



© Е.В. Игонина¹,
М.В. Марсова¹, С.К. Абилов^{1,2}

¹Институт общей генетики
им. Н.И. Вавилова Российской
академии наук, Москва;

²Московский государственный
университет им. М.В. Ломоносова

Для изучения способности солей металлов и фармакологически активных препаратов индуцировать в бактериальной клетке окислительный стресс и SOS-ответ использован набор lux-биосенсоров, состоящий из трех штаммов *E. coli*, несущих рекомбинантную плазмиду с lux-опероном, слитым с промоторами генов супероксиддисмутазы *SoxS*, каталазы *KatG* или колицина *ColD*. Изучена активность на lux-биосенсорах 47 веществ, из которых 16 индуцировали SOS-ответ, 6 — окислительный стресс. Сравнение полученных результатов с ранее опубликованными данными о мутагенной активности изученных веществ в тесте Эймса показало полное совпадение результатов для 42 веществ. Обсуждается возможность использования lux-биосенсоров для скрининга химических соединений на генетическую активность.

✿ **Ключевые слова:** lux-биосенсоры; окислительный стресс; SOS-ответ; тест Эймса; генотоксичность; тяжелые металлы; лекарственные средства.

LUX-БИОСЕНСОРЫ: СКРИНИНГ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ГЕНОТОКСИЧНОСТЬ

ВВЕДЕНИЕ

В генетической токсикологии для выявления и оценки мутагенной активности химических факторов окружающей среды принят поэтапный подход. На первом этапе тестирования (этап скрининга) используются бактериальные тест-системы и клеточные культуры. На втором этапе вещества, показавшие активность на этапе скрининга, тестируются *in vivo* по способности индуцировать микроядра или хромосомные aberrации в клетках костного мозга мышей или крыс. В случае отсутствия мутагенной активности в клетках костного мозга млекопитающих рекомендована оценка мутагенной активности в других тканях. При этом допускается использование методов проверки на генотоксичность, таких как регистрация внепланового (репаративного) синтеза ДНК, ДНК-аддуктов, фрагментации ДНК в клетках печени, почек, селезенки и других органов [1].

На этапе первичной оценки мутагенной активности химических соединений чаще всего применяют тест Эймса *Salmonella*/микросомы [2, 3]. Для регистрации мутагенной активности в данном тесте используется набор штаммов *S. typhimurium*, ауксотрофных по гистидину и ревертирующих к дикому типу в результате индукции обратных мутаций. Штаммы *S. typhimurium* TA 1535 и TA 100 несут мутацию в гене *hisG* и ревертируют под действием веществ, вызывающих замену пар оснований, тогда как штаммы TA 1538, TA 97 и TA 98 ревертируют в результате сдвига рамки считывания в мутантных локусах гена *hisD*. Все эти штаммы, проявляющие высокую чувствительность к мутагенному действию многих химических соединений, оказались неэффективными для регистрации мутагенного действия соединений, вызывающих окислительный стресс в клетке. Позже был сконструирован штамм *S. typhimurium* TA 102, позволяющий выявлять мутагенную активность различных перекисей, включая перекись водорода, фенилгидразина, различных альдегидов, и агентов, вызывающих сшивки в ДНК [4]. При создании штамма TA 102 часть гистидинового оперона, содержащего аллель *hisG428*, была введена в мультикопийную плазмиду pBR322. Полученная таким образом гибридная плазмида была перенесена в штамм *S. typhimurium* с делецией гена *hisG*. Увеличение дозы гена-мишени привело к увеличению чувствительности данного штамма в среднем в 5–12 раз по сравнению с изогенным штаммом, например со штаммом TA 100, содержащим одну копию аллеля *hisG428* в хромосоме. Однако нестабильность, высокий уровень спонтанного мутирования (около 300 ревертантов на чашку) и маленький размер колоний-ревертантов штамма TA 102 затрудняет его применение в скрининговых программах. Поэтому до сих пор актуален поиск простых методов выявления потенциальных мутагенов оксидантного типа.

Вышеперечисленные штаммы *S. typhimurium* позволяют не только обнаруживать мутагенную активность химического соединения или его метаболитов, но и устанавливать вероятные механизмы его мутагенного действия. Такой набор может быть использован при оценке мутагенной активности конкретного исследуемого соединения, однако не совсем подходит

Поступила в редакцию 19.04.2016
Принята к публикации 05.12.2016

для скрининга большого числа химических соединений в связи с большим объемом работы, несоизмеримым с объемом получаемой при этом информации. В этой связи возникает вопрос, можно ли обойтись минимальным набором тест-штаммов *S. typhimurium*, например TA 98 и TA 100, и включить в схему тестирования второй скрининговый метод, дополняющий тест Эймса и отличающийся простотой выполнения. В качестве такового был предложен метод регистрации индукции SOS-ответа в клетках *E. coli*, получивший название «SOS-хромотест» [5]. Авторы сконструировали штамм *E. coli* PQ37 путем слияния хромосомного гена *sfiA*, детерминирующего одну из SOS-функций клетки — контроль клеточного деления, с фактом Mudlac, несущим беспромоторный ген *lacZ*. Последний попадает под контроль промотора SOS-гена и позволяет оценивать SOS-индуцирующий эффект различных химических соединений путем определения активности β-галактозидазы. Результаты изучения активности с помощью SOS-хромотеста большого числа химических соединений (около 500), включая и перекись водорода, обобщены в обзоре авторов этого метода [6]. Было показано, что перекись водорода является индуктором SOS-ответа в клетках *E. coli* PQ37 и его активность более выражена в клетках *E. coli* PQ300, отличающихся от *E. coli* PQ37 наличием делеции в гене антиоксидантной защиты *OxyR* [7–9]. Несмотря на то что SOS-хромотест позволяет регистрировать активность генотоксичных соединений, включая перекиси, он не выявляет генетическую активность так называемых окислительных мутагенов, то есть веществ, которые сами по себе не являются окислителями, однако нарушают естественный баланс между окислительными и антиоксидантными процессами в клетке и, соответственно, приводят к развитию окислительного стресса. К числу таких агентов относятся некоторые соединения металлов [10, 11], наночастицы [12, 13], прооксиданты и другие индукторы окислительного стресса [14, 15].

Тестирование химических соединений на их способность индуцировать окислительный стресс в клетках стало возможным благодаря штаммам *E. coli*, содержащим плазмиду, в которую встроена генетическая конструкция с различными индуцируемыми промоторами, слитыми с *lux*-генами светящихся бактерий в качестве генов-репортеров. Такие штаммы получили название *lux*-биосенсоров и используются для обнаружения в компонентах окружающей среды тяжелых металлов [16], антибиотиков [17], токсичных и генотоксичных соединений [18, 19].

