

Е.В. Игонина<sup>1</sup> , Э.А Мачигов<sup>1,2</sup> , П.М. Джамбетова<sup>2</sup> , С.К. Абилев<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, г. Москва

<sup>2</sup>Чеченский государственный университет, Россия, г. Грозный

\*e-mail: abilev@vigg.ru

## ИНДУКЦИЯ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА В КЛЕТКАХ *E. COLI* АЛКИЛИРУЮЩИМИ АГЕНТАМИ ЗАВИСИТ ОТ ИХ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ

Наиболее известными алкилирующими агентами (АА), применяемыми в мутационной селекции сельскохозяйственных культур и микроорганизмов–продуцентов биологически активных веществ, являются метилметансульфонат (ММС) и этилметансульфонат (ЭМС). Известно, что оба эти вещества эффективно индуцируют бактериальную алкилтрансферазу, которая приводит к адаптивному ответу бактерий, то есть к выработке устойчивости к токсическим действиям. Бактериальная алкилтрансфераза является гомологом O<sup>6</sup>-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы в человеческих клетках. Исследование индукции алкилтрансферазы у бактерий различными АА позволяет прогнозировать их способность вызывать адаптивный ответ в клетках человека. Для изучения способности ММС, ЭХГ и бетапропиолактона (БПЛА) индуцировать в клетках *E. coli* повреждения ДНК и адаптивный ответ использовали lux-биосенсоры pColDp-lux и pAlkA-lux. ММС эффективно вызывал SOS-ответ у биосенсора pColD-lux, характеризующего уровень повреждений ДНК, и адаптивный ответ, регистрируемый у биосенсора pAlkA-lux по индукции экспрессии гена алкилтрансферазы. Бифункциональный ЭХГ менее активно индуцировали как SOS-ответ, так и адаптивный ответ, чем монофункциональный ММС. БПЛА индуцировал SOS-ответ только в низких концентрациях, и не вызвал адаптивного ответа в этих же концентрациях. Таким образом бифункциональные ЭХГ и БПЛА, активность которых зависит от реакционной способности продуктов раскрытия их циклических структур, алкилируют ДНК в меньшей степени, чем ММС. Это связано с тем, что при раскрытии цикла они в меньшей степени образуют электрофильные метильные группы, чем ММС.

**Ключевые слова:** lux-биосенсор, *E. coli*, SOS-ответ, адаптивный ответ, метилметансульфонат, эпихлоргидрин, бета-пропиолактон.

E.V. Igonina<sup>1</sup>, E.A. Machgov<sup>1,2</sup>, P.M. Dzhambetova<sup>2</sup>, S.K. Abilev<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Vavilov Institute of General Genetics RAS, Russia, Moscow

<sup>2</sup>Chechen State University, Russia, Grozny

\*e-mail: abilev@vigg.ru

### Induction of adaptive response in *e. Coli* cells alkylating agents depend on their chemical structure

The most well-known alkylating agents (AA) used in mutational breeding of agricultural crops and microorganisms producing biologically active substances are methyl methanesulfonate (MMS) and ethylmethanesulfone (EMS). It is known that both of these substances effectively induce bacterial alkyltransferase, which leads to an adaptive response of bacteria, that is, to the development of resistance to toxic effects. Bacterial alkyltransferase is a homologue of O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA-methyltransferase in human cells. The study of the induction of alkyltransferase in bacteria by various AA allows us to predict their ability to induce an adaptive response in human cells. Lux biosensors pColDp-lux and pAlkA-lux were used to study the ability of MMS, ECG and BPL to induce DNA damage and adaptive response in *E. coli* cells. MMS effectively elicited an SOS response in the ColD-lux biosensor, characterizing the level of DNA damage, and an adaptive response recorded in the AlkA-lux biosensor by inducing the expression of the alkyltransferase gene. Bifunctional ECG induced both SOS response and adaptive response less actively than monofunctional MMS. The BPL induced an SOS response only at low concentrations, and did not cause an adaptive response at the same concentrations. Thus, bifunctional ECG and BPL, whose activity depends on the reactivity of the products of the disclosure of their cyclic structures, alkylate DNA to a lesser extent than MMS. This is due to the fact that they form electrophilic methyl groups to a lesser extent than MMCs when the cycle is opened.

**Key words:** lux-biosensor, *E. coli*, SOS response, adaptive response, methyl methanesulfonate, epichlorohydrin, beta-propiolactone.

Е.В. Игоина<sup>1</sup>, Э.А. Мачигов<sup>1,2</sup>, П.М. Джамбетова<sup>2</sup>, С.К. Абилев<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Н.И. Вавилов атындағы Жалпы генетика институты, Ресей, Мәскеу қ.

<sup>2</sup>Мемлекеттік Чечен университеті, Ресей, Грозный қ.

