

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Медико-профилактический факультет с отделением биологии
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

Нозимов Жахонгир Икромжон Угли

**«Особенности хемилюминесценции питательных сред в процессе
культивирования бактерий различных видов»**

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент кафедры фундаментальной
и прикладной микробиологии

К.С. Мочалов

Уфа - 2022

Оглавление

Список сокращений и условных обозначений	3
ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	8
1.1. Процессы культивирования микроорганизмов.....	8
1.2. Оксидативные процессы и окислительный стресс	12
1.3. Регистрация хемилюминесценции как метод исследования оксидативных процессов	14
1.4. Оксидативные процессы и окислительный стресс при культивировании микроорганизмов.....	18
1.5. Роль оксидативного стресса в повреждении молекулярных структур микроорганизмов.....	23
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	28
2.1 Этапы исследования.....	28
2.2.Методы исследования.....	30
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	32
3.1. Исследование антиокислительной активности ГРМ-бульона по данным регистрации хемилюминесценции	32
3.2. Исследование спонтанной антиокислительной активности сред, при культивировании бактерий различных видов по данным регистрации хемилюминесценции.....	33
3.3.Исследование индуцированной антиокислительной активности сред, при культивировании бактерий различных видов по данным хемилюминесценции	36
3.4.Исследование антиокислительного потенциала сред, при культивировании бактерий различных видов по данным хемилюминесценции	38
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	41
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	45
ПРИЛОЖЕНИЕ	75

Список сокращений и условных обозначений

АОА - антиоксидантная активность

АТФ - аденозинтрифосфат

АФК - активные формы кислорода

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

МО - микроорганизм

МПА - мясо-пептонный агар

МПБ - мясо-пептонный бульон

НАДФН - никотинамидадениндинуклеотидфосфат

ПОЛ - перекисное окисление липидов

СРО – свободно-радикальное окисление

Tg - тиогликолевая среда

ХЛ - хемилюминесценция

XLD - ксилозо-лизиновый дезоксихолатный агар

ЭКДА - экстракт кормовых дрожжей агаризованный

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Для поддержания жизнедеятельности микроорганизмов, их нормального роста и развития требуются соответствующие условия. При культивировании важнейшие элементы питания и факторы роста поступают в бактериальную клетку в составе питательных сред (ПС). ПС имеют важное значение для постановки экспериментов в различных областях научного знания о микроорганизмах, а также служат необходимым средством для решения клинических задач; они находят применение в клинической и лабораторной диагностике, в микробиологии, биотехнологии, клеточных технологиях, биоинженерии при выращивании тканей [45]. Очевидно, что при культивировании микроорганизмов питательные среды играют роль окружения для микробной клетки, которое не является стабильным, а меняется в ходе развития микроорганизмов. Хорошо известно, что истощение элементов питания выступает естественным ограничивающим фактором роста, а применение специальных сред позволяет селективно получать культуры необходимых микроорганизмов. Состояние питательной среды отражает характеристики метаболизма бактерий, а наличие в средах определенных продуктов может свидетельствовать о соответствующей фазе развития бактерий. Поскольку параметры питательных сред изменяются, то они могут рассматриваться в качестве индикатора функционально-метаболического состояния клетки.

Одним из параметров состояния питательных сред является их антиокислительная активность – способность противодействовать образованию свободных радикалов: активных форм кислорода (АФК) и пероксидных липидных радикалов [11]. Чрезмерное образование свободных радикалов лежит в основе феномена окислительного стресса [10,11]. Окислительный стресс является универсальным звеном повреждения молекул и структур клеток, и кроме того, он является причиной апоптоза и некроза. Снижение антиокислительной активности в среде культивирования

может свидетельствовать о развитии в ней окислительного стресса, снижении активности защитных ферментных систем клеток, активной выработки окислительных метаболитов.

Среди методов определения антиокислительной активности субстратов, одним из наиболее чувствительных является метод регистрации хемилюминесценции. Хемилюминесценция (ХЛ) – это свечение, которое возникает при взаимодействии свободных радикалов, которое может быть избирательно усилено при добавлении различных веществ, в частности, люциногена и люминола [10, 57].

Разные микроорганизмы характеризуются особенностями метаболизма и отличаются по способности к сопротивлению процессам окислительного стресса. Изменение антиокислительной активности сред при культивировании микроорганизмов отражает их способность противодействовать образованию свободных радикалов. Поэтому изучение антиокислительной активности сред позволит охарактеризовать функционально-метаболические особенности бактерий различных видов, активность ферментных систем по утилизации свободных радикалов.

В прикладном плане, применение хемилюминесцентных методов позволит разработать экспресс-методы определения функционального состояния микроорганизмов, их способности сопротивляться свободно-радикальным процессам, контролировать условия их роста и может явиться одним из оснований для создания новых питательных сред. Сказанным и предопределен выбор темы магистерской диссертации.

Цель исследования: оценка особенностей хемилюминесценции питательных сред при культивировании бактерий различных видов для выявления их способности противодействовать образованию свободно-радикальных агентов.

Задачи исследования.

1) Исследовать антиокислительную активность ГРМ-бульона как среды культивирования бактерий в качестве контроля исследования по данным регистрации ХЛ.

2) Определить спонтанную антиокислительную активность сред при культивировании бактерий разных видов по данным ХЛ

3) Оценить активированную антиокислительную активность сред при культивировании бактерий разных видов в условиях оксидативного стресса по данным ХЛ

4) Исследовать антиокислительный потенциал сред при культивировании бактерий различных видов, как показатель, отражающий степень снижения антиокислительной активности при воздействии индуктора по данным ХЛ.

5) Оценить интегральную способность бактерий различных видов противодействовать образованию свободно-радикальных агентов, определяемых методом ХЛ посредством сравнения самых низких значений антиокислительной активности сред культивирования одного из видов бактерий, с самыми высокими значениями антиокислительной активности среды культивирования другого вида бактерии.

Научная новизна диссертационного исследования заключается в том, что впервые будет изучен как базальный (спонтанный) уровень хемилюминесценции питательных сред в динамике культивирования микроорганизмов различных видов, отражающий спонтанные оксидативные процессы так и индуцированный уровень хемилюминесценции питательных сред, при моделировании оксидативного стресса в среде культивирования. Будет дана сравнительная оценка бактерий различных видов противодействовать образованию свободных радикалов.

Теоретическая значимость диссертационного исследования заключается в выявлении особенностей метаболизма микроорганизмов, отвечающих за сопротивляемость к антибактериальным факторам:

способность противодействовать образованию может лежать в основе устойчивости микроорганизмов. Разные уровни сопротивляемости к оксидативным процессам могут обуславливать разные способности бактерий сохранять свою жизнеспособность в условиях повреждающего воздействия.

Научно практическое значение диссертационного исследования заключается в разработке основанных на регистрации хемилюминесценции экспресс-методов определения функционально-метаболического состояния микроорганизмов, отражающего их антиоксидантные способности.

Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Процессы культивирования микроорганизмов

Микробная клетка представляет собой чрезвычайно сложное образование, которое по существу состоит примерно на 70 % по весу из воды, а остальные 30 % по весу — из твердых компонентов. Помимо двух основных газообразных компонентов, а именно кислорода (O_2) и водорода (H_2), микробная клетка преимущественно состоит из четырех других основных элементов, а именно: углерода (C), азота (N), серы (S) и фосфор (P). На самом деле шесть компонентов составляют почти 95% конечной сухой массы клеток. Различные другие элементы, которые также присутствуют, но в относительно меньшем количестве, это: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} и Mo^{4+} . Основываясь на этих наблюдениях и выводах, можно заключить, что микроорганизмы значительно нуждаются в исключительно большом количестве элементов для своего адекватного выживания, а также роста (т. е. культивирования). Культивирование (рост) бактерий можно определить как «систематическое прогрессирующее увеличение клеточных компонентов». Тем не менее заметное увеличение исключительно «массы» не всегда может отражать элемент роста, потому что бактерии в определенных конкретных случаях могут накапливать достаточную массу без соответствующего увеличения фактического числа клеток. В последнем сценарии был введен термин «сбалансированный рост», который, по сути, проводит черту между так называемым «упорядоченным ростом» и «неупорядоченным ростом». Если в исследуемом материале содержание микроорганизмов незначительное, то посев проводят на жидкие среды обогащения [2].

Количество доступных сред для выращивания бактерий значительно. Некоторые среды считаются универсальными и поддерживают рост самых разных организмов. Ярким примером универсальной среды является триптический соевый бульон (TSB). Для идентификации бактерий

используются специализированные среды с добавлением красителей, индикаторов pH или антибиотиков. Один тип, обогащенная среда, содержит факторы роста, витамины и другие необходимые питательные вещества для стимулирования роста микроорганизмов, организмов, которые не могут производить определенные питательные вещества и требуют их добавления в среду [2].

Когда известен полный химический состав среды, ее называют средой с определенным химическим составом. В сложных средах, содержащих экстракты и гидролизаты дрожжей, мяса или растений, точный химический состав среды неизвестен. Количества отдельных компонентов не определены и изменчивы. Питательный бульон, триптический соевый бульон и шоколадный агар — все это примеры сложных сред.

Селективные среды используются для выращивания только избранных микроорганизмов. Примером селективной среды является агар МакКонки. Он содержит соли кислот и кристаллический фиолетовый, которые препятствуют росту многих грамположительных бактерий и способствуют росту грамотрицательных бактерий, особенно энтеробактерий. Эти виды обычно называют кишечнорастворимыми, они обитают в кишечнике и приспособлены к присутствию солей желчных кислот.

Обогащающие культуры способствуют предпочтительному росту необходимого микроорганизма, который представляет собой часть организмов, присутствующих в инокуляте. Например, если нужно выделить бактерии, разлагающие сырую нефть, углеводородокластические бактерии, последовательный пересев в среде, которая поставляет углерод только в виде сырой нефти, обогатит культуры бактериями, разлагающими нефть. В качестве альтернативы, чтобы выделить устойчивые к антибиотикам виды из смешанной культуры, этот антибиотик можно добавить в среду, чтобы предотвратить рост неустойчивых клеток. В лаборатории генетики среда без определенного аминокислотного фактора роста, такого как пролин, в сочетании с *E. Coli* неспособные его синтезировать (т.е. ауксотрофные по

пролину), широко использовались генетиками до появления геномики для картирования бактериальных хромосом. Дифференциальные/индикаторные среды отличают один тип микроорганизма от другого, растущего на той же среде. Этот тип среды использует биохимические характеристики микроорганизма, растущего в присутствии определенных питательных веществ или индикаторов (таких как нейтральный красный, феноловый красный, эозин или метиленовый синий), добавленных к среде, чтобы визуально указать определяющие характеристики микроорганизма. Многие связаны с изменением цвета колоний или цвета среды.

В качестве модельного организма удобно использовать прокариот, поскольку они обладают быстрыми темпами роста, а характеристики отдельных штаммов хорошо известны. Кроме того, культуры удобно сохранять в течение длительного времени, и опыты легко воспроизводимы. Именно по этим причинам в данной работе использовался один из наиболее изученных микроорганизмов – кишечная палочка (*Escherichia coli*) [32].

E. coli в настоящее время является наиболее изученным представителем нормальной микрофлоры толстого кишечника человека и животных [7]. *E. coli* (эшерихии) - преимущественные бактерии нормальной факультативно-анаэробной микрофлоры кишечника человека и животных, но ряд сероваров могут быть возбудителями острых инфекционных болезней животных всех видов. Наряду с тем, что эшерихии являются возбудителями инфекционных болезней, эти синантропные бактерии относятся еще и к основным санитарно-показательным микроорганизмам [50].

Эшерихии относятся к типу *Proteobacteria* классу *Gammaproteobacteria* порядку *Enterobacteriales* семейству *Enterobacteriaceae* роду *Escherichia*. Основным видом рода *Escherichia*, имеющим медицинское значение, является *E. coli* (кишечная палочка). Эта бактерия обладает возможностью получать энергию двумя способами: с помощью дыхания и путем ферментации с образованием смеси органических кислот [41].

Escherichia coli (кишечная палочка) — вид бактерий, который в норме обитает в кишечнике здоровых людей и животных. Идентифицировано более 700 серотипов кишечной палочки. Большинство разновидностей кишечной палочки безвредны или вызывают относительно непродолжительную диарею, но некоторые штаммы могут вызывать сильные спазмы в животе, кровавый понос и рвоту.

E. coli способна расти на широком диапазоне источников углерода, но обычно ее выращивают на богатой среде, такой как бульон Лурия-Бертани, или на чашках с агаром с богатой средой. приготовление обычно используемых жидких и твердых сред). Каждая среда может быть модифицирована и/или адаптирована для удовлетворения конкретных потребностей в питательных веществах для отдельных экспериментов. Добавки, такие как определенные хромогенные агенты или антибиотики в желаемых концентрациях, также могут быть добавлены к различным средам, отвечающим конкретным потребностям организма. эксперимент.

Pseudomonas aeruginosa - грамотрицательная аэробная палочковидная бактерия семейства Pseudomonadaceae (входит в семейство гаммапротеобактерий). *P. aeruginosa* содержит еще 12 членов своего семейства. Как и другие представители рода, *P. aeruginosa* обычно встречается в почве и воде, а также у растений и людей. Считается, что бактерии *Pseudomonas* являются одним из немногих истинных патогенов растений. Важно отметить, что *P. aeruginosa* стал формирующимся оппортунистическим патогеном в клиниках. Недавние эпидемиологические исследования демонстрируют его внутрибольничный патогенный статус, особенно штаммы с повышенной устойчивостью к антибиотикам.

P. aeruginosa использует слабые места в защите хозяина, чтобы вызвать инфекцию. Действительно, *P. aeruginosa* является воплощением оппортунистического патогена человека. Бактерия почти не заражает бескомпромиссные ткани, но она может проникнуть в любую ткань, пораженную иммунодефицитом. *P. aeruginosa* вызывает инфекцию мочевыводящих путей, дыхательной системы, дермы, мягких тканей, бактериемию, костей и суставов,

желудочно-кишечного тракта и крови, особенно у пациентов с тяжелыми ожогами, туберкулезом, раком и СПИДом. Важно отметить, что *P. aeruginosa* вызывает значительную проблему у пациентов, госпитализированных с раком, муковисцидозом и ожогами, с 50% летальным исходом.

1.2. Оксидативные процессы и окислительный стресс

Радикалы супероксида ($O_2^{\bullet-}$), перекись водорода (H_2O_2), гидроксильные радикалы ($\bullet OH$) и синглетный кислород (1O_2) обычно определяются как активные формы кислорода (АФК); они генерируются биологическими системами как побочные продукты метаболизма [17]. Когда производство АФК увеличивается, они начинают оказывать вредное воздействие на важные клеточные структуры, такие как белки, липиды и нуклеиновые кислоты [4,9]. Большое количество доказательств показывает, что окислительный стресс может быть ответственным, с разной степенью важности, в возникновении и/или прогрессировании ряда заболеваний (например, рака, диабета, нарушений обмена веществ, атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний) [35].

Свободные радикалы образуются как из эндогенных, так и из экзогенных источников. Активация иммунных клеток, воспаление, ишемия, инфекция, рак, чрезмерные физические нагрузки, умственный стресс и старение — все это ответственно за эндогенное производство свободных радикалов. Экзогенное образование свободных радикалов может происходить в результате воздействия загрязнителей окружающей среды, тяжелых металлов (Cd, Hg, Pb, Fe и As), некоторых лекарственных препаратов (циклоспорин, такролимус, гентамицин и блеомицин), химических растворителей, приготовления пищи (копченое мясо, отработанное масло и жир), сигаретный дым, алкоголь и радиация [38,44]. Производство АФК в основном зависит от ферментативных и неферментативных реакций. Ферментативные реакции, способные генерировать АФК, связаны с дыхательной цепью, синтезом

простагландинов, фагоцитозом и системой цитохрома P450 [70-125]. Супероксидный радикал ($O_2^{\bullet-}$) генерируется НАДФН-оксидазой, ксантинооксидазой и пероксидазами. После образования он участвует в нескольких реакциях, которые, в свою очередь, приводят к образованию перекиси водорода, гидроксильного радикала ($OH^{\bullet}$), пероксинитрита ($ONOO^-$), хлорноватистой кислоты ($HOCl$) и так далее. H_2O_2 (нерадикал) продуцируется несколькими ферментами оксидазами, то есть оксидазой аминокислот и ксантинооксидазой. Гидроксильный радикал ($OH^{\bullet}$), наиболее реакционноспособный среди всех видов свободных радикалов *in vivo*, образуется в результате реакции $O_2^{\bullet-}$ с H_2O_2 , с Fe^{2+} или Cu^+ в качестве катализатора реакции (реакция Фентона) [70-125]. Радикал оксида азота ($NO^{\bullet}$), играющий важную физиологическую роль, синтезируется в результате окисления аргинина в цитруллин синтазой оксида азота (NOS) [70-125].

Даже неферментативные реакции могут быть ответственны за образование свободных радикалов, то есть когда кислород реагирует с органическими соединениями или когда клетки подвергаются воздействию ионизирующего излучения. Неферментативное образование свободных радикалов может происходить и при митохондриальном дыхании [62].

В избытке свободные радикалы и окислители вызывают явление, известное как окислительный стресс; это вредный процесс, который может негативно повлиять на несколько клеточных структур, таких как мембраны, липиды, белки, липопротейны и дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК). Окислительный стресс возникает, когда существует дисбаланс между образованием свободных радикалов и способностью клеток их очищать. Например, избыток гидроксильного радикала и пероксинитрита может вызывать перекисное окисление липидов, что приводит к повреждению клеточных мембран и липопротейнов. Это, в свою очередь, приведет к образованию малонового диальдегида (МДА) и сопряженных диеновых соединений, которые, как известно, обладают как цитотоксическими, так и мутагенными свойствами. Являясь радикальной цепной реакцией,

перекисное окисление липидов распространяется очень быстро, затрагивая большое количество липидных молекул. Белки также могут повреждаться окислительным стрессом, претерпевая конформационные модификации, которые могут определять потерю или нарушение их ферментативной активности.

Даже ДНК может быть повреждена событиями, связанными с окислительным стрессом, наиболее типичным из которых является образование 8-оксо-2'-дезоксигуанозина (8-OHdG); это особенно пагубное повреждение ДНК, которое может быть ответственным как за мутагенез. Это также может вызвать потерю эпигенетической информации, вероятно, из-за нарушения актива метилирования CpG-островков в промоторах генов. Конечно, клетки могут задействовать несколько механизмов, таких как репарация эксцизией оснований (BER) или антиоксиданты, в качестве защитного ответа против повреждений ДНК [23]. Организмы применяют несколько стратегий противодействия воздействию свободных радикалов и окислительного стресса, основанных на ферментативных (например, SOD, CAT и GPx) и неферментативных (например, липоевая кислота, глутатион, β -аргинин и кофермент Q10) антиоксидантах. молекул, причем все они являются эндогенными антиоксидантами. Помимо них, существует несколько экзогенных антиоксидантных молекул животного или растительного происхождения, в основном вводимых с пищей или пищевыми добавками [26, 27, 47, 51,63]. Известно, что свободные кислородные радикалы образуются во всех аэробных организмах в течение как физиологических, так и патологических процессов [54].