Настоящая работа посвящена изучению возможности набора из трех *lux*-биосенсоров детектировать генотоксичность различных биологически активных химических соединений по способности индуцировать окислительный стресс и SOS-ответ в клетках *E. coli*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы *E. coli*

Для работы нами были использованы 3 биосенсора на основе штамма *E. coli* K12: MG1655 (*pSoxS-lux*), MG1655 (*pKatG-lux*) и MG1655 (*pColD-lux*), несущие рекомбинантную плазмиду с *lux*-опероном люминесцирующей бактерии *Photobacterium luminescens*, слитым с промоторами генов супероксиддисмутазы *SoxS*, каталазы *KatG* и колицина *ColD*. Промотор *pKatG* (белок-активатор OxyR) специфически реагирует на перекись водорода и другие пероксиды, тогда как промотор *pSoxS* (белок-активатор SoxR) специфически реагирует на супероксид анион-радикал. Для SOS-биосенсора, реагирующего на повреждения ДНК, использован промотор *pColD* колицинового гена, входящего в SOS-регулон.

Штаммы *E. coli*, несущие *lux*-оперон, под воздействием индукторов окислительного стресса или ДНК-повреждающих агентов начинают активно продуцировать люциферин-люциферазный комплекс, что приводит к повышению уровня биолюминесценции.

Штаммы предоставлены Г.Б. Завильгельским и И.В. Мануховым (ГосНИИгенетика, г. Москва). Генотипы штаммов и конструкции рекомбинантных плазмид приведены в работах [14, 15].

При проведении экспериментов в качестве позитивных контролей использовали:

- на биосенсоре *E. coli* MG1655 (*pKat-lux*) — 3 % раствор перекиси водорода (аптечный);
- на биосенсоре MG1655 (*pSoxS-lux*) — паракват, вызывающий формирование супероксид анион-радикала;
- на биосенсоре *E. coli* MG1655 (*pColD-lux*) — митомин С, останавливающий синтез ДНК в результате образования как межнитевых сшивок, так и сшивок ДНК — белок.

Измерение степени окислительного стресса и SOS-ответа

Бактерии выращивали в бульоне Лурия — Бергана (LB), содержащем 100 мкг/мл ампициллина. Ночную культуру разводили до концентрации 10^7 кл/мл в свежем бульоне и растили при 37° 2–3 ч. Затем пробы по 180 мкл вносили в лунки 96-луночного планшета с 20 мкл раствора тестируемого агента в различной концентрации. В качестве контроля служили растворитель (вода или раствор ДМСО). Уровень люминесценции бактерий измеряли на микропланшетном ридере Beckman coulter DTX 880 при комнатной температуре через определенные интервалы времени и выражали в условных единицах светового потока (relative light units — RLU).

В предварительных экспериментах токсичные концентрации тестируемых соединений определяли по подавлению люминесценции культур.

В качестве главного параметра индукции люминесценции определяли фактор индукции по формуле $R = I_{ind}/I_0$, где I_0 — уровень спонтанной люминесценции культуры (в отсутствие индуктора), I_{ind} — уровень люминесценции в присутствии исследуемого препарата. Признаком достоверности считали статистическое достоверное превышение I_{ind} над I_0 , оцениваемое по t -критерию. Все эксперименты проводили в четырех параллельных лунках планшета. Каждое соединение тестировалось в трех независимых экспериментах.

Химические соединения

Все химические соединения были аналитической чистоты. Перекись водорода была получена из компании Ferraine (Россия). Митомицин С, паракват, цисплатина (цисдиаминодихлорплатина (II)), 4-НХО (4-нитрохиолин-1-оксид), нитрозометилмочевина, стрептозотоцин, 2-нитрофлуорен, 9-аминоакридин, актиномицин Д, этидий бромид, 5-фторурацил, 2-аминопурин и 5-бромурацил получены от Sigma Chemical Co (США). Все тестируемые соединения металлов производства «Реахим» (Россия). Цифран (Ranbaxy) — производства Индии, флуимуцил (Zambon) — Италии, дюспаталин (Abbott Healthcare Products B.V.) — Нидерландов, де-нол (Astellas) — Нидерландов, фурамаг и фурагин («Олайн-фарм») — Латвии, липоевая кислота («Артезан Фарма ГмбХ и Ко. КГ») — Германии, глутатион восстановленный (AppliChem GmbH) — Германии. Лекарственные препараты из российских фармацевтических компаний: диоксидин («Мосхимфармпрепараты»), метронидазол («Обновление»), флуконазол («Вертекс»), мексидол («Фармсофт»), фурацилин («Татхимфармпрепараты»), фуразолидон («Марбиофарм»), азитромицин («Производство медикаментов»), цефтриаксон («Деко»), омепразол («Озон»). Все растворы тестируемых соединений готовили непосредственно перед их использованием.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе были определены оптимальные концентрации индукторов люминесценции и основные параметры, характеризующие отклик lux-биосенсоров на воздействие стандартных индукторов, используемых в качестве позитивного контроля. В качестве стандартных индукторов окислительного стресса использовались перекись водорода на *E. coli* MG1655 (pKat-lux) и паракват на MG1655 (pSox-lux), которые вызывают формирование в бактериальных клетках пероксиданион и супероксид анион-радикал соответственно. Наиболее сильный отклик на окислительный стресс наблюдался у *E. coli* MG1655 (pKat-lux). При концентрации перекиси водорода 10^{-3} М уровень индуцированной люминесценции у этого биосенсора, выраженный в условных единицах, превышал в 8–12 раз уровень спонтанной люминесценции культуры в зависимости от повторности эксперимента. Паракват индуцировал окислительный стресс у *E. coli* MG1655 (pSox-lux) в широком диапазоне концентраций от 10^{-5} до $2 \cdot 10^{-3}$ М, и при его максимальной концентрации уровень индуцированной люминесценции у этого биосенсора превышал в 4–6 раз уровень спонтанной люминесценции культуры. Штамм MG1655 (pKat-lux) отличается от штамма MG1655 (pSox-lux) более высоким уровнем спонтанной биолюминесценции, обусловленной высоким внутриклеточным содержанием перекисей (табл. 1).

Для индукции SOS-ответа в биосенсоре *E. coli* MG1655 (pColD-lux) был использован митомицин С, который формирует в ДНК как аддукты, так и межнитевые сшивки [20]. В наших экспериментах SOS-ответ, индуцированный митомицином С, начинался при концентрации $4 \cdot 10^{-5}$ М и достигал максимума $2,25 \cdot 10^{-4}$ М. Самый низкий уровень спонтанной люминесценции отмечен у штамма MG1655 (pColD-lux).

