

УДК 632.95.02:575.2:577.3:579.842.11

АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ ГЕНОМА *Escherichia coli* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

© 2024 М. Ю. Галлямова¹, К. Н. Вагин^{1,2,*}, Н. М. Василевский¹, Н. И. Хаммадов¹

¹Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, 420075 Россия

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, 420008 Россия

*e-mail: kostya9938@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.07.2023 г.

После доработки 10.08.2023 г.

Принята к публикации 22.08.2023 г.

Исследование изменений генетического аппарата биологических систем вследствие воздействия физических факторов способствует пониманию механизмов адаптации. Статья посвящена анализу генома модифицированного варианта *Escherichia coli* ПЛ-6, полученного в результате неоднократного и постепенно возрастающего воздействия гамма-лучей ⁶⁰Co на установке “Исследователь”. Целостность генетического материала исследуемых бактериальных клеток проверяли методом электрофореза в 1.7%-ном агарозном геле. Для анализа модификаций генома был произведен дизайн праймеров для амплификации нескольких локусов, характеризующихся гомологией у множества штаммов *E. coli*. Исходя из показателей количества и размера амплифицированных продуктов с применением каждого из представленных праймерных комбинаций у кишечной палочки до и после гамма-облучения, установлено значительное изменение генома.

Ключевые слова: геном, ионизирующее облучение, *Escherichia coli* ПЛ-6, повреждение ДНК, полимеразная цепная реакция.

DOI: 10.31857/S0016675824010041

Ионизирующее излучение, как стресс-фактор физической природы, способно воздействовать на живые клетки прямым (прямое энергетическое действие) и косвенным образом (через образование свободных радикалов) [1–6]. Результатом физико-химического взаимодействия между ионизирующим излучением и ДНК являются одно- и двунитевые разрывы, апуриновые и апириимидиновые сайты, модификации оснований, сшивки ДНК и белков [7, 8].

Степень радиочувствительности биологических объектов можно оценивать, используя различные критерии [9–11]. Критерий выживаемости является основным, при котором характеристикой радиочувствительности служит величина летальной дозы. Принцип действия радиации на биологические объекты объясняется взаимодействием излучения различных видов и энергии с молекулярными структурами, способным привести к повреждениям, способствующим либо возникновению изменений функций процессов, происходящих внутри клетки, либо гибели организма.

Радиочувствительность живых организмов в большей степени зависит от размера генома

[12, 13], от эффективной работы систем репарации повреждений нуклеиновых кислот и от размера мишени [14, 15], что свидетельствует о том, что более крупные геномы обычно характеризуются сниженной устойчивостью к действию ионизирующей радиации: увеличение размера генома в 10 раз примерно двукратно снижает радиоустойчивость организма. Но основную роль играет не только изначальная радиочувствительность организма, также большое значение оказывает интегральный функциональный резерв, благодаря которому существует возможность быстро и эффективно восстановить клеточные системы после действия излучения. Микроорганизмы обладают значительной устойчивостью к действию ионизирующего излучения [16, 17]. Данное явление основано на высокой степени эффективности системы репарации и реверсии биоповреждений, приобретенной в процессе эволюции в среде обитания с агрессивными факторами (наличие токсических веществ, экстремальные температуры, резкие смены pH, разного рода излучения и т.д.) [18].

Генотипическая изменчивость формируется по причине генетических рекомбинаций и мутаций [19–21]. В ходе эксперимента в качестве

мутагена было выбрано направленное влияние гамма-лучей ^{60}Co , что позволило нам получить радиоустойчивую *Escherichia coli* ПЛ-6 (R), отличающуюся от *E. coli* ПЛ-6 по фенотипическим признакам (морфологические, биохимические, культуральные) и имеющую изменения в геноме по сравнению с контрольной *E. coli* ПЛ-6 [22–24].

Цель исследования – сравнение и анализ изменчивости генетического материала производственного штамма *Escherichia coli* ПЛ-6 (в виде контрольного варианта без каких-либо воздействий) и радиомодифицированного варианта *E. coli* ПЛ-6 (R) (пятый пересев после облучения).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В процессе проведения эксперимента использовался производственный штамм *Escherichia coli* (штамм ПЛ-6, № 1154115 эшерихиозной диареи поросят), полученный из коллекции музея штаммов ФГБНУ ФЦТРБ-ВНИВИ.

Путем облучения *E. coli* ПЛ-6 последовательно увеличивающимися дозами ионизирующего излучения получен радиорезистентный вариант *E. coli* ПЛ-6 (R), отличающийся от исходного морфологическими (удлинение клеток до 5 раз) и биохимическими (высокая каталазная, пероксидазная и супероксиддисмутазная активности, способность синтеза цистеина и увеличение содержания ДНК) свойствами, обладающий повышенной степенью устойчивости к действию ионизирующей радиации. С целью получения радиорезистентного *E. coli* ПЛ-6 (R) микробные клетки облучали на гамма-установке “Исследователь”, изготовленной на заводе “Балтиец” (г. Нарва), ведомственная принадлежность гамма-установки “Исследователь” – Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, с мощностью экспозиционной дозы 3.11 кГр/ч в диапазоне доз от 2 до 30 кГр.