1.3. Регистрация хемилюминесценции как метод исследования оксидативных процессов

Излучение света материей может происходить с помощью различных механизмов. Когда это происходит в результате электронно-возбужденного

состояния частиц, образующихся в результате химической реакции, это называется хемилюминесценцией (ХЛ). Хемилюминесценция (ХЛ) — это спонтанное излучение света из электронно-возбужденного состояния частиц, возникающее в результате химической реакции. Природа использует ХЛ (называемую биолюминесценцией) во многих живых организмах, таких как светлячки, грибы, раковины, медузы, черви и бактерии, в основном для коммуникации или защиты. В биологических системах биолюминесценция возникает в результате катализируемых ферментами химических превращений *in situ*, например, люциферин реагирует с кислородом в присутствии фермента люциферазы, магния или ионов кальция и аденозинтрифосфата (АТФ), что приводит к люминесценции. Реакция включает химическую активацию определенных молекул посредством окисления, в результате чего образуется хемивозбужденный промежуточный продукт, который высвобождает свою энергию либо посредством излучения света (прямого), либо путем его передачи, через процесс резонансной передачи энергии хемилюминесценции соседнему флуорофору, который становится возбужденным; этот флуорофор впоследствии высвобождает часть своей энергии, излучая свет [61].

Типичными примерами молекул, которые излучают свет посредством прямой ХЛ, являются люминол и люциферин, два наиболее хорошо изученных люминогенных вещества, которые чувствительны к окислению перекисью водорода (H_2O_2) и анион-радикалом супероксида ($\text{O}_2^{\bullet-}$). Излучаемый свет является результатом изменений в химической структуре образующихся хемивозбужденных промежуточных продуктов. При определенных условиях синглетный кислород также может образовываться в больших количествах как продукт хемивозбуждения пероксидами посредством прямой ХЛ. Синглетный кислород при излучательной релаксации излучает инфракрасный свет с длиной волны 1270 нм, если он ранее не был захвачен, образуя продукты окисления. Кроме того, оксалатные эфиры и производные 1,2-диоксетана служат эффективными

предшественниками как для прямой, так и для непрямой ХЛ, обеспечивая настраиваемые системы излучения в зависимости от фотофизических свойств флуорофора-акцептора энергии, с широким спектром применения в зондировании и диагностике, молекулярной визуализации.

При непрямой ХЛ происходит передача энергии, приводящая к возбуждению флуорофора или фотосенсибилизатора, который в дальнейшем может действовать независимо. В присутствии молекулярного кислорода (O_2) фотосенсибилизатор может генерировать активные формы кислорода (АФК), такие как $O_2^{\bullet-}$, гидроксильные радикалы ($HO^{\bullet}$). Эти виды обладают широким спектром реактивности с биомолекулами и могут быть использованы в фотодинамической терапии (ФДТ) для индукции селективной гибели раковых клеток, а также других химических превращений.

Большинство исследованных систем ХЛ демонстрируют одноцветное свечение типа вспышки, что обычно ограничивает их применение. Весьма желательна долговременная многоцветная ХЛ в водных растворах, особенно в биологических моделях, однако контролируемая химическая процедура по-прежнему остается проблемой. ХЛ — мощный инструмент в аналитической химии, который используется для обнаружения и количественного определения активных форм кислорода и азота, а также многочисленных биологических материалов, таких как ДНК, РНК, белки, микроорганизмы, клетки, металлы и др.

Более того, ХЛ рассматривается как альтернативный вариант фоторасщепления в технологиях доставки лекарств для удовлетворения растущего спроса на эффективные стратегии. Однако в биологических системах необходимо решить несколько вопросов, таких как: (i) проникновение в ткани падающего света, используемого для фотоактивации испускаемых фотонов, представляет собой один из основных барьеров, ограничивающих эффективность визуализации или других приложений, (ii) свет могут рассеиваться или поглощаться другими биомолекулами внутри

клетки, и (iii) интенсивность света обратно пропорциональна квадрату расстояния от источника света, таким образом вызывая слабое взаимодействие между падающим фотоном и молекулой (что приводит к плохим фотохимическим взаимодействиям). ХЛ все больше привлекает внимание исследовательского сообщества, предлагая решения постоянных проблем типичных фотохимических процедур. На сегодняшний день в опубликованных обзорах обсуждается ХЛ, в основном сосредоточенная на хемилюминесцентных молекулах, таких как люминол, ципридин, люциферин и пероксиоксалаты или аналоги, которые можно использовать в сенсорных, воображаемых и терапевтических применениях [3,6].

Среди различных типов люминесценции наиболее типичными являются фотолюминесценция (ФЛ), хемилюминесценция (ХЛ), биолюминесценция (БЛ) и электрохемилюминесценция (ЭХЛ). В ФЛ падающие фотоны являются движущей силой излучения света молекулой. При поглощении фотона определенной энергии молекула фотовозбуждается до электронно-возбужденного состояния. Среди различных путей рассеяния избыточной энергии излучательная релаксация может происходить посредством фосфоресценции ($T\ 1 \rightarrow S\ 0$) или флуоресценции ($S\ 1 \rightarrow S\ 0$).

Электрохемилюминесценция (ЭХЛ) — это производство света возбужденными частицами, который генерируется электрохимически, т. е. в результате реакции переноса электрона на поверхности электрода. На сегодняшний день в литературе можно найти множество обзорных статей и монографий по электрогенерируемой КЛ, описывающих основы, механизмы и приложения.

В биолюминесценции, которая является естественной ХЛ, свет излучается живыми организмами. Различные молекулы люминофоров, ферменты и кофакторы участвуют в более чем 30 различных биолюминесцентных системах, известных на сегодняшний день [29].

Хемилюминесценция-излучение света, сопровождающее реакции с участием свободных радикалов [28]. ХЛ, основанная на окислении люминола

(LN2) (5-амино-2,3-дигидро-1,4фталазиндиона), является одной из наиболее широко изученных и наиболее известных систем ХЛ. Окисление обычно проводят в щелочном растворе с использованием окислителя, такого как пероксид водорода, гипохлорит, перманганат йод. Известно, что система люминола-Н₂О₂ является одной из наиболее эффективных систем ХЛ. Люминол-ХЛ в воде в основном применяется для аналитических целей, особенно для судебной медицины (для определения следовых количеств крови) [22,25,55]. После окисления люминола через обратный интеркомбинационный кроссинг регистрируется сильное синее излучение с $\lambda_{\text{max}} = 425$ нм, которое может длиться от секунды до нескольких часов, в зависимости от количества реагирующих частиц, наличия определенных добавок и процесса «подпитки». Светоизлучению люминола и его производных могут способствовать такие катализаторы, как пероксидаза и гем, которые обычно используются в качестве добавок. Например, пероксидаза хрена (HRP) участвует в образовании свободного радикала люминола двумя молекулами аниона люминола. В водных растворах люминола Н₂О₂ обычно действует как окислитель, вызывая ХЛ. Однако люминол также может каталитически окисляться озоном и гипохлоритами в присутствии различных ионов переходных металлов. Напротив, в апротонных растворителях (например, ДМСО) ХЛ люминола зависит от pH (требуется основные условия) и присутствия О₂. Также ХЛ люминола может быть значительно повышена в присутствии гидроксированных промежуточных продуктов, образующихся в процессах расширенного окисления (АОР) 1,2-дивинилбензола (DVB) на основе персульфата.

1.4. Оксидативные процессы и окислительный стресс при культивировании микроорганизмов

Клеточные формы жизни должны были адаптироваться к потенциальной опасности вредных побочных продуктов кислородного

метаболизма, более известных как активные формы кислорода (АФК). АФК могут повреждать все типы клеточных компонентов, такие как нуклеиновые кислоты, белки и липиды. Две из наиболее широко изученных форм АФК, супероксид (O_2^-) и перекись водорода (H_2O_2), постоянно продуцируются эндогенно путем самоокисления O_2 на ряде как аэробных, так и неаэробных дыхательных флавопротеинов, а также как на недыхательных флавопротеинах [120,124,179]. Чтобы защитить клетки от этих вредных соединений, бактерии выработали ферменты, называемые супероксиддисмутазами (СОД), для превращения O_2^- в O_2 и H_2O_2 , а также каталазы и пероксидазы для удаления H_2O_2 для непрерывной нейтрализации эндогенно продуцируемых АФК [139]. В *Escherichia coli* взаимодействие между эндогенной продукцией и очищающими ферментами приводит к стационарной внутриклеточной концентрации $\sim 0,2$ нМ O_2^- и ~ 50 нМ H_2O_2 [140]. Однако внутренние концентрации могут быть увеличены экзогенными источниками. Мембрана бактерий полупроницаема для H_2O_2 . H_2O_2 могут проникать и потенциально повреждать бактериальные клетки. Источниками H_2O_2 могут быть H_2O_2 , образующийся в результате фотохимии в поверхностных водах [241,240] (в том числе в обычных лабораторных средах [167], кислородно-бескислородные зоны (например, вблизи кишечного эпителия) [142], экскреция из молочнокислых бактерий [72, 173, 225] и, возможно, косвенно из фагоцитов, которые производят супероксид через НАДФН-оксидазу [209]. O_2^- сам по себе не проницаем через цитозольные мембраны при нейтральном pH и поэтому не может проникать в бактериальную клетку, заключенную в фагосомы. Одна из гипотез состоит в том, что O_2^- спонтанно дисмутирует в H_2O_2 , оказывая наблюдаемое токсическое действие на захваченные бактерии в фагоците [142]. Из-за непроницаемости мембран для супероксида необходимо использовать другие методы, кроме простой диффузии, как в лаборатории, так и в природе для увеличения внутриклеточного O_2^- -концентрация в бактериях. Антибиотики с окислительно-восстановительным циклом, такие

как синтетический виологен паракват или встречающиеся в природе феназины и хиноны, способны проникать в бактериальные клетки. Внутри клетки они окисляют окислительно-восстановительные ферменты и производят O_2 , передавая электроны кислороду [95, 143, 158, 229]. Уникальным источником АФК являются фототрофные организмы. Во время фотосинтеза в фотосистеме I образуются как O_2 , так и H_2O_2 [68]. Кроме того, синглетный кислород генерируется в фотосистеме II путем передачи энергии света кислороду [122, 189, 252]. Синглетный кислород, другой важный вид АФК, имеет короткий период полураспада и свободно диффундирует через клетки. Измерения расстояний прохождения синглетного кислорода в течение его жизни показали, что в микроорганизмах 1O_2 теоретически может распределяться по всей бактериальной клетке после того, как он произведен в фотосистемах цитозольной мембраны [214]. У цианобактерий фотосистемам I и II помогают собирающие свет антенноподобные белковые комплексы, называемые фикобилисомами [212]. Тщательное изучение АФК, генерируемых фикобилисомами, выделенными из *Synechocystis* sp. PCC 6803 показало, что имели место фотохимические реакции типа 1 и типа 2 [117], приводящие к образованию O_2 - и 1O_2 соответственно [206]. Хотя этот список источников АФК не включает весь спектр потенциально вредных АФК для бактерий (например, перекисное окисление липидов [133, 234, 235], озон [199], рассмотрение данной проблемы позволит обобщить наше текущее понимание повреждения и реакции окислительного стресса у бактерий.

Окислительный стресс может приводить к повреждению как остова, так и оснований нуклеиновых кислот, как свободных, так и инкорпорированных окисленных аминокислот, а также кофакторов белков. Чтобы смягчить ущерб, наносимый окислительным стрессом клеточной биологии, в бактериях активируются различные регулоны реакции на стресс в зависимости от типа стрессора (рассмотрено в [141]. ОхуR, фактор транскрипции, широко распространенный среди грамотрицательных

бактерий, непосредственно индуцируется H_2O_2 . В большинстве случаев активированная форма OxyR привлекает РНК-полимеразу для транскрипции около тридцати различных генов реакции на стресс [210], но у некоторых бактерий также обнаружены случаи, когда OxyR действует как репрессор, предотвращая транскрипцию этих генов в условиях отсутствия стресса [90, 131, 136, 174, 176, 223]. PerR является фактором транскрипции, альтернативным OxyR, который часто обнаруживается у грамположительных бактерий, таких как *Bacillus subtilis* [144] но сообщается о гомологах PerR у грамотрицательных бактерий, таких как *Campylobacter jejuni* и *Synechocystis* sp. штамм PCC 6803, также были опубликованы [164, 232]. Регулон PerR содержит большую часть тех же генов реакции на стресс, что и регулон OxyR [129]. Оба индуцируют ферменты для очистки H_2O_2 и, следовательно, смягчают дальнейшее окислительное повреждение. Однако только регулон OxyR включает дисульфид-восстанавливающие редоксины для восстановления уже поврежденных белков [141, 210]. Два последовательных фактора транскрипции используются *E. coli* для защиты клеток от угрозы повышенных концентраций O_2 – [79]. SoxR сначала активируется повышением уровня супероксида и индуцирует транскрипцию SoxS. SoxS, в свою очередь, способствует транскрипции защитного регулона, включающего 25 белков, для предотвращения проникновения и накопления редокс-активных молекул в клетке [79, 210]. Организация SoxRS, обнаруженная в *E. coli*, не является универсальной чертой всех бактерий. Фактически, выполнение BLAST-поиска гомологов SoxR и SoxS в бактериальном домене показало, что SoxR ограничивается Proteobacteria и Actinobacteria, в то время как SoxS был обнаружен исключительно в семействе Enterobacteriaceae [100]. Модельная бактериальная система для ответа на фотоокислительный стресс через $1O_2$ представляет собой аноксигенный анаэробный фотосинтетический *Rhodobacter sphaeroides*. У *R. sphaeroides* регулон ответа $1O_2$ активируется посредством каскада транскрипционных факторов. Во-первых, активируется альтернативный

сигма-фактор RpoE. Хотя регулон RpoE сам по себе довольно мал [123], он включает два дополнительных сигма-фактора, RpoH I и RpoH II, которые, в свою очередь, активируют регулон реакции на стресс против синглетного кислорода [193, 192].

Эти защитные системы могут быть очень эффективными, позволяя экспоненциально растущей культуре *E. coli* выживать и преодолевать внеклеточную концентрацию H_2O_2 , которая в 10^6 раз превышает нормальную внутриклеточную концентрацию H_2O_2 , создаваемую эндогенной активностью [251]. Интересно, что цианобактерии, которые первоначально вызвали большое событие окисления [208], гораздо более восприимчивы к H_2O_2 по сравнению с эукариотическими водными микроорганизмами [103, 163, 172, 185]. Эта более высокая восприимчивость к H_2O_2 потенциально может быть использована для борьбы с усилением цветения цианобактерий, вызванным глобальным потеплением [89]. Несмотря на эффективность системы реагирования, повреждение в результате окислительного стресса может быть приобретено чрезвычайно быстро и действует неизбирательно на все клеточные соединения. В частности, мы сосредоточимся на повреждении, которое окислительный стресс наносит на различных этапах расширенной центральной догмы молекулярной биологии бактерий, описывающей поток генетической информации в клетке. Для подбора условий культивирования бактерий могут использоваться те или иные модели оксидативного стресса весьма перспективным для подбора условий культивирования. Исследование влияния оксидативного стресса на физиолого-биохимические характеристики культур бактерий выглядит МО [8]. АФК может принимать участие в антибактериальном действии различных стрессов [1].

1.5. Роль оксидативного стресса в повреждении молекулярных структур микроорганизмов

ДНК не может быть повреждена напрямую ни H_2O_2 , ни O_2 - отдельно [243]. Тем не менее, мутанты, лишенные SOD [114] или каталазы и пероксидазы [198], демонстрируют повышенную скорость мутагенеза. Мутагенный эффект H_2O_2 легко объясняется реакцией Фентона [115]

Образовавшийся гидроксильный радикал недолговечен из-за его высокой реакционной способности. Он может реагировать с большинством биомолекул со скоростью, почти ограниченной диффузией. Когда гидроксильные радикалы образуются в непосредственной близости от ДНК, они могут повреждать как нуклеотидные основания, так и фрагменты дезоксирибозы, что приводит к мутациям и разрывам нитей [101, 135, 111]. Соответственно, Rai et al. обнаружили, что Fe^{2+} предпочтительно связан со специфическими короткими последовательностями ДНК [204], которые, как ранее было обнаружено, преимущественно расщепляются в условиях окислительного стресса [130]. Обычно используемым маркером повреждения окислительного стресса является 8-оксо-7,8-дигидрогуанозин (8-оксо-G), наиболее часто наблюдаемый продукт окисления гуанинового основания. Гуанин имеет более низкий восстановительный потенциал, чем другие основания ДНК. Следовательно, соседние окисленные основания могут быть легко репарированы путем переноса электрона от гуанинового основания к окисленному основанию [86], эффективно перенося сайт окисления на гуанин. 8-охо-G может образовывать пары оснований как с цитозиновым, так и с адениновым основанием, таким образом влияя на кодирующий потенциал ДНК [91]. Кристаллические структуры *Bacillus stearothermophilus* ДНК-полимераза со спариванием 8-охо-G как с родственным, так и с несовпадающим основанием показала, что в этих условиях механизмы корректуры ДНК-полимеразы больше не эффективны [134]. Фактически, Хсу и др. наблюдается инверсия обычного распознавания несоответствия.

Теоретически каноническая пара оснований 8-оксо-G: цитозин вела себя как несоответствие, тогда как пара оснований 8-оксо-G: аденин была признана родственной, что в конечном итоге приводит к трансверсии G в T в реплицированной цепи ДНК.

Воздействие O_2 – на ДНК менее очевидно. В конце концов, наблюдаемое повреждение ДНК снова связано с описанной выше реакцией Фентона. Однако участие супероксида является лишь косвенным. Кейер и др. показали, что бактериальные штаммы с дефицитом СОД имеют повышенные концентрации свободного внутриклеточного железа [148]. Авторы также смогли показать, что O_2 – вырезает железо из семейства дегидратаз, содержащих кластеры $[4Fe-4S]$. Кроме того, было показано, что O_2 – восстанавливает Fe^{3+} до Fe^{2+} , регенерируя двухвалентное железо для непрерывной реакции Фентона [116]. Наконец, O_2 – превращается в H_2O_2 под действием СОД. Увеличение обоих продуктов реакции Фентона приводит к наблюдаемой более высокой скорости мутагенеза. Взяты вместе, эти результаты подчеркивают необходимость бактериальных клеток правильно регулировать свой внутриклеточный пул свободного железа, а также железа, связанного и связанного с макромолекулярными комплексами. Неудивительно, что оба транскрипционных фактора OxyR и PerR индуцируют транскрипцию репрессора импорта железа и ДНК-связывающего мини-ферритина (*dps*, *mrgA* у *B. subtilis*) для минимизации свободного железа в условиях окислительного стресса. Система SoxRS также активирует Fur, но не влияет на Dps. Вместо этого он стимулирует транскрипцию гена эндонуклеазы IV (*nfo*) для репарации ДНК. Сходным образом железосвязывающие белки активируются посредством каскада сигма-факторов RpoE/RpoH I/II у *R. sphaeroides*, в то время как механизмы поглощения Fe^{2+} минимизированы [123, 192].