Таблица 1

Основные параметры индукции люминесценции у трех биосенсоров

The main parameters of the luminescence induction in three biosensors

Биосенсор	Индуктор	I_0 , тыс. ед.	I_{ind} , тыс. ед.	I_{ind}/I_0	C_{Mmin}	C_{Mmax}	t_{min} , мин/ t_{max} , мин
<i>E. coli</i> (pKatG-lux)	H ₂ O ₂	9–10	90–120	8–12	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-3}	5/20
<i>E. coli</i> (pSoxS-lux)	Паракват	5–7	35–47	4–6	10^{-5}	$2 \cdot 10^{-3}$	15/30
<i>E. coli</i> (pColD-lux)	Митомицин С	3–4	12–18	4–6	$4 \cdot 10^{-5}$	$2,25 \cdot 10^{-4}$	30/60

Примечание: I_0 — уровень спонтанной люминесценции культуры, I_{ind} — уровень индуцированной люминесценции культуры; C_{Mmin} — минимальная молярная концентрация индуктора, вызывающая достоверное повышение люминесценции; C_{Mmax} — молярная концентрация индуктора, при которой наблюдается максимальный уровень люминесценции; t_{min} — минимальное время ответа, когда наблюдается достоверное повышение люминесценции в присутствии индуктора; t_{max} — время достижения максимального ответа к действию индуктора

Важной характеристикой биосенсоров является минимальное время ответа t_{\min} , когда наблюдается достоверное повышение люминесценции в присутствии индукторов. У биосенсора *E. coli* MG1655 (pKat-lux) ответ на воздействие начинался через 5 мин и достигал максимума уже через 20 мин, у *E. coli* MG1655 (pSox-lux) — через 15 мин и достигал максимума через 30 мин, а у *E. coli* MG1655 (pColD-lux) — через 30 мин и достигал максимума через 60 мин (см. табл. 1).

Типичные графики зависимости индуцированной люминесценции биосенсоров от концентрации индукторов представлены на рисунках 1–3. На рисунках приведены данные одного эксперимента в четырех повторностях.

В табл. 2 приведены результаты тестирования разнообразных химических соединений, преимущественно фармакологически активных, на трех биосенсорах. Они для краткости обозначены как сенсоры pKatG-lux, pSoxS-lux и pColD-lux. Примененный набор сенсоров позволяет оценить оксидантную и ДНК-повреждающую активности исследованных препаратов. По химической структуре и области применения тестируемые соединения можно условно объединить в несколько групп: содержащие нитрогруппу, соли металлов, аналоги оснований, интеркалирующие в ДНК, противоопухолевые, антибактериальные и разнообразные лекарственные средства, включая антиоксиданты.

В группу нитросоединений входят 4-НХО, 2-нитрофлуорен, антибактериальные средства нитрофуранового ряда: фурацилин, фурамаг, фурагин, фуразолидон и метронидазол, относящийся к нитроимидазолам. Объединяет эти соединения наличие в их структуре нитрогруппы, которая, в результате восстановления бактериальной нитроредуктазой, образует реакционноспособный нитроксильный радикал [21]. Нитрофурановые соединения содержат нитрогруппу строго в положении 5 фуранового цикла, и различия в активности и спектре действия 5-нитрофурановых соединений зависят от характера заместителей в положении 2 фуранового цикла. Все испытанные нитросоединения индуцировали SOS-ответ у сенсора pColD-lux. Причем наиболее сильным индуктором был 4-НХО, который формирует в ДНК аддукты с пуриновыми основаниями [22]. Уровень SOS-ответа, индуцированного нитрофурановыми соединениями и метронидазолом, был намного ниже. Все тестируемые соединения проявляют мутагенную активность на тест-штаммах *S. typhimurim* [23].

Из всех тестируемых нитросоединений только 4-НХО индуцировал окислительный стресс у сенсора pKatG-lux и в меньшей степени у pSoxS-lux, то есть показал способность генерировать в бактериальных клетках как перекиси, так и супероксиды. Последние образуются в результате одноэлектронного восстановления 4-НХО в клетке с образованием нитроксильного радикала и переноса электрона из этого радикала на кислород [24]. Из нитрофурановых соединений только фурацилин индуцировал окислительный стресс

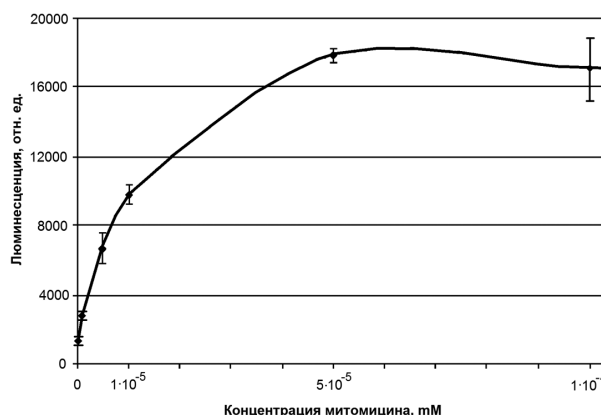


Рис. 1. Люминесценция сенсора *E. coli* MG1655 (pColD-lux), индуцированная митомцином С. Время экспозиции — 50 мин

Fig. 1. Luminescence of *E. coli* MG1655 (pColD-lux) induced by mitomycin C. The exposure time — 50 minutes

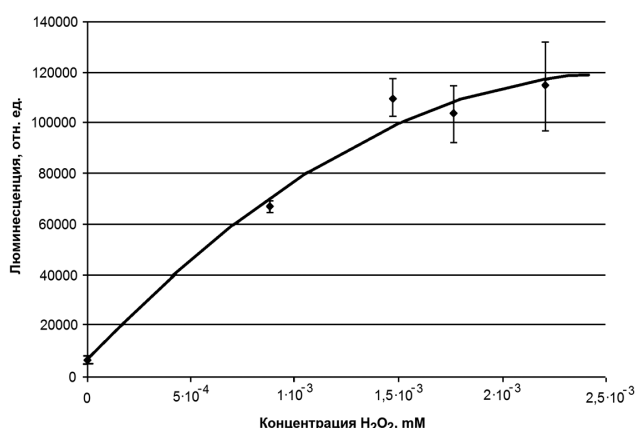


Рис. 2. Люминесценция сенсора *E. coli* MG1655 (pKatG-lux), индуцированная перекисью водорода. Время экспозиции — 25 мин

Fig. 2. Luminescence of *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) induced by hydrogen peroxide. Exposure time — 25 minutes

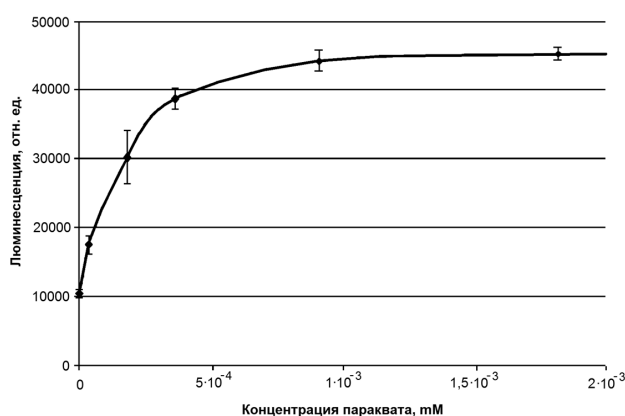


Рис. 3. Люминесценция сенсора *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux), индуцированная параковатом. Время экспозиции — 30 мин