\*e-mail: abilev@vigg.ru

### ***E. Coli* жасушаларында адаптивті реакцияның индукциясы алкилрлеуші заттар химиялық құрылымына байланысты**

Биологиялық белсенді заттарды өндіретін дақылдар мен микроорганизмдердің мутациялық селекциясында қолданылатын ең танымал алкилдеуші агенттер (АА) метилметансульфонат (ММС) және этилметансульфон (ЭМС) болып табылады. Бұл заттардың екеуі де бактериялық алкилтрансферазаны тиімді индукциялайтыны белгілі, бұл бактериялардың бейімделу реакциясына, яғни уытты әсерлерге төзімділіктің дамуына әкеледі. Бактериялық алкилтрансфераза-адам жасушаларындағы Об-метилгуанин-ДНҚ метилтрансфераза гомологы. Әр түрлі АА бактерияларындағы алкилтрансфераза индукциясын зерттеу олардың адам жасушаларында адаптивті жауап беру қабілетін болжауға мүмкіндік береді. pColD-lux және pAlkA-lux биосенсорлары ММС, ЭХГ және бетапропиолактонның (БПЛ) *E. coli* жасушаларында ДНҚ зақымдануын және адаптивті реакцияны индукциялау қабілетін зерттеу үшін пайдаланылды. ММС ДНҚ зақымдану деңгейін сипаттайтын pCold-lux биосенсорында SOS реакциясын және алкилтрансфераза генінің экспрессиясын индукциялау арқылы pAlkA-lux биосенсорында тіркелген адаптивті жауапты тиімді түрде тудырды. Екі функционалды ЭХГ SOS реакциясын да, адаптивті реакцияны да монофункционалды ММС-ке қарағанда аз белсенді етті. БПЛ тек төмен концентрацияда SOS реакциясын тудырды және бірдей концентрацияда адаптивті жауап тудырмады. Осылайша, белсенділігі олардың циклдік құрылымдарының ашылу өнімдерінің реактивтілігіне байланысты екі функционалды ЭХГ және БПЛ ДНҚ-ны ММС-ға қарағанда аз дәрежеде алкилдейді. Себебі олар цикл ашық болған кезде ММС-ға қарағанда электрофильді метил топтарын аз мөлшерде құрайды.

**Түйін сөздер:** люкс биосенсоры, *E. coli*, SOS реакциясы, адаптивті жауап, метилметансульфонат, эпихлоргидрин, бета-пропиолактон.

### **Введение**

К алкилирующим агентам (АА) относятся большая группа химических соединений с различной химической структурой. Объединяет их очень важное общее свойство – они являются источниками для введения в молекулы реагирующих с ними веществ алкильных радикалов метила (СН<sub>3</sub>), этила (С<sub>2</sub>Н<sub>5</sub>), пропила (С<sub>3</sub>Н<sub>7</sub>) и других. Алкильные радикалы обладают электрофильными свойствами и способны вступать в реакции с нуклеофильными участками молекул ДНК и белков [1]. Реакция АА с молекулами ДНК приводит к ее повреждениям и мутациям. По механизму действия, АА можно разделить на монофункциональные и бифункциональные. Первые из них при реакции с ДНК преимущественно алкилируют гуанин по позициям N7 и O6 и цитозин в позиции N3. Продукты этих реакций вызывают разрывы одноцепочечной ДНК либо спонтанно, либо в результате депуринизации под влиянием эндонуклеаз. Бифункциональные алкилирующие агенты вызывают внутрицепочечные и межцепочечные перекрестные сшивки.

Такие сшивки в транскрипционно активных областях генома препятствуют репликации ДНК и транскрипции РНК. Следует отметить, что субстратами алкилирования являются и белки, алкилирование которых приводят к нарушению их функции [2].

Химические алкилирующие соединения широко используются в научной и селекционной работе, химической промышленности и в медицине. Наиболее известными монофункциональными АА, применяемыми в мутационной селекции сельскохозяйственных культур и микроорганизмов-продуцентов биологически активных веществ, являются метилметансульфонат и этилметансульфонат. Эпоксиды этиленоксид и его производные пропиленоксид и эпихлоргидрин широко используются в химической промышленности в качестве промежуточных продуктов для синтеза таких веществ, как этиленгликоль, пропиленгликоль, пенополиуретан, эпоксидные смолы, синтетический глицерин и поверхностно-активные вещества. Этиленоксид и пропиленоксид используются также в качестве фумигантов для фармацевтической и сельскохозяйственной

ной продукции. По данным Международного агентства по исследованию рака (МАИР), этиленоксид и пропиленоксид активно загрязняют окружающую среду и обладают канцерогенной активностью на животных [3-5].

Еще одним АА, имеющим циклическую структуру, является бета-пропиолактон, и он, в отличие эпоксидных соединений, имеет четырехчленное строение. БПЛ является высоко реакционноспособным соединением, для которого характерны реакции с раскрытием четырехчленного цикла, вследствие напряженности связей в нем. При раскрытии цикла БПЛ образуется электрофильное производное, обладающее сильными бактерицидными свойствами. В связи с этим, БПЛ широко применяют в настоящее время для стерилизации крови, ферментов, а также в качестве инактиватора в производстве инактивированных вирусных вакцин [6], наряду с формальдегидом [7]. Способность БПЛ в первую очередь взаимодействовать с ДНК или РНК предполагает, что иммуногенные эпитопы белка вируса будут повреждены незначительно в отличие от инактивации формальдегидом [8-10].

По данным МАИР этиленоксид, пропиленоксид, бета-пропиолактон включены в группу 2А возможных канцерогенов для человека по результатам изучения их способности индуцировать рак у мышей и крыс [11].