В отличие от O_2 – синглетный кислород может непосредственно реагировать с ДНК. В отличие от $HO\cdot$, который нацелен на все азотистые основания, 1O_2 взаимодействует исключительно с гуанином, который

содержит конъюгированные, богатые электронами двойные связи [205]. Однако полученный продукт окисления основания снова представляет собой 8-оксо-G [83, 82].

У бактерий генетическая информация, хранящаяся в ДНК, транскрибируется в РНК единственной РНК-полимеразой (РНКП), структурно сходной с эукариотической РНК-полимеразой II [109]. Специфичность экспрессии генов модулируется с помощью различных сигма-факторов (σ) и ряда транскрипционных факторов, таких как вышеупомянутые OxyR, PerR и SoxR/S. Тот факт, что гены ответа на стресс в их регулонах активно транскрибируются и транслируются как ответ на окислительный стресс, свидетельствует о том, что РНКП не выводится из строя в этих условиях. Вышеупомянутые факторы транскрипции сами по себе активируются путем окисления. Например, H₂O₂ окисление OxyR индуцирует образование внутримолекулярной дисульфидной связи, что приводит к значительному конформационному изменению OxyR в ДНК-связывающую форму [93]. PerR, который часто встречается у грамположительных бактерий, обычно действует как репрессор. При окислении он теряет способность связываться с ДНК и, таким образом, позволяет транскрибировать регулоны стресса. Субъединицы PerR имеют два сайта связывания ионов металлов; структурный сайт, который необратимо связывает Zn²⁺ и регуляторный сайт, который обратимо связывает Fe²⁺ [132]. PerR дезактивируется H₂O₂ посредством катализируемого металлами окисления остатков гистидина, которые координируют Fe²⁺-ион в регуляторном сайте, что приводит к диссоциации PerR от ДНК [160,228]. Гомодимер SoxR, который сначала запускается в каскаде SoxRS, активируется посредством окисления кластеров [2Fe-2S] + , когда клетки подвергаются воздействию соединений, циклирующих редокс. Однако остается спорным, вызывает ли O₂ - непосредственное окисление SoxR. Активация альтернативного транскрипционного фактора RpoE у *R. sphaeroides* синглетным кислородом ощущается ChR, антитранскрипционным

фактором в комплексе с RpoE [85]. ChR нацелен на $1O_2$, что приводит к разборке комплекса с высвобождением активного RpoE. Дополнительным доказательством функциональности РНКП при окислительном стрессе является транскрипция малых регуляторных некодирующих РНК (мРНК). Одним из примеров, обнаруженных в *E. coli*, является OxyS, который индуцируется OxyR. Эта РНК длиной 109 нуклеотидов (нт) участвует в регуляции целых 40 генов, а делеция локуса oxyS приводит к более высокой скорости мутагенеза по сравнению с клетками дикого типа при обработке H_2O_2 [67]. Баршишат и др. показали, что OxyS вызывает временную остановку клеточного цикла, что позволяет правильно восстанавливать повреждения ДНК [74]. Остановка клеточного цикла вызвана репрессией nusG при связывании до двух молекул OxyS вокруг сайта связывания рибосомы на мРНК nusG. NusG является кофактором Rho-зависимой транскрипции и вовлечен в супрессию профагов и др. горизонтально приобретенных частей генома [87, 165]. Подавление NusG приводит к повышенной экспрессии профага gac, который кодирует ген kilR. KilR предотвращает правильную сборку FtsZ, кольцевидного белка, необходимого для деления клеток [77], способствуя наблюдаемой остановке клеточного цикла при окислительном стрессе [74]. Было обнаружено, что несколько дополнительных sRNAs индуцируются как $1O_2$, так и O_2 - у *R. sphaeroides*. Подмножество этих sRNAs, как было показано, непосредственно регулируется каскадом сигма-факторов RpoE/RpoH I/II в ответ на фотоокислительный стресс [76]. Более поздние сообщения подтвердили роль этих sRNAs в устойчивости к окислительному стрессу [66, 78, 200].

Обратная роль описана для sРНК IsrR у цианобактерий *Synechocystis* sp. PCC 6803. Было обнаружено, что IsrR регулирует экспрессию индуцируемого дефицитом железа белка A (IsiA), который, как постулируется, затеняет фотосистему II для предотвращения окислительного стресса [246]. Однако в этом случае IsrR не индуцируется окислительным стрессом, а конститутивно транскрибируется, что приводит к снижению

уровней мРНК *isiA*. При окислительном стрессе уровни *IsrR* снижаются, что делает возможным накопление и трансляцию мРНК *isiA* [106].

После короткого выброса H_2O_2 Liu et al. обнаружили, что в *E. coli* уровни 8-охо-G были выше в РНК, чем в ДНК, а это означает, что окислительный стресс оказывает более сильное влияние на РНК [171]. Кроме того, они показали, что высокоструктурированные РНК, такие как тРНК (транспортная РНК) и рРНК (рибосомная РНК), не защищены от окислительного повреждения. Это согласуется с выводами других групп о том, что окислительный стресс обычно ингибирует процесс трансляции [250, 251].

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе объектами исследования были штаммы бактерии *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*, предоставленные Клиникой ФГБОУ ВО БГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ, выделенные из клинического образца. В качестве питательной среды использовался ГРМ-бульон. В таблице 1 представлен дизайн проведенного исследования.

Таблица 1 – Дизайн исследования

Этапы и задачи исследования	Объекты, методы и методические приемы исследования
I. Изучение ХЛ для оценки антиокислительной активности ГРМ-бульона	- Объекты исследования - штаммы <i>Escherichia coli</i> и <i>Pseudomonas aeruginosa</i>; - Культивирование на ГРМ-бульоне. - Индукция оксидативных процессов посредством добавления NaCl; - Измерение железоиндуцированной ХЛ модельных систем [59] с применением люминофора – люминола через 1, 5 и 7 суток; - Оценка потенциала антиокислительной активности как разницы между индуцированными и спонтанными значениями ХЛ.
II. Регистрация ХЛ для оценки спонтанной антиокислительной активности сред при культивировании микроорганизмов различных видов	
III. Регистрация ХЛ для оценки индуцированной антиокислительной активности сред при культивировании микроорганизмов различных видов	
IV. Регистрация ХЛ для оценки антиокислительного потенциала сред при культивировании микроорганизмов различных видов	

2.1 Этапы исследования

На первом этапе исследовалась антиокислительная активность ГРМ-бульона как среды культивирования бактерий, поскольку образцы среды использовались в качестве контроля по данным регистрации ХЛ.

Далее определялась антиокислительная активность сред при культивировании бактерий разных видов. По данным ХЛ оценивался исходный уровень оксидативных процессов в средах культивирования, а также уровень активированный индуктором для определения антиокислительной активности сред в условиях оксидативного стресса.

На следующем этапе исследовался потенциал антиокислительной активности. Антиокислительный потенциал определяется как разница между уровнем активированных и спонтанных процессов и характеризует степень снижения антиокислительной активности при воздействии индуктора (рисунок 1).

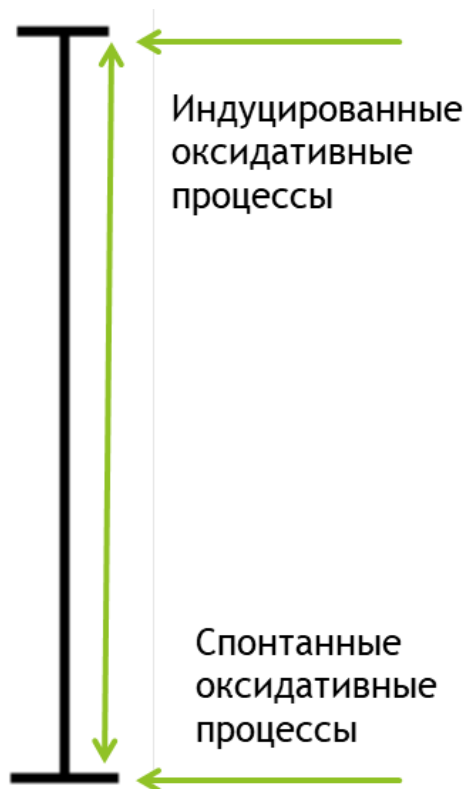


Рисунок 1 – Антиокислительный потенциал сред культивирования микроорганизмов

Чем меньше прирост ХЛ, тем лучше сохраняется антиокислительная активность среды, тем выше антиокислительный потенциал. Для большей демонстративности, антиокислительный потенциал выражался в процентах от спонтанного уровня ХЛ.

С определенной точки зрения можно сказать, что если антиокислительная активность является абсолютным показателем, используемым для сравнения микроорганизмов, то антиокислительный потенциал является относительным показателем, в котором показатели микроорганизма сравниваются сами с собой, а именно до и после активации.

2.2.Методы исследования

2.2.1. Метод культивирования микроорганизмов на питательных средах. Посев - один из стационарных методов культивирования микроорганизмов на питательных средах, применяемый для культурально-морфологической диагностики в медицинской микробиологии, а также для исследования биохимических и биологических свойств в различных биотехнологических целях. Подборка условий культивирования (время, температура, стрессовые факторы и др.).

2.2.2. Оценка регистрации хемилюминесценции питательных сред. Регистрация хемилюминесценции – чувствительный метод, позволяющий оценивать окислительные процессы в различных субстратах, в том числе и в средах культивирования. Принцип измерения основан на детекции квантов света, выделяемых при взаимодействии чрезвычайно активных агентов – свободных радикалов. Добавление люминофоров позволяет усилить выделяемые кванты света. В качестве люминофора был использован люминол - люминол (5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазиндион).

Регистрация ХЛ проводилась на приборе Хемилюминомер-003.

Модельная система для регистрации хемилюминесценции. В качестве модели, в которой оценивалась антиокислительная активность сред культивирования выступал фосфатный буфер (KH_2PO_4 - 20 мМ, KCl - 105 мМ, pH 7,45 ед.), с добавлением цитрата натрия (50 мМ). Инициация цепных реакций образования свободных радикалов, в первую очередь активных форм кислорода проводилось введением раствора сернокислого железа ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 50 мМ).

Регистрация хемилюминесценции

Оценка ХЛ исследуемых образцов проводилась на 1, 5 и 7 сутки. Образцы модельной системы в объеме 0,5 мл. добавляли к 20 мл. модельной системы и помещали в камеру прибора. Измерение образцов описывалось в параметрах кинетики ХЛ. Измерение проводилось 5 минут (рисунок 2).

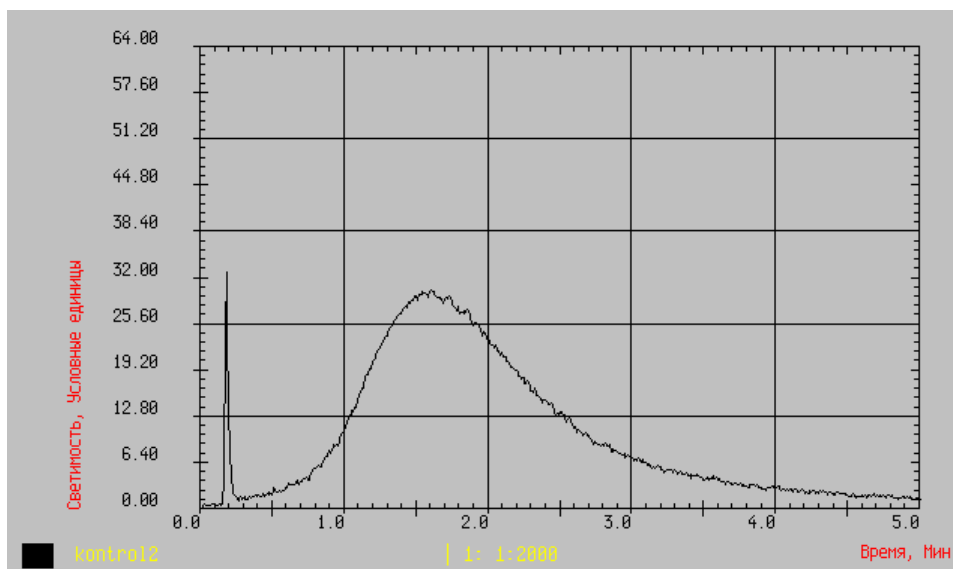


Рисунок 2 – Типичная запись ХЛ модельной системой, в которой проводилось исследование образцов сред культивирования

При оценке результатов анализировались два основных параметра ХЛ: светосумма свечения (S) и амплитуда медленной вспышки (Imax).

Моделирование оксидативного стресса

Для изучения не только спонтанной антиокислительной активности сред, но и их состояния в условиях оксидативного стресса был использован NaCl. NaCl вызывает гиперосмотический стресс и применяется для гиперактивации оксидативных процессов.

2.2.3. Методы обработки данных. Статистическую обработку результатов проводили используя пакет программ «StatisticaforWindows». Параметры ХЛ выражали в условных единицах (одна условная единица -). Для сравнения образцов сред с образцами контроля и между собой применяли критерий Манна- Уитни.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Исследование антиокислительной активности ГРМ-бульона по данным регистрации хемилюминесценции

Для проведения сравнительной оценки образцов сред, в которых культивировались микроорганизмы с контрольными образцами сред, необходимо исследовать уровень антиокислительной активности ГРМ-бульона без микроорганизмов.

Для этого образцы ГРМ-бульона добавлялись в модельную систему, после чего производилось измерение уровня хемилюминесценции. Было установлено, что внесение проб в модельную систему вызывало снижение параметров ХЛ (рисунок 3).

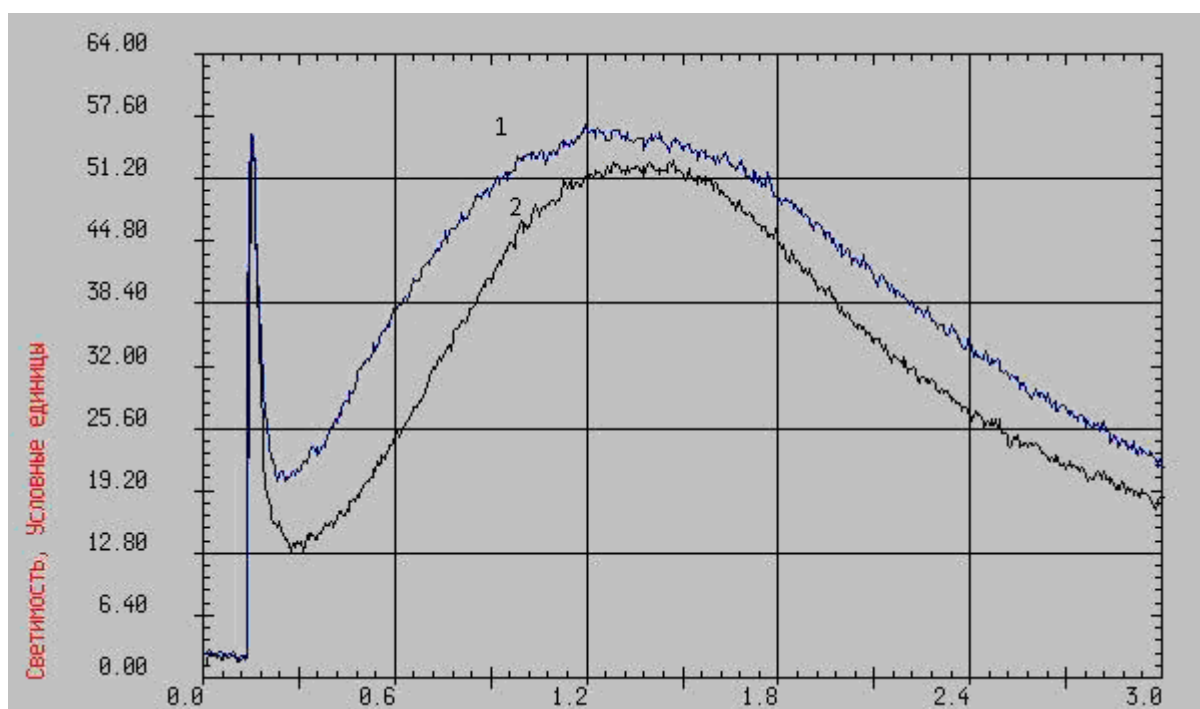


Рисунок 3. Запись хемилюминесценции модельной системы, в которой происходит образование активных форм кислорода: 1 – контроль; 2 – добавление ГРМ-бульона

Данные кривые отражают снижение хемилюминесценции модельной системы с ГРМ – бульоном. Таким образом, сам по себе ГРМ-Бульон обладает антиокислительной активностью – способностью тормозить цепные процессы образования свободных радикалов. Установленные параметры светимости среды взяты в качестве эталона сравнения с образцами сред, в которых культивировались микроорганизмы.

Сравнение с установленными значениями ХЛ контрольной среды со значениями ХЛ сред при культивировании микроорганизмов позволит оценить характер изменений антиокислительной активности, отражающей способность микроорганизмов противодействовать образованию свободных радикалов.

3.2. Исследование спонтанной антиокислительной активности сред, при культивировании бактерий различных видов по данным регистрации хемилюминесценции

Было установлено, что общей тенденцией изменения оксидативных процессов является рост антиокислительной активности сред культивирования. Для оценки способности микроорганизмов противодействовать оксидативным процессам исходного уровня активности сначала была исследована спонтанная хемилюминесценция питательных сред культивирования. Динамика изменения оксидативных процессов носила следующий характер: в первые сутки фактически не было выявлено изменений как в сравнении с контролем, так и между параметрами ХЛ разных микроорганизмов. Вместе с тем, уже на пятые сутки отмечалось снижение оксидативных процессов, то есть усиливалась антиокислительная способность сред культивирования. На седьмые сутки это усиление носило еще более выраженный характер (таблица 2).

Таблица 2 – Параметры спонтанной ХЛ сред культивирования бактерий различных видов

Светосумма (M±m)				
Контроль	Микроорганизм	1 сутки	5 сутки	7 сутки
101,7±0,7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100,2±0,7	74,2±1,0***	35,8±1,5***
	<i>Escherichia coli</i>	102,2±0,9	90,9±0,8***	55,2±1,6***

*Различия статистически значимы по сравнению с контролем,

** Различия статистически значимы между микроорганизмами

Из материалов таблицы можно видеть, что ХЛ подавлялась на 5 и 7 сутки. На 7 сутки подавление имело еще более выраженный характер. Чем сильнее снижались параметры ХЛ, тем более выраженной была антиокислительная активность сред культивирования. При этом было установлено, что среды, в которых культивировался микроорганизм *Pseudomonas aeruginosa* обладали большей антиокислительной активностью, чем среды с *Escherichia coli* (рисунок 2).