Fig. 3. Luminescence of *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux) induced by paraquat. Exposure time — 30 minutes

Таблица 2

Индукция люминесценции у бактериальных lux-биосенсоров солями тяжелых металлов и биологически активными препаратами

The induction of luminescence in bacterial lux-biosensors with heavy metal salts and biologically active agents

№	Вещество	Концентрация, 10^{-3} М	Активность на сенсорах <i>E. coli</i> MG1655 $I_{\text{ind}}/I_0^* (p)$			Активность в тесте Эймса
			pCol—lux	pKat—lux	pSox—lux	
1	H ₂ O ₂	0,01–2,2	10,01 ($3,7 \cdot 10^{-9}$)	18,53 ($2,2 \cdot 10^{-7}$)	8,60 ($6,5 \cdot 10^{-8}$)	+ [4]
2	Паракват	0,04–2,0	—**	2,32 ($2,5 \cdot 10^{-9}$)	4,39 ($1,0 \cdot 10^{-7}$)	+ [4]
3	Митомицин С	0,001–0,1	13,80 ($8,8 \cdot 10^{-5}$)	—	—	+ [4]
4	4-НХО	0,05–1,3	41,80 ($3,7 \cdot 10^{-5}$)	15,88 ($6,5 \cdot 10^{-10}$)	4,29 ($4,7 \cdot 10^{-6}$)	+ [23]
5	2-нитрофлуорен	0,02–0,7	—	—	—	+ [23]
6	Фурацилин	0,50–5,0	2,27 ($1,2 \cdot 10^{-5}$)	2,46 ($2,9 \cdot 10^{-6}$)	—	+ [33]
7	Фурамаг	0,50–5,0	5,73 ($2,0 \cdot 10^{-5}$)	—	—	+ [33]
8	Фурагин	0,50–5,0	5,52 ($8,4 \cdot 10^{-6}$)	—	—	+ [33]
9	Фуразолидон	0,50–5,0	4,53 ($3,4 \cdot 10^{-5}$)	—	—	+ [23]
10	Метронидазол	0,1–5,3	3,18 ($4,3 \cdot 10^{-7}$)	—	—	+ [23]
11	CdCl ₂	0,05–1,0	—	2,95 ($2,5 \cdot 10^{-6}$)	2,08 ($4,8 \cdot 10^{-5}$)	+ [25]
12	CdBr ₂	0,01–0,1	—	—	—	— [34]
13	CsCl	0,05–1,0	—	—	—	— [35]
14	MnCl ₂	0,05–1,0	—	—	—	— [34]
15	ZnSO ₄	0,05–1,0	—	—	—	— [36]
16	CuSO ₄	0,01–1,0	—	—	—	— [36]
17	CoSO ₄	0,03–0,6	—	—	—	— [34]
18	FeSO ₄	0,01–0,1	—	—	—	— [36]
19	CrK(SO ₄) ₂	0,01–0,1	—	—	—	— [25]
20	K ₂ Cr ₂ O ₇	0,03–0,6	—	—	5,34 ($5,0 \cdot 10^{-7}$)	+ [25]
21	Диоксидин	0,45–4,50	11,47 ($8,9 \cdot 10^{-7}$)	—	—	+ [33]
22	Ципрофлоксацин	0,04–41,0	2,70 ($2,7 \cdot 10^{-5}$)	—	—	+ [28]
23	Цефтриаксон	0,02–1,8	—	—	—	— [37]
24	Азитромицин	0,01–6,0	—	—	—	— [38]
25	Флуконазол	0,03–32,0	—	—	—	— [39]
26	2-аминопурин	0,05–5,0	3,06 ($1,3 \cdot 10^{-8}$)	—	—	+ [29]
27	5-фторурацил	0,08–38,0	—	—	—	— [40]

Таблица 2 (окончание)

№	Вещество	Концентрация, 10 ⁻³ М	Активность на сенсорах <i>E. coli</i> MG1655 $I_{\text{ind}}/I_0^*(p)$			Активность в тесте Эймса
			pCol—lux	pKat—lux	pSox—lux	
28	5-бромурацил	0,05–5,0	2,84 (6,6 · 10 ⁻⁶)	—	—	+ [29]
29	5-фтордезок-сиуридин	0,02–0,4	—	—	—	— [40]
30	9-аминоакридин	0,04–3,0	—	—	—	+ [23]
31	Бромид этидия	0,03–1,2	—	—	—	+ [23]
32	Акридин оранжевый	0,04–37,0	—	—	—	+ [23]
33	Нитрозометилмочевина	0,01–48,5	11,00 (2,4 · 10 ⁻⁷)	—	—	+ [23]
34	Стрептозоцин	0,04–1,8	7,41 (4,8 · 10 ⁻⁶)	—	—	+ [23]
35	Цисплатин	0,02–1,6	4,43 (7,7 · 10 ⁻⁶)	—	—	+ [41]
36	Дюспаталин	0,02–42,0	—	4,33 (1,3 · 10 ⁻⁵)	—	— [42]
37	Де-нол (висмута трикалия дицитрат)	0,01–1,4	—	—	—	— [43]
38	Омепразол	0,03–5,0	—	—	—	— [44]
39	Йод	0,04–15,0	3,99 (5,2 · 10 ⁻⁷)	—	—	— [31]
40	Глутатион восстановленный	0,03–3,2	—	—	—	— [45]
41	Липоевая кислота	0,001–0,06	—	—	—	— [46]
42	Мексидол	0,02–18,0	—	—	—	— [47]
43	Флуимуцил	0,06–60,0	—	—	—	— [48]
44	Тауфон	3,2–31,0	—	—	—	— [49]
45	1,3-дициклогексил карбо- дими́д	0,1–15,0	—	—	—	— [50]
46	Этанол	16–162	—	—	—	— [23]
47	Диметилсульфоксид	1,4–14,0	—	—	—	— [23]

Примечание: * фактор индукции R; ** «—» — нет индуцированной люминесценции ($p > 0,05$)

у сенсора pKatG—lux. 2-Нитрофлуорен, проявляющий себя как интеркалирующий агент на штаммах *S. typhimurim*, был слабым индуктором SOS-ответа. Метронидазол не проявил активности ни на одном из биосенсоров, регистрирующих окислительный стресс. Различия в активности тестируемых нитросоединений как по спектру, так и по силе связаны со структурными особенностями их метаболитов, образующихся после восстановления нитрогруппы, и их дальнейшей ферментативной и спонтанной трансформацией в бактериальной клетке.

