ПРИКЛАДНАЯ БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ, 2019, том 55, № 3, с. 237–243

УДК 579.22:57.017.3:577.2.04

ДЕЙСТВИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ МОЛЕКУЛ НА СЕНСОРНЫЕ И РЕПОРТЕРНЫЕ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИЕ ШТАММЫ

© 2019 г. И. Ф. Каримов[1, *], К. С. Кондрашова[1], Н. А. Куликова[1], И. В. Манухов[2]

[1]Оренбургский государственный университет, Оренбург, 460018, Россия

[2]Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, 117545, Россия

*e-mail: ifkarimov@yandex.ru

Поступила в редакцию 16.05.2018 г.
После доработки 14.09.2018 г.
Принята к публикации 18.12.2018 г.

Изучено действие различных типов антиоксидантных молекул на рекомбинантные люминесцирующие бактериальные биосенсоры. Обнаружена способность тиамина активировать промоторы окислительного стресса преимущественно у биосенсоров на основе родительских клеток *Salmonella typhimurium* LT2. Выявлена индукция промоторов *soxS* и *katG*, а также активация системы SOS-ответа использованных биосенсоров в присутствии пиридоксина. Показано, что аскорбиновая кислота обладала выраженными прооксидантными и токсическими свойствами. Другие соединения оказались менее активными и не обеспечивали индукцию антиоксидантных и репарационных систем люминесцирующих биосенсоров на основе родительских клеток *S. typhimurium* LT2 и *Escherichia coli* MG1655.

Ключевые слова: окислительный стресс, антиоксидант, биолюминесценция, *lux*-гены

DOI: 10.1134/S0555109919020089

Эволюция живых систем определила изменение внешней среды путем их прямого действия на окружающие объекты. Одним из важнейших проявлений данного воздействия стало формирование современной атмосферы планеты. При этом образовавшийся кислород как продукт фотосинтеза цианобактерий существенно повлиял на метаболические системы клеток и привел к образованию аэробного дыхания. Как следствие, живые организмы сформировали комплекс систем защиты от побочных метаболитов реакции окисления [1].

В этом аспекте антиоксидантные системы можно разделить на два типа: ферментные комплексы и молекулярные ловушки [2]. Первую группу представляют различные типы супероксиддисмутаз (КФ 1.15.1.11), каталаз (КФ 1.11.1.6) и глутатионпероксидаз (КФ 1.11.1.9), обеспечивающих превращение и разрушение активных форм кислорода (**АФК**) и реактивных форм азота (**РФА**) [3]. Указанные ферменты синтезируются при воздействии свободных радикалов на рецепторные системы окислительного стресса, ключевую роль среди которых у бактерий играют регулоны *soxRS* и *oxyR*, обеспечивающие нейтрализацию супероксид аниона [4] и пероксида водорода [5] соответственно. Вторая группа антиоксидантных систем представлена универсальными соединениями, включающими витамины, каротиноиды, хиноны и флавоноиды, часто применяемые в биомедицинских целях.

Антиоксидантные молекулы снижают уровень окислительного стресса в клетках и тканях, что на модельных системах *in vitro* регистрируется с использованием 2,2-дифенил-1-пикрилгидразина, а в системах *in vivo* - по уровню липопероксидации и активности ферментов [6]. При этом химические индикаторы окисления, несмотря на удобство использования, не позволяют полноценно экстраполировать полученные результаты на живые системы вследствие несоизмеримости строения и организации, а оценка косвенных показателей одной из тканей не является достаточной для понимания механизма действия анализируемых соединений.

В настоящее время появляется все больше данных, свидетельствующих о неоднозначности действия антиоксидантных молекул, которое в некоторых случаях носит противоположный характер. В частности, каротиноиды при высокой концентрации демонстрируют прооксидантные свойства [7], а аскорбиновая кислота в присутствии ионов железа(III) обеспечивает реакцию с тиобарбитуровой кислотой [8]. Наличие токсических эффектов [9] и указанные выше факты требуют более жесткого регулирования использова-

ния витаминов и подобных небелковых соединений в медицине, часто применяемых в качестве сопутствующих терапевтических препаратов [10, 11].