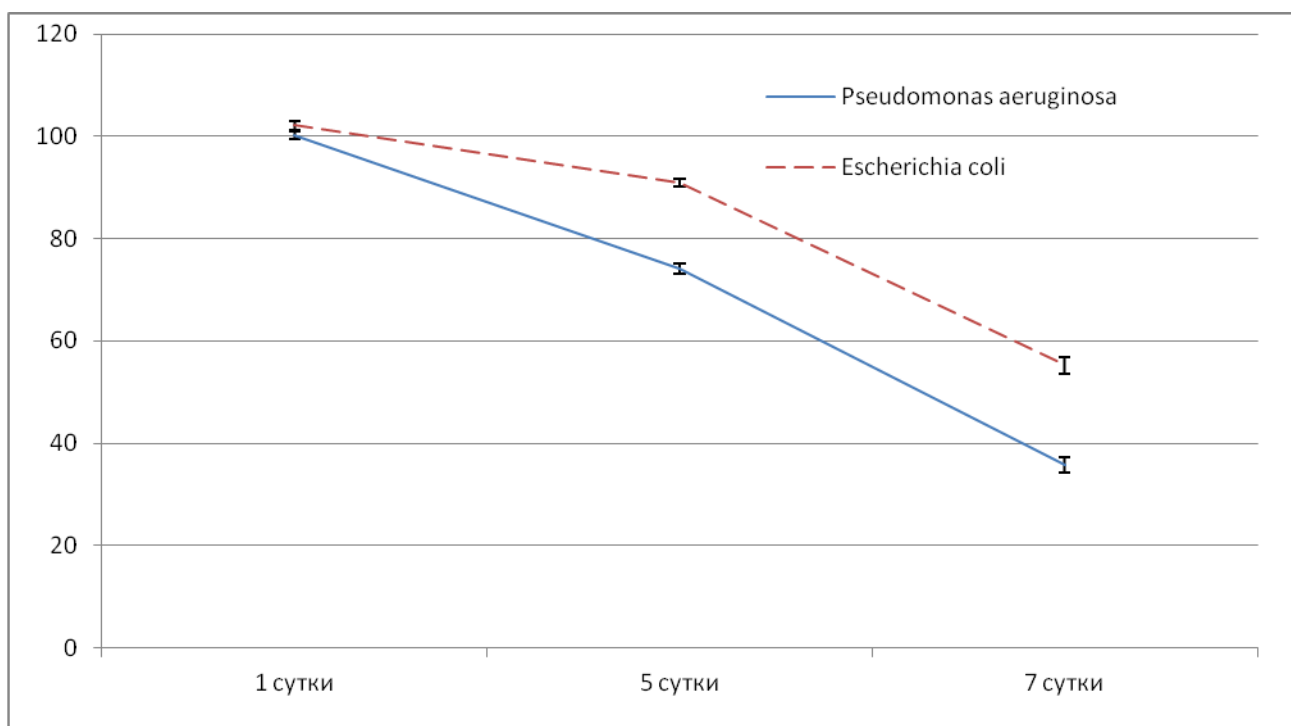


Рисунок 2. Динамика спонтанной антиокислительной активности сред по данным регистрации хемилюминесценции при культивировании бактерий различных видов: *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*

На рисунке хорошо отображаются различия оксидативных процессов, протекающих в средах культивирования разных микроорганизмов. Можно видеть, что на 5 и 7 сутки параметры ХЛ больше снижались в средах с *Pseudomonas aeruginosa*. Различия в ХЛ отражают различия в способности микроорганизмов по-разному регулировать оксидативные процессы. На данном этапе, таким образом, удалось установить, что *Pseudomonas aeruginosa* обладает большей способностью противодействовать окислительным процессам, протекающим в средах культивирования.

3.3. Исследование индуцированной антиокислительной активности сред, при культивировании бактерий различных видов по данным хемилюминесценции

Исследование параметров ХЛ показало, что добавление в среду культивирования индуктора NaCl приводит к усилению ХЛ по сравнению со значениями ХЛ спонтанных оксидативных процессов. Вместе с тем, несмотря на общее увеличение уровня оксидативных процессов, имеется та же закономерность, что и для спонтанных процессов. Значительное усиление антиокислительной активности сред происходило на пятые сутки, на седьмые это усиление носило еще более выраженный характер (таблица 2).

Таблица 2 – Параметры индуцированной ХЛ сред культивирования бактерий различных видов

Светосумма (M±m)				
Контроль	Микроорганизм	1 сутки	5 сутки	7 сутки
101,4±0,6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100,6±1,1	84,5±2,0***	44,1±0,6***
	<i>Escherichia coli</i>	102,2±1,2	98,9±0,9***	58,3±0,8***

*Различия статистически значимы по сравнению с контролем,

** Различия статистически значимы между микроорганизмами

Данные таблицы показывают, что после первых суток значения ХЛ практически не изменились: достоверных статистических различий не было выявлено. На 5 и 7 сутки отмечалось снижение оксидативных процессов, то есть усиливалась антиокислительная способность сред.

При этом, большей антиокислительной активностью здесь также обладали среды с *Pseudomonas aeruginosa*, чем среды среды с *Escherichia coli* (рисунок 3).

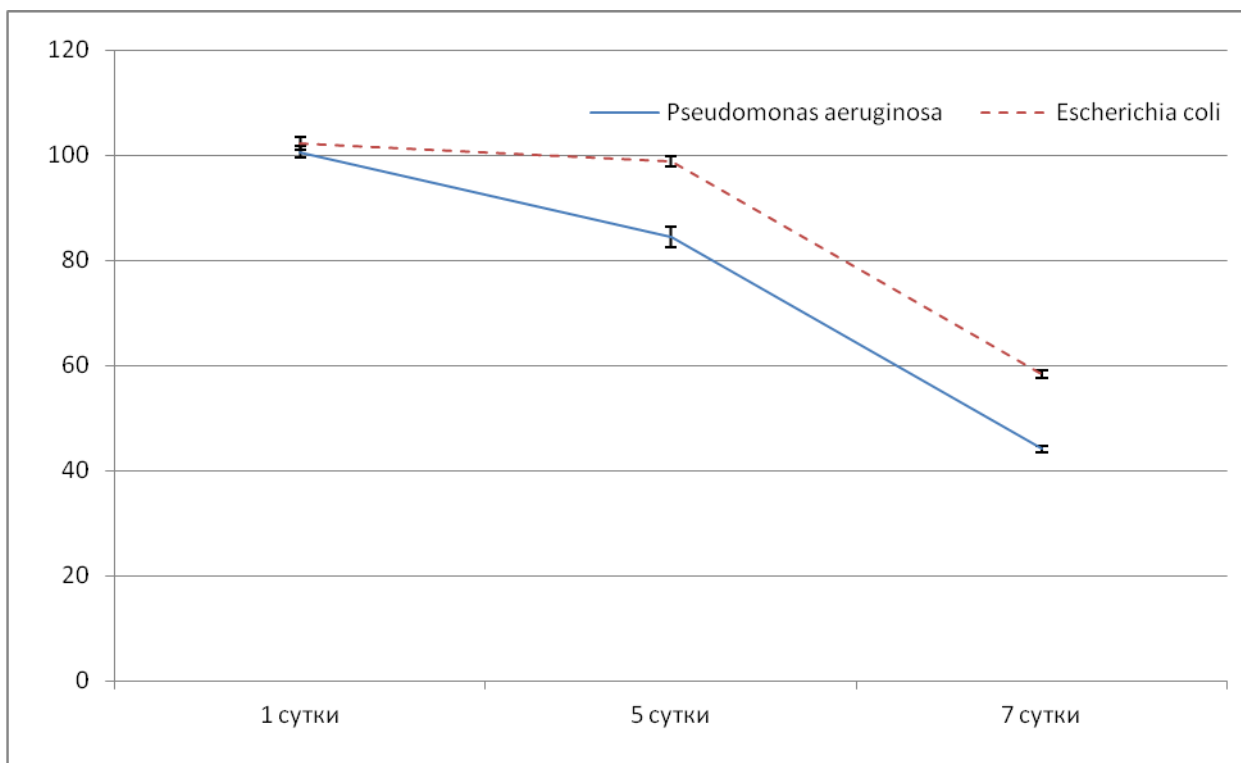


Рисунок 3. Динамика индуцированной антиокислительной активности сред по данным регистрации хемилюминесценции при культивировании бактерий различных видов: *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*

Визуализация параметров ХЛ на рисунке отражает разные характеристики микроорганизмов утилизировать свободные радикалы. Лучшей способностью противодействовать окислительным процессам в условиях их усиления индуктором NaCl обладал микроорганизм *Pseudomonas aeruginosa*. Выявленные закономерности отражают характеризует лучшую приспособленность *Pseudomonas aeruginosa* к окислительному стрессу, и очевидно, обладает более активными антиоксидантными ферментными системами по сравнению с *Escherichia coli*.

3.4. Исследование антиокислительного потенциала сред, при культивировании бактерий различных видов по данным хемилюминесценции

Следующим этапом исследования явилось определение способности среды с микроорганизмом сохранять свою антиокислительную активность под действием индуктора – исследование ее антиокислительного потенциала. Антиокислительный потенциал определяется как разница между индуцированными и спонтанными процессами. Чем больше прирост хемилюминесценции, тем слабее сохраняется антиокислительная активность, тем ниже ее антиокислительный потенциал. Антиокислительный потенциал рассчитывался в процентах от исходного уровня спонтанной антиокислительной активности. Для сред, в которых культивировался микроорганизм *Pseudomonas aeruginosa*, было установлено, что на первые сутки не наблюдалось никаких изменений, а на пятые и седьмые сутки ХЛ возрастала, то есть происходило снижение антиокислительной активности под действием индуктора (рисунок 4).

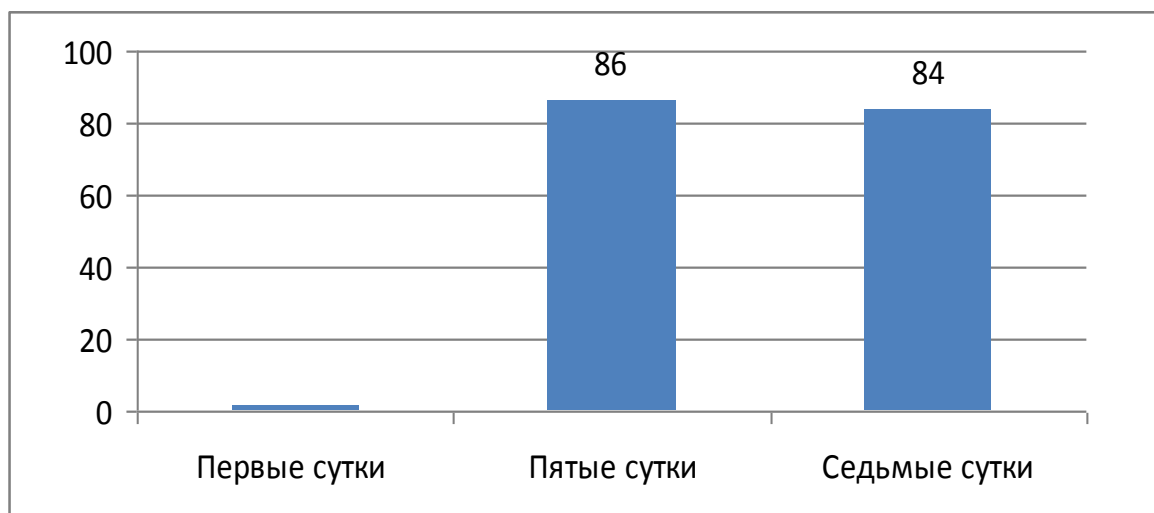


Рисунок 4 – Антиокислительный потенциал сред при культивировании *Pseudomonas aeruginosa*

Как можно видеть из диаграмм рисунка, антиокислительная активность на 5 сутки сохранилась в значении 86 процентов, а на 7 сутки в значении 84

процента от контроля (спонтанных значений). Таким образом, антиокислительный потенциал сохранился в значительной мере даже в условиях окислительного стресса, вызванного добавлением NaCl.

Введение NaCl в среды культивирования микроорганизма *Escherichia coli* приводило также к снижению антиокислительной активности (рисунок 5)

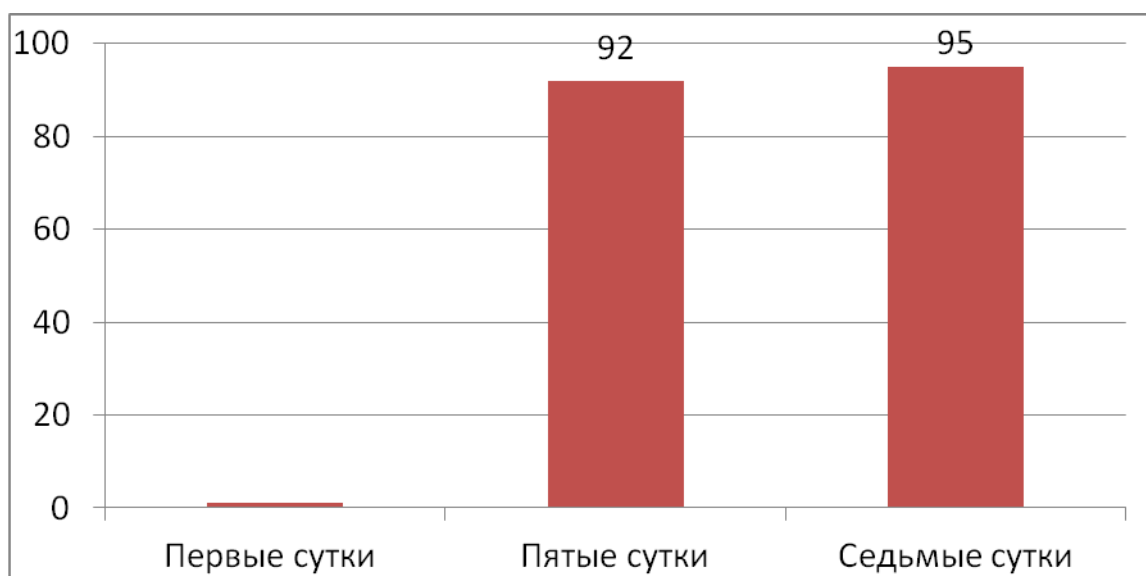


Рисунок 5 – Антиокислительный потенциал сред при культивировании *Escherichia coli*

Антиокислительная активность сохранилась в данном случае в значении 92 процента на пятые сутки и 95 процентов на седьмые сутки. Таким образом, антиокислительный потенциал сред почти не изменился в сравнении с контролем.

Эти данные показывают, что при действии индуктора среды с *Escherichia coli* лучше сохраняются свою антиокислительную активность, то есть имеют более высокий антиокислительный потенциал.

Однако, данный параметр является относительным: он сравнивает параметры сред одного и того же микроорганизма. Абсолютным показателем при этом остаётся антиокислительная активность, значения которой релевантны для сравнения сред от разных микроорганизмов (рисунок 6).

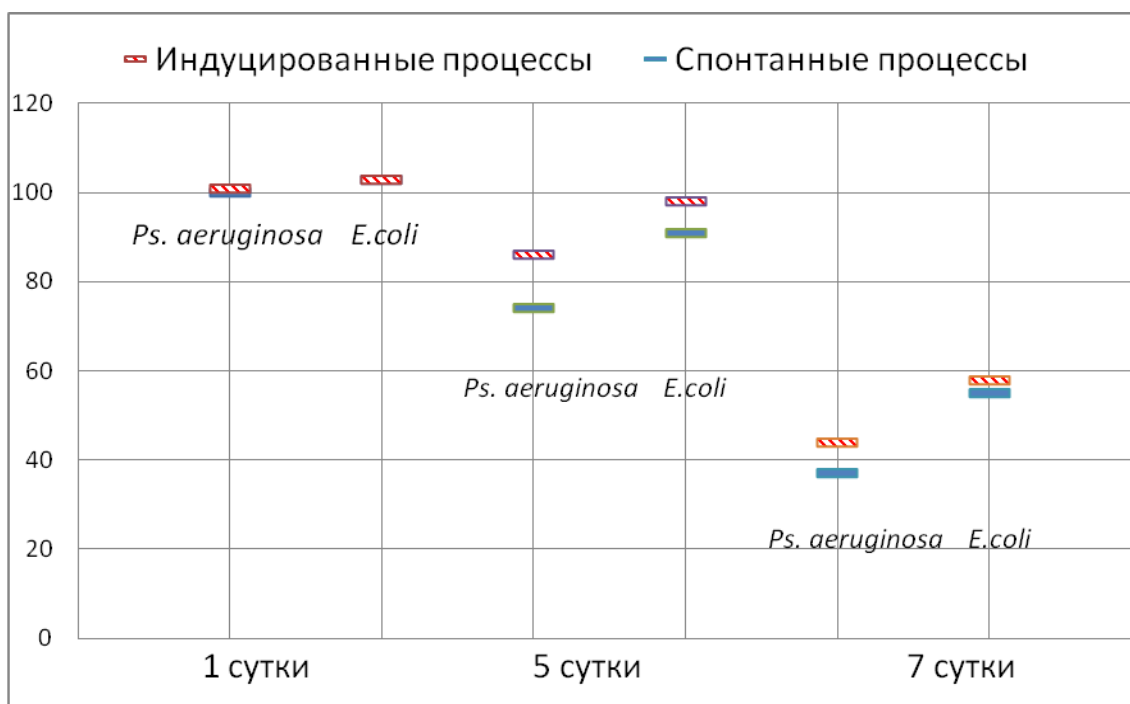


Рисунок 6 – Сравнение самых низких и самых высоких параметров антиокислительной активности сред с *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* по данным ХЛ

Данный рисунок показывает, что значения ХЛ сред с *Pseudomonas aeruginosa* на 5 е и 7 е сутки даже с самой сильной индукцией NaCL не достигали спонтанных значений ХЛ сред с *Escherichia coli*. То есть в любом случае, антиокислительная активность сред с *Pseudomonas aeruginosa* была выше, чем у *Escherichia coli*. Это подтверждает лучшую способность *Pseudomonas aeruginosa* противодействовать образованию свободно-радикальных агентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При выполнении магистерской диссертации были изучены фундаментальные аспекты микробиологии и биофизики и освоены отдельные методы: метод регистрации хемилюминесценции, оценка спонтанной (базальной) и индуцированной антиокислительной активности сред при культивировании бактерий различных видов, проанализированы источники литературы по теме работы, в первую очередь для обзора литературы.

