

P19-2011-53

Е. Глинкова^{1,2}, Н. И. Жучкина¹,
Н. А. Колтовой³, Н. А. Колтовая¹

ДЕЙСТВИЕ γ -ИЗЛУЧЕНИЯ НА КЛЕТКИ
ВОДОРОСЛИ *EUGLENA GRACILIS*

Направлено в журнал «Авиакосмическая и экологическая медицина»

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

²Институт клеточной биологии факультета естественных наук
Университета им. Я. А. Коменского, Братислава

³Научно-исследовательский институт скорой помощи
им. Н. В. Склифосовского, Москва

Действие γ -излучения на клетки водоросли *Euglena gracilis*

В связи с перспективностью использования водоросли *Euglena* в составе биологических систем жизнеобеспечения человека изучали эффекты малых доз облучения и модифицирующее влияние генотипа на радиочувствительность клеток водоросли. Облучение нескольких штаммов водоросли *Euglena gracilis* γ -лучами (^{60}Co) показало, что наибольшую радиорезистентность проявлял штамм *Euglena gracilis* линии Z. Производный от него штамм OFL, утративший хлоропласты, обнаружил повышенную радиочувствительность. Штамм *E. bacillaris* и производные от него штаммы без хлорофилла W3 и W10 характеризовались промежуточной радиочувствительностью. Облучение в дозах до 10 Гр вызывало гормезисный эффект у исходных штаммов. Гибель клеток наблюдалась лишь при облучении в дозах свыше 100 Гр. Стимулирующий эффект облучения наблюдался в отношении как радиорезистентности, так и скорости роста. Использование красителей позволяет осуществлять быструю оценку доли живых и мертвых клеток. Сравнение двух тестов определения выживаемости показало, что классический метод высева на питательную среду дает завышенную величину гибели клеток, так как при этом методе не учитываются живые непролиферирующие клетки.

Работа выполнена в Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна, 2011

Effect of γ -Irradiation on *Euglena gracilis* Algae

Given the prospects for using *Euglena* algae as part of the biological systems of human life support in long-term space flights, we studied the effects of low doses of radiation and genotype influence on the radiosensitivity of *Euglena* cells. Irradiation of several *Euglena gracilis* strains with ^{60}Co γ -rays shows that strain Z is the most radioresistant. Its chloroplastless derivative OFL strain shows increased radiosensitivity. The *E. bacillaris* strain and its derivatives W3 and W10 without chlorophyll have intermediate radiosensitivity. Irradiation up to 10 Gy had the hormesis effect on the initial strains, and it is only above 100 Gy that cell death was observed. The hormesis effect was observed concerning both radioresistance and growth rate. The use of methylene blue and fluorochrome dyes allows a rapid estimation of the share of the living and dead cells. A comparison of two survival rate tests shows that the classical method of plating on a growth medium yields an increased death rate because this method does not take into account the living non-dividing cells.

The investigation has been performed at the Laboratory of Radiation Biology, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna, 2011

ВВЕДЕНИЕ

Одноклеточная жгутиковая водоросль *Euglena gracilis* по сравнению с высшими растениями обладает многими преимуществами при изучении как ядерной, так и внеядерной наследственности. Ее вегетативные клетки содержат одно гаплоидное ядро, около 10–15 хлоропластов и огромную разветвленную митохондрию [3]. Органеллы содержат свои собственные геномы. Этот организм можно выращивать на синтетической среде. С ним можно работать, используя стандартные микробиологические методы.

Среди одноклеточных эукариотических организмов *Euglena*, особенно *E. gracilis*, широко используется для физиологических и биохимических исследований. Было показано, что эффективность фотосинтеза у *E. gracilis* примерно в 60 раз выше, чем у риса, а эффективность превращения углекислого газа в кислород в 2 раза выше, чем у хлореллы [13]. Пищевая ценность клеточных компонентов *Euglena* превышает пищевую ценность животных, таких как мыши и крысы [1, 11, 14]. В настоящее время в связи с планированием длительных космических полетов разрабатываются замкнутые системы жизнеобеспечения, исследуются эффективные системы производства пищи и регенерации кислорода. Из-за высокой фотосинтетической способности и пищевых качеств *E. gracilis* рассматривается как привлекательный биологический компонент для использования в биологических системах жизнеобеспечения человека [13].