При изучении процессов окисления может оцениваться активность генов окислительного стресса, которую удобно определять с помощью рекомбинантных бактерий. Реализация такого подхода требует введения плазмид, в которых целевые промоторы сшиты с репортерными генами, обеспечивающими синтез фермента, флуоресцирующего белка или люминесцентного комплекса [7, 8]. Было показано, что действие феруловой и ванилиновой кислот на *Escherichia coli* с фьюженом *aaeXAB::luxCDABE* на плазмиде pDMA3 обеспечивает индукцию использованного промотора [12]. Показана возможность изучения активности антиоксидантов с использованием *E. coli* с плазмидой *pKatG::luxCDABE* в присутствии пероксида водорода [13].

Цель работы - изучение действия антиоксидантных молекул на сенсорные и репортерные штаммы, у которых конститутивные промоторы и промоторы окислительного стресса и репарации ДНК вшиты перед генами свечения.

МЕТОДИКА

Бактериальные штаммы. В качестве объектов исследования были использованы рекомбинантные штаммы на основе родительских клеток *S. typhimurium* LT2 и *E. coli* MG1655, трансформированные плазмидами *pSoxS::lux* и *pKatG::lux,* которые характеризуются свечением, индуцируемым в ответ на окислительный стресс, а также плазмидой *pRecA::lux*, позволяющей обнаружить повреждение ДНК. Применялись также штаммы на основе указанных родительских клеток, трансформированные плазмидой *pACXen* с конститутивным типом свечения, которые позволяют оценить токсическое влияние изучаемых факторов (АФК и РФА) по характеру биолюминесценции. Во всех штаммах векторы содержат гены *luxCDABE* природной светящейся бактерии *Photorhadus luminescens*.

Химические вещества. В качестве антиоксидантных молекул были использованы различные препараты, выпускаемые фармацевтической промышленностью, среди них витамины группы В – тиамин (B_1) (“Борисовский завод медицинских препаратов”, Беларусь), пиридоксин (B_6) (“Ереванская химико-фармацевтическая фирма”, Армения), никотиновая кислота (B_3) (“Органика”, Россия) и аскорбиновая кислота (витамин С) (ЗАО “ФП Мелиген”, Россия) а также ампициллин (ОАО “Синтез”, Россия) и коэнзим Q10 (убихинон) (“Полярис”, Россия) и молекулы аутоиндукторы, в частности N-гексаноил-L-гомосерин лактон (**C_6-ГСЛ**) и N-додеканоил-L-гомосерин лактон (**C_{12}-ГСЛ**) (“Sigma-Aldrich”, США).

Биолюминесцентный тест. Используемые штаммы культивировали в течение 1 сут на LB-агаре (по Мюллеру) при 37°С с добавлением селективного фактора для штаммов с плазмидами *pSoxS::lux*, *pKatG::lux*, *pRecA::lux* и *pXen7* – 100 мкг/мл ампициллина и для штаммов с плазмидой *pACXen* – 125 мкг/мл тетрациклина. Далее клетки суспендировали в 0.9%-ном растворе NaCl до оптической плотности при 450 нм 0.5 отн. ед., которую измеряли в пластиковых прозрачных лунках на фотометре StatFax 303+ (“Awareness”, США). Затем добавляли 100 мкл готовой суспензии бактерий *S. typhimurium* LT2 и *E. coli* MG1655, содержащих плазмиды *pSoxS::lux*, *pKatG::lux* и *pRecA::lux*, в 1400 мкл LB-бульона, и инкубировали 90 мин в шейкере StatFax 2200 (“Awareness”, США) при 500 об./мин и 37°С. В случае сенсорных штаммов 500 мкл бактериальной суспензии клеток *S. typhimurium* LT2 *pACXen* и *E. coli* MG1655 *pXen7* вносили в 1000 мкл LB-бульона без дополнительного подращивания.

Для оценки воздействия антиоксидантов анализируемые вещества двукратно разводили в белых непрозрачных лунках планшета, при этом в качестве контрольных проб служили лунки с водой (для детекции фонового свечения бактерий), а также лунки с модельным окислителем для контроля ответной индукции свечения (кроме штаммов с конститутивным типом люминесценции) с использованием для *pSoxS::lux* – паракват (0.01 М), *pKatG::lux* – пероксид водорода (0.04 М), *pRecA::lux* – митомицин С (0.001 М). Во все лунки добавляли по 100 мкл подготовленной суспензии микроорганизмов. Далее планшет помещали в измерительный блок люминометра Infinite 200 (“Tecan”, Австрия) и оценивали люминесценцию в кинетическом режиме в течение 120 мин при 37°С.

