

ВЛИЯНИЕ ОКСИДА ДЕЙТЕРИЯ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ *recA* И *colD*, ИНДУЦИРОВАННУЮ В КЛЕТКАХ *Esherichia coli* В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ

© 2022 г. С. К. Абилов^{1,2,*}, С. В. Смирнова¹, Т. Н. Шапиро¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*E-mail: abilev@vigg.ru

Поступила в редакцию 06.12.2021 г.

После доработки 13.03.2022 г.

Принята к публикации 27.04.2022 г.

Впервые показано, что дейтерирование бактерий *Esherichia coli* оксидом дейтерия (D_2O) в концентрациях от 5 до 10% в среде приводит к усилению SOS-ответа у биосенсоров *E. coli* MG1655 (pColD::lux) и *E. coli* MG1655 (pRecA::lux), индуцированного УФ в дозе 12 Дж/м². Используемые в работе биосенсоры содержат гибридные плазмиды, несущие *luxCDABE* оперон фотобактерии *Photothabdus luminescens*, поставленный под контроль промоторов генов *cda* (*colD*) и *recA*. Индукция генотоксичными факторами у биосенсоров указывает на активацию экспрессии соответствующих генов SOS-системы *E. coli*. Одновременное изучение интенсивности люминесценции и выживаемости бактерий биосенсора *E. coli* MG1655 (pCol-lux) показало, что УФ-облучение в дозе 12 Дж/м² усиливает интенсивность люминесценции с 2111.1 в среде без D_2O до 5030.3 усл. ед. на 10⁷ жизнеспособных клеток в среде с D_2O . Интенсивность люминесценции биосенсора была в 2.5 раза выше в среде с дейтерием, чем без него.

Ключевые слова: биосенсоры, *Esherichia coli*, оксид дейтерия, УФ-облучение, SOS-ответ, люминесценция

DOI: 10.31857/S0869803122040038

Дейтерий (D), тяжелый изотоп водорода – против (H), был открыт в 1932 г. [1]. Наиболее распространенным его соединением является оксид дейтерия (D_2O), который в 1933 г. был получен в концентрированном виде и получил название “тяжелая вода”.

Изучение влияния D_2O на самые разные живые организмы началось сразу после получения этого соединения в 1933 г. в значительных количествах. Исследования, проведенные с 30-х по 50-е годы XX века, показали, что D_2O в больших концентрациях замедляет у живых организмов метаболизм и скорости ферментативных реакций, влияет на синтез белков и нуклеиновых кислот, подавляет митоз, нарушает процесс клеточного деления, что приводит к морфологическим изменениям [2–4].

Несмотря на многочисленные работы по изучению токсического действия D_2O на уровне целого организма и влияния его на физиологические и биохимические процессы в клетке, исследова-

ния его влияния на генетические процессы немногочисленны. Ранее было показано, что предварительное дейтерирование лейкемических клеток мыши линии L5178Y в течение 3 ч в среде с содержанием 45% D_2O усиливает мутагенное действие γ - и β -излучений мощностью доз от 0.025 до 0.4 Гр/ч (при обработке клеток тритиевой водой), регистрируемое по индукции мутаций устойчивости к 6-тиогуанину [5]. Нами впервые было показано, что предварительное культивирование клеток *E. coli* в среде с концентрацией D_2O не более 10% усиливает SOS-ответ, индуцированный 4-нитрохинолин-1-оксидом, N-нитрозо-N-метилмочевинной (НММ) и митомицином С [6], а также экспрессию гена *alkA*, индуцированную алкилирующими соединениями метилметансульфонатом и N-нитрозо-N-метилмочевинной [7]. В экспериментах с пероксидом водорода D_2O снижал уровень экспрессии гена каталазы, но усиливал экспрессию гена *recA* [8]. Это является свидетельством того, что в случае индукции генотоксичными агентами повреждений ДНК, дейтерирование

усиливает экспрессию генов, относящихся к системам SOS-репарации ДНК и адаптивного ответа.