В космическом пространстве организмы подвергаются воздействию ионизирующей радиации, причем преимущественно тяжелых заряженных частиц с высокими значениями линейной передачи энергии (ЛПЭ) и относительной биологической эффективности (ОБЭ). В связи с этим начаты исследования действия на *Euglena* тяжелых ионов с широким диапазоном ЛПЭ. Было показано, что при облучении в области доз от 100 до 400 Гр пик ОБЭ для *Euglena* находится в области 196 кэВ/мкм, в то время как для клеток млекопитающих ~ 150 кэВ/мкм [16] и для высших растений ~ 240 кэВ/мкм [10]. LD90 для γ -излучения и ионов углерода (ЛПЭ 108 кэВ/мкм) составляет 5,5 [23] и 1,7 Гр [15] для клеток млекопитающих (клетки CHO) и 290 и 67 Гр для *E. gracilis* соответственно [10], т. е. радиорезистентность водоросли в 40–50 раз выше, чем у клеток млекопитающих.

Японскими коллегами было показано, что влияние космического излучения на рост водоросли пренебрежимо мало [10]. Минимальная эффективная доза для пучка ионов C^{5+} , имеющего наибольший летальный эффект, составляет 40 Гр. Эта величина намного превосходит уровень доз космической радиации, полученной за одну генерацию *Euglena*. По данным Института медико-биологических проблем поглощенная доза на высоте 400–500 км от Земли составляла 50–800 мкГр/сут на станции «Мир» и 50–350 мкГр/сут на МКС. Поскольку время генерации *Euglena* составляет 6 ч, общая поглощенная доза на генерацию оценивается как 0,1 мГр. Относительно более высокая радиорезистентность к тяжелым ионам подтверждает приемлемость *Euglena* в качестве биологического компонента замкнутых систем космических станций. В связи с этим возрастает интерес к радиобиологическим характеристикам *Euglena*. Однако действие редкоизирующего излучения изучено недостаточно. Особый интерес вызывает диапазон малых доз. В данной работе рассматриваются эффекты малых доз облучения и влияние генотипа на радиочувствительность *Euglena*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы. Использовали штаммы дикого типа *Euglena gracilis* Pringsheim var. линии Z, *E. gracilis* Klebs var. *E. bacillaris* Cori и три стабильных обесцвеченных мутанта с нефункциональными хлоропластами: W_{gm}ZOfIL (производный от линии Z), W₃BUL и W₁₀BSml (производные от *E. bacillaris*) [22].

Среды. Для культивирования суспензий и колоний использовали синтетическую солевую среду Хатнера [19].

Облучение. Культуры водоросли растили во флаконах в 100 мл жидкой синтетической среды при температуре 26 °С в режиме естественного освещения (фотопериод 18/6 ч). Семисуточные (синхронизация в ранней стационарной фазе) культуры в концентрации 10^9 – 10^{10} клеток/мл облучали в стерильных 1,5-мл пробирках Эппендорф на терапевтическом аппарате «Рокус» (источник γ -излучения ^{60}Co , $E = 1,17; 1,33$ МэВ, ЛПЭ = 0,25 кэВ/мкм; мощность дозы 0,7 Гр/мин).

Определение скорости роста. Облученные культуры разводили в среде Хатнера и инкубировали при температуре 26 °С в режиме естественного освещения. В жидких суспензиях культур через каждые 24 ч подсчитывали титр клеток с помощью камеры Горяева.