Статистика. Эксперименты выполнены не менее чем в трех повторностях. Полученные результаты первично обрабатывали с использованием программного обеспечения планшетного люминометра Magellan (“Tecan”, Австрия), а дальнейшую обработку полученных данных осуществляли с помощью компьютерной программы “Excel 2010” (“Microsoft Inc.”, США).

На основании полученных значений строили графики кинетики изменения свечения штаммов, интенсивность которого измеряли в единицах RLU (*relative luminescent units*). Первичные значения свечения нормализовали по контролю, для чего расчет проводили по формуле:

$$I_{\text{норм}} = \frac{RLU_0^{\text{контроль}} \times RLU_n^{\text{опыт}}}{RLU_n^{\text{контроль}} \times RLU_0^{\text{опыт}}},$$

где RLU_0 и RLU_n – интенсивность люминесценции в начале эксперимента и измеренная (n) в заданное время.

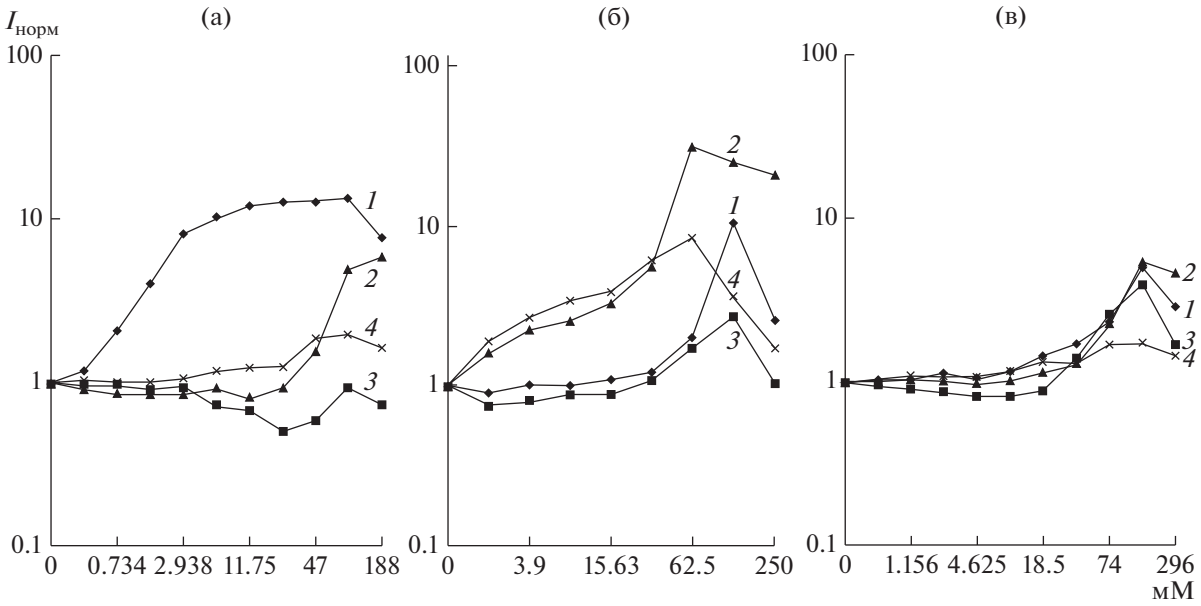

Рис. 1. Зависимость нормализованного индекса свечения ($I_{норм}$) *S. typhimurium* с *pSoxS::lux* (*1*) и *pKatG::lux* (*2*), *E. coli* с *pSoxS::lux* (*3*) и *pKatG::lux* (*4*) от концентрации (мМ) тиамина (а), аскорбиновой кислоты (б) и пиридоксина (в).