Целью настоящей работы является изучение влияния D_2O на экспрессию бактериальных генов *recA* и *colD*, индуцированную УФ-облучением с помощью биосенсоров *E. coli*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Бактериальные культуры. В работе использованы два lux-биосенсора: *E. coli* MG1655 (pColD::lux) и *E. coli* MG1655 (pRecA::lux) (далее обозначены как pColD-lux и pRecA-lux соответственно), которые содержат гибридные плазмиды, несущие *luxCDABE* оперон фотобактерии *Photobacterium luminescens*, поставленный под контроль промоторов генов *cda* (*colD*) и *recA*. Биoluminesценция данных штаммов используется в качестве репортерной функции, ее индукция генотоксичными факторами у pColD-lux и pRecA-lux указывает на активацию экспрессии соответствующих генов SOS-системы *E. coli*. В данной работе использовали УФ-свет длиной волны 254 нм.

Определение эффективных доз УФ-облучения. Для проведения экспериментов использовали метод, описанный в работе, для снижения экранного действия питательной среды LB при облучении бактерии УФ-светом [9]. Культуры биосенсоров, выращенные до ранней логарифмической фазы, центрифугировали (при 10000 g) для осаждения бактерий, осадок ресуспендировали в равном объеме натрий-фосфатного буфера (PBS). Аликвоты суспензии (по 160 мкл) наносили в лунки стерильного планшета и подвергали УФ-облучению в диапазоне доз 12–60 Дж/м² с интервалом 12 Дж/м², контролем служила необлученная культура. После облучения в каждую лунку добавляли 40 мкл бульона LB и инкубировали 90 мин при 37°C. Затем проводили измерение люминесценции на микропланшетном ридере StatFax 4400, Awareness Technology Inc (США).

Для облучения использовали ртутную лампу низкого давления OSRAM Germicidal PURITEC HNS G5 8W, Osram (Италия), как источник УФС с $\lambda \geq 254$ нм. Дозу облучения контролировали трехканальным УФ-радиометром ТКА-ПКМ (12), Научно-техническое предприятие “ТКА” (Россия).

Определение влияния D_2O на SOS-ответ биосенсоров, индуцированный УФ-облучением. Использовали бактериальные культуры, выращенные до ранней логарифмической фазы, как описывали выше. После осаждения клеточный осадок ресуспендировали в PBS с содержанием D_2O 5; 7,5; 9 и 10%; полученную суспензию наносили в лунки планшета и воздействовали УФ-светом в дозе 12 Дж/м². Объем в лунках довели до 200 мкл

бульоном LB, и инкубировали планшеты в течение 90 мин при 37°C. По истечении времени инкубации измеряли интенсивность люминесценции, выраженную в относительных единицах светового потока (relative light units – RLU).

Определение выживаемости бактерий *E. coli*. Для определения влияния исследуемых факторов на выживаемость бактерий ночную культуру биосенсора pColD-lux разбавляли в свежей жидкой среде LB, доводя содержание бактерий до концентрации 10^7 кл/мл. Затем инкубировали при 37°C в течение 120 мин с аэрацией до ранней экспоненциальной фазы и использовали для экспериментов с УФ-облучением, как указано выше. После проведения эксперимента и считывания интенсивности люминесценции биосенсора с каждой лунки планшета отбирали по 100 мкл суспензии и пошагово разбавляли в физиологическом растворе до 10^{-5} и высевали по 100 мкл из разных разведений на чашки Петри с твердой питательной средой LB. После 20 ч инкубации при 37°C подсчитывали число выросших колоний на чашках и пересчитывали на число колониеобразующих единиц (КОЕ).