Определение выживаемости методом посева на питательную среду. Облученную суспензию после соответствующего разведения в среде Хатнера рассевали на две чашки для каждой дозы из расчета 200–2000 выживших клеток на чашку агаризованной среды и растили при температуре 26 °С в режиме естественного освещения. Эффективность посева и выживаемость культур

определяли на седьмые сутки после облучения. Для образования колоний необлученным клеткам обычно требуется 7 сут и 10 сут — облученным мутантным клеткам.

Определение выживаемости методом витального окрашивания клеток. Определение числа мертвых клеток проводили микроскопированием, окрасив препарат раствором 1 %-го метиленового синего (МС) с рН 4,6, водным раствором 0,1 %-го акридинового оранжевого (АО) или раствором йодистого пропидия (PI) в концентрации 1 мг/мл. На предметное стекло наносили 8 мкл суспензии и 2 мкл краски, каплю накрывали покровным стеклом. Для каждой дозы делали несколько снимков. В 10 полях зрения препарата подсчитывали общее количество клеток и клеток, окрашенных в синий (МС) или красный цвет (АО, PI). Общее число просмотренных клеток для каждой точки составляло около 1000. Доля окрашенных клеток соответствует доле мертвых клеток в суспензии [18]. Время УФ-освещения клеток, окрашенных флуоресцентным красителем, минимизировали, поскольку клетки, УФ-экспозиция которых превышала 1 мин, разрушаются.

Фотографирование. Микрофотографии получали на флуоресцентном микроскопе Микромед 3 ЛЮМ (ОИЯИ, Дубна) с помощью цифровой камеры Nikon Coolpix 4500 (4.0 Mega pixels, $\times 4$ zoom). Презентативные фотографии любезно выполнены Н. А. Колтовым на флуоресцентном микроскопе Nikon-Eclipse 80i (ИСП, Москва).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Скорость роста. Клетки *Euglena* растили в условиях естественного освещения в жидкой синтетической среде. Известно, что на пятые сутки инкубирования *Euglena* вступает в раннюю стационарную фазу. Для γ -облучения мы использовали семисуточные, т. е. синхронизованные стационарные культуры клеток. После облучения культур разного генотипа в течение недели ежедневно определяли скорость роста культур. Для всех культур в течение первых трех суток наблюдался медленный рост, на 4–5 сутки происходил максимальный прирост, затем прирост клеток снижался. Наиболее быстро рос штамм дикого типа *Euglena gracilis* (Eg), второй штамм дикого типа *E. bacillaris* (Eb) делился медленнее (рис. 1, а). Наблюдалась зависимость скорости роста от дозы облучения: у дикого штамма Eg при дозе облучения < 1 Гр скорость роста возрастала по сравнению со скоростью роста у необлученной культуры, при увеличении дозы облучения скорость роста снижалась; у штамма Eb не наблюдалось стимулирующего эффекта облучения (рис. 1, в); у обесцвеченного мутанта OFL наблюдалась стимуляция роста малыми дозами, лишь дозы > 50 Гр вызывали подавление скорости роста (рис. 1, б).