Для получения продуктов метаболизма *E. coli* ПЛ-6, микроорганизм культивировали на жидких питательных средах (в мясоептонном бульоне) в соответствии с общепринятой в микробиологической практике методикой, получая по три фракции. При этом плотность культур в стационарной фазе роста (24 ч) составляла 2.06×10^9 микробных клеток на 1 мл (*E. coli* ПЛ-6), содержание сухого вещества в культуральной жидкости – 69.5 ± 1.7 мг/мл.

Клетки микроорганизмов отделяли центрифугированием в течение 15 мин при 5000 g. Супернатант культуральной жидкости собирали для определения содержания биологически активных веществ. Биомассу суспендировали в дистиллированной воде, после чего вновь центрифугировали в течение 13 мин при 5000 g для отмывания компонентов культуральной жидкости (КЖ).

По данной методике получен очищенный и достаточно плотный осадок микробной биомассы влажностью от 80 до 90%. Биомассу охлаждали до 0°C и далее разрушали ультразвуковой обработкой (22 кГц) в течение 25 мин, после чего отделяли разрушившиеся клетки и фрагменты клеток центрифугированием в течение 15 мин при 1000 g. Полноту разрушения клеток контролировали микроскопическим методом. В полученном супернатанте определяли содержание антиоксидантного фермента пероксидазы.

Активность супероксиддисмутазы определяли по методу Fridovich (1995). В качестве окислительных субстратов использовали нитросиний тетразолий (НСТ) и N-метилфенозоний метилсульфат. За единицу активности принимали 50%-ное торможение реакции восстановления НСТ.

Выделение нуклеиновых кислот проводилось из взвеси бактерий, полученной путем смыва бактериальных клеток стерильным физиологическим раствором с поверхности плотной питательной среды, с использованием набора “РИ-БО-преп” согласно инструкции. Применение данного набора подразумевает выделение ДНК и РНК, последняя при этом (без реакции обратной транскрипции) на амплификацию генетического материала *E. coli* ПЛ-6 влияния не оказывает.

Исследовали метаболизм цистеина у *E. coli* ПЛ-6. Для этой цели пробы сухой биомассы исходного *E. coli* ПЛ-6 и радиорезистентного варианта *E. coli* ПЛ-6-R тест-микроба навеской 100 мг (3.18×10^{11} м. к./мл) подвергали кислотному гидролизу (6 н раствор HCl 1 : 200) при 105°C в течение 24 ч с последующим хроматографированием определяемой аминокислоты на специальной бумаге (№ 2, сорт 1, “быстрая”, 1992) отечественного производства в соответствии с методическими рекомендациями Т.Н. Зайцевой и Н.Г. Ткачевой (1958). Испытуемые гидролизаты исходного и радиорезистентного вариантов *E. coli* наносили на бумагу

Таблица 1. Праймеры, используемые в работе

Название локуса	Нуклеотидная последовательность прямого праймера	Нуклеотидная последовательность обратного праймера	GenBank ID
1pO26-Vir	aactcttcctgttctgattctctctgg	gctattcataactttattccacgatttaac	NC_012487
1pVM01	aactccctcgtcacagcactga	ccctctttacgcttctgctgc	EU330199
1p417H-90	ctcaccctgtctgtgtgtctgt	gcagttcagaataactgtcctcttacaata	JQ418522
1pNDM102337	tggagaacacaatgcgaagtca	ccttctcctgagcattcttccg	NC_019045
1pChi7122-2	ccctgtctgtgtgtctgtgg	gcattcttctcctgacctgattt	NC_019037
3pO26-Vir	atcagcatttaatacagcatcatcaag	ttgtcgttaaagttgttgagtgtgtg	NC_012487
2pNDM102337	gggatttcgagaagatggtcagtat	tagaacctttgatttgcattgtgtacc	NC_019045
1pChi7122-3	aatggtcgcaaacgagaacg	ttagtgcattgctctgtaacgtc	FR851304
4pO26-Vir	tactctcttaatacagccatattacaggag	ggaaattagcgttgactgcattatc	NC_012487
1pO86A1	cgtcgggtattcttcatctgttg	cagtcaccaacgcatattatcctt	AB255435
4pVM01	atcagttattctgtgattttgtctgaa	ccgtcagatcgaaactcataatgc	EU330199

пипеткой на одно и то же место. Таким же способом наносили раствор смеси аминокислот. Разгонку проводили трехкратно по 6 ч. Расчеты по определению содержания аминокислот проводили по калибровочным кривым для аминокислот по L-аминному азоту.