Статистическая обработка. Полученные в ходе опытов данные были подвергнуты статистической обработке с вычислением среднего значения показателя и его ошибки. Значимость различий средних значений вычисляли с помощью *t*-критерия Стьюдента. Для вывода о статистической значимости различий полученных данных считали достаточной вероятность ошибки $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты изучения люминесценции биосенсоров pColD-lux и pRecA-lux, полученные в трех независимых экспериментах в восьми повторностях в каждом, приведены на рис. 1.

Наиболее интенсивную люминесценцию биосенсоров наблюдали при облучении УФ-светом в дозе 12 Дж/м². Более высокие дозы УФ были менее эффективны в индукции люминесценции, что возможно при гибели бактерий или при повреждении высокими дозами УФ белков, обеспечивающих люминесценцию. Надо отметить, что люминесценция биосенсора pColD-lux зависела от дозы УФ-облучения и снижалась от 25 770 до 14 189 усл. ед. ($p = 5.0 \times 10^{-4}$) при дозах УФ-облучения от 12 до 60 Дж/м² (рис. 1, а). В случае биосенсора pRec-lux люминесценция была равна 107 170 и 82 145 усл. ед. ($p = 2.0 \times 10^{-2}$) при дозах облучения 12 и 60 Дж/м² соответственно. При облучении промежуточными дозами УФ наблюдалась нелинейная зависимость свечения биосенсора pRec-lux (рис. 1, б).

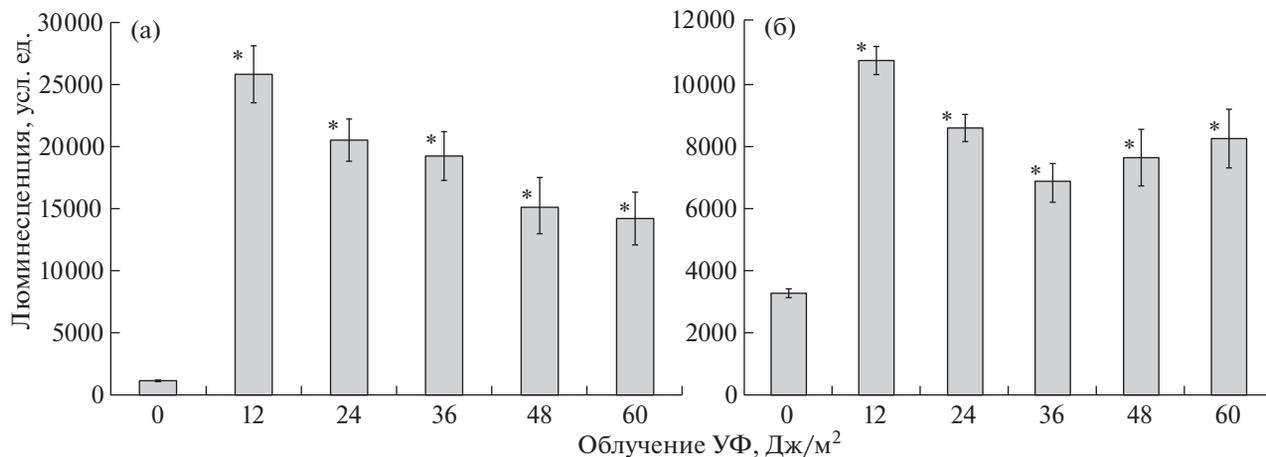


Рис. 1. Люминесценция биосенсоров pColD-lux (а) и pRec-lux (б) при воздействии УФ-светом в дозах от 0 до 60 Дж/м². *Статистически значимые различия между необлученными и облученными образцами ($p < 0.05$).

Fig. 1. Luminescence of the biosensors pColD-lux (a) and pRec-lux (b) irradiated with UV light at doses from 0 to 60 J/m². *Statistically significant differences between non-irradiated and irradiated samples ($p < 0.05$).