Вторая большая группа соединений — соли металлов. Изучению генотоксичности этой группы соединений уделяется большое внимание. Ионы тяжелых металлов не проявляют мутагенной активности в бактериальных тест-системах, однако отмечена цитогенетическая актив-

ность в клеточных культурах и в растительных тест-системах [10, 25]. Известно, что ионы железа, меди, хрома, ванадия и кобальта участвуют в окислительно-восстановительных реакциях и нарушение их физиологических концентраций может привести к сдвигу редокс-статуса клетки. Это обстоятельство может быть причиной инициации окислительного стресса перечисленными металлами. Другая группа металлов, включающая ртуть, кадмий и никель, вызывает истощение глутатиона в клетке и других антиоксидантных белков с сульфгидрильными группами, приводящее к увеличению концентрации перекиси водорода в физиологических условиях [11]. Объединяющим фактором при определении токсичности и канцерогенности для всех этих металлов является генерирование активных форм кислорода и нитроксильных радикалов. Из 10 тестируемых солей металлов в наших экспери-

ментах окислительный стресс в клетках *E. coli* индуцировали только хлористый кадмий и бихромат калия. Хлористый кадмий проявил активность на сенсорах pKatG—lux и pSoxS—lux, чувствительных к присутствию перекисей и супероксид анион-радикала, тогда как бихромат калия — только на штамме, регистрирующем супероксид анион-радикал. Оба эти соединения проявляют мутагенную активность в тесте Эймса [25].

Были тестированы известные антибактериальные средства: диоксидин, цiproфлоксацин (цифран), цефтриаксон, азитромицин и противогрибковое средство флуконазол. Из них только диоксидин и цiproфлоксацин показали способность индуцировать SOS-ответ у сенсора pColD—lux.

Диоксидин является мутагеном в тесте Эймса и индуцирует хромосомные aberrации в клетках млекопитающих как *in vitro*, так и *in vivo* [26, 27]. Полагают, что он является ингибитором синтеза ДНК, однако механизм такого действия до сих пор не установлен.

Цiproфлоксацин — синтетическое фторхинолоновое антибактериальное средство широкого спектра действия является ингибитором бактериальной ДНК-гиразы. Он проявляет мутагенную активность в тесте Эймса только на штамме *S. typhimurium* TA 102 [28], а также активен в SOS-хромотесте [6].

Цефтриаксон, азитромицин и флуконазол не проявили активности на биосенсорах, нет данных об их мутагенной активности и в тесте Эймса. Цефтриаксон является антибактериальным средством широкого спектра действия, нарушающим биосинтез мукопептида клеточной стенки бактерий. Азитромицин связывается с 50S-субъединицей рибосом, угнетает пептидтранслоказу на стадии трансляции и подавляет биосинтез белка, замедляя рост и размножение бактерий. Флуконазол — противогрибковое средство, блокирует превращение ланостерола клеток грибов в мембранный липид — эргостерол, что приводит к увеличению проницаемости клеточной мембраны и прекращению роста грибов.

Из тестированных аналогов оснований (2-аминопурин, 5-бром урацил, 5-фторурацил, 5-фтордезоксинуридин) только 2-аминопурин и 5-бром урацил в высоких концентрациях индуцировали SOS-ответ на сенсоре pColD—lux. Надо отметить, что оба соединения проявляют мутагенную активность на тест-штаммах *S. typhimurium* TA 1535 [29].

5-Фторурацил, являющийся структурным аналогом пиримидина, используется в медицинской практике в качестве противоопухолевого агента. Препарат метаболизируется в опухолевой ткани с образованием 5-фторуридин трифосфата и 5-фтордезоксинуридина. Последний ингибирует тимидилатсинтетазу, что приводит к дефициту тимидина и ингибированию синтеза ДНК [30].

Интеркалирующие в ДНК соединения — акридин оранжевый, 9-аминоакридин, этидий бромид не проявили активности ни на одном из трех сенсоров. Тем не

менее они являются мутагенами в тесте Эймса и индуцируют мутации сдвига рамки считывания у тест-штаммов *S. typhimurium* TA 1538 и TA98 [23].

Мутагенные в тесте Эймса противопухолевые препараты — нитрозометилмочевина, стрептозотозин и цисплатин индуцировали SOS-ответ у сенсора pColD—lux, но не были активны на других сенсорах [23]. Нитрозометилмочевина является классическим алкилирующим агентом, и ее мутагенная активность обусловлена образованием метилкарбониевых ионов, образующихся при биотрансформации в клетке. Стрептозотозин (2-дезоксисин-2-(3-метил-3-нитрозо-мочевина)-глюкозамин) — антибиотик, продуцируемый *Streptomyces aerotogenes*, по химическому строению относится к производным нитрозометилмочевины. Мутагенная активность стрептозотозина также обусловлена образованием метилкарбониевых ионов. Цисплатин способен связываться с ДНК клеток, образуя поперечные связи, приводящие к подавлению синтеза нуклеиновых кислот и гибели клеток.

Из широко применяемых в медицинской практике препаратов для лечения желудочно-кишечных заболеваний были тестированы дюспаталин, де-нол и омепразол. Дюспаталин, действующим веществом которого является мебеверин (мебеверина гидрохлорид), способствует расслаблению гладкой мышцы и устранению связанного с сильным напряжением болевого синдрома и спазма. Препарат проявил активность на сенсоре pKatG—lux, что указывает на его способность увеличивать уровень перекисей в клетке, приводящий к окислительному стрессу. Противоязвенные препараты де-нол и омепразол не показали активности ни на одном из биосенсоров. Де-нол в качестве активного вещества содержит висмута трикалия дицитрат. Препарат обладает бактерицидной активностью в отношении *Helicobacter pylori*. Омепразол — ингибитор протонного насоса. Применяется при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки в фазе обострения.

Для изучения генотоксичности йода в качестве исходного раствора использовали антисептик — медицинский 5 % водно-спиртовой раствор йода. Йод в очень низких концентрациях индуцировал SOS-ответ у сенсора pColD—lux, но не вызывал регистрируемого окислительного стресса в бактериальных клетках. Йод не является мутагеном в тесте Эймса [31].

Антиоксиданты — глутатион восстановленный, липоевая кислота, мексидол, тауфон (тауриновая кислота) и ацетилцистеин (муколитик флуимуцил) не вызывали повышения люминесценции биосенсоров. Глутатион и липоевая кислота существенно снижали спонтанный уровень люминесценции у сенсоров pKatG—lux и pSoxS—lux, что указывает на их способность снижать внутриклеточный уровень перекисей и супероксидных радикалов. Антиоксидантный эффект ацетилцистеина обусловлен наличием SH-группы, нейтрализующей окислительные электрофильные токсины.

1,3-дициклогексилкарбодиимид — реагент, широко применяющийся в органическом синтезе, этанол, а также диметилсульфоксид, использованный в качестве растворителя, не показали активности.