Известно, что как прокариоты, так и эукариоты после предварительного воздействия низких доз АА проявляют повышенную устойчивость к действию высоких доз. Этот феномен получил название «адаптивный ответ» (АО) и был впервые описан в 1977 г. у *E. coli*. [12,13]. АО представляет собой прямую репарацию алкилированных оснований ДНК, и в настоящее время его молекулярные механизмы и генетический контроль хорошо изучены как у прокариот, так и эукариот. У *E. coli* система АО включает гены *ada*, *alkA*, *alkB* и *aid*, объединенные в *ada*-регулон, и их экспрессия контролируется белком *Ada* [14, 15].

Алкилирование азотистых оснований ДНК может происходить в разных позициях, однако не все они приводят к цитотоксическим эффектам. Наибольший цитотоксический эффект АА оказывают при воздействии на гуанин в O<sup>6</sup>-позиции. Поэтому считается, что O<sup>6</sup>-алкилгуанины являются одними из самых значимых повреждений, несмотря на то, что они занимают небольшую долю всех повреждений ДНК, вызванных алкилированием. В восстановлении первичных

повреждений ДНК, вызванных АА в клетках человека, решающую роль играет фермент O<sup>6</sup>-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза (MGMT), который переносит алкильную группу из O<sup>6</sup>-гуанина на собственный цистеиновый остаток [14, 16]. Таким образом, MGMT, осуществляет прямое восстановление структуры ДНК и защищает клетку от цитотоксического и мутагенного действия АА. Однако защитный эффект MGMT в нормальных клетках становится неблагоприятным фактором при воздействии на опухолевые клетки при химиотерапии [16]. Поэтому изучение влияния АА на экспрессию гена *MGMT* становится актуальной задачей скрининга потенциальных противоопухолевых препаратов.

Фермент MGMT человеческих клетках является гомологом продукта гена *ada* в клетках *E. coli*. Это открывает возможность прогнозирования индукции MGMT в человеческих клетках путем изучения индукции АО в микроорганизмах – *lux*-биосенсорах. *Lux*-биосенсор представляет из себя штамм *E. coli*, содержащий гибридную плазмиду, в состав которой встроены два основных элемента: регуляторный участок (промотор и оператор) и ген (гены) репортер. В качестве генов-репортеров используются гены *luxCDABE*, изолированные из геномов, светящихся бактерий и кодирующие люциферазу и редуктазу [17,18].

Целью настоящей работы является сравнительное изучение способности метилметансульфоната, эпихлоргидрина и бета-пропиолактона индуцировать SOS-ответ и АО в клетках *E. coli*.

## Материалы и методы

*Алкилирующие химические соединения* (АХС): метилметансульфонат (ММС), эпихлоргидрин (ЭХГ) и бета-пропиолактон (БПЛ) производства Sigma-Aldrich, (США).

*Бактериальные штаммы.* В работе использовали два биосенсора на основе штамма *E. coli* K12: MG1655(pColD-*lux*) и MG1655(pAlkA-*lux*), несущих рекомбинантную плазмиду с *lux*-опероном люминесцирующей бактерии *Photobacterium luminescens*, транскрипционно слитыми с промоторами гена колицина *col* (*cda*) и *alkA*, соответственно. Биосенсор MG1655(pColD-*lux*) люминесцирует в ответ на повреждение или остановку синтеза ДНК, то есть характеризует уровень SOS-ответа бактерий. MG1655 (pAlkA-*lux*) люминесцирует в результате активации промотора гена *alkA* в ответ на алкилирование ДНК.

Штаммы предоставлены Г.Б. Завильгельским и И.В. Мануховым (ГосНИИгенетика, Москва). Генотип штамма и карта рекомбинантной плазмиды приведены в работах [17].

*Процедура определения люминесценции биосенсоров.*

Культуры клеток *E. coli* выращивали на полноценной питательной среде Лурия-Бертани (LB) с добавлением ампициллина в конечной концентрации 100,0 мкг/мл в течение ночи при температуре 37 °С. Ночную культуру разбавляли свежей средой в 10 раз ( $1 \times 10^6$  клеток/мл). Измерения проводили на денситометре DEN-1B («Biosan»). Затем суспензию подращивали в течение 2 часов при 37 °С на шейкере до ранней логарифмической фазы.

Для проведения экспериментов суспензию культуры (по 180 мкл) переносили в стерильные ячейки планшета, в них же добавляли раствор изучаемых АА в разных концентрациях в объеме 20 мкл, в качестве контроля использовали дистиллированную воду или соответствующий растворитель. Через 90 мин инкубации планшетов при 37 °С проводили измерения люминесценции на микропланшетном ридере StatFax 4400, Awareness Technology Inc (США). Интенсивностью люминесценции биосенсоров выражали в относительных единицах (RLU – Relative Light Units)

*Статистическая обработка.*

Все данные, полученные с использованием биосенсоров, подвергали статистической обработке с вычислением среднего значения и его ошибки. Значимость различий средних значений оценивали с использованием t-критерия Стьюдента.

## Результаты

Известно, что алкилирующие химические соединения обладают генотоксическими свойствами и индуцирует SOS-ответ в клетках *E. coli* [19,20]. В таблице 1 приведены итоговые результаты изучения зависимости люминесценции биосенсоров от концентраций ММС, ЭХГ и БПЛ в трех опытах с 8 повторностями в каждом опыте. Графическое представление полученных данных приведены на рис. 1-3.