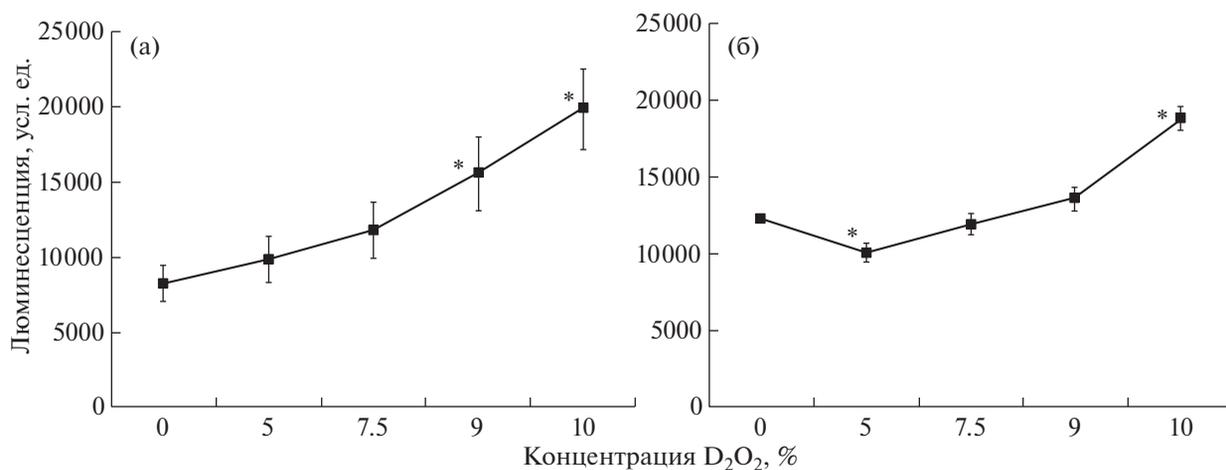


Рис. 2. Люминесценция биосенсоров pColD-lux (а) и pRec-lux (б), при воздействии УФ-светом в дозе 12 Дж/м² и инкубированных в течение 90 мин в питательной среде, содержащей от 0 до 10% D₂O. *Статистически значимые различия между облученными образцами без и с D₂O ($p < 0.05$).

Fig. 2. Luminescence of the biosensors pColD-lux (a) and pRec-lux (b) irradiated with UV light at a dose of 12 J/m² and incubated for 90 min in a culture medium containing from 0 to 10% D₂O. *Statistically significant differences between irradiated samples without and with D₂O ($p < 0.05$).

Для изучения влияния D₂O на индукцию SOS-ответа у *E. coli* в ответ на воздействие УФ-света (254 нм) суспензию бактерий биосенсоров в PBS с содержанием D₂O 5; 7.5; 9 и 10% облучали УФ в дозе 12 Дж/м². Затем суспензию облученных бактерий обогащали питательной средой LB и инкубировали в течение 90 мин при 37°C. В каче-

стве контроля служила культура в PBS без D₂O. По завершении времени инкубации для оценки уровня экспрессии SOS-генов измеряли интенсивность люминесценции биосенсоров. Полученные результаты представлены на рис. 2.

Наблюдалось зависимое от концентрации D₂O повышение люминесценции биосенсора pColD-

Таблица 1. Показатели люминесценции и выживаемости бактерий биосенсора pColD-lux при воздействии УФ-светом в дозе 12 Дж/м² и инкубированного в течение 90 мин в питательной среде без и с D₂O в концентрации 10%

Table 1. Indicators of luminescence and survival of bacteria from the pColD-lux biosensor irradiated with UV light at a dose of 12 J/m² and incubated for 90 min in a culture medium without and with D₂O at a concentration of 10%

Показатели	Без D ₂ O		+D ₂ O 10%	
	Без УФ	УФ	Без УФ	УФ
Люминесценция, отн. ед.	1685.4 ± 76.7**	39 854.5 ± 3798.9	1 485.4 ± 29.0	47 819.0 ± 4615.6
КОЕ, 10 ⁷	60.6 ± 6.7	20.3 ± 2.3	42.5 ± 1.5	11.9* ± 1.7
Выживаемость, %	100.0	33.4	70.1	19.6
Люминесценция на 10 ⁷ КОЕ, отн. ед.	30.2 ± 3.7	2111.1 ± 268.6	35.2 ± 1.1	5030.3* ± 1 230.0

*Статистически значимые различия между облученными образцами без и с D₂O ($p < 0.05$).