ОБСУЖДЕНИЕ

При формировании набора lux-биосенсоров для детекции SOS-ответа из двух штаммов *E. coli* MG1655 (*pColD*) и *E. coli* MG1655 (*pRecA*) нами был выбран штамм с промотором колицинового гена *cda* (*pColD*). Выбор был основан на данных, показавших, что сенсор *pColD*—lux по таким параметрам, как пороговая чувствительность, амплитуда и время ответа, превосходит сенсор *pRecA*—lux [15]. Кроме того, сравнительный анализ свойств SOS-биосенсоров с промоторами генов *recA*, *cda*, *umuDC*, *sulA* при использовании в качестве гена-репортера зеленого флуоресцентного *gfp* также показал, что лучшими характеристиками обладает биосенсор с промотором гена *cda* [32].

При валидации новой тест-системы принято сравнивать полученные результаты с ранее полученными данными в других тест-системах. В настоящей работе была изучена активность на lux-биосенсорах 47 веществ, включая такие органические растворители, как диметилсульфоксид и этанол. 20 веществ показали активность в использованной батарее биосенсоров: 16 веществ индуцировали SOS-ответ, 6 — индуцировали окислительный стресс. Сравнение полученных результатов с данными о мутагенной активности этих препаратов в тесте Эймса показало полное совпадение результатов для 42 веществ (см. табл. 2).

Известные мутагены-интеркаляторы в тесте Эймса — акридин оранжевый, 9-аминоакридин и бромид этидия — не проявили активности на биосенсорах. Однако дюспаталин и йод, не проявившие мутагенную активность в тесте Эймса, показали активность на сенсорах *pKatG*—lux и *pColD*—lux соответственно.

Цифрофлоксацин и йод индуцировали SOS-ответ у сенсора *pColD*—lux. Оба они активны в SOS-хромотесте [6] и проявляют генотоксичность в клеточных культурах [31, 51].

Следует отметить, что мутагенная активность перекиси водорода, параквата, хлористого кадмия и бихромата калия в тесте Эймса была достоверно выявлена только на штамме *S. typhimurium* TA102 [4, 25, 28].

Из полученных результатов следует, что использованные нами сенсоры эффективно выявили вещества, проявляющие мутагенную активность в тесте Эймса на штамме *S. typhimurium* TA102.

Обращает на себя внимание способность дюспаталина (мебеверин гидрохлорид) увеличивать уровень перекисей в клетке, приводящий к окислительному стрессу на сенсоре *pKatG*—lux. Однако в доступной литературе нет результатов его тестирования на штамме *S. typhimurium* TA102, что указывает на необходимость более тщательного изучения его мутагенной активности.

Сравнение результатов тестирования веществ на сенсоре *pColD*—lux совпало с данными, приведенными в сводке результатов изучения большого числа веществ в SOS-хромотесте [6]. Это означает, что данные, полученные люминесцентным методом, аналогичны результатам колориметрического метода детектирования SOS-ответа с помощью штамма *E. coli* PQ37, у которого ген *lacZ* слит с промотором гена *sfiA*, входящего в систему SOS-ответа [5]. Ответ люминесцентного сенсора *pColD*—lux регистрируется по интенсивности свечения, тогда как ответ штамма *E. coli* PQ37 — по результатам биохимической реакции галактозидазы с субстратом ОНФГ (о-нитрофенил-β-D-галактопиранозил). При этом из бесцветного субстрата ОНФГ высвобождается нитрофенил желтого цвета, и по интенсивного желтой окраски можно судить об активности β-галактозидазы, то есть об уровне SOS-ответа [5]. Ретроспективный анализ результатов тестирования 452 химических соединений в SOS-хромотесте и в тесте Эймса показал 82 % совпадение результатов, то есть 378 соединений проявили одинаковую активность в обоих тестах [6].

С точки зрения технического выполнения люминесцентный анализ более удобен и экономичен, чем колориметрический SOS-хромотест. При люминесцентном анализе регистрация ответа происходит по свечению бактерий и не требует дополнительных манипуляций, таких как лизис бактерий после инкубации и определение ферментативной активности. Непосредственный анализ люминесценции бактерий позволяет одновременно регистрировать зависимость SOS-ответа как от концентрации тестируемого соединения, так и от продолжительности инкубирования в динамике. Тест отличается высокой чувствительностью и быстротой выполнения, результаты можно получить в течение 3–4 часов, и, в отличие от теста Эймса, он легко поддается автоматизации.

Таким образом, бактериальные lux-биосенсоры, основанные на штаммах *E. coli*, несущие рекомбинантную плазмиду с lux-опероном люминесцирующей бактерии *Photobacterium luminescens*, слитым с промоторами генов супероксиддисмутазы *SoxS*, каталазы *KatG* и колицина *ColD*, эффективно выявляли мутагенные в тесте Эймса соединения. Необходима дальнейшая валидация теста с применением системы метаболической активации химических соединений, по итогам которой можно будет рассматривать вопрос о рекомендации lux-биосенсоров для скрининга химических соединений на потенциальную мутагенную активность.

Авторы выражают благодарность проф. Г.Б. Завильгельскому и проф. И.В. Манухову за предоставленные штаммы-биосенсоры.

Работа выполнена в рамках подпрограммы «Генофонды живой природы и их сохранение» программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем».