Применение биолюминесцентного подхода с использованием штаммов *S. typhimurium* LT2 *pACXen* и *E. coli* MG1655 *pXen7* позволило установить уровень токсичности индукторов окислительного стресса и рассчитать показатели IC_{20} и IC_{50} (такое содержание индуктора, которое вызывало 20 и 50%-ное подавление люминесценции). Для репортерных штаммов оценивали пороговую чувствительность и максимальную амплитуду ответа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе было оценено действие модельного индуктора, в качестве которого был выбран пероксид водорода, на использованные в работе штаммы микроорганизмов. При этом кинетика свечения штаммов *E. coli* MG1655 с плазмидами *pSoxS::lux* и *pKatG::lux* характеризовалась интенсивной индукцией на действующий агент, достигающей максимума на 30 мин. Для аналогичных штаммов на основе родительских клеток *S. typhimurium* LT2 максимум достигался на 60 мин, а для репортерных штаммов с плазмидами *pRecA::lux* - на 120 мин. Промоторы *katG* оказались наиболее чувствительны к данному индуктору, демонстрируя порог восприятия от 1.52×10^{-5} М и максимум свечения при 0.97×10^{-3} М. Окисление регуляторного белка регулона *soxRS* наблюдали при высоких концентрациях (от 6.10×10^{-5} М и выше), однако при превышении 10^{-3} М происходило угнетение свечения, связанное с нарушением жизнедеятельности биосенсора. Об этом свидетельствовала активация генов репарации, при которой максимум свечения плазмиды *pRecA::lux* при критической концентрации пероксида водорода оказался равным 1.50×10^{-2} М. При этом сенсорные штаммы с конститутивным свечением теряли большую часть люминесценции при концентрации модельного индуктора 6.25×10^{-2} М, а при его больших дозах все биосенсоры утрачивали способность к биолюминесценции.

Среди использованных соединений одним из наиболее сильных прооксидантов оказался тиамин, способный с выраженной специфичностью осуществлять активацию генов окислительного стресса у *S. typhimurium* LT2 (рис. 1). При этом для штамма с плазмидой *pSoxS::lux* наблюдалась максимальная индукция при 0.094 М ($I_{max} = 13.1 \pm 1.4$), а для штамма с плазмидой *pKatG::lux* - при 0.188 М ($I_{max} = 5.8 \pm 1.2$), что, вероятно, свидетельствовало о свободнорадикальном механизме данного процесса, а не прямом окислении сенсорных белков (табл. 1). Индукционный ответ от *E. coli* MG1655 с *pSoxS::lux* не был обнаружен, что обусловлено особенностями структуры рецепторных систем [14] и различием спектра восприятия данного штамма [15]. Тем не менее уровень его свечения дозозависимо уменьшался вплоть до 6.2 ± 0.9 тыс. RLU по сравнению с 12.5 ± 1.3 тыс. RLU в контрольной пробе ($p < 0.001$), отражая степень нарушения клеточного метаболизма. Биосенсор *E. coli* MG1655 с *pKatG::lux* в ответ на воздействие тиамина не проявлял достоверного увеличения свечения, а индукция люминесценции штаммов с плазмидами *pRecA::lux* при действии витамина B_1 не претерпевала значительных

Таблица 1. Максимальный уровень индукции свечения *lux*-биосенсоров на основе *S. typhimurium* LT2 (1) и *E. coli* K12 MG1655 (2) при концентрации индуктора (дана в скобках)

Использованные вещества	Генетические конструкции:					
	pSoxS::lux		*pKatG::lux*		*pRecA::lux*	
	1	2	1	2	1	2
Тиамин	13.1 ± 1.4 (0.094 M)	–	5.8 ± 1.2 (0.188 M)	–	–	–
Пиридоксин	5.2 ± 0.6 (0.148 M)	4.1 ± 0.5 (0.148 M)	6.3 ± 0.5 (0.148 M)	2.2 ± 0.4 (0.148 M)	2.2 ± 0.5 (0.5 M)	
Никотиновая кислота	–	–	2.0 ± 0.2 (0.081 M)	–	–	–
Аскорбиновая кислота	10.3 ± 1.1 (0.125 M)	2.7 ± 0.8 (0.125 M)	23.8 ± 2.3 (0.0625 M)	8.4 ± 0.7 (0.0625 M)	2.7 ± 0.2 (0.0625 M)	2.4 ± 0.5 (0.0625 M)
Коэнзим Q10	2.2 ± 0.2 (0.25 M)	–	–	–	–	–
N-додеканоил-ГСЛ	–	–	–	–	–	–
N-гексаноил-ГСЛ	–	–	–	–	–	–
Ампициллин	–	–	–	–	–	–

изменений ($p > 0.05$), что свидетельствовало об отсутствии генотоксического эффекта. При этом также не было зарегистрировано тушение свечения сенсорных штаммов, отражающее наличие токсического влияния аналита, а максимальное подавление люминесценции не превышало 20% от значений контрольной пробы.