**Стандартная ошибка среднего.

lux (рис. 2, а). Максимальный уровень свечения составил 19 826 усл. ед. при содержании 10% D₂O в среде культивирования, изменение было значимым относительно величины люминесценции 8168 усл. ед. облученного контроля с отсутствием дейтерия ($p = 2.3 \times 10^{-4}$).

Индукцированный УФ-облучением ответ биосенсора pResA-lux демонстрировал нелинейную зависимость от концентрации оксида дейтерия (рис. 2, б). Люминесценция клеток биосенсора снижалась до 100 758 усл. ед. при наличии 5% D₂O в среде относительно облученных контрольных образцов без дейтерия со значением люминесценции 122 174 усл. ед. ($p = 2.8 \times 10^{-2}$). При более высоких концентрациях D₂O в среде наблюдали повышение интенсивности свечения. Так, в среде с 10% D₂O интенсивность люминесценции составила 188 052 усл. ед., что в 1.5 раза больше, чем при УФ-облучении в среде без D₂O ($p = 1.6 \times 10^{-7}$).

Была проведена серия экспериментов по определению влияния УФ-облучения и D₂O на жизнеспособность бактерий биосенсора pColD-lux. Для этого после считывания интенсивности люминесценции с каждой лунки планшета отбирали по 100 мкл суспензии и пошагово разбавляли в физиологическом растворе до 10⁻⁵ и высевали по 100 мкл из разных разбавлений на чашки Петри с твердой питательной средой LB. После 20 ч инкубации при 37°C подсчитывали число выросших колоний

на чашках и пересчитывали на число колониеобразующих единиц (КОЕ). Полученные результаты приведены в табл. 1. В контрольном варианте эксперимента (без D₂O) УФ снижал выживаемость бактерий с 60.6×10^7 до 20.3×10^7 КОЕ ($p = 5.6 \times 10^{-5}$). Уменьшение числа КОЕ при наличии 10% D₂O в среде с 60.6×10^7 до 42.5×10^7 КОЕ не было значимым ($p = 1.6 \times 10^{-1}$). Сочетание облучения и дейтерирования снижало выживаемость бактерий еще больше – с 60.6×10^7 в контроле до 11.9×10^7 КОЕ ($p = 1.2 \times 10^{-2}$).

В табл. 1 также приведены результаты пересчета показателей интенсивности люминесценции биосенсора pCol-lux на показатели выживаемости бактерий, т.е. на 10⁷ КОЕ. Из представленных данных следует, что облучение биосенсора УФ в дозе 12 Дж/м² приводит к усилению интенсивности люминесценции биосенсора с 2111.1 в среде без D₂O до 5030.3 отн. ед. на 10⁷ КОЕ в среде с D₂O. Интенсивность люминесценции биосенсора была в 2.5 раза выше в среде с дейтерием, чем без него.

ОБСУЖДЕНИЕ

В отличие от ионизирующего излучения, фотоны УФ-света обладают малой энергией (3–5 эВ), которая недостаточна для ионизации молекул в клетке. Поэтому биологическое действие УФ-лу-

чей обусловлено в основном процессами возбуждения биологически важных молекул в клетке.

В основе генотоксического действия УФ-лучей лежит способность ДНК интенсивно поглощать жесткий ультрафиолет с длиной волны ≈ 254 нм. Наиболее интенсивно УФ поглощают пиримидиновые основания, что приводит к образованию димеров тимин–тимин и тимин–цитозин. Наряду с димерами под влиянием УФ-облучения в структуре ДНК возникают и другие фотопродукты: 6,4-фотопродукт, фотогидраты пиримидинов, тиминовые гликоли, сшивки ДНК–белок [10].