В данной работе была предпринята попытка оценить хемилюминесценцию сред при культивировании бактерий различных видов, для выявления их способности противодействовать образованию свободных радикалов. Регистрация ХЛ позволила оценить антиокислительную активность при культивировании микроорганизмов, отражающую потенциал микроорганизма купировать оксидативные процессы. Исследование проводилось в модельных системах, в которых инициировалось образование одних из наиболее реакционно-способных свободных радикалов – активных форм кислорода (АФК). АФК первыми возникают в свободнорадикальных реакциях и инициируют последующее развитие цепей окисления. Добавление образцов среды культивирования в модельную систему позволило оценить особенности метаболизма бактерий различных видов. Для проведения данной оценки в магистерской диссертации были поставлены следующие задачи:

- 1) Исследование антиокислительной активности ГРМ-бульона как среды культивирования бактерий в качестве контроля исследования по данным регистрации ХЛ
- 2) Определение спонтанной антиокислительной активности сред при культивировании бактерий разных видов по данным ХЛ

3) Сравнительная оценка активированной антиокислительной активности сред при культивировании бактерий разных видов в условиях оксидативного стресса по данным ХЛ.

4) Исследование антиокислительного потенциала сред при культивировании бактерий различных видов, как показателя, отражающего степень снижения антиокислительной активности при воздействии индуктора по данным ХЛ.

5) Сравнение самых низких значений антиокислительной активности сред одного из микроорганизмов, с самыми высокими значениями антиокислительной активности сред другого микроорганизма, для оценки их интегральной способности противодействовать образованию свободно-радикальных агентов, определяемых методом ХЛ.

Образцы сред с бактериями обладали антиокислительной активностью. Однако, на первые сутки уровень антиокислительной активности сред соответствовал уровню контроля. Увеличение антиокислительной активности отмечалась на пятые сутки, на седьмые сутки данное увеличение становилось более выраженным. Данная динамика была характерна как для спонтанных (базальных), так и активированных индуктором NaCl оксидативных процессов.

Сравнительный анализ бактерий различных видов показал, что антиокислительная активность образцов сред с *Pseudomonas aeruginosa* имела более выраженный характер, чем в образцах сред с *Escherichia coli*. Установленная тенденция затрагивала среды, как с индуктором, так и без индуктора оксидативных процессов.

Для оценки сохранять микроорганизмом антиокислительную активность среды был проанализирован так называемый антиокислительный потенциал, определяемый как разница между спонтанными и индуцированными параметрами ХЛ. Было установлено, что *Escherichia coli* лучше сохраняет антиокислительную активность, однако показатель антиокислительного потенциала отражает сравнение характеристик одного и

того же микроорганизма. Поэтому, далее производилось сравнение самых низких значений антиокислительной активности сред одного из микроорганизмов, с самыми высокими значениями антиокислительной активности сред другого микроорганизма. Было показано, что параметры ХЛ сред *Pseudomonas aeruginosa* с самой сильной индукцией NaCL не достигали спонтанных значений ХЛ сред с *Escherichia coli*. То есть в любом случае, антиокислительная активность сред с *Pseudomonas aeruginosa* была выше, чем у *Escherichia coli*. Это подтверждает лучшую способность *Pseudomonas aeruginosa* противодействовать образованию свободно-радикальных агентов.

Проведенные исследования создают предпосылки для практического применения используемых в данной работе методик, а именно разработки основанных на регистрации хемилюминесценции экспресс-методов определения функционально-метаболического состояния бактерий различных видов, отражающего их антиоксидантные способности.

ВЫВОДЫ

1. По данным хемилюминесценции ГРМ-Бульон как среда культивирования обладает антиокислительной активностью – способностью тормозить цепные процессы образования свободных радикалов.
2. Среда с *Pseudomonas aeruginosa* обладала большей спонтанной антиокислительной активностью, чем среда с *Escherichia coli* по данным хемилюминесценции
3. По данным хемилюминесценции среда с *Pseudomonas aeruginosa* обладала большей антиокислительной активностью в условиях оксидативного стресса, обусловленного добавлением индуктора NaCl чем среда с *Escherichia coli*
4. Среда с *Escherichia coli* при добавлении индуктора NaCl меньше теряла антиокислительную активность, то есть обладала большим антиокислительным потенциалом, чем среда с *Pseudomonas aeruginosa*
5. Несмотря на это, даже самые низкие значения антиокислительной активности сред с *Pseudomonas aeruginosa*, вызванные действием индуктора были выше самых высоких значений антиокислительной активности сред (без индуктора) с *Escherichia coli*, что подтверждает лучшую способность *Pseudomonas aeruginosa* противодействовать образованию свободно-радикальных агентов, определяемых методом ХЛ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антропов, А.П. Физико-химическое исследование хемилюминесцентной реакции люминола в организованных молекулярных системах / А.П. Антропов, А.В. Рагуткин, Т.В. Янькова, Н.К. Зайцев // Фундаментальные проблемы радиоэлектронного приборостроения. 2017. Т. 17. № 3. С. 738-741.
2. Асташкина, А.П. Приготовление питательных сред и культивирование микроорганизмов / А.П. Асташкина // Томск : Изд-во Томского политехнического университета, 2015. – 19 с.
3. Ахова, А.В. Формирование сопутствующего окислительного стресса в клетках *Escherichia coli*, подвергнутых действию различных экологических стрессоров / А.В. Ахова П.А. Секацкая, А.Г. Ткаченко // Прикладная биохимия и микробиология. 2019. Т. 55. № 6. С. 535-541.
4. Барсукова, М. Е. Основные методы и подходы к определению маркеров окислительного стресса – органических пероксидных соединений и пероксида водорода / М. Е. Барсукова, Ю И. А. Веселова, Т. Н. Шеховцова // Журнал аналитической химии. 2019. Т. 74. № 5. С. 335-349.
5. Бельская, Л.В. Оценка уровня окислительного стресса по изменению кинетики хемилюминесценции слюны / Л. В. Бельская, Е.А. Сарф // Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2018. Т. 3. № 4. С. 847-852.
6. Бричагина, А.С. Метод хемилюминесценции в изучении процессов липопероксидации при артериальной гипертензии и стрессе / А.С. Бричагина, М.И. Долгих, Л.Р. Колесникова, Л.В. Натяганова // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). 2019. Т. 4. № 1. С. 133-137.
7. Бурова, Л. Г. Изучение антибактериальной активности производных изоалантолактона в отношении *Escherichia coli* / Л. Г. Бурова, И. В. Широких, С. С. Патрушев, Э. Э. Шульц // Научные конференции НГМУ. 2017. № 1. С. 10-13.

8. Бухарин, О.В. Механизмы выживания бактерий / О.В. Бухарин, А.Л. Гинцбург, Ю.М. Романова, Г. И. Эль-Регистан // Москва, 2005.
9. Владимиров, Г. К. Хемилюминесцентная методика определения общей антиоксидантной емкости в лекарственном растительном сырье / Г. К. Владимиров, Е. В. Сергунова, Д. Ю. Измайлов, Ю. А. Владимиров // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2016. № 2. С. 65-72.
10. Владимиров Ю. А., Азизова О. А., Деев А. И., Козлов А. В., Осипов А. Н., Рощупкин Д. И. // - Ред. ВИНТИ, Москва, 1992, С. 3-250.
11. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. // Перекисное окисление липидов в биологических мембранах, Наука, Москва, 1972
12. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии // Биохимия. 2004. Т. 69. Вып. 1. С. 5-7
13. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник РАМН. 1998. № 8. С. 43-51.
14. Владимиров Ю.А., Потапенко А.Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов. М 1984; 123—188.
15. Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В. Лекции по медицинской биофизике. Академкнига, 2007, 432 с.
16. Волкова, П.О. Определение гидропероксидов липидов методом активированной хемилюминесценции / П.О. Волкова, А.В. Алексеев, А.А. Джатдоева, Е.В. Проскурнина, Ю.А. Владимиров // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2016. Т. 57. № 1. С. 41-52.
17. Вяткин, А.В. Напитки антиоксидантной направленности как метод борьбы с окислительным стрессом / А.В. Вяткин, О.В. Чугунова // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. Т. 6. № 4 (19). С. 119-126.
18. Домотенко, Л.В. Этапы развития производства питательных сред в ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии / Л.В. Домотенко, О.В. Полосенко, А.П. Шепелин // Бактериология. 2019. Т. 4. № 4. С. 61-67.

19. Егорова, И.Ю. Микробиологические питательные среды нового формата в ветеринарно-санитарной оценке продуктов питания и сырья животного происхождения / И.Ю. Егорова, В.Е. Никитченко, Д.В. Никитченко, А.Н. Чернышева, Е.О. Рысцова // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2017. Т. 12. № 1. С. 76-85.
20. Еропкин, М. Ю. Культура клеток как модельная система исследования токсичности и скрининга цитопротекторных препаратов / М.Ю. Еропкина, Е. М. Еропкина. - СПб.: МОРСАР, 2003. – 240 с.
21. Завадский, С.П. Физико-химические методы изучения антиоксидантной активности растительного сырья и продуктов его переработки / И.И. Краснюк, Ю.Я. Харитонов, В.В. Тарасов, А.Н. Кузьменко, Д.А. Козин, Н.Б. Саидов, О.В. Олышанская, А.А. Евграфов // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 2 (19). С. 214-221.
22. Закотеев, Ю. А. Хемилюминесценция. Принципы и методики регистрации, оборудование, задачи / Ю. А. Закотеев // Москва 2015 г.
23. Зенков, Н.К. Аутофагия как механизм защиты при окислительном стрессе / Н.К. Зенков, А.В. Чечушков, П.М. Кожин, Г.Г. Мартинович, Н.В. Кандалинцева, Е.Б. Меньщикова // Бюллетень сибирской медицины. 2019. Т. 18. № 2. С. 195-214.
24. Ибрагимова, Д.А. Влияние поверхностно-активных веществ на хемилюминесцентную реакцию люминол–пероксид водорода / Д.А. Ибрагимова, О.М. Камиль, Т.В. Янькова, Н.А. Яштулов, Н.К. Зайцев // Тонкие химические технологии. 2017. Т. 12. № 6. С. 71-76.
25. Камиль, О. М. Обзор влияние условий процесса на хемилюминесценции (хл) в ходе химической реакции люминола - перекисью водорода в присутствии катализатора / О. М. Камиль // Аллея науки. 2017. № 7. С. 207-220.

26. Карпенко, Е. А. Анализ про- и антиоксидантной систем в плазме крови больных аденомой и раком простаты / Е. А. Карпенко // Красноярск : СФУ, 2019.
27. Кичерова, О. А. Вред и польза окислительного стресса / О. А. Кичерова, Л. И. Рейхерт, К. П. Кичерова // Медицинская наука и образование Урала. 2019. Т. 20. № 4 (100). С. 193-196.
28. Колтовой, Н. А. Книга 4. Часть 1. Хемилюминесценция / Колтовой Н. А. // Москва. 2017. 145с.
29. Кулыгин, Д.А. Разновидности люминесценции / Д.А. Кулыгин // 1. Инновационная наука. 2016. № 12-4. С. 36-38.
30. Куликова, Н.А. Влияние антибиотиков на формирование окислительного стресса бактерий / Н.А. Куликова // Международный студенческий научный вестник. 2017. № 4-5. С. 614-615.
31. Кустова, И. А. Разработка технологии новых пищевых продуктов с использованием экстрактов из вторичного виноградного сырья / И. А. Кустова // автореферат дис. кандидата технических наук / Сев.-Кавказ. зон. науч.-исслед. ин-т садоводства и виноградарства. Краснодар, 2016
32. Лаврский, А.Ю. Влияние микроволнового излучения различных частот на рост культур *Escherichia coli* / А.Ю. Лаврский, Н.Ю. Калугина // Вестник Пермского государственного гуманитарно-педагогического университета. Серия № 2. Физико-математические и естественные науки. 2020. № 1. С. 36-44.
33. Литусов, Н.В. Эшерихии / Н.В. Литусов // Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во УГМА, 2016. - 36 с.
34. Лудан, В.В Роль антиоксидантов в жизнедеятельности организма / В.В. Лудан Л. В. Польская // Таврический медико-биологический вестник. 2019. Т. 22. № 3. С. 86-92
35. Лысенко, В.И. Оксидативный стресс как неспецифический фактор патогенеза органных повреждений (обзор литературы и собственных

исследований) / В.И. Лысенко // Медицина неотложных состояний. 2020. Т. 16. № 1. С. 24-35.

36. Мелихова, Л.А. Теоретические основы определения уровня токсичности свободных радикалов с использованием люминесцирующих бактериальных клеток / Л.А. Мелихова Ю.В. Миндолина // Международный студенческий научный вестник. 2017. № 4-3. С. 269-270.

37. Небесная, Е.Ю. Влияние окислительного стресса на регуляцию сосудистого тонуса / Е.Ю. Небесная // Международный студенческий научный вестник. 2017. № 6. С. 165.

38. Николаев, А.А. Свободные радикалы и биоантиоксиданты в репродуктивных процессах (обзор литературы) / А.А. Николаев, П.В. Логинов, Е.Б. Мавлютова, А.А. Белявская // Проблемы репродукции. 2018. Т. 24. № 1. С. 21-26.

39. Павлов, В.Н. Свободнорадикальное окисление и канцерогенез: дискуссионные вопросы/В.Н. Павлов, И.Р. Рахматуллина, Р.Р. Фархутдинов, В.А. Пушкарев, К.В. Данилко, Э.Ф. Галимова, Ю.Л. Баймурзина, И.В. Петрова, К.С. Мочалов// Креативная хирургия и онкология. 2017. Т. 7. № 2. - с. 54-61.

40. Павлов, В.Н. Сравнительный анализ антиоксидантных эффектов коэнзима q и l-карнитина у мужчин с идиопатической патоспермией / В.Н. Павлов, Э.Ф. Галимова, В.А. Катаев, Р.Р. Фархутдинов, К.С. Мочалов, Ю.Л. Баймурзина, Ш.Н. Галимов // Медицинский вестник Башкортостана. 2013. Т. 8. № 6. - С. 161-163.

41. Панкратова, Н.А. Исследование процесса культивирования *E. coli* в реакторе периодического действия / Н.А. Панкратова Д.А. Табакова, Е.В. Гусева // Успехи в химии и химической технологии. 2017. Т. 31. № 9 (190). С. 32-33.

42. Петерса, М. А. Изменение экспрессии антиоксидантных генов при росте *Escherichia coli* на различных источниках углерода и энергии / М. А.

- Петерс, Н. Г. Музыка, А. В. Тюленев, О. Н. Октябрьский, Г. В. Смирнова // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2016. № 4. С. 356-361.
43. Пельтек, С.Е. Стрессовые системы *Escherichia coli* и их роль в реакциях на воздействие терагерцового излучения / С.Е. Пельтек, Е.В. Демидова, В.М. Попик, Т.Н. Горячкова // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т. 20. № 6. С. 876-886.
44. Пискарев, И. М. Инициирование и исследование свободно-радикальных процессов в биологических экспериментах / И. М. Пискарев, И. П. Иванова, А. Г. Самоделкин, М. Н. Иващенко // — Н. Новгород: ФГБОУ ВО Нижегородская ГСХА, 2016. — 140 с.
45. Поляк М.С., Сухаревич В.И., Сухаревич М.Э. Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии. СПб: ЭЛБИ, 2008. - С. 78-96
46. Постникова, Л.Б. Оксидативный стресс, индуцированный антибактериальными препаратами, и антибиотикорезистентность бактерий / Л.Б. Постникова, С.К. Соодаева, И.А. Климанов, Н.И. Кубышева, К.И. Афиногенов, М.В. Глухова, Л.Ю. Никитина // Пульмонология. 2017. Т. 27. № 5. С. 664-671.
47. Проскурнина, Е.В. Свободные радикалы как участники регуляторных и патологических процессов / Е.В. Проскурнина, Ю.А. Владимиров // Сборник: Фундаментальные науки – медицине. Биофизические медицинские технологии. Под редакцией А.И. Григорьева и Ю.А. Владимирова
48. Романцева, Ю.Н. Усовершенствование питательных сред с использованием пантолизата / Ю.Н. Романцева // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2018. № 7 (165). С. 127-132.
49. Рекша, В. Э. Антиоксиданты и свободные радикалы / В. Э. Рекша // В сборнике: ДЕКАДА ЭКОЛОГИИ. материалы XI Международного конкурса. 2017. С. 126-129.
50. Скоморина, Ю.А. Сравнительная оценка дифференциальнодиагностических сред для выделения *Escherichia coli* с целью применения в ветеринарных лабораториях / Ю.А. Скоморина, А.А.

Кремлева, Л.Ш. Ахметова, Т.А. Подольская, А.П. Шепелин, О.В. Полосенко // Бактериология. 2020. Т. 5. № 2. С. 24-32.

51. Ситникова, О. Г. Исследование хемилюминесценции сыворотки крови в присутствии нанокompозита полистирол/бентонит/ магнетит in vitro / О. Г. Ситникова, О. В. Алексеева, М. М. Клычева, А. Н. Родионова, С. Б. Назаров, А. В. Агафонов // Таврический медико-биологический вестник. 2018. Т. 21. № 2-1. С. 83-87.

52. Сутормина, Л.В. Исследование бактериостатической и антиоксидантной активности экстракта левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*) в растущих культурах *Escherichia coli* / Л.В. Сутормина, Г.В. Смирнова, О.Н. Октябрьский // Химия. Экология. Урбанистика. 2020. Т. 2020-2. С. 191-195.

53. Сулейманова, А.Д. Роль минеральных веществ в регуляции процессов свободно-радикального окисления в организме / А.Д. Сулейманова, Е.Н. Любина // Actualscience. 2016. Т. 2. № 1. С. 7-8.

54. Ситникова, О. Г. Исследование общей антиокислительной активности пуповинной крови и лизата клеток сосудов пуповины новорожденных методом хемилюминесценции / О. Г. Ситникова, И. Г. Попова, С. Б. Назаров, Г. Н. Кузьменко, М. М. Клычева // Таврический медико-биологический вестник. 2017. Т. 20. № 2-2. С. 151-153.

55. Тарасенко, Е.А. Определение свободно-радикальной активности твердых веществ с помощью системы химических реагентов / Е.А. Тарасенко, Е.А. Гудкова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. 2016. № 18 (239). С. 104-107.

56. Теселкин, Ю.О. Модифицированный хемилюминесцентный метод определения антиоксидантной способности биологических жидкостей и тканей / Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова, А.Н. Осипов // Биофизика. 2019. Т. 64. № 5. С. 883-892.