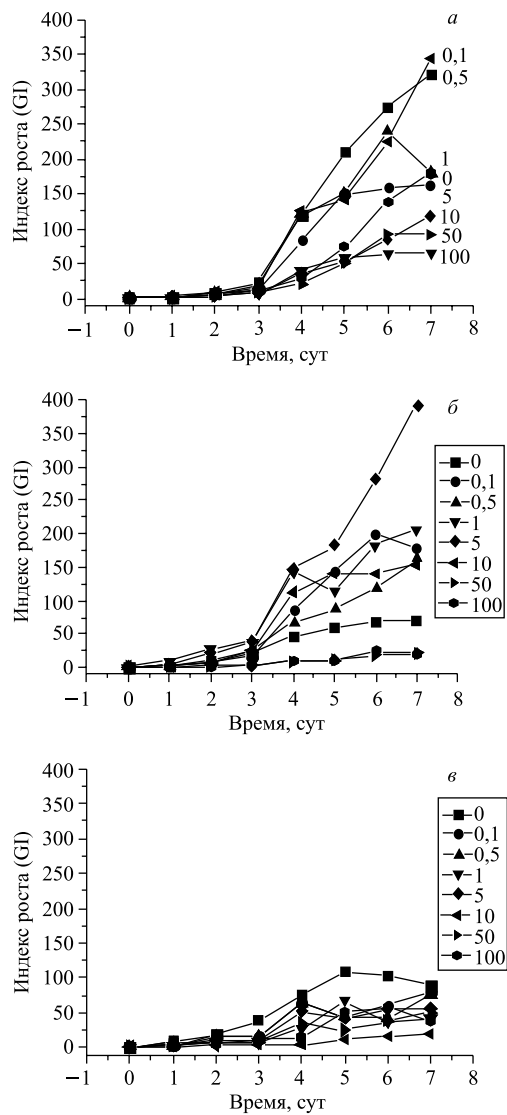


Рис. 1. Рост необлученных и облученных суспензий штаммов *Euglena* разного генотипа после γ -облучения (а — Eg; б — OFL, в — Eb). Приведен индекс роста $GI = N_i/N_0$, где N_i — количество клеток на i -й день после облучения, N_0 — количество клеток сразу после облучения (нулевой день). Приведены результаты одного эксперимента

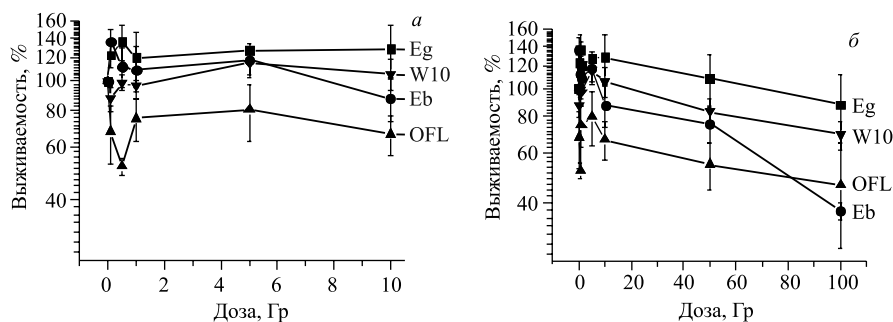


Рис. 2. Выживаемость клеток *Euglena gracilis* различного генотипа после γ -облучения: *a* — малые дозы, *б* — большие дозы. Выживаемость определяли по эффективности посева. Обозначение штаммов: Eg — *Euglena gracilis*; Eb — *Euglena bacillaris*; OFL — $W_{gm}ZOflL$; W3 — W_3BUL ; W10 — $W_{10}BSml$. Приведены результаты, усредненные по трем экспериментам, и средние квадратичные ошибки

Выживаемость (классический метод посева на питательную среду). Необлученные и облученные культуры рассеивали на агаризованную питательную среду и на седьмые сутки определяли эффективность посева и выживаемость. Наибольшей эффективностью посева обладали необлученные культуры дикого штамма Eg, эффективность посева которых составляла $\sim 30\%$. Эффективность посева остальных штаммов была ниже и составляла 5–15%.

Выживаемость клеток определяли классическим методом по способности клеток образовывать колонии. Количество колоний, выросших на чашках, нормировали на эффективность посева, которую принимали за 100%. Наблюдалась зависимость выживаемости от генотипа облученных водорослей (рис. 2). Клетки дикого типа Eg были наиболее радиорезистентными. Штамм OFL, утративший хлоропласты, проявлял заметно более высокую чувствительность, чем дикий штамм Eg. Однако штамм Eb, имеющий хлоропласты, также обладал повышенной радиочувствительностью. В то же время производный от него штамм W10, утративший хлоропласты, проявлял радиочувствительность, сходную с радиочувствительностью исходного штамма Eb.