С изучением механизма действия УФ-облучения на микроорганизмы связано открытие в 60-х годах XX века эксцизионной и пострепликативной репарации повреждений ДНК. Дальнейшие исследования механизмов восстановления ДНК-повреждений, вызванных УФ-светом, внесли существенный вклад в понимание природы мутагенеза [10].

У бактерий *E. coli* SOS-ответ представляет собой скоординированную индукцию около 40 генов, активирующихся в ответ на повреждение ДНК, а также на остановку репликации различными химическими и физическими агентами, такими как УФ-излучение, перекись водорода, митомицин, блеомицин и др. [11]. Остановка синтеза ДНК является причиной образования однонитевых разрывов ДНК (ssDNA) и, соответственно, активации SOS-регулона в клетках *E. coli*. В самом начале SOS-ответа активируется белок RecA, для активации которого необходимы одноцепочечная ДНК и АТФ. SOS-ответ запускается очень быстро, спустя всего несколько минут после активации RecA. Под действием RecA происходит расщепление белка LexA, который является репрессором генов SOS-регулона и кодируется геном *lexA*. Молекулярные механизмы индукции SOS-ответа в клетках *E. coli* детально исследованы и обобщены в обзорах [11–14]. Экспрессия генов SOS-регулона происходит поочередно. Сначала экспрессируются гены эксцизионной репарации нуклеотидов, далее начинается экспрессия генов *recA* и *recN*, продукты которых участвуют в рекомбинационной репарации. Если после индукции первых SOS-генов в ДНК все еще остаются повреждения, начинается экспрессия генов *umuD* и *umuC*, кодирующих ДНК-полимеразу V (мутасому), и генов, кодирующих колицины, индукция которых ведет к лизису клетки. Гены колицинов активируются при наличии не удаленных на ранних этапах репарации повреждений ДНК, к которым относятся объемные аддукты, тиминовые димеры и межнитевые сшивки, приводящие к остановке репликации ДНК. Это происходит, по оценочным данным, примерно через 40 мин после индукции первых SOS-генов [15].

Таким образом, использованные нами биосенсоры pRecA-lux и pColD-lux основаны на применении генетической конструкции с промоторами генов *recA* и *colD* начального и терминального этапов SOS-ответа бактерий *E. coli*. В наших экспериментах присутствие дейтерия в среде усиливало транскрипцию с промоторов указанных генов, индуцированную УФ-светом.

Ранее усиливающее действие дейтерия на SOS-ответ бактерий *E. coli* на ДНК-повреждающее действие химических генотоксикантов, как 4-нитрохинолин-1-оксидом, N-нитрозо-N-метилмочевина и митомицин С, мы объясняли возможной повышенной прочностью связи генотоксикант – ДНК в дейтерированных участках взаимодействующих молекул и, соответственно, сдвигу баланса между скоростью накопления повреждений и скоростью восстановления исходной структуры ДНК ферментами репарационной системы [6]. Однако в случае с УФ мы имеем дело с участками ДНК, содержащими преимущественно димеры тимин–тимин или тимин–цитозин, которые приводят к остановке синтеза ДНК, образованию однонитевых разрывов, что и запускает индукцию SOS-ответа в клетках *E. coli*. В отличие от УФ химические генотоксиканты напрямую взаимодействуют с ДНК. Например, 4-нитрохинолин-1-оксидом образует аддукт с ДНК, N-нитрозо-N-метилмочевина алкилирует и митомицин С вызывает сшивки ДНК–ДНК и ДНК–белок. Несмотря на разнообразие механизмов взаимодействия с ДНК, генотоксиканты, в конечном итоге, вызывают остановку синтеза ДНК, образование однонитевых разрывов и, как следствие, индукцию SOS-ответа. В этой связи можно предполагать, что дейтерирование снижает активность ферментов репарации, что может привести к снижению скорости репарации участков ДНК с димерами и сдвигу баланса между скоростью накопления повреждений и скоростью восстановления исходной структуры ДНК. В результате такого сдвига происходит накопление повреждений в структуре ДНК и в ответ на это повышается экспрессия генов SOS-ответа в клетке, обеспечивающая восстановление поврежденных участков ДНК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, с использованием биосенсоров на основе *Escherichia coli* показано, что оксид дейтерия (D₂O) усиливает SOS-ответ бактерий, индуцированный УФ-облучением. Использованные биосенсоры содержат гибридные плазмиды с lux-опероном, поставленным под контроль промоторов генов *recA* и *colD*, что позволяет судить о SOS-ответе бактерий по изменению интенсивности их люминесценции. D₂O при сочетанном

