Оксид дейтерия усиливает SOS-ответ Escherichia coli, индуцированный бактерицидными средствами

Смирнова С.В., Шапиро Т.Н., Игонина Е.В., Абилев С.К.

ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, 119991, ГСП-1 г. Москва, ул. Губкина, д. 3

Изучали генотоксическое действие бактерицидных средств диоксидина, фурацилина и налидиксовой кислоты на клетки дейтерированной культуры lux-биосенсора *E.coli* MG1655 (pColD::lux), люминесцирующего в результате активации промотора гена колицина colD в ответ на повреждение ДНК. Впервые показано, что оксид дейтерия (D_2O) в концентрации 9% усиливает SOS-ответ, индуцированный исследуемыми лекарственными препаратами, в 1,6-2,8 раза в клетках *E. coli*.

Ключевые слова: оксид дейтерия, генотоксиканты, lux-биосенсоры, SOS-ответ

Для цитирования: Смирнова С.В., Шапиро Т.Н., Игонина Е.В., Абилев С.К. Оксид дейтерия усиливает SOS-ответ *Escherichia coli*, индуцированный бактерицидными средствами. *Медицинская генетика* 2020; 19(9): 79-80.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.09.79-80

Автор для корреспонденции: Смирнова Светлана Владимировна; e-mail: s.v.smirnova.genet@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 19-04-00200 А.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Deuterium oxide enhances the SOS response of Escherichia coli induced by bactericidal agents

Smirnova S.V., Shapiro T.N., Igonina E.V., Abilev S.K.

Vavilov Institute of General Genetics of Russian Academic Science Gubkina str. 3, Moscow, 119333, Russia

We studied the genotoxic effect of bactericidal agents: dioxine, furaciline and nalidixic acid on cells of the deuterated culture lux-biosensor *E. coli* MG1655 (pColD::lux), which luminesces as a result of activation of the colicin gene promoter *colD* in response to DNA damage. For the first time, it was shown that deuterium oxide (D_2O) at a concentration of 9% increases the SOS response by 1.6-2.8 times in *E. coli* cells induced by the studied drugs.

Keywords: deuterium oxide, genotoxicants, lux-biosensors, SOS-response

For citation: Smirnova S.V., Shapiro T.N., Igonina E.V., Abilev S.K. Deuterium oxide enhances the SOS response of *Escherichia coli* induced by bactericidal agents. *Medical genetics*. 2020; 19(9): 79-80. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.09.79-80

Corresponding author: Smirnova Svetlana Vladimirovna; e-mail: s.v.smirnova.genet@gmail.com

Funding. This study was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research (project no.190400200).

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

елью данной работы является изучение модифицирующего действия оксида дейтерия на ДНК-повреждающую активность бактерицидных средств в клетках *E.coli*. Для этой цели были выбраны три антибактериальных средства с различными механизмами действия на ДНК: диоксидин, фурацилин и налидиксовая кислота.

Материалы и методы

В работе использовали биосенсор на основе *Escherichia coli* K12: MG1655 (pColD::lux), содержащий гибридную плазмиду, несущую *lux*CDABE — оперон

фотобактерии *Photorhabdus luminescens*, поставленный под контроль промотора гена *cda* (*col*D), входящего в SOS-регулон. Гены оперона *luxA* и *luxB* кодируют α-и β-субъединицы люциферазы, а *luxCDE* обеспечивают люциферазу субстратом. В результате реакции, катализируемой люциферазой, излучается квант света в сине-зеленой области видимого спектра [1]. Интенсивность люминесценции биосенсора является показателем экспрессии гена *cda*, который активируется на последних стадиях SOS-ответа бактерий при действии ДНК-повреждающих агентов [1]. Для изучения индукции SOS-ответа у билосенсора были выбраны бактерицидные препараты с разными механизмами повреж-

дающего действия на ДНК: диоксидин (10-5моль/л), индуцирующий образование свободных форм кислорода; фурацилин $(2,5\cdot10^{-3} \text{ моль/л})$, образующий аддукт с ДНК и подавляющий размножение микроорганизмов; налидиксовая кислота (10-3 моль/л), подавляющая репликацию ДНК путем ингибирования ДНК-гиразы. Процедура проведения экспериментов описаны в работах [1,3,4]. Эксперимент проводился в двух вариантах. В первом случае культура клеток инкубировалась в ячейках планшета в среде с присутствием оксида дейтерия в концентрациях 5; 7,5; 9 и 10% в течение 90 минут при 37°C. После в ячейки добавлялся исследуемый препарат, и культура инкубировалась при тех же условиях 90 минут. В другом варианте инкубация происходила при одновременном наличии D₂O в концентрациях 5; 7,5; 9 и 10% и одного из исследуемых бактерицидных средств. Люминесценция считывалась на фотометре и выражалась в относительных единицах интенсивности люминесценции. Коэффициент модифицирующего действие оксида дейтерия на ДНКповреждающую активность препаратов рассчитывали по формуле: $D=I_1/I_n$, где I_1 — уровень люминесценции культуры, предейтерированной различными концентрациями D₂O в среде (5%; 7,5%; 9%; 10%), I₂ – уровень люминесценции недейтерированной культуры.