57. Фархутдинов, Р.Р. Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминометре ХЛ-003/Р.Р. Фархутдинов, С.И. Тевдорадзе // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ. М., РУДН. 2005. - с.147-154.
58. Фархутдинов, Р.Р. Влияние питательных сред на процессы свободнорадикального окисления/Р.Р. Фархутдинов, И.В. Петрова, К.С. Мочалов, Д.Р. Гизатуллина, К.О. Эксакустиди, А.А. Алимгулова//Биорадикалы и антиоксиданты. 2016. Т. 3. № 4. - с. 18-21.
59. Фархутдинов, Р.Р. Хемилюминесцентные методы исследования свободно-радикального окисления в медицине / Р.Р. Фархутдинов, В.А. Лиховских // Уфа 1995, 90 с.
60. Фурман, Ю. В. Окислительный стресс и антиоксиданты / Ю. В. Фурман, Е. Б. Артюшкова, А. В. Аниканов // Актуальные проблемы социально-гуманитарного и научно-технического знания. 2019. № 1 (17). С. 1-3.
61. Ходос, М.Я. Мониторинг окислительного стресса в биологических объектах / М.Я. Ходос, Я.Е. Казаков, М.Б. Видревич, Х.З. Брайнина // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2017. Т. 14. № 3. С. 262-274.
62. Ходос, М.Я. Окислительный стресс и его роль в патогенезе / М.Я. Ходос, Я.Е. Казаков, М.Б. Видревич, Х.З. Брайнина // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2017. Т. 14. № 4. С. 381-398.
63. Шаповалов, Ю.А. Радикалы в структурах клетки / Ю.А. Шаповалов, П.П. Гладышев, С.Т. Тулеуханов, Е.В. Швецова, Ж.Т. Абдрасулова // Биофизика. 2020. Т. 65. № 4. С. 691-704.
64. Шичкова, Ю.С. Роль путей клеточной сигнализации в развитии последствий окислительного стресса / Ю.С. Шичкова // Научный электронный журнал Меридиан. 2020. № 3 (37). С. 6-8.

65. Шлапакова, Т. И. Активные формы кислорода: участие в клеточных процессах и развитии патологии / Т. И. Шлапакова, Р. К. Костин, Е. Е. Тягунова // Биоорганическая химия. 2020. Т. 46. № 5. С. 466-485.
66. Adnan, F., Weber, L., and Klug, G. (2015). The sRNA SorY Confers Resistance during Photooxidative Stress by Affecting a Metabolite Transporter in *Rhodobacter Sphaeroides*. *RNA Biol.* 12, 569–577. doi:10.1080/15476286.2015.1031948
67. Altuvia, S., Weinstein-Fischer, D., Zhang, A., Postow, L., and Storz, G. (1997). A Small, Stable RNA Induced by Oxidative Stress: Role as a Pleiotropic Regulator and Antimutator. *Cell* 90, 43–53. doi:10.1016/S0092-8674(00)80312-8
68. Asada, K. (1999). The Water-Water Cycle in Chloroplasts: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 601–639. doi:10.1146/annurev.arplant.50.1.601
69. Athavale, S. S., Petrov, A. S., Hsiao, C., Watkins, D., Prickett, C. D., Gossett, J. J., et al. (2012). RNA Folding and Catalysis Mediated by Iron (II). *PLoS One* 7, e38024. doi:10.1371/journal.pone.0038024
70. Bahorun T., Soobrattee M. A., Luximon-Ramma V., Aruoma O. I. Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. *Internet Journal of Medical Update*. 2006;1:1–17.
71. Ban, N., Beckmann, R., Cate, J. H. D., Dinman, J. D., Dragon, F., Ellis, S. R., et al. (2014). A New System for Naming Ribosomal Proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 24, 165–169. doi:10.1016/j.sbi.2014.01.002
72. Bao, X., Yang, J., De Soet, J. J., Liu, H., Gao, X., Van Loveren, C., et al. (2017). Factors Influencing the Competition between *Streptococcus Oligofermentans* and *Streptococcus Mutans* in Dual-Species Biofilms. *Caries Res.* 51, 507–514. doi:10.1159/000479044
73. Barnham, K. J., Masters, C. L., and Bush, A. I. (2004). Neurodegenerative Diseases and Oxidative Stress. *Nat. Rev. Drug Discov.* 3, 205–214. doi:10.1038/nrd1330

74. Barshishat, S., Elgrably- Weiss, M., Edelstein, J., Georg, J., Govindarajan, S., Haviv, M., et al. (2018). OxyS Small RNA Induces Cell Cycle Arrest to Allow DNA Damage Repair. *EMBO J.* 37, 413–426. doi:10.15252/embj.201797651
75. Battesti, A., Majdalani, N., and Gottesman, S. (2011). The RpoS-Mediated General Stress Response in *Escherichia coli*. *Annu. Revie Microbiol.* 65, 189–213. doi:10.1146/annurev-micro-090110-102946
76. Berghoff, B. A., Glaeser, J., Sharma, C. M., Vogel, J., and Klug, G. (2009). Photooxidative Stress-Induced and Abundant Small RNAs in Rhodobacter Sphaeroides. *Mol. Microbiol.* 74, 1497–1512. doi:10.1111/j.1365-2958.2009.06949.x
77. Bi, E., and Lutkenhaus, J. (1991). FtsZ Ring Structure Associated with Division in *Escherichia coli*. *Nature* 354, 161–164. doi:10.1038/354161a0
78. Billenkamp, F., Peng, T., Berghoff, B. A., and Klug, G. (2015). A Cluster of Four Homologous Small RNAs Modulates C1 Metabolism and the Pyruvate Dehydrogenase Complex in Rhodobacter Sphaeroides under Various Stress Conditions. *J. Bacteriol.* 197, 1839–1852. doi:10.1128/JB.02475-14
79. Blanchard, J. L., Wholey, W.-Y., Conlon, E. M., and Pomposiello, P. J. (2007). Rapid Changes in Gene Expression Dynamics in Response to Superoxide Reveal SoxRS-dependent and Independent Transcriptional Networks. *PLoS One* 2, e1186. doi:10.1371/journal.pone.0001186
80. Bray, M. S., Lenz, T. K., Haynes, J. W., Bowman, J. C., Petrov, A. S., Reddi, A. R., et al. (2018). Multiple Prebiotic Metals Mediate Translation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, 12164–12169. doi:10.1073/pnas.1803636115
81. Bullwinkle, T. J., Reynolds, N. M., Raina, M., Moghal, A., Matsa, E., Rajkovic, A., et al. (2014). Oxidation of Cellular Amino Acid Pools Leads to Cytotoxic Mistranslation of the Genetic Code. *Elife* 3, e02501. doi:10.7554/eLife.02501.001
82. Cadet, J., Douki, T., and Ravanat, J. L. (2010). Oxidatively Generated Base Damage to Cellular DNA. *Free Radic. Biol. Med.* 49, 9–21. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.03.025

83. Cadet, J., Ravanat, J.-L., Martinez, G. R., Medeiros, M. H. G., and Di Mascio, P. (2006). Singlet Oxygen Oxidation of Isolated and Cellular DNA: Product Formation and Mechanistic Insights. *Photochem. Photobiol.* 82, 1219–1225. doi:10.1562/2006-06-09-IR-914
84. Caldwell, P., Luk, D. C., Weissbach, H., and Brot, N. (1978). Oxidation of the Methionine Residues of *Escherichia coli* Ribosomal Protein L12 Decreases the Protein's Biological Activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 75, 5349–5352. doi:10.1073/pnas.75.11.5349
85. Campbell, E. A., Greenwell, R., Anthony, J. R., Wang, S., Lim, L., Das, K., et al. (2007). A Conserved Structural Module Regulates Transcriptional Responses to Diverse Stress Signals in Bacteria. *Mol. Cell* 27, 793–805. doi:10.1016/j.molcel.2007.07.009
86. Candeias, L. P., and Steenken, S. (1993). Electron Transfer in Di(deoxy)nucleoside Phosphates in Aqueous Solution: Rapid Migration of Oxidative Damage (Via Adenine) to Guanine. *J. Am. Chem. Soc.* 115, 2437–2440. doi:10.1021/ja00059a044
87. Cardinale, C. J., Washburn, R. S., Tadigotla, V. R., Brown, L. M., Gottesman, M. E., and Nudler, E. (2008). Termination Factor Rho and its Cofactors NusA and NusG Silence Foreign DNA in *E. coli*. *Science* 320, 935–938. doi:10.1126/science.1152763
88. Cech, T. R. (2000). The Ribosome is a Ribozyme. *Science* 289, 878–879. doi:10.1126/science.289.5481.878
89. Chen, C., Wang, Y., Chen, K., Shi, X., and Yang, G. (2021). Using Hydrogen Peroxide to Control Cyanobacterial Blooms: A Mesocosm Study Focused on the Effects of Algal Density in Lake Chaohu, China. *Environ. Pollut.* 272, 115923. doi:10.1016/j.envpol.2020.115923
90. Chen, H., Xu, G., Zhao, Y., Tian, B., Lu, H., Yu, X., et al. (2008). A Novel OxyR Sensor and Regulator of Hydrogen Peroxide Stress with One Cysteine Residue in *Deinococcus Radiodurans*. *PLoS One* 3, e1602. doi:10.1371/journal.pone.0001602

91. Cheng, K. C., Cahill, D. S., Kasai, H., Nishimura, S., and Loeb, L. A. (1992). 8-Hydroxyguanine, an Abundant Form of Oxidative DNA Damage, Causes G $\rightarrow$ T and A $\rightarrow$ C Substitutions. *J. Biol. Chem.* 267, 166–172. doi:10.1016/s0021-9258(18)48474-8
92. Cheng, Z. F., and Deutscher, M. P. (2003). Quality Control of Ribosomal RNA Mediated by Polynucleotide Phosphorylase and RNase R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 6388–6393. doi:10.1073/pnas.1231041100
93. Choi, H. J., Kim, S. J., Mukhopadhyay, P., Cho, S., Woo, J. R., Storz, G., et al. (2001). Structural Basis of the Redox Switch in the OxyR Transcription Factor. *Cell* 105, 103–113. doi:10.1016/S0092-8674(01)00300-2
94. Daglas, M., and Adlard, P. A. (2018). The Involvement of Iron in Traumatic Brain Injury and Neurodegenerative Disease. *Front. Neurosci.* 12, 981. doi:10.3389/fnins.2018.00981
95. De Paiva, S. R., Figueiredo, M. R., Aragão, T. V., and Coelho Kaplan, M. A. (2003). Antimicrobial Activity In Vitro of Plumbagin Isolated from Plumbago Species. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 98, 959–961. doi:10.1590/s0074-02762003000700017
96. Deng, X., Chen, K., Luo, G.-Z., Weng, X., Ji, Q., Zhou, T., et al. (2015). Widespread Occurrence of N 6-methyladenosine in Bacterial mRNA. *Nucleic Acids Res.* 43, 6557–6567. doi:10.1093/nar/gkv596
97. Desnues, B., Cuny, C., Grégori, G., Dukan, S., Aguilaniu, H., and Nyström, T. (2003). Differential Oxidative Damage and Expression of Stress Defence Regulons in Culturable and Non- culturable Escherichia Col Cells. *EMBO Rep.* 4, 400–404. doi:10.1038/sj.embor.embor799
98. Di Mascio, P., Martinez, G. R., Miyamoto, S., Ronsein, G. E., Medeiros, M. H. G., and Cadet, J. (2019). Singlet Molecular Oxygen Reactions with Nucleic Acids, Lipids, and Proteins. *Chem. Rev.* 119, 2043–2086. doi:10.1021/acs.chemrev.8b00554
99. Diaconu, M., Kothe, U., Schlünzen, F., Fischer, N., Harms, J. M., Tonevitsky, A. G., et al. (2005). Structural Basis for the Function of the Ribosomal

- L7/12 Stalk in Factor Binding and GTPase Activation. *Cell* 121, 991–1004. doi:10.1016/j.cell.2005.04.015
100. Dietrich, L. E. P., Teal, T. K., Price-Whelan, A., and Newman, D. K. (2008). Redox-active Antibiotics Control Gene Expression and Community Behavior in Divergent Bacteria. *Science* 321, 1203–1206. doi:10.1126/science.1160619
101. Dizdaroglu, M., Rao, G., Halliwell, B., and Gajewski, E. (1991). Damage to the DNA Bases in Mammalian Chromatin by Hydrogen Peroxide in the Presence of Ferric and Cupric Ions. *Arch. Biochem. Biophys.* 285, 317–324. doi:10.1016/0003-9861(91)90366-Q
102. Dock-Bregeon, A. C., Rees, B., Torres-Larios, A., Bey, G., Caillet, J., and Moras, D. (2004). Achieving Error-free Translation: The Mechanism of Proofreading of Threonyl-tRNA Synthetase at Atomic Resolution. *Mol. Cell* 16, 375–386. doi:10.1016/j.molcel.2004.10.002
103. Drábková, M., Matthijs, H. C. P., Admiraal, W., and Maršálek, B. (2007). Selective Effects of H₂O₂ on Cyanobacterial Photosynthesis. *Photosynthetica* 45, 363–369. doi:10.1007/s11099-007-0062-9
104. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*. 2002;82:47–95. doi: 10.1152/physrev.00018.2001.
105. Drummond, D. A., and Wilke, C. O. (2008). Mistranslation-Induced Protein Misfolding as a Dominant Constraint on Coding-Sequence Evolution. *Cell* 134, 341–352. doi:10.1016/j.cell.2008.05.042
106. Dühning, U., Axmann, I. M., Hess, W. R., and Wilde, A. (2006). An Internal Antisense RNA Regulates Expression of the Photosynthesis Gene *isiA*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 7054–7058. doi:10.1073/pnas.0600927103
107. Dumitrescu, L., Popescu-Olaru, I., Cozma, L., Tulbă, D., Hinescu, M. E., Ceafalan, L. C., et al. (2018). Oxidative Stress and the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Oxid. Med. Cel. Longev.*, 2406594. doi:10.1155/2018/2406594
108. Dusek, P., Roos, P. M., Litwin, T., Schneider, S. A., Flaten, T. P., and Aaseth, J. (2015). The Neurotoxicity of Iron, Copper and Manganese in

- Parkinson's and Wilson's Diseases. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 31, 193–203. doi:10.1016/j.jtemb.2014.05.007
109. Ebright, R. H. (2000). RNA Polymerase: Structural Similarities between Bacterial RNA Polymerase and Eukaryotic RNA Polymerase II. *J. Mol. Biol.* 304, 687–698. doi:10.1006/jmbi.2000.4309
 110. Erlacher, M. D., Chirkova, A., Voegelé, P., and Polacek, N. (2011). Generation of Chemically Engineered Ribosomes for Atomic Mutagenesis Studies on Protein Biosynthesis. *Nat. Protoc.* 6, 580–592. doi:10.1038/nprot.2011.306
 111. Evans, M. D., Dizdaroglu, M., and Cooke, M. S. (2004). Oxidative DNA Damage and Disease: Induction, Repair and Significance. *Mutat. Res. - Rev. Mutat. Res.* 567, 1–61. doi:10.1016/j.mrrev.2003.11.001
 112. Ezraty, B., Gennaris, A., Barras, F., and Collet, J. F. (2017). Oxidative Stress, Protein Damage and Repair in Bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* 15, 385–396. doi:10.1038/nrmicro.2017.26
 113. Fan, Y., Wu, J., Ung, M. H., De Lay, N., Cheng, C., and Ling, J. (2015). Protein Mistranslation Protects Bacteria against Oxidative Stress. *Nucleic Acids Res.* 43, 1740–1748. doi:10.1093/nar/gku1404
 114. Farr, S. B., D'Ari, R., and Touati, D. (1986). Oxygen-dependent Mutagenesis in *Escherichia coli* Lacking Superoxide Dismutase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 83, 8268–8272. doi:10.1073/pnas.83.21.8268
 115. Fenton, H. J. H. (1894). Oxidation of Tartaric Acid in Presence of Iron. *J. Chem. Soc. Trans.* 65, 899–910. doi:10.1039/CT8946500899
 116. Fong, K. L., McCay, P. B., Poyer, J. L., Misra, H. P., and Keele, B. B. (1976). Evidence for Superoxide-dependent Reduction of Fe³⁺ and its Role in Enzyme-Generated Hydroxyl Radical Formation. *Chem. Biol. Interact.* 15, 77–89. doi:10.1016/0009-2797(76)90130-7
 117. Foote, C. S. (1991). Definition of Type I and Type II Photosensitized Oxidation. *Photochem. Photobiol.* 54, 659. doi:10.1111/j.1751-1097.1991.tb02071.x

118. Gao, L., Chen, X., Tian, Y., Yan, Y., Zhan, Y., Zhou, Z., et al. (2020). The Novel ncRNA OsiR Positively Regulates Expression of katE2 and Is Required for Oxidative Stress Tolerance in *Deinococcus Radiodurans*. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 3200. doi:10.3390/ijms21093200
119. Gaudu, P., Moon, N., and Weiss, B. (1997). Regulation of the soxRS Oxidative Stress Regulon: Reversible Oxidation of the Fe-S Centers of SoxR In Vivo. *J. Biol. Chem.* 272, 5082–5086. doi:10.1074/jbc.272.8.5082
120. Geary, L. E., and Meister, A. (1977). On the Mechanism of Glutamine Dependent Reductive Amination of α Ketoglutarate Catalyzed by Glutamate Synthase. *J. Biol. Chem.* 252, 3501–3508. doi:10.1016/s0021-9258(17)40419-4
121. Genestra M. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling.* 2007;19:1807–1819. doi: 10.1016/j.cellsig.2007.04.009.
122. Glaeser, J., Nuss, A. M., Berghoff, B. A., and Klug, G. (2011). Singlet Oxygen Stress in Microorganisms. *Adv. Microb. Physiol.* 58, 141–173. doi:10.1016/B978-0-12-381043-4.00004-0
123. Glaeser, J., Zobawa, M., Lottspeich, F., and Klug, G. (2007). Protein Synthesis Patterns Reveal a Complex Regulatory Response to Singlet Oxygen in *Rhodobacter*. *J. Proteome Res.* 6, 2460–2471. doi:10.1021/pr060624p
124. Grinblat, L., Sreider, C. M., and Stoppani, A. O. (1991). Superoxide Anion Production by Lipoamide Dehydrogenase Redox-Cycling: Effect of Enzyme Modifiers. *Biochem. Int.* 23, 83–92.
125. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions.* 2007;35:1147–1150. doi: 10.1042/BST0351147.
126. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 4th. Oxford, UK: Clarendon Press; 2007.
127. Havelund, J. F., Michael, A., Giessing, B., Hansen, T., Rasmussen, A., Scott, L. G., et al. (2011). Identification of 5-Hydroxycytidine at Position 2501 Concludes Characterization of Modified Nucleotides in *E. coli* 23S rRNA. *J. Mol. Biol.* 411, 529–536. doi:10.1016/j.jmb.2011.06.036