Действие пиридоксина характеризовалось более широким спектром активации генов окислительного стресса, но меньшими величинами индукции люминесценции. Диапазон активно действующих концентраций лежал в пределах от 0.074 до 0.296 M, а наиболее выраженная реакция была зарегистрирована для штаммов *S. typhimurium* LT2 и *E. coli* MG1655 с плазмидой *pSoxS::lux*, уровень индукции свечения которых составил 5.2 ± 0.6 и 4.1 ± 0.5 ед. при 0.148 M, и при дальнейшем увеличении концентрации происходило снижение отклика биосенсоров. Штаммы с плазмидами *pKatG::lux* при указанных выше концентрациях пиридоксина также ответили ростом свечения, однако их значения существенно различались. Так, для *S. typhimurium* LT2 данный показатель составил 6.3 ± 0.5 ед., тогда как для *E. coli* MG1655 только 2.2 ± 0.4. Общую закономерность наблюдали для порога чувствительности штаммов с плазмидами *pKatG::lux*, который оказался в два раза более низким по сравнению с биосенсорами, несущими плазмиду *pSoxS::lux*. Пиридоксин проявил также генотоксические свойства, которые регистрировались по увеличению свечения штаммов с плазмидами *pRecA::lux* при концентрации 0.148 M и выше для обоих типов родительских клеток. При этом тушение свечения сенсорных штаммов было незначительным, что свидетельствовало о невысокой токсичности данного антиоксиданта, и возможности клетки позволяли компенсировать его негативное воздействие. В свою очередь, витамин B_6 образовывал стабильный кислородный метаболит, способный воздействовать на широкую группу регуляторных систем клетки, проявляя более высокую специфичность по отношению к биосенсорам на основе *S. typhimurium* LT2.

Никотиновая кислота оказалась одним из наименее активных соединений, в ответ на которое большинство использованных люминесцирующих репортерных и сенсорных биосенсоров не проявляли чувствительность. Исключение составил штамм *S. typhimurium* LT2 с *pKatG::lux*, индукция свечения которого достигала 2.0 ± 0.2 единиц при ее концентрации 0.081 M. Меньшие концентрации индуктора не оказывали достоверного эффекта на кинетику люминесценции этого штамма. Присутствие никотиновой кислоты в максимальной концентрации обеспечивало рост свечения штаммов *S. typhimurium* LT2 с *pACXen* и *E. coli* MG1655 с *pXen7* на 65.1 ± 1.9 и 16.9 ± 2.8% соответственно.

Аскорбиновая кислота в этом биотесте продемонстрировала выраженные прооксидантые и токсические свойства, обусловленные, в первую очередь, использованием более высоких концентраций по сравнению с другими соединениями. Так, ответ репортерных штаммов с плазмидой *pSoxS::lux* характеризовался индукцией свечения только при содержании обоих штаммов 0.125 M, но для *E. coli* MG1655 индекс индукции составил только 2.7 ± 0.8 ед., а для *S. typhimurium* LT2 – 10.3 ± 1.1 ед., а при их содержании 0.25 M оказался равным 2.6 ± 0.8 ед. Дальнейшее