Облучение в дозах до 100 Гр оказывало стимулирующий эффект у штамма Eg, (рис. 2, *a*). На малых дозах наблюдался сильный гормезисный эффект — выживаемость штамма Eg повышалась до 140% от контроля при дозе облучения 0,1 Гр. Хотя штамм Eb более чувствителен к облучению, но и у него наблюдался гормезисный эффект при дозах, меньших 5 Гр, при больших дозах наблюдался летальный эффект. В противоположность им штаммы, утратившие хлоропласты, на малых дозах проявляли гиперчувствительность.

Выживаемость (витальное окрашивание). Определение выживаемости классическим методом посева на питательную среду дает оценку доли живых

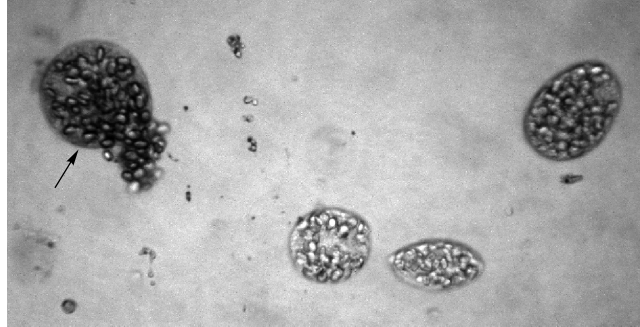


Рис. 3. Стрелкой указана клетка *Euglena gracilis* с разорванной оболочкой после окрашивания метиленовым синим (флуоресцентный микроскоп Nikon-Eclipse 80i, объектив $\times 100$)

делящихся клеток. Живые клетки, утратившие пролиферативную активность, в данном методе учитываются как мертвые. Для оценки живых клеток, сохранивших метаболическую активность, использовали дополнительный метод витального окрашивания. Кроме того, окраска клеток различными красителями, в том числе метиленовым синим (МС) и флуорохромами, в совокупности с другими методами позволяет выявить структурные особенности и механизм гибели клеток. В настоящее время известно несколько механизмов гибели клеток, среди них генетически детерминированные апоптоз и некроз.

При витальном окрашивании МС проникает в неповрежденные клетки, при этом наблюдается слабое окрашивание цитоплазмы. В поврежденных клетках проницаемость повышается, что приводит к сильному окрашиванию клеток. Окраску МС производили спустя 2–6 ч после облучения. Использование микроскопа Nikon Eclipse 80i позволило рассмотреть детали строения клеток *Euglena* (рис. 3). В окрашенных МС культурах наблюдали четыре типа клеток: неокрашенные, слабо окрашенные, темно-синие и с разорванной оболочкой. Таким образом, окраска клеток МС позволила напрямую выявлять повреждения клеток, сопровождающиеся нарушением клеточной мембраны и вытеканием цитоплазмы, крахмала и хлорофилла из клеток (рис. 4). Такая форма гибели клеток характерна для некроза, однако нельзя исключить и механическое разрушение клеток в процессе приготовления препарата. У *Euglena* нет клеточной стенки, клетка окружена клеточной двухслойной мембраной и экзоскелетом (пелликулой), мембранной структурой, позволяющей организму вытягиваться и сокращаться, основным элементом которой является полисахарид хитин. Отсутствие прочной клеточной стенки делает *Euglena* чувствительной к механическим воздействиям. Однако в наших экспериментах доля разрушенных клеток была невелика при окрашивании клеток

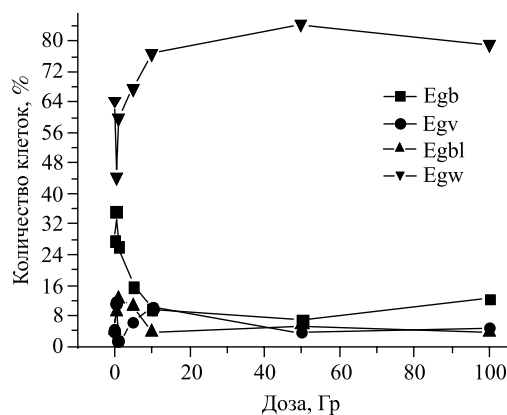


Рис. 4. Окраска облученных клеток *Euglena gracilis* метиленовым синим. Egb — клетки, окрашенные в темно-синий цвет, Egv — клетки с разрушенной мембраной, Eglb — клетки, окрашенные в бледно-голубой цвет, Egv — неокрашенные клетки.

