dynamic biological processes. To consolidate theoretical knowledge, practical training is provided at the JINR-based student laboratories of microbiology, cytology, molecular biology, photobiology, radiation dosimetry and protection, and experimental methods of nuclear physics. The Department offers postgraduate programs in the specialty of *Radiobiology*.

The Department's faculty consists of top-level specialists, including Prof. M. A. Ostrovsky, an Academician of the Russian Academy of Sciences (RAS); professors and scientists of JINR, MEPI, the Institute of General Genetics (RAS), and other major scientific research centers. The Department is headed by Prof. E. A. Krasavin, Dr. Biol. Many of the LRB's present-day young specialists graduated from the Department of Biophysics.

CONCLUDING REMARKS

This publication presents a wide range of radiobiological studies conducted at the Laboratory of Radiation Biology of the Joint Institute for Nuclear Research (LRB JINR). The diversity of the Institute's sources of ionizing radiations with different physical characteristics — first of all, heavy charged particle accelerators — predetermined the Laboratory's main radiobiological research area: the regularities and mechanisms of the biological action of ionizing radiations in a wide range of linear energy transfer. The use of heavy ion accelerators allowed solving one of radiobiology's key problems: the problem of the relative biological effectiveness of ionizing radiations. As was said in the first part of this book, the first radiobiological experiments at JINR were conducted more than 60 years ago by specialists of the Institute of Industrial Hygiene and Occupational Diseases, Oncological Research Center, and a number of other Moscow institutes. In 1963, after the establishment of the Institute of Biomedical Problems (IBMP) of the USSR Ministry of Health, its specialists started experiments at JINR's accelerators to study the regularities and mechanisms of the biological action of high-energy protons. This research was necessary because high-energy protons are present in space and are very dangerous for cosmonauts' health. The proton energy range of the Synchrocyclotron (JINR's first accelerator) allowed modeling the biological action of high-energy protons of space origin. With the assistance of the JINR Directorate — first of all, Director of the Laboratory of Nuclear Problems (LNP) V.P. Dzheleпов, a Corresponding Member of the USSR Academy of Sciences — IBMP staff members performed a huge amount of radiobiological research on the relative biological effectiveness of high-energy protons. Then, at a low-energy heavy ion accelerator of the Laboratory of Nuclear Reactions (LNR), research was started on the biological effects of accelerated multicharged ions. This work received attention and active support from LNR Director Acad. G.N. Flerov and, later, Acad. Yu. Ts. Oganessian. These studies were focused on the specifics of the action of densely ionizing radiations on living cells of different types: microorganisms (yeast and bacterial cells), experimental animal tissues (cornea and skin), and vegetable objects. Important results were obtained on the lethal action of heavy ions on cells and development of chromosome lesions in irradiated cells. After the establishment in 1978 of the Biological Research Sector (BRS) at JINR, which was actively supported by LNP Director V.P. Dzheleпов, cooperation with the IBMP rose to a new level. Some of its staff members went over to work at the BRS. Thus, the continuity

of the traditional ties between the IBMP and JINR was provided. Space radiobiology has always been present in the fields of research performed by JINR's radiobiologists.

Currently, in connection with ambitious ideas of developing the Moon and of the Mars mission, it has become especially urgent to combine radiobiological research efforts because preparation of such flights requires providing protection from galactic space radiation. It seems that the microgravity factor will not be the main obstacle for the long-term flights beyond the Earth's magnetosphere since many issues of the organism's exposure to weightlessness have already been successfully resolved. On the contrary, full protection from galactic radiation is still impossible in deep space. During a one-year flight there, 1 cm² of a cosmonaut's body will be hit by up to 10⁵ heavy charged particles of the carbon and iron groups. The biological effectiveness of the iron group nuclei is very high. They are very likely to induce mutations and cancer; they induce cataract and are also harmful for the retina; and they affect the central nervous system cells.

Such exposures can be modeled at charged particle accelerators — in particular, at JINR's Nuclotron. In modeling the biological effects of heavy charged particles at new-generation accelerators, to the fore comes research on the molecular mechanisms of genetic apparatus damage, which can allow evaluation of the character of the induced DNA structure disorders, because the damage induced by galactic radiation is qualitatively and quantitatively different from the damage induced by electromagnetic radiations. One has to know exactly what mutations emerge and how dangerous they are; to estimate the probability of cancer and cataract development; and to estimate the risk of brain damage, because exposure to heavy charged particles can impair important functions of the central nervous system. Solving all these problems requires fundamental radiobiological research at high-energy accelerators of multicharged ions. Heavy charged particles are also a unique tool that allows yielding much knowledge on the organization of living systems. Heavy charged particle radiobiology is a new radiation biology; it is different from the classical one, which is concerned with the action of electromagnetic types of radiation. Efficient radiobiological research methods are being developed; thus, there are grounds to expect that not only a number of applied problems (in particular, the ones connected with planning the Mars mission), but also the fundamental problems of radiation genetics as part of life sciences will be solved.