128. Hayakawa, H., Kuwano, M., and Sekiguchi, M. (2001). Specific Binding of 8-Oxoguanine-Containing RNA to Polynucleotide Phosphorylase Protein. *Biochemistry* 40, 9977–9982. doi:10.1021/bi010595q
129. Helmann, J. D., Wu, M. F. W., Gaballa, A., Kobel, P. A., Morshedi, M. M., Fawcett, P., et al. (2003). The Global Transcriptional Response of *Bacillus subtilis* to Peroxide Stress is Coordinated by Three Transcription Factors. *J. Bacteriol.* 185, 243–253. doi:10.1128/JB.185.1.243-253.2003
130. Henle, E. S., Han, Z., Tang, N., Rai, P., Luo, Y., and Linn, S. (1999). Sequence-specific DNA Cleavage by Fe²⁺-Mediated Fenton Reactions Has Possible Biological Implications. *J. Biol. Chem.* 274, 962–971. doi:10.1074/jbc.274.2.962
131. Heo, Y. J., Chung, I. Y., Cho, W. J., Lee, B. Y., Kim, J. H., Choi, K. H., et al. (2010). The Major Catalase Gene (*katA*) of *Pseudomonas aeruginosa* PA14 is under Both Positive and Negative Control of the Global Transactivator OxyR in Response to Hydrogen Peroxide. *J. Bacteriol.* 192, 381–390. doi:10.1128/JB.00980-09
132. Herbig, A. F., and Helmann, J. D. (2001). Roles of Metal ions and Hydrogen Peroxide in Modulating the Interaction of the *Bacillus subtilis* PerR Peroxide Regulon Repressor with Operator DNA. *Mol. Microbiol.* 41, 849–859. doi:10.1046/j.1365-2958.2001.02543.x
133. Hong, Y., Zeng, J., Wang, X., Drlica, K., and Zhao, X. (2019). Post-Stress Bacterial Cell Death Mediated by Reactive Oxygen Species. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116, 10064–10071. doi:10.1073/pnas.1901730116
134. Hsu, G. W., Ober, M., Carell, T., and Beese, L. S. (2004). Error-Prone Replication of Oxidatively Damaged DNA by a High-Fidelity DNA Polymerase. *Nature* 431, 217–221. doi:10.1038/nature02908
135. Hutchinson, F. (1985). Chemical Changes Induced in DNA by Ionizing Radiation. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 32, 115–154. doi:10.1016/S0079-6603(08)60347-5

136. Ieva, R., Roncarati, D., Metruccio, M. M. E., Seib, K. L., Scarlato, V., and Delany, I. (2008). OxyR Tightly Regulates Catalase Expression in *Neisseria Meningitidis* through Both Repression and Activation Mechanisms. *Mol. Microbiol.* 70, 1152–1165. doi:10.1111/j.1365-2958.2008.06468.x
137. Imlay, J. A. (1995). A Metabolic Enzyme that Rapidly Produces Superoxide, Fumarate Reductase of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 270, 19767–19777. doi:10.1016/s0021-9258(18)94548-5
138. Imlay, J. A. (2006). Iron-sulphur Clusters and the Problem with Oxygen. *Mol. Microbiol.* 59, 1073–1082. doi:10.1111/j.1365-2958.2006.05028.x
139. Imlay, J. A. (2008). Cellular Defenses against Superoxide and Hydrogen Peroxide. *Annu. Rev. Biochem.* 77, 755–776. doi:10.1146/annurev.biochem.77.061606.161055
140. Imlay, J. A. (2013). The Molecular Mechanisms and Physiological Consequences of Oxidative Stress: Lessons from a Model Bacterium. *Nat. Publ. Gr.* 11, 443–454. doi:10.1038/nrmicro3032
141. Imlay, J. A. (2015). Transcription Factors that Defend Bacteria against Reactive Oxygen Species. *Annu. Rev. Microbiol.* 69, 93–108. doi:10.1146/annurev-micro-091014-104322
142. Imlay, J. A. (2019). Where in the World Do Bacteria Experience Oxidative Stress? *Environ. Microbiol.* 21, 521–530. doi:10.1111/1462-2920.14445
143. Inbaraj, J. J., and Chignell, C. F. (2004). Cytotoxic Action of Juglone and Plumbagin: A Mechanistic Study Using HaCaT Keratinocytes. *Chem. Res. Toxicol.* 17, 55–62. doi:10.1021/tx034132s
144. Jacquamet, L., Traoré, D. A. K., Ferrer, J. L., Proux, O., Testemale, D., Hazemann, J. L., et al. (2009). Structural Characterization of the Active Form of PerR: Insights into the Metal-Induced Activation of PerR and Fur Proteins for DNA Binding. *Mol. Microbiol.* 73, 20–31. doi:10.1111/j.1365-2958.2009.06753.x
145. Jensen, R. L., Arnbjerg, J., and Ogilby, P. R. (2012). Reaction of Singlet Oxygen with Tryptophan in Proteins: A Pronounced Effect of the Local

- Environment on the Reaction Rate. *J. Am. Chem. Soc.* 134, 9820–9826. doi:10.1021/ja303710m
146. Jeong, S. W., Jung, J. H., Kim, M. K., Seo, H. S., Lim, H. M., and Lim, S. (2016). The Three Catalases in *Deinococcus Radiodurans*: Only Two Show Catalase Activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 469, 443–448. doi:10.1016/j.bbrc.2015.12.017
 147. Johnson, D. C., Dean, D. R., Smith, A. D., and Johnson, M. K. (2005). Structure, Function, and Formation of Biological Iron-Sulfur Clusters. *Annu. Rev. Biochem.* 74, 247–281. doi:10.1146/annurev.biochem.74.082803.133518
 148. Keyer, K., and Imlay, J. A. (1996). Superoxide Accelerates DNA Damage by Elevating Free-Iron Levels. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93, 13635–13640. doi:10.1073/pnas.93.24.13635
 149. Kim, J., Rodriguez, M. E., Guo, M., Kenney, M. E., Oleinick, N. L., and Anderson, V. E. (2008). Oxidative Modification of Cytochrome c by Singlet Oxygen. *Free Radic. Biol. Med.* 44, 1700–1711. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.12.031
 150. Kimura, S., Sakai, Y., Ishiguro, K., and Suzuki, T. (2017). Biogenesis and iron-Dependency of Ribosomal RNA Hydroxylation. *Nucleic Acids Res.* 45, 12974–12986. doi:10.1093/nar/gkx969
 151. Klein, D. J., Moore, P. B., and Steitz, T. A. (2004). The Contribution of Metal ions to the Structural Stability of the Large Ribosomal Subunit. *RNA* 10, 1366–1379. doi:10.1261/rna.7390804
 152. Koch, M., Flür, S., Kreutz, C., Ennifar, E., Micura, R., and Polacek, N. (2015). Role of a Ribosomal RNA Phosphate Oxygen during the EF-G-Triggered GTP Hydrolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, E2561–E2568. doi:10.1073/pnas.1505231112
 153. Kojima, K., Motohashi, K., Morota, T., Oshita, M., Hisabori, T., Hayashi, H., et al. (2009). Regulation of Translation by the Redox State of Elongation Factor G in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Biol. Chem.* 284, 18685–18691. doi:10.1074/jbc.M109.015131

154. Korshunov, S., and Imlay, J. A. (2010). Two Sources of Endogenous Hydrogen Peroxide in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 75, 1389–1401. doi:10.1111/j.1365-2958.2010.07059.x
155. Koteliansky, V. E., Domogatsky, S. P., and Gudkov, A. T. (1978). Dimer State of Protein L7/L12 and EF-G-Dependent Reactions on Ribosomes. *Eur. J. Biochem.* 90, 319–323. doi:10.1111/j.1432-1033.1978.tb12607.x
156. Kumar S., Pandey A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal.* 2013;2013:16. doi: 10.1155/2013/162750.162750
157. Kumar S., Pandey A. K. Free radicals: health implications and their mitigation by herbals. *British Journal of Medicine and Medical Research.* 2015;7:438–457.
158. Kuo, C. F., Mashino, T., and Fridovich, I. (1987). α,β -Dihydroxyisovalerate Dehydratase. A Superoxide-Sensitive Enzyme. *J. Biol. Chem.* 262, 4724–4727. doi:10.1016/S0021-9258(18)61255-4
159. Kussmaul, L., and Hirst, J. (2006). The Mechanism of Superoxide Production by NADH:ubiquinone Oxidoreductase (Complex I) from Bovine Heart Mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 7607–7612. doi:10.1073/pnas.0510977103
160. Lee, J. W., and Helmann, J. D. (2006). The PerR Transcription Factor Senses H₂O₂ by Metal-Catalysed Histidine Oxidation. *Nature* 440, 363–367. doi:10.1038/nature04537
161. Leichert, L. I., Gehrke, F., Gudiseva, H. V., Blackwell, T., Ilbert, M., Walker, A. K., et al. (2008). Quantifying Changes in the Thiol Redox Proteome upon Oxidative Stress In Vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 8197–8202. doi:10.1073/pnas.0707723105
162. Leiva, L. E., Pincheira, A., Elgamal, S., Kienast, S. D., Bravo, V., Leufken, J., et al. (2020). Modulation of *Escherichia coli* Translation by the Specific Inactivation of tRNA^{Gly} under Oxidative Stress. *Front. Genet.* 11, 856. doi:10.3389/fgene.2020.00856

163. Leunert, F., Eckert, W., Paul, A., Gerhardt, V., and Grossart, H.-P. (2014). Phytoplankton Response to UV-Generated Hydrogen Peroxide from Natural Organic Matter. *J. Plankton Res.* 36, 185–197. doi:10.1093/plankt/fbt096
164. Li, H., Singh, A. K., McIntyre, L. M., and Sherman, L. A. (2004). Differential Gene Expression in Response to Hydrogen Peroxide and the Putative PerR Regulon of *Synechocystis* Sp. Strain PCC 6803. *J. Bacteriol.* 186, 3331–3345. doi:10.1128/JB.186.11.3331-3345.2004
165. Li, J., Mason, S. W., and Greenblatt, J. (1993). Elongation Factor NusG Interacts with Termination Factor ρ to Regulate Termination and Antitermination of Transcription. *Genes Dev.* 7, 161–170. doi:10.1101/gad.7.1.161
166. Li, J., Rumancev, C., Lutze, H. V., Schmidt, T. C., Rosenhahn, A., and Schmitz, O. J. (2020). Effect of Ozone Stress on the Intracellular Metabolites from *Cobetia Marina*. *Anal. Bioanal. Chem.* 412, 5853–5861. doi:10.1007/s00216-020-02810-6
167. Li, X., and Imlay, J. A. (2018). Improved Measurements of Scant Hydrogen Peroxide Enable Experiments that Define its Threshold of Toxicity for *Escherichia coli*. *Free Radic. Biol. Med.* 120, 217–227. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.025
168. Li, Z., Reimers, S., Pandit, S., and Deutscher, M. P. (2002). RNA Quality Control: Degradation of Defective Transfer RNA. *EMBO J.* 21, 1132–1138. doi:10.1093/emboj/21.5.1132
169. Ling, J., and Söll, D. (2010). Severe Oxidative Stress Induces Protein Mistranslation through Impairment of an Aminoacyl-tRNA Synthetase Editing Site. *PNAS* 107, 4028–4033. doi:10.1073/pnas.1000315107
170. Ling, J., Reynolds, N., and Ibba, M. (2009). Aminoacyl-tRNA Synthesis and Translational Quality Control. *Annu. Rev. Microbiol.* 63, 61–78. doi:10.1146/annurev.micro.091208.073210
171. Liu, M., Gong, X., Alluri, R. K., Wu, J., Sablo, T., and Li, Z. (2012). Characterization of RNA Damage under Oxidative Stress in *Escherichia coli*. *Biol. Chem.* 393, 123–132. doi:10.1515/hsz-2011-0247

172. Liu, M., Shi, X., Chen, C., Yu, L., and Sun, C. (2017). Responses of Microcystis Colonies of Different Sizes to Hydrogen Peroxide Stress. *Toxins (Basel)*. 9, 306. doi:10.3390/toxins9100306
173. Liu, X., Ramsey, M. M., Chen, X., Koley, D., Whiteley, M., and Bard, A. J. (2011). Real-time Mapping of a Hydrogen Peroxide Concentration Profile across a Polymicrobial Bacterial Biofilm Using Scanning Electrochemical Microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 2668–2673. doi:10.1073/pnas.1018391108
174. Loprasert, S., Fuangthong, M., Whangsuk, W., Atichartpongkul, S., and Mongkolsuk, S. (2000). Molecular and Physiological Analysis of an OxyR-Regulated ahpC Promoter in Xanthomonas Campestris Pv. Phaseoli. *Mol. Microbiol.* 37, 1504–1514. doi:10.1046/j.1365-2958.2000.02107.x
175. Luca, M., Di Mauro, M., Di Mauro, M., and Luca, A. (2019). Gut Microbiota in Alzheimer’s Disease, Depression, and Type 2 Diabetes Mellitus: The Role of Oxidative Stress. *Oxid. Med. Cel. Longev.* 2019, 4730539. doi:10.1155/2019/4730539
176. Luo, L., Qi, M. S., Yao, S. Y., Cheng, H. P., Zhu, J. B., and Yu, G. Q. (2005). Role of oxyR from Sinorhizobium Meliloti in Regulating the Expression of Catalases. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*. 37, 421–428. doi:10.1111/j.1745-7270.2005.00055.x
177. Lyons, T. W., Reinhard, C. T., and Planavsky, N. J. (2014). The Rise of Oxygen in Earth’s Early Ocean and Atmosphere. *Nature* 506, 307–315. doi:10.1038/nature13068
178. Mandava, C. S., Peisker, K., Ederth, J., Kumar, R., Ge, X., Szaflarski, W., et al. (2012). Bacterial Ribosome Requires Multiple L12 Dimers for Efficient Initiation and Elongation of Protein Synthesis Involving IF2 and EF-G. *Nucleic Acids Res.* 40, 2054–2064. doi:10.1093/nar/gkr1031
179. Massey, V., Strickland, S., Mayhew, S. G., Howell, L. G., Engel, P. C., Matthews, R. G., et al. (1969). The Production of Superoxide Anion Radicals in the Reaction of Reduced Flavins and Flavoproteins with Molecular

Oxygen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 36, 891–897. doi:10.1016/0006-291X(69)90287-3

180. McDermott, M., Chiesa, R., Dillon, J., McDermott, M., and Roberts, J. E. (1991). Photooxidation of Specific Residues in α -Crystallin Polypeptides. *Biochemistry* 30, 8653–8660. doi:10.1021/bi00099a023

181. Melnikov, S., Ben-Shem, A., Garreau De Loubresse, N., Jenner, L., Yusupova, G., and Yusupov, M. (2012). One Core, Two Shells: Bacterial and Eukaryotic Ribosomes. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 19, 560–567. doi:10.1038/nsmb.2313

182. Messner, K. R., and Imlay, J. A. (1999). The Identification of Primary Sites of Superoxide and Hydrogen Peroxide Formation in the Aerobic Respiratory Chain and Sulfite Reductase Complex of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 274, 10119–10128. doi:10.1074/jbc.274.15.10119

183. Michaeli, A., and Feitelson, J. (1994). Reactivity of Singlet Oxygen toward Amino Acids and Peptides. *Photochem. Photobiol.* 59, 284–289. doi:10.1111/j.1751-1097.1994.tb05035.x

184. Michaeli, A., and Feitelson, J. (1995). Reactivity of Singlet Oxygen toward Large Peptides. *Photochem. Photobiol.* 61, 255–260. doi:10.1111/j.1751-1097.1995.tb03968.x

185. Mikula, P., Zezulka, S., Jancula, D., and Marsalek, B. (2012). Metabolic Activity and Membrane Integrity Changes in *Microcystis Aeruginosa* – New Findings on Hydrogen Peroxide Toxicity in Cyanobacteria. *Eur. J. Phycol.* 47, 195–206. doi:10.1080/09670262.2012.687144

186. Mostertz, J., and Hecker, M. (2003). Patterns of Protein Carbonylation Following Oxidative Stress in Wild-type and sigB *Bacillus Subtilis* Cells. *Mol. Genet. Genomics* 269, 640–648. doi:10.1007/s00438-003-0877-4

187. Nagano, T., Yutthanasirikul, R., Hihara, Y., Hisabori, T., Kanamori, T., Takeuchi, N., et al. (2015). Oxidation of Translation Factor EF-G Transiently Retards the Translational Elongation Cycle in *Escherichia coli*. *J. Biochem.* 158, 165–172. doi:10.1093/jb/mvv026

188. Nie, W., Wang, S., He, R., Xu, Q., Wang, P., Wu, Y., et al. (2020). A-to-I RNA Editing in Bacteria Increases Pathogenicity and Tolerance to Oxidative Stress. *PLOS Pathog.* 16, e1008740. doi:10.1371/journal.ppat.1008740
189. Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., and Murata, N. (2006). A New Paradigm for the Action of Reactive Oxygen Species in the Photoinhibition of Photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* 1757, 742–749. doi:10.1016/j.bbabi.2006.05.013
190. Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., Yamamoto, H., Hayashi, H., and Murata, N. (2004). Singlet Oxygen Inhibits the Repair of Photosystem II by Suppressing the Translation Elongation of the D1 Protein in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochemistry* 43, 11321–11330. doi:10.1021/bi036178q
191. Nishiyama, Y., Yamamoto, H., Allakhverdiev, S. I., Inaba, M., Yokota, A., and Murata, N. (2001). Oxidative Stress Inhibits the Repair of Photodamage to the Photosynthetic Machinery. *EMBO J.* 20, 5587–5594. doi:10.1093/emboj/20.20.5587
192. Nuss, A. M., Glaeser, J., and Klug, G. (2009). RpoHII Activates Oxidative-Stress Defense Systems and is Controlled by RpoE in the Singlet Oxygen-dependent Response in *Rhodobacter Sphaeroides*. *J. Bacteriol.* 91, 220–230. doi:10.1128/JB.00925-08
193. Nuss, A. M., Glaeser, J., Berghoff, B. A., and Klug, G. (2010). Overlapping Alternative Sigma Factor Regulons in the Response to Singlet Oxygen in *Rhodobacter Sphaeroides*. *J. Bacteriol.* 192, 2613–2623. doi:10.1128/JB.01605-09
194. Nyström, T. (2005). Role of Oxidative Carbonylation in Protein Quality Control and Senescence. *EMBO J.* 24, 1311–1317. doi:10.1038/sj.emboj.7600599
195. Orgel, L. E. (1998). The Origin of Life-a Review of Facts and Speculations. *Trends Biochem. Sci.* 23, 491–495. doi:10.1016/S0968-0004(98)01300-0
196. Pacher P., Beckman J. S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews.* 2007;87:315–424. doi:10.1152/physrev.00029.2006.