Из результатов, представленных в таблице 1 следует, что ММС и ЭХГ в эквимоллярных концентрациях эффективно индуцируют SOS-ответ у биосенсора pColD-lux, что это свидетельствует об их способности повреждать ДНК. Однако уровень отклика у биосенсора pColD-lux на воздействие ММС был на порядок выше, чем у ЭХГ. Например, при действии ЭХГ в концентрации 0,1 моль/л люминесценция составила  $956 \pm 77$  усл. ед. тогда, а при действии ММС –  $8178 \pm 373$  усл. ед.

**Таблица 1** – Зависимость индукции люминесценции ММС, ЭХГ и БПЛ у биосенсоров pColD-lux и pAlkA-lux от их концентраций

Биосенсор	Интенсивность люминесценции биосенсоров, отн.ед.					
	Концентрация ММС, моль/л					
	контроль	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
pColD-lux	1210±95	3343±294	4518±457	8592±421	8178±373	293±78
pAlkA-lux	103±14	390±41	1998±171	5065±309	3587±611	44±22
	Концентрация ЭХГ, моль/л					
	контроль	0,01	0,05	0,1	0,25	0,5
pColD-lux	521±24	649±46	874±124	956±77	829±59	295±36
pAlkA-lux	73±15	71±12	93±18	129±24	209±15	69±19
	Концентрация БПЛ, моль/л					
	контроль	0.00015	0.0003	0.00075	0.0015	0.003
pColD-lux	969±50	974±41	1028±50	1422±93	1749±143	1296±96
pAlkA-lux	95±13	96±15	91±11	82±14	71±13	46±12

Сравнение количественных показателей индукции люминесценции, характеризующие уровень экспрессии гена *adaA*, показало, что при действии ММС в концентрации 0,1

моль/л интенсивность люминесценции составил  $5065 \pm 309$  отн. ед., тогда как при действии ЭХГ –  $129 \pm 24$  отн. ед. При этом максимальная интенсивность люминесценции при действии

ЭХГ и концентрации 0,3 моль/л составила  $209 \pm 15$  отн. ед., что в 24 раз меньше люминесценции pAlkA-lux при действии ММС в

концентрации 0,1 моль/л. Таким образом, ЭХГ проявил себя как слабый индуктор АО у *E. coli*. (рис. 1, 2).

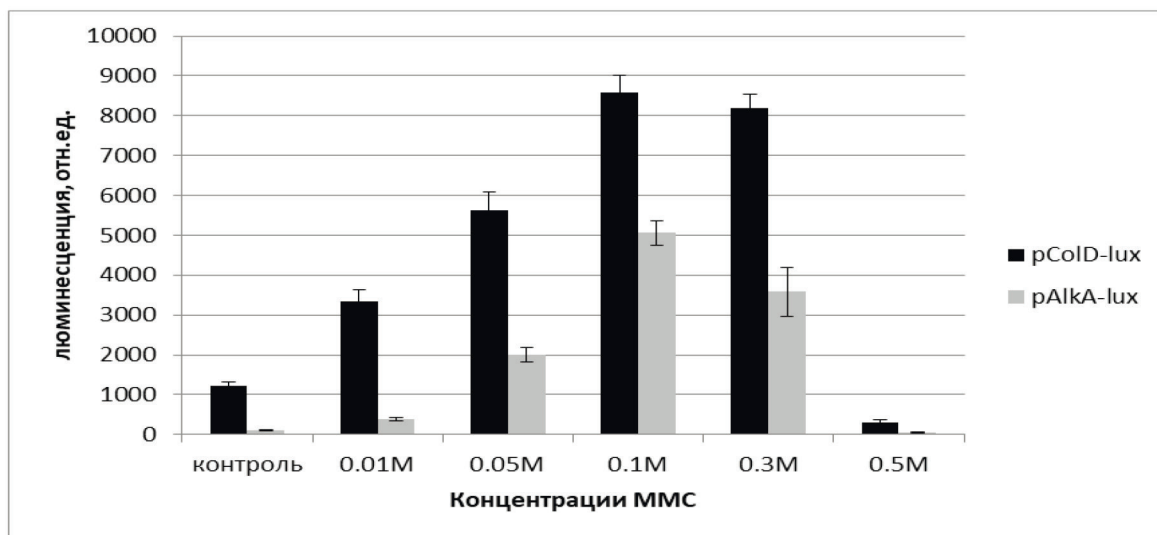


Рисунок 1 – Индукция ММС SOS-ответа у биосенсора pColD-lux и алкилтрансферазы у биосенсора pAlkA-lux