The LRB's prospective research fields are defined by the Laboratory's cooperation with the Department of Physiology of the Russian Academy of Sciences. The visiting session of the Department's Bureau held in the summer of 2013 in Dubna gave the LRB a strong impulse for further development as a research center. The session's aim was to work out a new concept of the radiation safety of interplanetary flights. It was proposed that new approaches to the solution of the radiation barrier problem be elaborated and that the possibility in principle of interplanetary flights be evaluated for the current level of space engineering. NASA, ESA, and other space agencies follow the established approaches, estimating the risk associated with radiation

exposure as the probability of the development, first of all, of cancer as a delayed consequence. The LRB has developed new approaches to the solution of this problem.

The present-day radiation risk concept for orbital and interplanetary flights is based on a generalized dosimetric functional as the criterion and quantitative measure of radiation danger. The generalized dose comprises the radiation doses inducing immediate and delayed effects. The immediate radiation-induced effects appear during the flight; the delayed ones develop throughout life. When the dose is calculated for the immediate and delayed effects, coefficients are introduced taking into account the influence of radiation quality on the radiobiological effect (where radiation includes heavy charged particles of different energies), dose distribution over time, dose distribution over the human body, and modification of the organism's radiation response caused by other space flight factors. But this approach is unacceptable for interplanetary flights because the action of heavy nuclei differs from that of electromagnetic radiations: a single particle track can be likened to a "bullet pass," where huge amount of local energy is released, while the latter, to an electromagnetic "rain." The action of heavy charged particles on the brain structures at doses corresponding to real heavy particle fluxes for the Mars mission causes marked disorders of spatial orientation and cognitive functions. It was established that heavy ions damage hippocampus — the most important brain structure responsible for working memory formation. In this part of the central nervous system, neurogenesis goes on continuously — the production of new neurons involved in the formation of working and long-term memory. The latest results obtained by neurophysiologists suggest that the radiation risk concepts for interplanetary flight crews developed earlier have to be revised. Studying the neurophysiological effects of space radiations is becoming one of radiobiology's main tasks — interesting and complicated, requiring the conduction of research ranging from genetic structure damage to higher behavioral functions.

The first steps in this direction were taken at the LRB in 2013, when rhesus monkeys (offered by the IBMP) were irradiated at the 170-MeV proton therapy beam of the Phasotron (the Laboratory of Nuclear Problems) and at the 500 MeV/nucleon carbon nuclear beam of the Nuclotron (the Laboratory of High Energy Physics) — three animals at each beam. The brain was irradiated at an absorbed dose of 1 Gy. Before the experiment, the animals were trained to solve test problems at a computer. The aim of the experiment was to evaluate the disorders of the acquired skills caused by brain exposure to heavy charged particles with relatively low linear energy transfer. After irradiation, the animals were returned to the IBMP for further research.

Huge amount of experimental work has to be done at accelerators since there are a lot of unresolved issues. In particular, it is necessary to study the damageability of cells of the genetic structures controlling the synthesis of the proteins which participate in the functioning of the membrane channels and provide interaction between neurons in the synapses. The LRB's radiobiologists urgently need a broad international collaboration with neurobiologists. Solving the stated super-problem in Russia alone would be extremely difficult.

СОДЕРЖАНИЕ/CONTENTS

Введение	3
Первые радиобиологические эксперименты в ОИЯИ	5
Создание сектора биологических исследований.....	9
Становление отдела биофизики ЛЯП	17
Отделение радиационных и радиобиологических исследований ОИЯИ	24
Лаборатория радиационной биологии	40
Международное сотрудничество	80
Подготовка кадров	86
Заключение	88
Приложения.....	96
Список кандидатских диссертаций сотрудников ЛРБ	96
Список докторских диссертаций сотрудников ЛРБ	99
Премии ОИЯИ, присужденные сотрудникам ЛРБ	100
Introduction.....	103
First radiobiological experiments at JINR.....	105
Establishment of the Biological Research Sector	109
Development of the Biophysics Department at the Laboratory of Nuclear Problems	116
JINR's Department of Radiation and Radiobiological Research	122
Laboratory of Radiation Biology	137
International cooperation	172
Education	178
Concluding remarks	179

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОИЯИ

RADIOBIOLOGICAL RESEARCH AT JINR

2015-23

Редакторы: *Е. И. Крупко, Е. В. Сабаева*
Верстка *О. А. Буловой, Е. В. Дергуновой*

Подписано в печать 1.06.2015.

Формат 70×100/16. Бумага офсетная. Гарнитура MinionPro.
Усл. печ. л. 14,75. Уч.-изд. л. 17,47. Тираж 435 экз. Заказ 58550

Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований
141980, г. Дубна Московской области, ул. Жолио-Кюри, 6
E-mail: publish@jinr.ru
www.jinr.ru/publish/