Основные результаты

Обнаружено, что дейтерирование культуры любой из используемых концентраций Д₂О значимо усиливает SOS-ответ $E.\ coli$, индуцированный всеми тестируемыми бактерицидными средствами. Для диоксидина значения потенцирующего коэффициента наблюдались в диапазоне 1,4-1,6; для фурацилина 2,0-4,0; для налидиксовой кислоты 1,7-2,4 (р $\leq 0,05$). При культивировании биосенсора E.coli MG1655(pColD::lux) в среде с совместным содержанием оксида дейтерия и диоксидина, фурацилина или налидиксовой кислоты значимых различий не наблюдалось. Наибольшие коэффициенты потенцирующего действия оксида дейтерия наблюдались при дейтерировании культуры в среде с содержанием D₂O 9% для диоксидина (1,6; $p=5.9x10^{-6}$) и налидиксовой кислоты (2,4; $p=7.0x10^{-7}$), и при концентрации оксида дейтерия в среде 7,5% для фурацилина $(4,0; p=1,8x10^{-9}).$

Полученные результаты указывают, что присутствие дейтерия усиливает действие генотоксикантов на индукцию транскрипции с промоторов генов, кодирующих ферменты систем репарации ДНК. Важное значение имеет предварительное дейтерирование культуры, в процессе которого в клетках происходит

замещение водорода (протия) на дейтерий. Анализ полученных данных показывает, что предварительное дейтерирование биосенсора в течение 90 мин приводит к повышению уровня SOS-ответа, количественно выраженного в относительных единицах люминесценции. Во всех случаях статистическая значимость эффектов дейтерирования оказалась исключительно высокой (р < 0,001). Ранее потенцирующий эффект оксида дейтерия также был продемонстрирован в работах со стандартными мутагенами, наиболее часто используемыми в генотоксикологии: 4-нитрохолин1-оксидом, [3] метилметансульфонатом, N-нитрозо-N-метилмочевиной [4].

Предположительно дейтерирование снижает активность ферментов репарации, что может привести к снижению скорости репарации участков ДНК поврежденных генотоксикантом и сдвигу баланса между скоростью накопления повреждений и скоростью восстановления исходной структуры ДНК ферментами репарационной системы. В результате такого сдвига происходит накопление повреждений в структуре ДНК и в ответ на это происходит повышенная экспрессия SOS-ответа в клетке, обеспечивающая восстановление поврежденных участков ДНК.

Литература

- Завильгельский Г.Б., Котова В.Ю., Манухов И.В. Сенсорные биолюминесцентные системы на основе lux-оперонов для детекции токсичных веществ. Химическая физика 2012;(10):15–20.
- Tippin B., Pham P., Goodman M.F. Error-phone replication for better or worse. *Trends Microbiol* 2004: (12): 288–295.
- Abilev S.K., Smirnova S.V., Igonina E.V., Yankovsky N.K., Parmon V.N. Deuterium oxide enhances Escherichia coli SOS response induced by genotoxicants. *Doklady Biological Sciences*, 2018; (1): 85–89.
- Smirnova S.V., Abilev S.K., Igonina E.V., Yankovsky N.K., Glaser V.M., Parmon V.N. The Effect of Deuterium on Induction of the ada-Regulon with Alkylating Compounds in the Cells of Escherichia coli. *Russian Journal of Genetics*, 2018; (8): 919

 –924.

References

- Zavilgelsky G.B., Kotova V.Y., Manukhov I.V. Sensornie bioluminescentnye sistemy na osnove lux-operonov dlia detekcii toksichnyh vechestv. [Sensory bioluminescent systems based on lux operons for the detection of toxic substances.] *Himicheskaia fizika [Chemical phys*ics] 2012; 31, (10):15–20. (In Russ.)
- 2. Tippin B., Pham P., Goodman M.F. Error-phone replication for better or worse. *Trends Microbiol* 2004; (12): 288–295.
- Abilev S.K., Smirnova S.V., Igonina E.V., Yankovsky N.K., Parmon V.N. Deuterium oxide enhances Escherichia coli SOS response induced by genotoxicants. *Doklady Biological Sciences*, 2018; (1): 85–89.
- Smirnova S.V., Abilev S.K., Igonina E.V., Yankovsky N.K., Glaser V.M., Parmon V.N. The Effect of Deuterium on Induction of the ada-Regulon with Alkylating Compounds in the Cells of Escherichia coli. *Russian Journal of Genetics*, 2018; (8): 919–924.