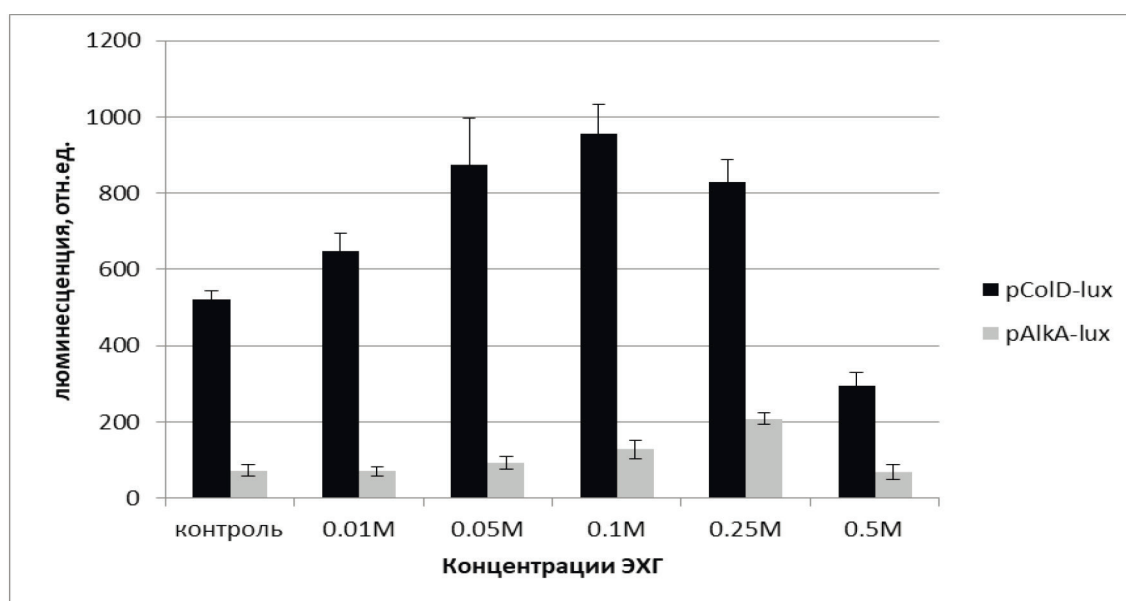


Рисунок 2 – Индукция ЭХГ SOS-ответа у биосенсора pColD-lux и алкилтрансферазы у биосенсора pAlkA-lux

БПЛ, в отличие от ММС и ЭХГ, проявил высокую токсичность для бактерий и индуцировал люминесценцию у биосенсора pColD-lux в низких концентрациях 0,00075, 0,0015 и 0,003 моль/л,

которая составила  $1422 \pm 93$ ,  $1749 \pm 143$  и  $1296 \pm 96$  отн. ед. БПЛ не проявил активности у биосенсора pAlkA-lux, откликающегося на действие алкилирующих химических соединений (табл. 1 и рис. 3).

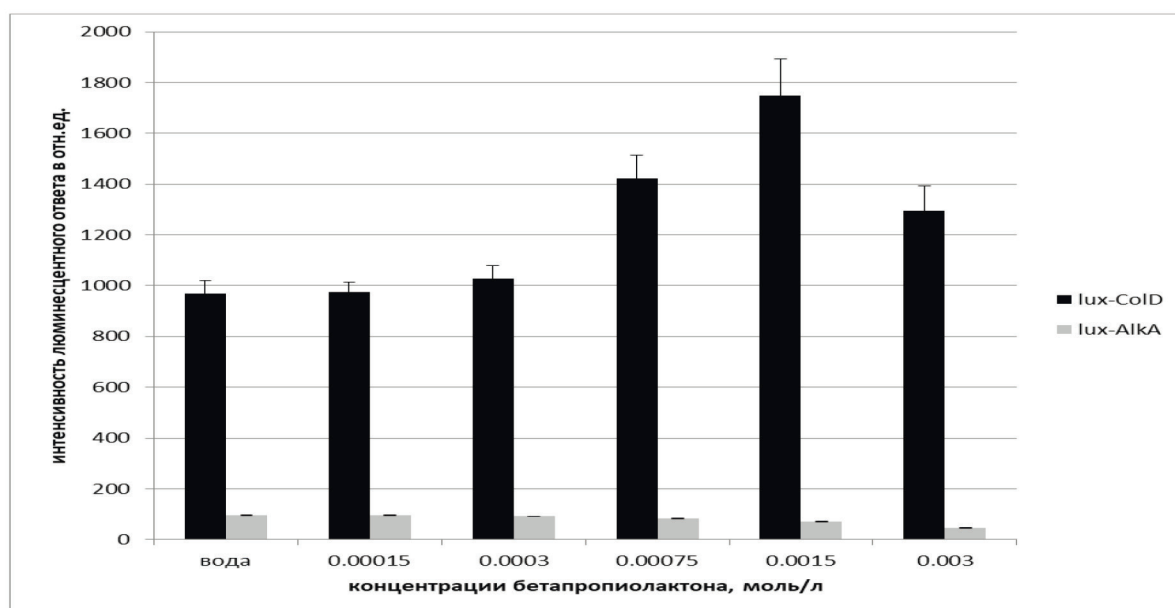


Рисунок 3 – Индукция БПЛ SOS-ответа у биосенсора pColD-lux и алкилтрансферазы у биосенсора pAlkA-lux

Важным показателем индукции люминесценции является амплитуда ответа биосенсора, то есть отношение максимального показателя люминесценции при действии изучаемого фактора к показателю спонтанного уровня люминесценции биосенсора в контроле. Амплитуда ответа биосенсора pColD-lux при действии MMC (0,1 моль/л), ЭХГ (0,1 моль/л) и БПЛ (0,0015 моль/л) составила соответственно 4,2; 1,8 и 1,8.

Амплитуда ответа биосенсора pAlkA-lux при действии MMC (0,1 моль/л) составила 49, при действии ЭХГ (0,3 моль/л) – 2,9. БПЛ не вызывал индукцию экспрессии гена *alkA*, то есть не индуцировал адаптивного ответа.