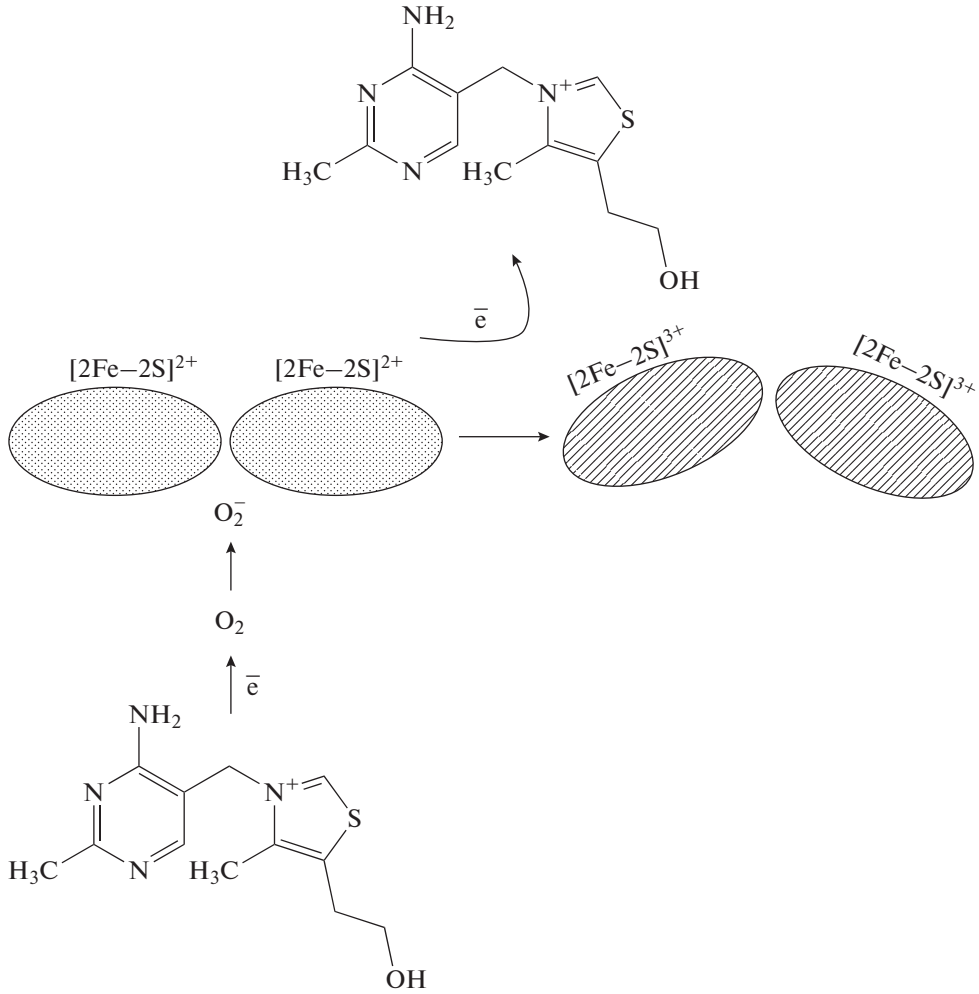

Рис. 2. Предполагаемый прямой и опосредованный через АФК механизм прооксидного действия тиамина на сенсорные белки с железо-серными кластерами.

увеличение концентрации этого индуктора вызывало угнетение свечения бактерий. Наиболее сильный ответ был зарегистрирован при действии аскорбиновой кислоты на штамм *S. typhimurium* LT2 с *pKatG::lux*, для которого максимальное свечение при 0.0625 М составило 87000 RLU против 36000 RLU в контрольной пробе. Индекс индукции в данном случае составил 23.8 ± 2.3 ед., а рост концентрации вещества давал близкие по величине показатели свечения, сменяющиеся на более низкие при 0.5 М и выше. Для данного штамма пороговая чувствительность составила 0.004 М, при которой *I* равнялась 2.3 ± 0.4 ед. Второй штамм *E. coli* MG1655 с аналогичной генетической конструкцией *pKatG::lux* продемонстрировал максимальный ответ на ту же концентрацию, что и штамм *S. typhimurium* LT2 с *pKatG::lux*, однако значения индекса индукции составили только 8.4 ± 0.7 ед. При этом эффект “плато” не сохранялся при дальнейшем росте содержания аскорбиновой кислоты, а происходило понижение интенсивности ответа вплоть до полного тушения при 0.5 М. Однако порог чувствительности данного штамма оказался ниже и позволял детектировать 0.002 М с уровнем свечения 148000 против 79000 RLU в контрольной пробе. Штаммы *S. typhimurium* LT2 и *E. coli* MG1655 с плазмидами *pRecA::lux* в ответ на 0.0625 М аскорбиновой кислоты ответили индукцией свечения до 2.7 ± 0.2 и 2.4 ± 0.5 единиц соответственно. При этом первый биосенсор при повышении концентрации индуктора до 0.25 М реагировал более интенсивным свечением (до 3.5 ед.), тогда как дальнейшее увеличение содержания действующего агента его тушило. Только при действии аскорбиновой кислоты на оба сенсорных штамма удалось зарегистрировать показатель IC_{50}, равный 0.185 и 0.105 М для *S. typhimurium* LT2 с *pACXen* и *E. coli* MG1655 с *pXen7* соответственно. При этом 0.0625 М аскорбиновой кислоты ингибировал свечение биосенсора *S. typhimurium* LT2 с *pACXen* на 60 и *E. coli* MG1655 с *pXen7* на 30 мин, а 0.125 М этого соединения сокращало время на-