непосредственно после облучения и составляла около нескольких процентов (рис. 5). Для малых доз наблюдалось резкое снижение частоты разрушенных клеток, что находится в соответствии с данными по увеличению выживаемости при высеве на питательную среду. Для точной дифференцировки механизма гибели (апоптоз или некроз) необходимо использовать дополнительные, в том числе прямые, тесты. Доля бледно-голубых и синих клеток также низка даже при высоких дозах облучения, но заметна при низких дозах облучения. На малых дозах наблюдался пик (рис. 4).

Для определения выживаемости можно использовать флуорохромы, например, акридиновый оранжевый [18] или йодистый пропиций [8]. Использование АО для витального окрашивания *Euglena* оказалось неприемлемым из-за автофлуоресценции хлорофилла, флуоресценция которого наблюдается в красной области. Однако окрашивание АО позволяет идентифицировать клетки, утратившие хлорофилл. Известно, что физические воздействия, такие как температура, УФ-свет, ионизирующая радиация, индуцируют хлоропластные мутанты. Анализ показал, что в использованном диапазоне доз γ -излучение не индуцировало безхлорофильных мутантов. В контроле наблюдалось небольшое количество таких клеток, и доля их не изменялась с ростом дозы (данные не приведены). Характер окрашивания клеток PI совпадал в основных чертах с окраской МС (рис. 5).

Оценка доли мертвых клеток сильно отличалась при использовании двух методов — подсчета колониеобразующих единиц и витальной окраски клеток (рис. 5). Классический метод, как и ожидалось, дал завышенную долю «мертвых» клеток. В контроле при окраске МС доля мертвых клеток у Eg

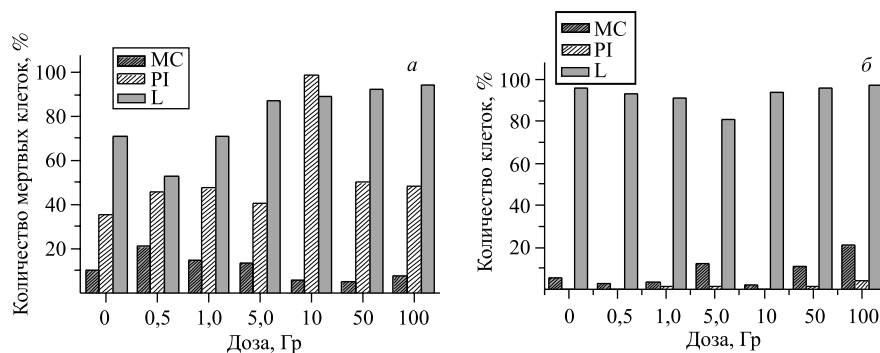


Рис. 5. Определение выживаемости с помощью различных методов: классического высева на питательные среды (L) и витальной окраски (MC и PI) клеток штаммов Eg (a) и OFL (б).

составляла $\sim 10\%$, а при классическом методе определения выживаемости $\sim 70\%$, по-видимому, $\sim 60\%$ клеток были живые, но не делящиеся. Эти клетки могут составлять резерв, объясняющий наблюдаемый гормезис и возрастание выживаемости на 40% . Поскольку в используемом диапазоне доз у штамма Eg не наблюдалось летального эффекта, в полном соответствии с этим мы не наблюдали возрастания доли мертвых клеток, определяемой с помощью окрашивания MC.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе изучали действие γ -излучения на штаммы *Euglena* разного генотипа. Наибольшую радиорезистентность проявил штамм *Euglena gracilis* линии Z, для которого небольшое снижение выживаемости наблюдали лишь при максимальной используемой дозе 100 Гр. Полученные нами данные хорошо согласуются с данными других авторов, согласно которым у *Euglena gracilis* линии Z не наблюдали летального эффекта в пределах доз до 100 Гр, снижение выживаемости наблюдалось лишь при дозах 250 и 400 Гр [10, 20]. У производного от линии Z штамма OFL, утратившего хлоропласты, радиочувствительность была выше. Эффект влияния хлоропластов на радиорезистентность был обнаружен ранее [9]. Было показано, что на свету водоросли радиоустойчивее, чем в темноте. Штамм *E. bacillaris* и производные от него штаммы без хлорофилла W3 и W10 характеризовались промежуточной радиочувствительностью. По-видимому, помимо хлоропластов на радиочувствительность штамма Eb влияли дополнительные, не идентифицированные факторы, возможно, влияющие на репарацию и снимающие эффект хлоропластов.