ЛИТЕРАТУРА

- Абилев С.К., Глазер В.М. Генетическая токсикология: Итоги и проблемы // Генетика. — 2013. — Т. 49. — Вып. 1. — С. 81–93. [Abilev SK, Glaser VM. Genetic toxicology: finding and challenges. *Russian Journal of Genetics*. 2013;49(1):81-93. (In Russ.)]. doi: 10.7868/S0016675813010025.
- Ames BN, Durston WE, Yamasaki E, Lee FD. Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1973a;70(8): 2281-2285. doi: 10.1073/pnas.70.8.2281.
- Ames BN, Lee FD, Durston WE. An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1973b;70(3):782-786. doi: 10.1073/pnas.70.3.782.
- Levin DE, Hollstein MC, Christman MF, et al. A new Salmonella tester strain (TA102) with A X T base pairs at the site of mutation detects oxidative mutagens. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1982;79(23):7445-7449. doi: 10.1073/pnas.79.23.7445.
- Quillardet P, Huisman O, D'Ari R, et al. SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K12 to measure genotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1982;79(19):5971-5975. doi: 10.1073/pnas.79.19.5971.
- Quillardet P, Hofnung M. SOS chromotest: a review. *Mutat. Res*. 1993;(297):235-279. doi: 10.1016/0165-1110(93)90019-J.
- Goerlich O, Quillardet P, Hofnung M. Induction of the SOS response by hydrogen peroxide in various *Escherichia coli* mutants with altered protection against oxidative DNA damage. *J Bacteriol*. 1989;171(11): 6141-7. doi: 10.1128/jb.171.11.6141-6147.1989.
- Müller J, Janz S. Assessment of oxidative DNA damage in the oxyR-deficient SOS chromotest strain *Escherichia coli* PQ300. *Environ Mol Mutagen*. 1992;20(4): 297-306. doi: 10.1002/em.2850200408.
- Müller J, Janz S. Modulation of the H₂O₂-induced SOS response in *Escherichia coli* PQ300 by amino acids, metal chelators, antioxidants, and scavengers of reactive oxygen species. *Environ Mol Mutagen*. 1993;22(3):157-63. doi: 10.1002/em.2850220308.
- Реутова Н.В. Мутагенный потенциал тяжелых металлов // Экологическая генетика. — 2015. — Т. 13. — Вып. 3. — С. 70–75. [Reutova NV. Mutagenic potential of some heavy metals. *Ekologicheskaya genetika*. 2015;13(3):70-75. (In Russ.)]. doi: 10.17816/ecogen13370-75.
- Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*. 200512(10):161-1208. doi: 10.2174/0929867053764635.
- Сычева Л.П. Оценка мутагенных свойств наноматериалов // Гигиена и санитария. — 2008. — № 6. — С. 26–28. [Sycheva LP. Evaluation of the mutagenic properties of nano-materials. *Gigiena i Sanitariia*. 2008;(6):26-8. (In Russ.)]
- Ghosh M, Manivannan J, Sinha S, et al. *In vitro* and *in vivo* genotoxicity of silver nanoparticles. *Mutat Res*. 2012;749(1-2):60-69. doi: 10.1016/j.mrgentox.2012.08.007.
- Манухов И.В., Котова В.Ю., Мальдов Д.Г., и др. Индукция окислительного стресса и SOS-ответа в бактериях *Escherichia coli* растительными экстрактами: роль гидроперекисей и эффект синергизма при совместном действии с цисплатиной // Микробиология. — 2008. — Т. 77. — С. 590–597. [Manuchov IV, Kotova VYu, Maldov DG, et al. Induction of oxidative stress and SOS response in *Escherichia coli* by vegetable extracts: the role of hydroperoxides and the synergistic effect of simultaneous treatment with cisplatin. *Microbiology*. 2008;77:590-597. (In Russ.)]. doi: 10.1134/S0026261708050020.
- Котова В.Ю., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б. Lux-биосенсоры для детекции SOS-ответа, теплового шока и окислительного стресса // Биотехнология. — 2009. — № 6. — С. 16–25. [Kotova VYu, Manuchov IV, Zavigelskiy GB. Lux-biosensors for detection of SOS-response, heat shock and oxidative stress. *Biotechnology in Russia*. 2009;(6):8-17. (In Russ.)]. doi: 10.1134/S0003683810080089.
- Завильгельский Г.Б., Котова В.Ю., Хрульнова С.А., Манухов И.В. Оценка токсического действия наноматериалов на живые организмы // Биотехнология. — 2013. — № 6. — С. 8–17. [Zavigelskiy GB, Kotova VYu, Khrul'nova SA, Manukhov IV. Assessment of toxicity of nanomaterials for live organisms. *Biotechnology in Russia*. 2013;(6):8-17. (In Russ.)]
- Котова В.Ю., Рыженкова К.В., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б. Индуцируемые специфические lux-биосенсоры для детекции антибиотиков: конструирование и основные характеристики // Прикладная биохимия и микробиология. — 2014. — Т. 50. — № 1. — С. 112–117. [Kotova VYu, Ryzhenkova KV, Manuchov IV, Zavigelskiy GB. Inducible specific lux-biosensors for the detection of antibiotics: construction and main parameters. *Prikladnaya Biokhimiya i Microbiologiya*. 2014;50(1):112-117. (In Russ.)]. doi: 10.7868/S0555109914010073.
- Сазыкина М.А., Чистяков В.А. Мониторинг генотоксичности водной среды: Азово-Донской бассейн: Монография. — Ростов н/Д: Изд-во ЮФУ, 2009. [Sazykina MA, Chistyakov VA. Monitoring genotoxichnosti vodnoy sredi: Azovo-Donskoy basseyn: Monografiya. Rostov n/D: The SFU publishing house. 2009. (In Russ.)]
- Vollmer CA, Van Dyk TK. Stress responsive bacteria biosensors as environmental monitors. *Adv Microb Physiol*. 2004;49:131-174. doi: 10.1016/S0065-2911(04)49003-1.