### Обсуждение

ЭХГ и БПЛ являются высоко реакционноспособными соединениями, которые после раскрытия трех- и четырех членного цикла, соответственно, приобретают электрофильные свойства и быстро вступают в реакцию с нуклеофильными центрами нуклеиновых кислот и белков. Показательными в отношении генотоксичности ЭХГ и БПЛ являются результаты, полученные на биосенсоре pColD-lux (табл. 1), демонстрирующие индукцию гена *colD* в ответ на повреждения в ДНК бактерий. Это является следствием активации SOS-ответа, в котором важную роль играют наличие одностранных раз-

рывов в ДНК (ssDNA) и продукты генов *recA* и *lexA*, последний из которых кодирует белок LexA, являющимся репрессором генов SOS-регулона. Промоторы генов *recA* и *colD* обеспечивают активацию начального и терминального этапов SOS-ответа, соответственно. Ген *colD* активируется при наличии неудаленных на ранних этапах репарации повреждений ДНК. К ним относятся объемные аддукты, тиминовые димеры и межнитевые сшивки, приводящие к остановке репликации ДНК [21-23].

При сравнении активности ЭХГ и MMC на биосенсоре pAlkA-lux показало, что максимальная интенсивность люминесценции при действии ЭХГ в концентрации 0,3 моль/л в 42 раза меньше люминесценции pAlkA-lux при действии MMC в концентрации 0,1 моль/л. ЭХГ представляет собой соединение, которое в результате раскрытия трехчленного цикла образует электрофильный продукт. Последний проявляет генотоксичность и способен индуцировать мутации в клетках млекопитающих *in vivo* и *in vitro* [24-26]. Показано, что электрофильный метаболит ЭХГ способен проявлять бифункциональные свойства и вызывать как межнитевые сшивки в ДНК, так и сшивки ДНК-белок [3, 24-26].

В наших экспериментах БПЛ, в отличие от ЭХГ, вовсе не проявил активности на биосенсоре pAlkA-lux, тогда, как при действии MMC в концентрации 0,1 моль/л увеличил

уровень своей люминесценции с  $103 \pm 14$  в контроле до  $5065 \pm 309$  усл. ед, то есть более, чем в 49 раз (табл. 1). Это указывает на то, что продукты взаимодействия БПЛ с ДНК отличаются от продуктов взаимодействия ММС и ДНК. Монофункциональный ММС метилирует ДНК, преимущественно гуанин, по позициям N7 и O6. Вторым по распространенности продуктом алкилирования ММС двунитевой ДНК является N3-метиладенин, который удаляется из нее 3-метиладенин-ДНК-гликозилазой – продуктом гена *adaA*, экспрессия которого контролируется сенсорным белком Ada.

БПЛ проявляет высокую токсичность для бактерий и его генетические эффекты регистрировались только в его низких концентрациях (табл. 1). Это, по-видимому, связано с бифункциональностью продукта раскрытия его четырехчленного цикла в клетке, вызывающего множественные сшивки в ДНК и белках [10,27]

В условиях *in vitro* БПЛ, как и ММС, и при воздействии на двунитевую ДНК, в 70-80% случаев метилирует N7-позицию гуанина [8-10]. Отсутствие эффекта БПЛ на биосенсоре rAlkA-lux можно объяснить тем, что в результате раскрытия четырехчленного цикла БПЛ может образовать сшивки в молекулах белка. Если даже

имеет место слабое метилирование, то оно не проявляется в такой степени, чтобы белок Ada проявил себя как сильный транскрипционный активатор Ada-регулона [14,15].

### Заключение

Сравнительное изучение способности трех алкилирующих соединений: ММС, ЭХГ и БПЛ индуцировать экспрессию гена *alkA* в клетках *E. coli* показало, что уровень индукции адаптивного ответа зависит от функциональности их химической структуры. Монофункциональный ММС эффективно вызывал у бактерий как повреждения ДНК, регистрируемые по индукции SOS-ответа у биосенсора ColD-lux, так и адаптивный ответ, регистрируемый у биосенсора AlkA-lux. Бифункциональный ЭХГ менее активно индуцировали как SOS-ответ, так и адаптивный ответ, чем ММС. БПЛ индуцировал SOS-ответ только в низких концентрациях, и не вызвал адаптивного ответа в этих же концентрациях. Таким образом, бифункциональные ЭХГ и БПЛ, активность которых зависит от реакционной активности продуктов раскрытия их циклических структур, слабо проявляют способности алкилировать ДНК, в отличие от ММС.