Известно, что энергетика клетки влияет на репарацию и механизм гибели клеток. Так, апоптоз — энергозависимый процесс, в противоположность ему некроз характеризуется ослаблением энергетической зависимости. Например, у митохондриальных дыхательно-некомпетентных мутантов дрожжей (*petite*) доля апоптотических клеток снижена, и они гибнут по механизму некроза, при этом утрата целостности клеточной стенки не сопровождается фрагментацией ядерной ДНК или конденсацией хромосом [21]. В данной работе у линии Z доля клеток с разорванной клеточной мембраной (возможные некротические клетки) меньше, чем у обесцвеченного штамма OFL с нарушенным фотосинтезом (рис. 5).

На малых дозах в диапазоне до 0,5 Гр наблюдался сильный гормезисный эффект — выживаемость Eg повышалась до 140 % при дозе облучения 0,1 Гр. Гормезисные эффекты действия ионизирующего излучения известны давно и наблюдались как для простейших клеточных систем сине-зеленых водорослей, инфузорий, так и для высших растений, животных и человека (см. [2, 17, 12]). На весьма радиоустойчивых клетках инфузории *Paramecium* было показано, что их хроническое γ -облучение в течение 100 ч при мощности только в 10 раз превосходящей мощность природного радиационного фона, т. е. в суммарной дозе 0,22 сГр, приводило к ускорению деления и увеличению количества клеток до 130 % от контроля [7]. В то же время облучение до 450 Гр в течение 1 мин не обнаружило снижения выживаемости клеток [4], только при дозе ~ 3000 Гр наблюдалась 50 %-я гибель облученных клеток [5]. Данные о размножении одноклеточной водоросли *Synechococcus lividus* в условиях сниженного фона подтвердили его необходимость для размножения, особенно в начальных фазах вхождения культуры в экспоненциальную фазу роста [6].

Чувствительность клеток *Euglena* в области малых доз представляет интерес и нуждается в дальнейших исследованиях. Небольшой радиационный фон на космических станциях может иметь стимулирующий эффект в отношении наращивания биомассы. В дальнейшем имеет смысл исследовать хроническое облучение *Euglena* в малых дозах.

Авторы приносят благодарность Ю. Крайчович (Университет им. Я. А. Коменского, Братислава) и Е. А. Красавину за интерес к работе, Е. А. Насоновой за критическое прочтение рукописи, Т. Н. Базловой за техническую помощь.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антоян А. и др. Возможность использования белков одноклеточной водоросли в биологических системах жизнеобеспечения // Косм. биол. авиакосм. мед. 1985. Т. 19. С. 65–69.
2. Кузин А. М. Идеи радиационного гормезиса в атомном веке. М.: Наука, 1995.