ступления тушения в два раза (до 30 и 15 мин соответственно). Дальнейшее увеличение концентрации аскорбиновой кислоты вызывало острый токсический эффект, заключающийся в подавлении свечения с первых секунд контакта.

Остальные изученные соединения оказались малоактивными и не оказывали выраженного влияния на экспрессию рассматриваемых бактериальных промоторов. В частности, коэнзим Q10 не обеспечивал рост свечения репортерных штаммов, однако для всех использованных бактериальных культур наблюдалось снижение свечения в присутствии данного соединения. Ампициллин незначительно влиял на все штаммы, за исключением *S. typhimurium* LT2 с *pACXen*, не имеющего в составе плазмиды генов резистентности к этому антибиотику, что приводило к развитию бактерицидного эффекта от 10 мМ. Производные гомосерин лактона с различной длиной ацильного заместителя проявляли неодинаковое действие. Так, N-додеканоил-L-гомосерин лактон в большей степени подавлял биолюминесценцию штамма *E. coli* MG1655 с *pSoxS::lux* вплоть до 44 ± 1%, тогда как для других штаммов остаточный уровень свечения не опускался ниже 70% от контроля. С другой стороны, N-гексаноил-L-гомосерин лактон оказался гораздо более активным в качестве регулятора люциферазной активности, при этом изменения активности промоторов стресса не было обнаружено. При его действии на штаммы *S. typhimurium* LT2 с *pACXen* и *E. coli* MG1655 с *pXen7* было зарегистрировано дозозависимое снижение свечения с показателями IC_{50}, равными 1.8×10^{-5} и 1.6×10^{-5} М, которое могло быть обусловлено активацией белка SdiA или действием на *lux*-бокс.

Для многих витаминов постулируются антиоксидантные свойства, оцениваемые по липидному окислению, механизм которого заключается в переносе протонов водорода с пиримидинового или тиазолового кольца [16]. Подобные наблюдения отмечаются как при проведении экспериментов с живыми объектами [17, 18], так и при оценке стабильности пищевых продуктов [19, 20]. Однако было обнаружено, что витамины, в частности тиамин, рибофлавин, никотиновая и фоливая кислоты, способны развивать прооксидантный эффект [21]. Установлено также, что тиамин, пиридоксин и карнитин способны индуцировать окислительный стресс при микросомальной липидной пероксидации в присутствии перхлората железа [22].

