

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2025.04.12-13>

Изучение влияния химических мутагенов на протеом бактериальной клетки с помощью Lux-биосенсоров

Абилев С.К., Смирнова С.В., Куркиева А.Г.

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

Белки теплового шока, осуществляющие функции шаперонов, способствуют процессу фолдинга *de novo* синтезированных белков и рефолдинга денатурированных белков. Показано, что мутагены формальдегид, азид натрия и бихромат калия вызывают нарушения в структурах белков, что было зарегистрировано по люминесценции биосенсоров на основе штамма *E. coli* K12 MG1655, люминесцирующих в ответ на появление в клетке белков с нарушенной структурой.

Ключевые слова: фолдинг белков, шапероны, lux-биосенсоры, формальдегид, азид натрия, бихромат калия.

Для цитирования: Абилев С.К., Смирнова С.В., Куркиева А.Г. Изучение влияния химических мутагенов на протеом бактериальной клетки с помощью Lux-биосенсоров. *Медицинская генетика*. 2025; 24(4): 12-13.

Автор для корреспонденции: Абилев Серикбай Каримович; **e-mail:** abilev@vigg.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках Государственного задания 125040704886-1.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 15.04.2025

Принята: 10.05.2025

Study of the effect of chemical bacterial cell proteome using Lux biosensors

Abilev S.K., Smirnova S.V., Kurkueva A.G.

N.I. Vavilov Institute of General Genetics of Russian Academic Science
3, Gubkina st., Moscow, 119991, Russian Federation

Heat shock proteins, which perform the functions of chaperones, contribute to the process of *de novo* folding of synthesized proteins and refolding of denatured proteins. It has been shown that mutagens formaldehyde, sodium azide, and potassium bichromate cause disturbances in protein structures, which was recorded by the luminescence of biosensors based on the *E. coli* strain K12 MG1655, which luminesce in response to the appearance of structurally disturbed proteins in the cell.

Keywords: protein folding, chaperones, lux biosensors, formaldehyde, sodium azide, potassium bichromate.

For citation: Abilev S.K., Smirnova S.V., Kurkueva A.G. Study of the effect of chemical bacterial cell proteome using Lux biosensors. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2025; 24(4): 12-13. (In Russian).

Corresponding author: Serikbai K. Abilev; **e-mail:** abilev@vigg.ru

Funding. The work was carried out within the framework of the State assignment 125040704886-1

Conflict of Interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 15.04.2025

Accepted: 10.05.2025

Введение

Процесс формирования высокоспецифической пространственной структуры белка в ходе его рибосомного синтеза, который необходим для образования активных белков, называется фолдингом. Исправление неправильно сложенных белков в цитоплазме называется рефолдингом. Фолдинг и рефолдинг обеспечиваются белками теплового шока — шаперонами. Правильно сложенные белки проявляют стабильность и активность в условиях насыщенного протеомного окружения. Поэтому утрата отдельными

белками нативной конформации приводит к различным патологическим состояниям организма [1,2]. Целью данной работы является изучение влияния химических мутагенов на структуру белков.

Методы

В работе использовали биосенсоры на основе штамма *E. coli* K12 MG1655, несущие рекомбинантную плазмиду с lux-опероном люминесцирующей бак-

терии транскрипционно слитым с промоторами генов шаперона DnaK и ко-шаперона IbpA. Биосенсоры, обозначенные как pGrpE-lux и pIbpA-lux, люминесцируют в ответ на повышение уровня возникновения нарушений структуры *de novo* синтезированных белков и денатурированных белков, соответственно [3]. Опыты с измерением люминесценции биосенсоров проводили следующим образом: 2 мл 20-часовой ночной культуры штамма добавляли в 20 мл свежего LB-бульона с 20 мкл ампициллина (до концентрации 100 мкг/мл), культивировали два часа при 37°C, после чего разливали по планшетам с добавлением исследуемого мутагена в разных концентрациях при соотношении объема культуры и вещества 9:1 и культивировали 120 мин при 37°C. Динамику свечения бактерий считывали с помощью люминометра через каждые 30 мин.