### Литература

- Лавлес А. Генетические эффекты алкилирующих соединений // М.: Наука. – 1970. – 255 с.
- Kondo N., Takahashi A., Ono K., Ohnishi T. DNA Damage Induced by Alkylating Agents and Repair Pathways // Journal of Nucleic Acids – 2010. doi:10.4061/2010/543531
- Kolman A., Chovanec M., Golkar O.S. Genotoxic effects of ethylene oxide, propylene oxide and epichlorohydrin in humans: update review (1990-2001) // Mutat. Res. Reviews in Mutation Res. – 2002. – Vol. 512. – P. 173-194.
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans // IARC, Lyon, France. – 1994. – Vol. 60. – P. 73-213.
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans // IARC, Lyon, France. – 1999. – Vol. 71. – P. 603-628.
- Lawrence S.A. beta-Propiolactone: viral inactivation in vaccines and plasma products // PDA J. Pharm. Sci. and Technol. – 2000. – Vol. 54. – P. 209-214.
- Курашова С.С., Ишмухаметов А.А., Егорова М.С., Баловнева М.В., Дзагурова Т.К., Ткаченко Е.А. Сравнительная характеристика инактивирующих агентов для создания вакцины против геморрагической лихорадки с почечным синдромом // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2018. – № 4. – С. 26-29. doi:10.31631/2073-3046-2018-17-4-26-29
- Colburn N.H., Richardson R.G., Boutwell R.K. Studies of the reaction of  $\beta$ -propiolactone with deoxyguanosine and related compounds // Biochem Pharmacol. – 1965. – Vol. 14. – P. 1113-1118.
- Perrin P., Morgeaux S. Inactivation of DNA by  $\beta$ -propiolactone // Biologicals. – 1995. – Vol. 23. – P. 207-211.
- Brusick D. The genetic properties of  $\beta$ -propiolactone // Mutat. Res. – 1976. – Vol. 39. – P. 241-255.
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans // IARC, Lyon, France. – 1999. – Vol. 71. – P. 1103-1118.
- Samson L., Cairns J. A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli* // Nature. – 1977. – Vol. 267. – P. 281-283. doi:10.1038/267281a0
- Jeggo P., Defais T.M., Samson L., Schendel P. An adaptive response of *E. coli* to low levels of alkylating agent: Comparison with previously characterised DNA repair pathways // Mol. Gen. Genet. – 1977. – Vol. 157, №1. – P. 1-9.
- Sedgwick B., Bates P.A., Paik J. et al. Repair of alkylated DNA: Recent advances // DNA repair. – 2007. – Vol. 6, №4. – P. 429-442. doi: 10.1016/j.dnarep.2006.10.005

- Mielecki D., Grzesiuk E. Ada response – a strategy for repair of alkylated DNA in bacteria // FEMS Microbiol Lett. – 2014. – Vol. 355, № 1. – P. 1-11. doi:10.1111/1574-6968.
- Julsing J.R., Peters G.J. Methylation of DNA repair genes and the efficacy of DNA targeted anticancer treatment // Oncol Discov. – 2014. doi:10.7243/2052-6199-2-3
- Котова В.Ю., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б. Лух биосенсоры для детекции SOS-ответа, теплового шока и окислительного стресса // Биотехнология. – 2009. – № 6. – С. 16-25. doi:10.1134/S0003683810080089
- Yagur-Kroll S., Belkin S. Upgrading bioluminescent bacterial bioreporter performance by splitting the lux operon // Analyt. Bioanalyt. Chem. – 2011. – Vol. 400. – P. 1071-1082
- Ptitsyn L.R., Horneck G., Komova O., Kozubek S., Krasavin E.A., Bonev M., Rettberg P. A biosensor for environmental genotoxin screening based on an SOS lux assay in recombinant *Escherichia coli* cells. Appl Environ Microbiol. – 1997. – Nov; 63 (11). – P. 4377-4384.
- Quillardet P., Huisman O., D’Ari R., Hofnung M. SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity // Proc Natl Acad Sci USA. – 1982. – Oct; 79 (19). – P. 5971-5975.
- Завильгельский Г.Б. SOS-репарации 60 лет // Молекулярная биология. – 2013. – Т. 47, № 5 – С. 699-706. doi:10.7868/S0026898413050224.
- Maslowska K.H., Makiela-Dzbenka K., Fijalkowska I.J. The SOS system: A complex and tightly regulated response to DNA damage // Environ. Molec. Mutagenesis. – 2019. – Vol. 60, N 4. – P. 368-384. doi:10.1002/em.22267
- Baharoglu Z., Mazel D. SOS, the formidable strategy of bacteria against aggressions // FEMS Microbiol. Rev. – 2014. – Vol. 38, no 6. – P. 1126-1145. doi:10.1002/em.22267
- Giri A.K. Genetic toxicology of epichlorohydrin: a review // Mutat. Res. – 1997. – Vol. 386, N 1. – P. 25-38. doi:10.1016/s1383-5742(96)00042-7
- Le P.M., Silvestri V.L., Redstone S.C., Dunn J.B., Millard J.T. Cross-linking by epichlorohydrin and diepoxybutane correlates with cytotoxicity and leads to apoptosis in human leukemia (HL-60) cells // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2018. – Vol. 352. – P. 19-27. doi: 10.1016/j.taap.2018.05.020.
- Rossi A.M., Migliore L., Lascialfari D., Sbrana I., Loprieno N., Tortoreto M., Bidoli F., Pantarotto C. Genotoxicity, metabolism and blood kinetics of epichlorohydrin in mice // Mutat. Res. – 1983. – Vol. 118, N 3. – P. 213-26. doi:10.1016/0165-1218(83)90144-1
- Uittenbogaard, J.P., Zomer, B., Hoogerhout, P., and Metz, B. Reactions of  $\beta$ -Propiolactone with Nucleobase Analogues, Nucleosides, and Peptides // J. Biol. Chem. – 2011. – 286 (42). – P. 36198-36214.

