



Рецензия

Проекта

«Молекулярная генетика радиационно-индуцированных изменений гена, генома и транскриптома *Drosophila melanogaster*»

В рецензируемом проекте предлагается и обосновывается проведение дальнейшего всестороннего исследования последствий облучения ионизирующей радиацией в отношении структуры генов и генома в целом. Запланировано также принципиально важное расширение работы – анализ вызванных ионизирующей радиацией функциональных изменений генов.

Научная значимость, актуальность и новизна работы

Научная проблема, исследованию которой посвящен данный проект, лежит на стыке двух областей науки: генетики и радиобиологии. Исследование молекулярных основ повреждения генетического материала на молекулярном уровне по-прежнему остается актуальной задачей, несмотря на то, что анализ различных эффектов радиации был начат много лет назад. Причина этого кроется в том, что на фоне прогресса молекулярной биологии и генетики известные достижения радиобиологии и радиационной генетики касались эффектов на организменном, клеточном и хромосомном уровнях, а сведения о молекулярной природе возникающих под действием ионизирующего излучения мутаций оставались чрезвычайно скудными. Между тем, очевидно, что без характеристики индуцированного мутагенеза на молекулярном уровне радиобиология не может соответствовать современному развитию науки в целом. Рецензируемый проект в значительной степени восполняет существующие пробелы в знании и представляет собой целенаправленную попытку системного изучения радиационного поражения на внутригеномном уровне, причем с учетом различий в размерах, структуре и локализации генов. Исследование, запланированное в проекте, позволит получить приоритетные результаты фундаментального характера, имеющие, в то же время, важное прогностическое значение.

Действительно, актуальность предложенных исследований в настоящее время обусловлена необходимостью адекватной оценки биологических последствий действия различных повреждающих факторов, в том числе радиации, в новых, меняющихся условиях окружающей среды, потребностью в создании научно обоснованной стратегии защиты от их действия, а также в связи с планами освоения космического пространства.

Особо хочется отметить, что работа основана на исследовании уникальной коллекции радиационных мутантов, полученных ранее И. Д. Александровым и М. В. Александровой с сотрудниками. Это в значительной степени обуславливает оригинальность рассматриваемого проекта, его новизну и – потенциально – особо ценный вклад в радиобиологию и генетику. Проведенное исследование, базируясь на анализе уникальной генетической коллекции и современных методах исследования, способно пролить новый свет на молекулярную природу индуцированных радиацией повреждений генома и

молекулярные механизмы их возникновения. В целом, ожидаемые в результате выполнения проекта результаты вполне оправдывают необходимые финансовые вложения.

Научное содержание проекта

Предложенная в проекте работа будет проведена в трех основных направлениях.

Первое направление работы – анализ природы индуцированных радиацией мутаций в отдельных генах – является прямым продолжением и углублением ранее проведенных исследований. Предполагается дополнительно исследовать более 50 мутаций с внутригенными структурными изменениями разного типа, вызванными облучением. Особое внимание предполагается уделить также мутациям, вызванным крупными инсерциями/делециями, выходящими за границы генов. К сожалению, в тексте проекта методические принципы, на которых будет базироваться работа, описаны недостаточно подробно и поэтому не всегда ясно. Например, неясно, что такое ПЦР, проведенный «с целью определения отжига прямого и обратного праймеров для отсутствующих фрагментов гена». Не вполне понятным осталось, почему гомо- и гемизиготы по исследуемым мутациям не окажутся летальными; скорее всего, именно такие варианты будут отобраны для дальнейшей работы из всех имеющихся. Неясно, почему в одном абзаце предполагается, что выявленные инсерции будут представлять собой мобильные элементы, а в другом абзаце – что это будут фрагменты геномной ДНК. Эти и некоторые другие вопросы вызваны, скорее всего, недостатками в тексте проекта, а не в его сути. Знакомство с результатами уже проделанной коллективом работы вселяет уверенность в том, что и на новом этапе подробное и систематическое исследование молекулярной природы индуцированных облучением мутаций принесет богатые плоды.

Второе направление работы связано с изучением спектра и частоты наследуемых изменений на уровне всего генома. Такая работа является пионерской в радиационной генетике дрозофилы. Возможность последующего сравнения результатов с результатами аналогичной работы, проведенной с мышами, усиливает научную и практическую ценность запланированного исследования, учитывая важность данных в системе дрозофила-мышь для экстраполяции на человека. К сожалению, из текста проекта неясно, каков масштаб запланированных экспериментов, то есть потомков скольких облученных самцов из скольких линий (сколько полных геномов) предполагается отсекулировать для получения представления об эффектах облучения. Видимо, эти параметры будут определены, исходя из возможностей финансирования проекта. Подчеркну, что это направление работы является новым для коллектива, что указывает на творческий подход авторов проекта к исследуемой проблеме, на расширение спектра их профессиональный компетенций, и может рассматриваться как существенный новый шаг на пути к всестороннему описанию влияния радиационного облучения на молекулярную структуру генов и генома в целом, в том числе его некодирующих областей.

Третье направление работы связано с анализом изменений в уровне транскрипции генома в результате радиационного облучения. Решающим условием, благоприятствующими проведению такого исследования, является наличие у авторов проекта отселектированных ими высокоинбредных линий, контрастно отличающихся по радиочувствительности генома. Выбор установки Afimetrix для проведения данного исследования, по-видимому, обусловлен составом приборной базы ОИЯИ. Авторы предполагают сравнить транскриптом облученных и контрольных особей из линий с различной радиочувствительностью. Отмечу, что фраза из проекта о том, что РНК будет получена «из личинок первого возраста, облученных на этой и более поздних стадиях онтогенеза», не вполне адекватно описывает экспериментальную процедуру и, скорее всего, неправильно сформулирована. Проведенная работа позволит выявить набор генов, транскрипция которых активно меняется в ответ на облучение, обуславливая весь спектр

реакций организма на такое внешнее воздействие. Предположительно, именно среди эти генов должны быть те, которые наиболее сильно связаны с определением чувствительности/устойчивости к воздействию радиации.

Квалификация участников проекта

Руководитель и ключевые исполнители проекта (И. Д. Александров, И. А. Захаров-Гезехус, М. В. Александрова, В. А. Чистяков) являются хорошо известными специалистами в области радиационной биологии и генетики животных, их высокая квалификация не вызывает сомнений. Квалификация молодых исполнителей, К. П. Афанасьевой и С. В. Кораблиновой, с работами которых я хорошо знакома, также представляется вполне соответствующей уровню, необходимому для выполнения проекта. Что важно – опыт работы коллектива соответствует поставленным в проекте экспериментальным задачам. Таким образом, в целом обеспеченность кадрами представляется очень хорошей.

Заключение: проект заслуживает финансовой поддержки.

Заведующий лабораторией геномной изменчивости
ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН
(Москва, пл. Академика И. В. Курчатова, д. 2; +7-499-1960000; img@img.ras.ru),
доктор биологических наук, профессор

Пасюкова Елена Генриховна

Подпись Е. Г. Пасюковой заверяю
Ученый секретарь
ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН,
кандидат биологических наук



Андреева Людмила Евгеньевна