Результаты

Тестировали мутагены формальдегид [4], азид натрия [5] и бихромат калия [6] на способность вызывать в клетках бактерий *E.coli* нарушение структуры белка при синтезе *de novo* на рибосоме или денатурацию уже функционирующих белков. Результаты регистрировали по интенсивности люминесценции биосенсоров pGrpE-lux и pIbpA-lux в зависимости от концентрации мутагенов и продолжительности экспозиции. Lux-оперон этих биосенсоров несет репортерную функцию, характеризующую экспрессию шаперонов в ответ на появление в цитоплазме белков с нарушенной структурой. В таблице приведены показатели активности мутагенов: максимально эффективная концентрация и продолжительность экспозиции, кратность превышения интенсивности люминесценции в опыте над чистым контрольным уровнем и статистическая значимости этого различия.

Таким образом, показано, что мутагены формальдегид, азид натрия и бихромат калия отличающиеся друг от друга по химической структуре и механиз-

мам мутагенного действия, нарушают в бактериальной клетке фолдинг белков, что приводит к экспрессии генов белков теплового шока – шаперонов.

Литература

1. Мельников Е.Е., Ротанова Т.В. Молекулярные шапероны. *Биоорганическая химия*. 2010; 36(1): 1–10.
2. Hesterkamp T., Bukau B. Role of the DnaK and HscA homologs of Hsp70 chaperones in protein folding in *E. coli*. *EMBO Journal*. 1998; 17: 4818–4828. doi:10.1093/emboj/17.16.4818.
3. Мелкина О.Е., Котова В.Ю., Манухов И.В., Завильгельский Г.В. Влияние шаперонов IbpA и ClpA на опосредованную DnaK/JE рефолдинг бактериальных люцифераз в клетках *Escherichia coli*. *Молекулярная биология*. 2011; 45(3): 479–483.
4. Кришин А.Э. Индукция мутаций растворами формальдегида у *Drosophila melanogaster*. *Американский натуралист*. 1956; 90: 377–38.
5. Owais W.M., Rosichan J.L., Ronald R.C., Kleinhofs A., Nilan R.A. A mutagenic metabolite synthesized by *Salmonella typhimurium* grown in the presence of azide is azidoalanine. *Mutation Research*. 1983; 118: 229–239. doi:10.1016/0165-1218(83)90207-0.
6. Nickens K.P., Patierno S.R., Ceryak S. Chromium genotoxicity: A double-edged sword. *Chemico-Biological Interactions*. 2010; 188: 276–288. doi:10.1016/j.cbi.2010.04.018.

References

1. Melnikov E.E., Rotanova T.V. Molecular chaperones. *Bioorganic Chemistry*. 2010; 36(1): 1–10. (In Russian)
2. Hesterkamp T., Bukau B. Role of the DnaK and HscA homologs of Hsp70 chaperones in protein folding in *E. coli*. *EMBO Journal*. 1998; 17: 4818–4828. doi:10.1093/emboj/17.16.4818.
3. Melkina O.E., Kotova V.Y., Manukhov I.V., Zavilgelsky G.V. Effects of the IbpA and ClpA chaperones on DnaK/JE-dependent refolding of bacterial luciferases in *Escherichia coli* cells. *Molecular Biology*. 2011; 45(3): 479–483. (In Russian)
4. Krishin A.E. Induction of mutations by formaldehyde solutions in *Drosophila melanogaster*. *American Naturalist*. 1956; 90: 377–38. (In Russian)
5. Owais W.M., Rosichan J.L., Ronald R.C., Kleinhofs A., Nilan R.A. A mutagenic metabolite synthesized by *Salmonella typhimurium* grown in the presence of azide is azidoalanine. *Mutation Research*. 1983; 118: 229–239. doi:10.1016/0165-1218(83)90207-0.
6. Nickens K.P., Patierno S.R., Ceryak S. Chromium genotoxicity: A double-edged sword. *Chemico-Biological Interactions*. 2010; 188: 276–288. doi:10.1016/j.cbi.2010.04.018.

Таблица. Индукции мутагенами люминесценции биосенсоров pGrpE-lux и pIbpA-lux

Table. A luminescence induction by mutagens of pGrpE-lux and IbpA-lux biosensors

№	Мутаген	Концентрация/ экспозиция	Активность на биосенсорах Инд / Iконтр (p)	
			pGrpE-lux	pIbpA-lux
1	Формальдегид	4 мМ/120 мин	8,8 (5x10 ⁻⁵)	3,2 (6x10 ⁻¹¹)
2	Азид натрия	1 мМ /90 мин	1,37 (1,3x10 ⁻⁴)	2,7 (8x10 ⁻⁸)
3	Бихромат калия	0,5 М /120 мин	1,5 (6x10 ⁻⁶)	5,2 (3x10 ⁻⁸)