## References

- Loveles A. “Geneticheskie efekty alkiliryuyushchih soedinenij”. M.: Nauka. (1970).
- Kondo N., Takahashi A., Ono K., Ohnishi T. “DNA Damage Induced by Alkylating Agents and Repair Pathways”. Journal of Nucleic Acids. (2010). doi:10.4061/2010/543531
- Kolman A., Chovanec M., Golkar O.S. “Genotoxic effects of ethylene oxide, propylene oxide and epichlorohydrin in humans: update review (1990-2001)”. Mutat. Res. Reviews in Mutation Res. 512. (2002): 173-194.
- “IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans”, IARC, Lyon, France. 60 (1994): 73–213.
- “IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans”. IARC. Lyon, France. 71 (1999): 603-628.
- Lawrence S.A. “beta-Propiolactone: viral inactivation in vaccines and plasma products”. PDA J. Pharm Sci. and Technol. 54 (2000): 209-214.
- Kurashova S.S., Ishmuhametov A.A., Egorova M.S., Balovneva M.V., Dzagurova T.K., Tkachenko E.A. “Sravnitel’naya harakteristika inaktiviruyushchih agentov dlya sozdaniya vakciny protiv gemorragicheskoy lihoradki s pochechnym sindromom”. Epidemiologiya i Vakcinoprofilaktika. No 4 (2018): 26-29. doi:10.31631/2073-3046-2018-17-4-26-298.
- Colburn N.H., Richardson R.G., Boutwell R.K. “Studies of the reaction of  $\beta$ -propiolactone with deoxyguanosine and related compounds”. Biochem Pharmacol. 14 (1965): 1113–1118.
- Perrin P., Morgeaux S. “Inactivation of DNA by  $\beta$ -propiolactone”. Biologicals. 23 (1995): 207-211.
- Brusick D. “The genetic properties of  $\beta$ -propiolactone”. Mutat. Res. 39 (1976): 241 -255.
- “IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans”. IARC, Lyon, France. 71 (1999): 1103-1118.
- Samson L., Cairns J. “A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli*”. Nature. 267 (1977): 281-283. doi:10.1038/267281a0
- Jeggo P., Defais T.M., Samson L., Schendel P. “An adaptive response of *E. coli* to low levels of alkylating agent: Comparison with previously characterised DNA repair pathways”. Mol. Gen. Genet. 157, no 1 (1977): 1-9.
- Sedgwick B., Bates P.A., Paik J. et al. “Repair of alkylated DNA: Recent advances” DNA repair. 6, no 4 (2007): 429-442. doi:10.1016/j.dnarep.2006.10.005
- Mielecki D., Grzesiuk E. “Ada response – a strategy for repair of alkylated DNA in bacteria”. FEMS Microbiol Lett. 355, no 1 (2014): 1-11. doi:10.1111/1574-6968.
- Julsing J.R., Peters G.J. “Methylation of DNA repair genes and the efficacy of DNA targeted anticancer treatment”. Oncol Discov. (2014). doi:10.7243/2052-6199-2-3
- Kotova V.Yu., Manuhov I.V., Zavil’gel’skij G.B. “Lux biosensory dlya detekcii SOS-otveta, teplovogo shoka i okislitel’nogo stressa”. Biotekhnologiya. No 6 (2009): 16-25. doi:10.1134/S0003683810080089



Yagur-Kroll S., Belkin S. "Upgrading bioluminescent bacterial bioreporter performance by splitting the lux operon". *Analyt. Bioanalyt. Chem.* 400 (2011): 1071-1082.

Ptitsyn L.R., Horneck G., Komova O., Kozubek S., Krasavin E.A., Bonev M., Rettberg P. "A biosensor for environmental genotoxin screening based on an SOS lux assay in recombinant *Escherichia coli* cells". *Appl Environ Microbiol.* 63 (1997): 4377-4384.

Quillardet P., Huisman O., D'Ari R., Hofnung M. "SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity". *Proc Natl Acad Sci USA.* 79 (1982): 5971-5975.

Zavil'gel'skij G.B. "SOS-reparacii 60 let". *Molekulyarnaya biologiya.* 47, no. 5 (2013): 699-706. doi: 10.7868/S0026898413050224.

Maslowska K.H., Makiela-Dzubska K., Fijalkowska I.J. "The SOS system: A complex and tightly regulated response to DNA damage". *Environ. Molec. Mutagenesis.* 60, no 4 (2019): 368-384. doi:10.1002/em.22267

Baharoglu Z., Mazel D. "SOS, the formidable strategy of bacteria against aggressions" *FEMS Microbiol.* 38, no 6 (2014): 1126-1145. doi:10.1002/em.22267

Giri A.K. "Genetic toxicology of epichlorohydrin: a review". *Mutat. Res.* 386, no 1 (1997): 25-38. doi:10.1016/s1383-5742(96)00042-7

Le P.M., Silvestri V.L., Redstone S.C., Dunn J.B., Millard J.T. "Cross-linking by epichlorohydrin and diepoxybutane correlates with cytotoxicity and leads to apoptosis in human leukemia (HL-60) cells". *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 352 (2018): 19-27. doi: 10.1016/j.taap.2018.05.020.

Rossi A.M., Migliore L., Lascialfari D., Sbrana I., Loprieno N., Tortoreto M., Bidoli F., Pantarotto C. "Genotoxicity, metabolism and blood kinetics of epichlorohydrin in mice". *Mutat. Res.* 118, no 3 (1983): 213-26. doi: 10.1016/0165-1218(83)90144-127.

Uittenbogaard, J. P., Zomer, B., Hoogerhout, P., and Metz, B. "Reactions of  $\beta$ -Propiolactone with Nucleobase Analogues, Nucleosides, and Peptides". *J. Biol. Chem.* 286, no 42 (2011): 36198-36214.