воздействии с УФ-облучением значимо снижал выживаемость бактерий. Пересчет показателей интенсивности люминесценции на 10^7 жизнеспособных клеток показал, что облучение биосенсора pColD-lux УФ-светом в дозе 12 Дж/м² усиливает интенсивность люминесценции бактерий в среде с дейтерием в 2.5 раза относительно показателя люминесценции клеток в среде с отсутствием дейтерия.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 19-04-00200/21).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Urey H.C., Brickwedde F.G., Murphy G.M. A hydrogen isotope of mass 2 // *Phys. Rev.* 1932. V. 39. № 1. P. 164–165.
<https://doi.org/10.1103/PhysRev.39.164>
2. Katz J.J., Crespi H.L., Hasterlik R.J. et al. Some observations on biological effects of deuterium, with special reference to effects on neoplastic processes // *J. Natl. Cancer Inst.* 1957. V. 18. № 5. P. 641–659.
<https://doi.org/10.1093/jnci/18.5.641>
3. Katz J.J. The biology of heavy water. What happens to experimental organisms that have been raised on water in which the hydrogen is not the common isotope of mass one but the heavy isotope of mass two? // *Sci. Am.* 1960. V. 203. P. 106–116.
4. Thomson J.F. Physiological effects of D₂O in mammals // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1960. V. 84. P. 736–744.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1960.tb39105.x>
5. Furuno-Fukushi I., Matsudaira H. Mutation induction by tritiated water and effects of deuterium oxide in cultured mouse leukemia cells // *Radiat. Res.* 1985. V. 103. № 3. P. 466–470.
<https://doi.org/10.2307/3576770>
6. Абилев С.К., Смирнова С.В., Игонина Е.В. и др. Оксид дейтерия усиливает SOS-ответ клеток *Escherichia coli*, индуцированный генотоксикантами // Докл. Академии наук. 2018. Т. 480. № 2. С. 239–243. [Abilev S.K., Smirnova S.V., Igonina E.V. et al. Deuterium oxide enhances *Escherichia coli* SOS response induced by genotoxins // *Doklady Biological Sciences.* 2018. V. 480. № 1. P. 85–89. (In Russ.)]
<https://doi.org/10.1134/S0012496618030031>
7. Смирнова С.В., Абилев С.К., Игонина Е.В. и др. Влияние дейтерия на индукцию *ada*-регулона алкилирующими веществами в клетках *Escherichia coli* // Генетика. 2018. Т. 54. № 8. С. 1–7. [Smirnova S.V., Abilev S.K., Igonina E.V. et al. The effect of deuterium on induction of the *ada*-regulon with alkylating compounds in the cells of *Escherichia coli* // *Russ. J. Genet.* 2018. V. 54. P. 919–924. (In Russ.)]
<https://doi.org/10.1134/S1022795418080124>
8. Абилев С.К., Игонина Е.В., Смирнова С.В. и др. Влияние дейтерия на экспрессию индуцибельных генов у *Escherichia coli* // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т. 59. № 3. С. 305–310. [Abilev S.K., Igonina E.V., Smirnova S.V. et al. The effect of deuterium on the expression of inducible genes *Escherichia coli* // *Biol. Bull.* 2019. T. 46. № 11. S. 1595–1600. (In Russ.)]
<https://doi.org/10.1134/S0869803119030032>
9. 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 V.Y., Manukhov I.V., Zavilgelskii G.B. Lux-biosensors for detection of SOS-response, heat shock, and oxidative stress // *Applied Biochemistry and Microbiology.* 2010. V. 46. № 8. P. 781–788. (In Russ.)]
<https://doi.org/10.1134/S0003683810080089>
10. Тарасов В.А. Молекулярные механизмы репарации и мутагенеза. М.: Наука, 1982. 228 с. [Tarasov V.A. Molekulyarnyye mekhanizmy reparatsii i mutagenеза. М.: Nauka, 1982. 228 s. (In Russ.)]
11. Завильгельский Г.Б. SOS-репарации 60 лет // Молек. биология. 2013. Т. 47. № 5. С. 699–706. [Zavilgelskii G.B. SOS-repair—60 years // *Molekular Biology.* 2013. V. 47. № 5. P. 699–706. (In Russ.)]
<https://doi.org/10.7868/S0026898413050224>
12. Ушаков В.Ю. SOS-система репарации ДНК у бактерий (обзор) // Вестн. Пермского ун-та. 2010. № 2. С. 19–30 [Ushakov V.Yu. SOS-sistema reparatsii DNK u bakteriy (obzor) // *Vestnik Permskogo Universiteta.* 2010. № 2. S. 19–30. (In Russ.)]
13. Maslowska K.H., Makiela Dzbenska K., Fijalkowska I.J. The SOS system: A complex and tightly regulated response to DNA damage // *Environ. Molec. Mutagenesis.* 2019. V. 60. № 4. P. 368–384.
<https://doi.org/10.1002/em.22267>
14. Baharoglu Z., Mazel D. SOS, the formidable strategy of bacteria against aggressions // *FEMS Microbiol. Rev.* 2014. V. 38. № 6. P. 1126–1145.
<https://doi.org/10.1002/em.22267>
15. Tippin B., Pham P., Goodman M.F. Error-prone replication for better or worse // *Trends Microbiol.* 2004. V. 12. P. 288–295.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.04.004>