3. The biology of *Euglena*. V. IV. Subcellular biochemistry and molecular biology / Ed.: D. E. Buetow. San Diego. California: Academic Press. Inc., 1989.
4. *Calkins J.* A study of the time course of recovery of *Paramecium aurelia* from the lethal effects of X-rays // *Radiat. Res.* 1965. V. 26. P. 124–131.
5. *Calkins J. A.* The lethal effects of radiation on six species of protozoas // *Photochem. Photobiol.* 1964. V. 3. P. 143–151.
6. *Conter A., Dupony D., Planel H.* Demonstration of a biological effect of natural ionizing radiations // *Intern. J. Radiat. Biol.* 1983. V. 43. P. 421–432.
7. *Croute F. et al.* *Paramecium tetraurelia* growth stimulation under low-level chronic irradiation: investigations on a possible mechanism // *Radiat. Res.* 1982. V. 92. P. 560–567.
8. *Eisenberg T. et al.* Necrosis in yeast // *Apoptosis.* 2010. V. 15. P. 257–268.
9. *Hayashi H. et al.* Light dependency of resistance to ionizing radiation in *Euglena gracilis* // *J. Plant Physiol.* 2004. V. 161. P. 1101–1106.
10. *Hayashi H. et al.* Evaluation of the resistance of *Euglena gracilis* to ion beam radiation // *J. Eukaryot. Microbiol.* 2004. V. 51. P. 321–324.
11. *Hosotani K., Kitaoka S.* Determination of the nutrition value of *Euglena gracilis* protein by in vitro digestion experiments and rat feeding tests // *Nippon Nougakagaku Kaishi.* 1977. V. 51. P. 483–488.
12. *Kant K. et al.* Hormesis in human exposed to low-level ionizing radiation // *Int. J. Low Radiat.* 2003. V. 1. P. 76–84.
13. *Kitaya Y. et al.* Effects of CO₂ and O₂ concentrations and light intensity on growth of microalgae (*Euglena gracilis*) in CELSS // *Life Supp. Biosph. Sci.* 1998. V. 5. P. 243–247.
14. *Kitaoka S., Hosotani K.* Studies on culture conditions for determination of the nutritive value of *Euglena gracilis* protein and the general and amino acid compositions of the cells // *Nippon Nougakagaku Kaishi.* 1977. V. 51. P. 477–482.
15. *Kobayashi Y. et al.* Use of a collimated heavy ion microbeam for irradiating mammalian cells individually to study the effect of high-LET single ion irradiation // *JAERI-Rev.* 2000. No. 24. P. 48–50.
16. *Kraft G.* Radiation biological effects of very heavy ions: inactivation, induction of chromosome aberrations and strand breaks // *Nucl. Sci. Appl.* 1987. V. 3. P. 1–28.
17. *Luckey T. D.* Hormesis with ionizing radiation. Florida: Boca Raton, 1980.
18. *Parkkinen E., Oora E., Suomalainen H.* Comparison of methods for the determination of cell viability in stored baker's yeast // *J. Inst. Brew.* 1976. V. 82. P. 283–285.

19. *Prescot D. M.* Methods in Cell Biology // Methods in Cell Physiology. Wiley & Sons, 1966.
20. *Sakashita T. et al.* Effects of gamma-irradiation on CO₂ fixation and cellular proliferation of *Euglena gracilis* Z // J. Radioanal. Nucl. Chem. 2002. V. 254. P. 403–410.
21. *Sripriya P., Vedamntam L. V., Podile A. R.* Involvement of mitochondria and metacaspase elevation in harpin Pss-induced cell death of *Saccharomyces cerevisiae* // J. Cell Biochem. 2009. V. 107. P. 1150–1159.
22. *Vesteg M. et al.* Expression of nucleus-encoded genes for chloroplast proteins in the flagellate *Euglena gracilis* // J. Eukar. Microbiol. 2009. V. 56. P. 159–166.
23. *Wada S. et al.* The relationship between cellular radiosensitivity and radiation-induced DNA damage measured by the comet assay // J. Vet. Med. Sci. 2003. V. 65. P. 471–477.

Получено 30 мая 2011 г.

Редактор *Е. В. Сабеева*

Подписано в печать 09.09.2011.

Формат 60 × 90/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 0,87. Уч.-изд. л. 1,07. Тираж 180 экз. Заказ № 57417.

Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований
141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, 6.

E-mail: publish@jinr.ru

www.jinr.ru/publish/