20. Bargonetti J, Champeil E, Tomasz M. Differential Toxicity of DNA Adducts of Mitomycin C. *Journal of Nucleic Acids*. 2010;698960. doi: 10.4061/2010/698960.
21. McCalla DR. Mutagenicity of nitrofurantoin derivatives: Review. *Environ Mutagen*. 1983;(5):745-765. doi: 10.1002/em.2860050512.
22. Kohda K, Kawazoe Y, Minoura Y, et al. Separation and identification of N4-(guanosin-7-yl)-4-aminoquinoline 1-oxide, a novel nucleic acid adduct of carcinogen 4-nitroquinoline 1-oxide. *Carcinogenesis*. 1991;12:1523-1525. doi: 10.1093/carcin/12.8.1523.
23. McCann J, Choi E, Yamasaki E, Ames BN. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1975;72(12):5135-5139. doi: 10.1073/pnas.72.12.5135.
24. Biaglow JE, Jacobson BE, Nygaard OF. Metabolic reduction of 4-nitroquinoline N-oxide and other radical-producing drugs to oxygen-reactive intermediates. *Cancer Res*. 1977;37:3306-3313.
25. De Flora S, Bagnasco M, Serra D, Zanacchi P. Genotoxicity of chromium compounds. A review. *Mutat Res*. 1990;(238):99-172. doi: 10.1016/0165-1110(90)90007-X.
26. Фонштейн Л.М., Абилов С.К., Акиншина Л.П., и др. Изучение мутагенного действия некоторых лекарственных препаратов на индикаторные бактерии // Химико-фармацевтический журнал. — 1978а. — № 1. — С. 39–44. [Fonshteyn LM, Abilev SK, Akin'shina LP, et al. Izuchenie mutagenного deistviya nekotorykh lekarstvennykh preparatov na indikatornye bakterii. *Khimiko-Farmatsevticheskiy Zhurnal*. 1978a;(1):39-44. (In Russ.)]
27. Фонштейн Л.М., Ревазова Ю.А., Золотарева Г.Н., и др. Изучение мутагенной активности диоксида // Генетика. — 1978б. — Т. 14. — № 5. — С. 900–908. [Fonshteyn LM, Revazova YuA, Zolotareva GN, et al. Izuchenie mutagennoy aktivnosti dioksida. *Russian Journal of Genetics*. 1978b;14(5):900-908. (In Russ.)]
28. Clerch B, Bravo JM, Llagostera M. Analysis of the ciprofloxacin-induced mutations in *Salmonella typhimurium*. *Environ Mol Mutagen*. 1996;27(2):110-115. doi: 10.1002/(SICI)1098-2280(1996)27:2<110::AID-EM6>3.0.CO;2-K.
29. Ames BN. The detection of chemical mutagens with enteric bacteria. In: A. Hollaender ed. Chemical Mutagens: Principles and Methods for Their Detection. New York: Plenum Press; 1971, Vol. 1. doi: 10.1007/978-1-4615-8966-2_9.
30. Longley DS, Harkin DP, Johnston PG. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nature*. 2003;(3):330-337. doi: 10.1038/nrc1074.
31. Ilin A, Nersesyan A. Toxicology of iodine: A mini reviews. *Arch Oncol*. 2013;21(2):67-71. doi:10.2298/AOO1302065I.
32. Norman AA, Hansen LH, Sorensen SJ. Construction of a ColD *cda* promoter-based SOS-Green Fluorescent Protein whole-cell biosensor with higher sensitivity toward genotoxic compounds than constructs based on *recA*, *umuDC*, or *sulA* promoters. *Appl Environ. Microbiol*. 2005;71:2338-2346. doi: 10.1128/AEM.71.5.2338-2346.2005.
33. Фонштейн Л.М., Абилов С.К., Акиншина Л.П., и др. Исследование генетических эффектов лекарственных веществ и других биологически активных соединений в тестах на мутагенез и ДНК-повреждающее действие // Химико-фармацевтический журнал. — 1982. — № 10. — С. 1163–1167. [Fonshteyn LM, Abilev SK, Akin'shina LP, et al. Investigation of the genetic effects of drugs and other biologically active compounds in tests for mutagenesis and DNA-damaging action. *Khimiko-Farmatsevticheskiy Zhurnal*. 1982;(10):1163-1167. (In Russ.)]
34. Arlauskas A, Baker RSU, Bonin AM, et al. Mutagenicity of metal ions in bacteria. *Environ Res*. 1985;36(2):379-388.
35. Cesium compounds toxicology reports... Cited 04.03.2016. WEB: <http://www.bibra-information.co.uk/downloads/toxicity-profile-for-caesium-compounds-2000>.
36. Marzin DR, Phi HV. Study of the mutagenicity of metal derivatives with *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat Res*. 1985;155(1-2):49-51. doi: 10.1016/0165-1218(85)90024-2.
37. Цефиксар. Инструкция по медицинскому применению лекарственного средства. Цитировано 04.03.2016. WEB: <http://www.pharmacare.by/ru/rx/100-antibiotics/12-ceficare>.
38. Brambilla G, Mattioli F, Robbiano L, Martelli A. Studies on genotoxicity and carcinogenicity of antibacterial, antiviral, antimalarial and antifungal drugs. *Mutagenesis*. 2012;27(4):387-413. doi: 10.1093/mutage/ger094.
39. Diflucan. Cited 04.03.2016. WEB: www.pfizer.com.
40. Yajima N, Kondo K, Morita K. Reverse mutation tests in *Salmonella typhimurium* and chromosomal aberration tests in mammalian cells in culture on fluorinated pyrimidine derivatives. *Mutat Res*. 1981;88(3):241-54. doi: 10.1016/0165-1218(81)90036-7.
41. Hannan MA, al-Dakan AA, Hussain SS, Amer MH. Mutagenicity of cisplatin and carboplatin used alone and in combination with four other anticancer drugs. *Toxicology*. 1989;55(1-2):183-91. doi: 10.1016/0300-483X(89)90185-6.
42. Colofac MR. Summary of product characteristics... Cited 04.03.2016. WEB: <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/2506>.
43. SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety). Opinion on bismuth citrate, 12 December 2013.
44. Brambilla G, Mattioli F, Martelli A. Genotoxic and carcinogenic effects of gastrointestinal drugs. *Mutagenesis*. 2010;25(4):315-326. doi: 10.1093/mutage/geq02.

45. Karekar V, Joshi S, Shinde SL. Antimutagenic profile of three antioxidants in the Ames assay and the *Drosophila* wing spot test. *Mutat Res.* 2000;468(2):183-94. doi:10.1016/S1383-5718(00)00055-3.
46. Miadoková E, Mravcová M, Vlčková V, et al. Antimutagenic and anticlastogenic potential of α -lipoic acid. *Bio-logia.* 2002;57(3):351-358.
47. Мексидол: инструкция по применению и отзывы. Цитировано 04.03.2016. www.health.mail.ru/drug/mexipridol/.
48. N-Acetyl-L-cysteine for use in foods for particular nutritional uses and in foods for special medical purposes. *EFSA Journal.* 2003;(21):1-8.
49. Laidlaw SA, Dietrich MF, Lamtenzan MP, et al. Antimutagenic effects of taurine in a bacterial assay system. *Cancer Res.* 1989;49(23):6600-6604.
50. NTP report on the toxicology studies of dicyclohexylcarbodiimide. *Natl Toxicol Program Genet Modif Model Rep.* 2007; Sep.(9):1-138.
51. Gorla N, Ovando HG, Larripa I. Chromosomal aberrations in human lymphocytes exposed *in vitro* to enrofloxacin and ciprofloxacin. *Toxicol Lett.* 1999;(104):43-48. doi: 10.1016/S0378-4274(98)00230-6.

LUX-BIOSENSORS: SCREENING BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS FOR GENOTOXICITY

E.V. Igonina, M.V. Marsova, S.K. Abilev

For citation: Ecological genetics. 2016;14(4):52-62

✿ **SUMMARY:** To study the ability of metal salts and pharmacologically active drugs to induce the oxidative stress and SOS response in bacteria, a set of lux-biosensors was used. The sensors were based on three *E. coli* strains carrying recombinant plasmids with lux-operon fused to the promoters of *SoxS* (superoxide dismutase), *KatG* (catalase-peroxidase) and *ColD* (colicin D) genes. The created biosensors were used to analyze the activity of 47 substances, with 16 of them identified to induce SOS-response and 6 — to induce oxidative stress. The results observed were compared to the previously published data on the mutagenic activity of the same 47 substances evaluated using Ames test. The comparison had shown full coincidence for 42 from 47 substances analyzed. We discuss the possibility to use the lux-based biosensors for the screening of the genetic activity of chemical compounds.

✿ **KEYWORDS:** lux-biosensors; oxidative stress; SOS-response; Ames test; genotoxicity; heavy metals; drugs.

✿ Информация об авторах

Елена Викторовна Игонина — канд. биол. наук., научный сотрудник лаб. экологической генетики. Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. E-mail: iev555@ya.ru.

Мария Викторовна Марсова — младший научный сотрудник, лаб. генетики микроорганизмов. Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. E-mail: masha_marsova@mail.ru.

Серикбай Каримович Абилев — д-р биол. наук, зам. директора по научной работе. Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. E-mail: abilev@vigg.ru.

✿ Information about the authors

Elena V. Igonina — Ph.D., research worker, Lab. of ecological genetics. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. E-mail: iev555@ya.ru.

Mariya V. Marsova — junior research worker, Laboratory of Bacterial Genetics. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. E-mail: masha_marsova@mail.ru.

Serikbai K. Abilev — Doctor of Biological Sciences, Professor, Deputy Directors. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. E-mail: abilev@vigg.ru.