Effect of Deuterium Oxide on *recA* and *colD* Genes Expression Induced by UV Radiation in *Escherichia coli* Cells

S. K. Abilev^{a,b,#}, S. V. Smirnova^a, and T. N. Shapiro^a

^a Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^b Department of Genetics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

[#]E-mail: abilev@vigg.ru

It was shown for the first time that deuteration of *Escherichia coli* bacteria with deuterium oxide (D₂O) at concentrations from 5 to 10% in the medium leads to an enhancement of the SOS response in the biosensors *E. coli* MG1655 (pColD::lux) and *E. coli* MG1655 (pRecA::lux) induced by UV at a dose of 12 J/m². The biosensors used in this work contain hybrid plasmids carrying the *luxCDABE* operon of the *Photobacterium luminescens* photobacterium, placed under the control of the *cda* (*colD*) and *recA* genes promoters. The induction of genotoxic factors in biosensors indicates the activation of the corresponding *E. coli* SOS system genes expression. A simultaneous study of the luminescence intensity and the cell viability of *E. coli* MG1655 biosensor (pCol-lux) bacteria showed that UV irradiation at a dose of 12 J/m² increases the luminescence intensity from 2111.1 in a medium without D₂O to 5030.3 RLU for 10⁷ viable cells in a medium with D₂O. The luminescence intensity of the biosensor was 2.5 times higher in a medium with deuterium than without it.

Keywords: biosensors, *Escherichia coli*, deuterium oxide, UV irradiation, SOS response, luminescence