197. Paiva, C. N., and Bozza, M. T. (2014). Are Reactive Oxygen Species Always Detrimental to Pathogens? *Antioxid. Redox Signal* 20, 1000–1034. doi:10.1089/ars.2013.5447
198. Park, S., You, X., and Imlay, J. A. (2005). Substantial DNA Damage from Submicromolar Intracellular Hydrogen Peroxide Detected in Hpx- Mutants of *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 9317–9322. doi:10.1073/pnas.0502051102
199. Patil, S., Valdramidis, V. P., Karatzas, K. A. G., Cullen, P. J., and Bourke, P. (2011). Assessing the Microbial Oxidative Stress Mechanism of Ozone Treatment through the Responses of *Escherichia coli* Mutants. *J. Appl. Microbiol.* 111, 136–144. doi:10.1111/j.1365-2672.2011.05021.x
200. Peng, T., Berghoff, B. A., Oh, J. Il., Weber, L., Schirmer, J., Schwarz, J., et al. (2016). Regulation of a Polyamine Transporter by the Conserved 3' UTR-Derived sRNA SorX Confers Resistance to Singlet Oxygen and Organic Hydroperoxides in *Rhodobacter Sphaeroides*. *RNA Biol.* 13, 988–999. doi:10.1080/15476286.2016.1212152
201. Polacek, N., and Barta, A. (1998). Metal ion Probing of rRNAs: Evidence for Evolutionarily Conserved Divalent Cation Binding Pockets. *RNA* 4, 1282–1294. doi:10.1017/S1355838298980347
202. PubMed Abstract | CrossRef Full Text | Google Scholar
203. Pulk, A., Liiv, A., Peil, L., Maiväli, Ü., Nierhaus, K., and Remme, J. (2010). Ribosome Reactivation by Replacement of Damaged Proteins. *Mol. Microbiol.* 75, 801–814. doi:10.1111/j.1365-2958.2009.07002.x
204. Rai, P., Cole, T. D., Wemmer, D. E., and Linn, S. (2001). Localization of Fe²⁺ at an RTGR Sequence within a DNA Duplex Explains Preferential Cleavage by Fe²⁺ and H₂O₂. *J. Mol. Biol.* 312, 1089–1101. doi:10.1006/jmbi.2001.5010
205. Ravanat, J.-L., Saint-Pierre, C., Di Mascio, P., Martinez, G. R., Medeiros, M. H. G., and Cadet, J. (2001). Damage to Isolated DNA Mediated by Singlet Oxygen. *Helv. Chim. Acta* 84, 3702–3709. doi:10.1002/1522-2675(20011219)84:12<3702::AID-HLCA3702>3.0

206. Rinalducci, S., Pedersen, J. Z., and Zolla, L. (2008). Generation of Reactive Oxygen Species upon Strong Visible Light Irradiation of Isolated Phycobilisomes from *Synechocystis* PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* 1777, 417–424. doi:10.1016/j.bbabi.2008.02.005
207. Rodnina, M. V. (2018). Translation in Prokaryotes. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 10, 1–22. doi:10.1101/cshperspect.a032664
208. Schirrmeister, B. E., Gugger, M., and Donoghue, P. C. J. (2015). Cyanobacteria and the Great Oxidation Event: Evidence from Genes and Fossils. *Palaeontol.* 58, 769–785. doi:10.1111/pala.12178
209. Segal, A. W. (2008). The Function of the NADPH Oxidase of Phagocytes and its Relationship to Other NOXs in Plants, Invertebrates, and Mammals. *Int. J. Biochem. Cel Biol.* 40, 604–618. doi:10.1016/j.biocel.2007.10.003
210. Seo, S. W., Kim, D., Szubin, R., and Palsson, B. O. (2015). Genome-wide Reconstruction of OxyR and SoxRS Transcriptional Regulatory Networks under Oxidative Stress in *Escherichia coli* K-12 MG1655. *Cell Rep.* 12, 1289–1299. doi:10.1016/j.celrep.2015.07.043
211. Simms, C. L., Hudson, B. H., Mosior, J. W., Rangwala, A. S., and Zaher, H. S. (2014). An Active Role for the Ribosome in Determining the Fate of Oxidized mRNA. *Cell Rep.* 9, 1256–1264. doi:10.1016/j.celrep.2014.10.042
212. Singh, N. K., Sonani, R. R., Prasad Rastogi, R., and Madamwar, D. (2015). The Phycobilisomes: An Early Requisite for Efficient Photosynthesis in Cyanobacteria. *EXCLI J.* 14, 268–289. doi:10.17179/excli2014-723
213. Sjöberg, B., Foley, S., Staicu, A., Pascu, A., Pascu, M., and Enescu, M. (2016). Protein Reactivity with Singlet Oxygen: Influence of the Solvent Exposure of the Reactive Amino Acid Residues. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 159, 106–110. doi:10.1016/j.jphotobiol.2016.03.036
214. Skovsen, E., Snyder, J. W., Lambert, J. D. C., and Ogilby, P. R. (2005). Lifetime and Diffusion of Singlet Oxygen in a Cell. *J. Phys. Chem. B* 109, 8570–8573. doi:10.1021/jp051163i

215. Smethurst, D. G. J., Kovalev, N., McKenzie, E. R., Pestov, D. G., and Shcherbik, N. (2020). Iron-Mediated Degradation of Ribosomes under Oxidative Stress is Attenuated by Manganese. *J. Biol. Chem.* 295, 015025. doi:10.1074/jbc.ra120.015025
216. Stadtman, E. R., and Levine, R. L. (2003). Free Radical-Mediated Oxidation of Free Amino Acids and Amino Acid Residues in Proteins. *Amino Acids* 25, 207–218. doi:10.1007/s00726-003-0011-2
217. Steele-Mortimer, O. (2008). The Salmonella-Containing Vacuole—Moving with the Times. *Curr. Opin. Microbiol.* 11, 38–45. doi:10.1016/j.mib.2008.01.002
218. Steiner, R. E., Kyle, A. M., and Ibba, M. (2019). Oxidation of Phenylalanyl-tRNA Synthetase Positively Regulates Translational Quality Control. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116, 10058–10063. doi:10.1073/pnas.1901634116
219. Sun, C., Jora, M., Solivio, B., Limbach, P. A., and Addepalli, B. (2018). The Effects of Ultraviolet Radiation on Nucleoside Modifications in RNA. *ACS Chem. Biol.* 13, 567–572. doi:10.1021/acscchembio.7b00898
220. Svenningsen, S. L., Kongstad, M., Stenum, T. S., Muñoz-Gómez, A. J., and Sørensen, M. A. (2017). Transfer RNA is Highly Unstable during Early Amino Acid Starvation in *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res.* 45, 793–804. doi:10.1093/nar/gkw1169
221. Taddei, F., Hayakawa, H., Bouton, M. F., Cirinesi, A. M., Matic, I., Sekiguchi, M., et al. (1997). Counteraction by MutT Protein of Transcriptional Errors Caused by Oxidative Damage. *Science* 278, 128–130. doi:10.1126/science.278.5335.128
222. Tamarit, J., Cabiscol, E., and Ros, J. (1998). Identification of the Major Oxidatively Damaged Proteins in *Escherichia coli* Cells Exposed to Oxidative Stress. *J. Biol. Chem.* 273, 3027–3032. doi:10.1074/jbc.273.5.3027
223. Teramoto, H., Inui, M., and Yukawa, H. (2013). OxyR Acts as a Transcriptional Repressor of Hydrogen Peroxide-Inducible Antioxidant Genes in *Corynebacterium Glutamicum* R. *FEBS J.* 280, 3298–3312. doi:10.1111/febs.12312

224. Thomas, E. N., Simms, C. L., Keedy, H. E., and Zaher, H. S. (2019). Insights into the Base-Pairing Preferences of 8-oxoguanosine on the Ribosome. *Nucleic Acids Res.* 47, 9857–9870. doi:10.1093/nar/gkz701
225. Tong, H., Chen, W., Merritt, J., Qi, F., Shi, W., and Dong, X. (2007). Streptococcus Oligofermentans Inhibits Streptococcus Mutans through Conversion of Lactic Acid into Inhibitory H₂O₂: A Possible Counteroffensive Strategy for Interspecies Competition. *Mol. Microbiol.* 63, 872–880. doi:10.1111/j.1365-2958.2006.05546.x
226. Torres, A. G., Piñeyro, D., Filonava, L., Stracker, T. H., Batlle, E., and Ribas De Pouplana, L. (2014). A-to-I Editing on tRNAs: Biochemical, Biological and Evolutionary Implications. *FEBS Lett.* 588, 4279–4286. doi:10.1016/j.febslet.2014.09.025
227. Torres, M. A., Jones, J. D. G., and Dangel, J. L. (2006). Reactive Oxygen Species Signaling in Response to Pathogens. *Plant Physiol.* 141, 373–378. doi:10.1104/pp.106.079467
228. Traoré, D. A. K., Ghazouani, A. El., Jacquamet, L., Borel, F., Ferrer, J. L., Lascoux, D., et al. (2009). Structural and Functional Characterization of 2-oxo-Histidine in Oxidized PerR Protein. *Nat. Chem. Biol.* 5, 53–59. doi:10.1038/nchembio.133
229. Turner, J. M., and Messenger, A. J. (1986). Occurrence, Biochemistry and Physiology of Phenazine Pigment Production. *Adv. Microb. Physiol.* 27, 211–275. doi:10.1016/s0065-2911(08)60306-9
230. Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C. J., Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 2004;266:37–56.
231. Valko M., Leibfritz D., Moncola J., Cronin M. D., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 2007;39:44–84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.

232. Van Vliet, A. H. M., Baillon, M. L. A., Penn, C. W., and Ketley, J. M. (1999). Campylobacter Jejuni Contains Two Fur Homologs: Characterization of Iron-Responsive Regulation of Peroxide Stress Defense Genes by the PerR Repressor. *J. Bacteriol.* 181, 6371–6376. doi:10.1128/jb.181.20.6371-6376.1999
233. Vargas-Blanco, D. A., and Shell, S. S. (2020). Regulation of mRNA Stability during Bacterial Stress Responses. *Front. Microbiol.* 11, 2111. doi:10.3389/fmicb.2020.02111
234. Wang, G., Conover, R. C., Benoit, S., Olczak, A. A., Olson, J. W., Johnson, M. K., et al. (2004). Role of a Bacterial Organic Hydroperoxide Detoxification System in Preventing Catalase Inactivation. *J. Biol. Chem.* 279, 51908–51914. doi:10.1074/jbc.M408450200
235. Wang, G., Hong, Y., Johnson, M. K., and Maier, R. J. (2006). Lipid Peroxidation as a Source of Oxidative Damage in *Helicobacter pylori*: Protective Roles of Peroxiredoxins. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 1760, 1596–1603. doi:10.1016/j.bbagen.2006.05.005
236. Wang, X., Lu, Z., Gomez, A., Hon, G. C., Yue, Y., Han, D., et al. (2014). N 6-methyladenosine-dependent Regulation of Messenger RNA Stability. *Nature* 505, 117–120. doi:10.1038/nature12730
237. Ward, R. J., Zucca, F. A., Duyn, J. H., Crichton, R. R., and Zecca, L. (2014). The Role of Iron in Brain Ageing and Neurodegenerative Disorders. *Lancet Neurol.* 13, 1045–1060. doi:10.1016/S1474-4422(14)70117-6
238. Willcox J. K., Ash S. L., Catignani G. L. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2004;44:275–295. doi: 10.1080/10408690490468489.
239. Willi, J., Küpfer, P., Evéquoz, D., Fernandez, G., Katz, A., Leumann, C., et al. (2018). Oxidative Stress Damages rRNA inside the Ribosome and Differentially Affects the Catalytic Center. *Nucleic Acids Res.* 46, 1945–1957. doi:10.1093/nar/gkx1308
240. Wilson, C. L., Hinman, N. W., and Sheridan, R. P. (2000b). Hydrogen Peroxide Formation and Decay in Iron-Rich Geothermal Waters: The Relative

- Roles of Abiotic and Biotic Mechanisms. *Photochem. Photobiol.* 71, 699. doi:10.1562/0031-8655(2000)071<0691:hpfadi>2.0.co.2
241. Wilson, C. L., Hinman, N. W., Cooper, W. J., and Brown, C. F. (2000a). Hydrogen Peroxide Cycling in Surface Geothermal Waters of Yellowstone National Park. *Environ. Sci. Technol.* 34, 2655–2662. doi:10.1021/es9906397
242. Winter, D., Polacek, N., Halama, I., Streicher, B., and Barta, A. (1997). Lead-Catalysed Specific Cleavage of Ribosomal RNAs. *Nucleic Acids Res.* 25, 1817–1824. doi:10.1093/nar/25.9.1817
243. Winterbourn, C. C. (2013). The biological chemistry of hydrogen peroxide. *Meth. Enzymol.* 528, 3–25. doi:10.1016/B978-0-12-405881-1.00001-X
244. Wu, J., Fan, Y., and Ling, J. (2014). Mechanism of Oxidant-Induced Mistranslation by Threonyl-tRNA Synthetase. *Nucleic Acids Res.* 42, 6523–6531. doi:10.1093/nar/gku271
245. Wu, J., Jiang, Z., Liu, M., Gong, X., Wu, S., Burns, C. M., et al. (2009). Polynucleotide Phosphorylase Protects *Escherichia coli* against Oxidative Stress. *Biochemistry* 48, 2012–2020. doi:10.1021/bi801752p
246. Yeremenko, N., Kouřil, R., Ihalainen, J. A., D’Haene, S., Van Oosterwijk, N., Andrizhiyevskaya, E. G., et al. (2004). Supramolecular Organization and Dual Function of the IsiA Chlorophyll-Binding Protein in Cyanobacteria. *Biochemistry* 43, 10308–10313. doi:10.1021/bi048772l
247. Yutthanasirikul, R., Nagano, T., Jimbo, H., Hihara, Y., Kanamori, T., Ueda, T., et al. (2016). Oxidation of a Cysteine Residue in Elongation Factor EF-Tu Reversibly Inhibits Translation in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Biol. Chem.* 291, 5860–5870. doi:10.1074/jbc.M115.706424
248. Zheng, H., Shabalin, I. G., Handing, K. B., Bujnicki, J. M., and Minor, W. (2015). Magnesium-Binding Architectures in RNA Crystal Structures: Validation, Binding Preferences, Classification and Motif Detection. *Nucleic Acids Res.* 43, 3789–3801. doi:10.1093/nar/gkv225
249. Zheng, M., Wang, X., Templeton, L. J., Smulski, D. R., LaRossa, R. A., and Storz, G. (2001). DNA Microarray-Mediated Transcriptional Profiling of

- the *Escherichia coli* Response to Hydrogen Peroxide. *J. Bacteriol.* 183, 4562–4570. doi:10.1128/JB.183.15.4562-4570.2001
250. Zhong, J., Xiao, C., Gu, W., Du, G., Sun, X., He, Q.-Y., et al. (2015). Transfer RNAs Mediate the Rapid Adaptation of *Escherichia coli* to Oxidative Stress. *Plos Genet.* 11, e1005302. doi:10.1371/journal.pgen.1005302
251. Zhu, M., and Dai, X. (2019). Maintenance of Translational Elongation Rate Underlies the Survival of *Escherichia coli* during Oxidative Stress. *Nucleic Acids Res.* 47, 7592–7604. doi:10.1093/nar/gkz467
252. Zolla, L., and Rinalducci, S. (2002). Involvement of Active Oxygen Species in Degradation of Light-Harvesting Proteins under Light Stresses. *Biochemistry* 41, 14391–14402. doi:10.1021/bi0265776

**ОКСИДАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В СРЕДАХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ
БАКТЕРИЙ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ**

Ж.И. Нозимов¹

¹Башкирский государственный медицинский университет, Россия, Уфа,
Ленина, 3, ksmochalov@yandex.ru

Чрезмерное образование свободных радикалов лежит в основе гиперактивации оксидативных процессов и феномена окислительного стресса. Окислительный стресс является универсальным звеном повреждения молекул и структур клеток, и кроме того, вызывает их апоптоз и некроз [1,2,3]. Бактериальные клетки обладают ферментными системами по утилизации свободных радикалов [4,5]. Активность данных систем может существенно различаться у разных микроорганизмов. Показателем, отражающим функциональную активность ферментных систем бактерий, является уровень оксидативных процессов в средах культивирования – их антиокислительная активность. Снижение антиокислительной активности в среде культивирования может свидетельствовать о развитии в ней окислительного стресса, активной выработки окислительных метаболитов.

Целью исследования явилась оценка оксидативных процессов в средах культивирования бактерий различных видов

Объекты исследования – штаммы *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. Культивирование микроорганизмов проводили на ГРМ-бульоне. В среде культивирования оценивали спонтанные и NaCL-индуцированные оксидативные процессы посредством измерения железоиндуцированной хемилюминесценции (ХЛ) модельных систем через 1, 5 и 7 сутки. В качестве модельной системы использовали фосфатный буфер с добавлением цитрата и люминола [6,7].

По данным регистрации ХЛ как спонтанные, так и индуцированные оксидативные процессы в первые сутки фактически соответствовали контролю, а на пятые сутки снижались. На седьмые сутки установленное снижение носило более выраженный характер. При этом в средах культивирования бактерий *Pseudomonas aeruginosa* оксидативные процессы снижались в большей мере, чем в средах с *Escherichia coli*.

Более высокая антиокислительная активность сред культивирования с *Pseudomonas aeruginosa* характеризует более развитую способность противодействовать образованию свободных радикалов. Развитая способность противодействовать образованию свободных радикалов может лежать в основе устойчивости бактерий к действию различных антибактериальных факторов, в первую очередь антибиотиков.

Библиографический список

1. Свободнорадикальное окисление и канцерогенез: дискуссионные вопросы / В.Н.Павлов, И.Р.Рахматуллина, Р.Р.Фархутдинов, В.А.Пушкарев, К.В.Данилко, Э.Ф.Галимова, Ю.Л.Баймурзина, И.В.Петрова, К.С.Мочалов // Креативная хирургия и онкология. 2017. Т.7. №2. С.54–61.
2. Галимова Э.Ф., Кидрасова Р.С., Галимов Ш.Н. // Антиоксидантный потенциал эякулята и окислительное повреждение ДНК сперматозоидов при бесплодии неясного генеза: сборник Здоровье человека В XXI Веке. Сборник научных статей.2013. С.742–746.
3. Галимова С.Ш., Гилязова Г.Р. // Окислительно-восстановительный стресс и бесплодие. В книге: Фундаментальная наука и клиническая медицина. XXIV Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей. Санкт-Петербург, 2021.С.565–566.
4. Стрессовые системы *Escherichia coli* и их роль в реакциях на воздействие терагерцового излучения Пельтек С.Е., Демидова Е.В., Попик В.М., Горячковская Т.Н. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т.20. №6. С.876–886.
5. Мавзютов А.Р., Гриценко В.А. Молекулярно-генетическая характеристика клинических штаммов *E.coli* внекишечного происхождения // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2001. Т. 3. №3. С.25–26.
6. Фархутдинов Р.Р., Тевдорадзе С.И. Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминомере ХЛ-003 // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ. М., РУДН. 2005. С.147–154.
7. Влияние бромфенака на свободнорадикальное окисление в модельных системах / Э.Ф.Галимова З.Г.Хайбуллина, Д.А.Еникеев, Ю.Л.Борцова, К.С.Мочалов, С.Ш.Галимова, О.Ю.Травников, Т.С.Асадуллина, К.С.Аверьянова // Казанский медицинский журнал.2019. Т.100. № 4. С.636–641.

Всероссийская конференция с международным участием «Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине», г. Новосибирск, 19-20 мая 2022 г.