Полученные в данной работе результаты показали, что некоторые антиоксидантые молекулы способны активировать промоторы окислительного стресса и репарации бактерий, в частности, у рекомбинантных люминесцирующих биосенсоров на основе *S. typhimurium* LT2 и *E. coli* MG1655. Изучение механизма их действия (рис. 2) на сенсорные белки окислительного стресса позволило предположить природу подобного явления, которое потенциально обеспечивалось их прямым взаимодействием или индукцией через свободные радикалы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-44-560554).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Connie C.W., Anke S., Markus L., Steven F.P., John N.M.* // Compr. Physiol. 2013. V. 3. № 2. P. 849–915.
2. *Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O.* // World Allergy Organ J. 2012. V. 5. № 1. P. 9–19.
3. *Anu R., Amit K., Vivek S., Brijesh Y., Ruchi T., Sandip C., Kuldeep D.* // Res. Int. 2014. V. 2014. Article ID 761264. 19 p.
4. *Antonino B., Joseph S.* // Microb. Cell Fact. 2013. V. 12. № 23. P. 1–9.
5. *Qing W., Phu Nguyen Le M., Andreas D., Falk H., Warunya P., Ameer E., Sebastian S., Stéphane P., Daniel C., Daniel H., Susanne H., Pierre C.* // Nucleic Acids Res. 2012. V. 40. № 10. P. 4320–4333.
6. *Alam N., Bristi N.J., Rafiquzzaman M.* // Saudi. Pharm. J. 2013. V. 21. № 2. P. 143–152.
7. *Young A.J., Lowe G.M.* // Arch. Biochem. Biophys. 2001. V. 385. № 1. P. 20–27.
8. *Riabchenko N.I., Riabchenko V.I., Ivannik B.P., Dzikovskaia L.A., Sin'kova R.V., Grosheva I.P., Degtiareva E.S., Ivanova T.I.* // Radiats Biol. Radioecol. 2010. V. 50. № 2. P. 86–94.
9. *Meyers D.G., Maloley P.A., Weeks D.* // Arch. Intern. Med. 1996. V. 156. № 9. P. 25–35.
10. *Agarwal A., Sekhon L.H.* // Indian J Urol. 2011. V. 27. № 1. P. 74–85.
11. *Lipinski B.* // Oxid. Med. Cell Longev. 2011. V. 2011. Article ID 809696. 9 p.
12. *Monnappa K., Lee S., Mitchell R.J.* // Bioresource Technol. 2013. V. 127. P. 429–434.
13. *Bartolome A., Macalino B., Pastoral I.L., Sevilla F.* // Gen. Engin. Probes Biomed App. 2006. V. 6098. P. 21–26.
14. *Pomposiello P.J., Demple B.* // J. Bacteriol. 2000. V. 182. № 1. P. 23–29.
15. *Каримова Д.Н., Манухов И.В., Гнучих Е.Ю., Каримов И.Ф., Дерябин Д.Г.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2016. Т. 52. № 3. С. 287–295.
16. *Lukienko P.I., Mel'nichenko N.G., Zverinskii I.V., Zabrodskaya S.V.* // Bull. Exp. Biol. Med. 2000. V. 130. № 9. P. 874–876.
17. *Li X.Y., Huang H.H., Hu K., Liu Y., Jiang W.D., Jiang J., Li S.H., Feng L., Zhou X.Q.* // Fish Physiol. Biochem. 2014. V. 40. № 3. P. 673–687.
18. *Sharma A., Bist R., Bubber P.* // J. Physiol. Biochem. 2013. V. 69. № 3. P. 539–546.
19. *Szymandera-Buszka K., Hęś M., Waszkowiak K., Jędrusek-Golińska A.* // Acta Sci. Pol. Technol. Aliment. 2014. V. 13. № 4. P. 393–401.
20. *Mirshekar R., Dastar B., Shabanpour B.* // Pak. J. Biol. Sci. 2009. V. 12. № 15. P. 1069–1074.
21. *Higashi-Okai K., Nagino H., Yamada K., Okai Y.* // J. Univer. Occup. Environ. Health. 2006. V. 28. № 4. P. 359–368.
22. *Hu M.L., Chen Y.K., Lin Y.F.* // Chem. Biol. Interact. 1995. V. 97. № 1. P. 63–73.

Action of Antioxidant Molecules on Sensory and Reporter Luminescent Strains

I. F. Karimov[a, *], K. S. Kondrashova[a], N. A. Kulikova[a], and I. V. Manukhov[b]

[a] *Orenburg State University, Orenburg, 460018 Russia*

[b] *State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, Moscow, 117545 Russia*

**e-mail: ifkarimov@yandex.ru*

Received May 16, 2018; revised September 14, 2018; accepted December 18, 2018

The effect of various types of antioxidant molecules on luminescent bacterial biosensors has been studied. The ability of thiamine to activate oxidative stress promoters has been found to be an advantage in biosensors based on parental cells of *Salmonella typhimurium* LT2. The induction of *soxS* and *katG* promoters was revealed, as well as the activation of the SOS response system of the biosensors used in the presence of pyridoxine. Ascorbic acid showed pronounced prooxidant and toxic properties. Other compounds were less active and did not provide the induction of antioxidant and repair systems of luminescent biosensors based on the parent cells *Salmonella typhimurium* LT2 and *Escherichia coli* MG1655.

Keywords: oxidative stress, antioxidant, bioluminescence, *lux*-gene