Для поиска генов *E. coli* была использована база генов NCBI. Были выбраны 11 различных локусов, имеющих у большого разнообразия штаммов и изолятов кишечной палочки размером амплифицируемого фрагмента 2–5 тыс. п. н. (пар нуклеотидов).

Подбор праймеров был выполнен с помощью программы Vector NTI 9.1. Для подбора праймеров критерием служила одинаковая температура отжига, обеспечивающая амплификацию всех праймеров по одной программе. Используемые в исследовании праймеры указаны в табл. 1.

Амплификация выделенной ДНК была проведена при следующих условиях:

– объем реакционной смеси составлял 15 мкл, из них: H₂O – 4.0, буфер + EvaG – 1.5, MgCl₂ 5 мМ – 1.5, dNTP 2.5 мМ – 1.5, праймер F 10 пкМ – 0.5, праймер R 10 пкМ – 0.5, Tag-полимераза 2.5 ед – 0.5, ДНК – 5 (общие компоненты реакционной смеси произведены компанией ЗАО “Синтол”, Россия);

– температурный режим: горячий старт 95°C – 30 с, 45 циклов – 95°C – 15 с, 48–58°C – 30 с (детектирование продуктов амплификации), 72°C – 10 с.

Электрофоретическая детекция продуктов амплификации была осуществлена в 1.7%-ном

агарозном геле при напряжении постоянного тока 100 В в течение 50 мин. Окрашивание фрагментов ДНК проводили бромистым этидием.

Применение разработанных праймеров выявило возможность амплификации единичного генетического маркера и множественную ПЦР. Последняя позволяет проводить индикацию изменчивости генома облученных клеток *E. coli* без дополнительной стадии рестрикции наработанного генетического материала. Величину амплифицированных фрагментов ДНК определяли в сравнении с маркером молекулярной массы ДНК (молекулярная масса фрагментов ДНК шагом 100 п. н.) при электрофорезе. Анализ молекулярной массы амплифицированных фрагментов ДНК проводили в программе GelAnalyzer 19.1 (OrpevBench, Испания). В результате было выявлено, что действие лучей ⁶⁰Со вызвало повреждения в структуре ДНК. Для определения изменчивости генетического материала эшерихий был выполнен ряд пересевов облученной культуры, что способствовало восстановлению структуры ДНК исследуемых бактериальных клеток. При амплификации анализируемых локусов в условиях синтеза нескольких фрагментов в одной реакционной смеси (один маркер) установлено различие в генетическом составе у облученных и необлученных клеток *E. coli*. Такая возможность выявления генетических различий в нуклеотидном составе бактерий до и после облучения определена у 11 амплифицируемых локусов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучение активности ферментов антиоксидантной защиты микроорганизма выявило, что как исходная, так и облученные *Escherichia coli*

ПЛ-6 имеют определенную ферментативную активность: в первые 24 ч после посева бактерии разлагают лактозу, глюкозу, сахарозу и маннит, образуя при этом кислоту и газ, не образуют сероводород, не разжижают желатин и не синтезируют цитраты. При культивировании на 5%-ном мясопептонном кровяном агаре было выявлено, что вокруг микробных колоний в процессе роста появлялись зоны просветления, что свидетельствует о способности культуры выделять фермент β -гемолизин.

Для анализа биохимической активности были определены продукты обмена веществ, обладающие, по данным литературы [25], свойством формирования устойчивости организма при лучевом поражении, такие как группа антиоксидельных ферментов (каталаза, супероксиддисмутаза, пероксидаза), цистеин и ДНК. Биохимическая активность была определена у контрольного и подвергнутого воздействию гамма-лучей ⁶⁰Со варианта *E. coli* ПЛ-6 (культура, облученная в дозе 30 кГр). Полученные результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2. Содержание ДНК, цистеина, каталазы, пероксидазы и супероксиддисмутазы (СОД) в культуральной жидкости *E. coli* ПЛ-6 и ее радиомодифицированного варианта

Показатель	Единица измерения	Контрольная культура <i>E. coli</i> ПЛ-6	Радиомодифицированная культура <i>E. coli</i> ПЛ-6 (R)
Каталаза	мкат/мл	856.0 ± 12.3	3951.0 ± 21.5*
СОД	мг/белка	483.2 ± 0.32*	1.55 ± 0.27*
Пероксидаза	мкМ/г	0.705 ± 0.03	3.719 ± 0.85*
Цистеин	мкг/мл	1.173 ± 0.03	2.395 ± 0.01*
ДНК	мкг/109мл	0.302 ± 0.05	7.45 ± 0.29*

Примечание. * – $p \leq 0.05$.

Результаты биохимических исследований показали, что приобретенное в результате воздействия гамма-лучей на *E. coli* в возрастающих дозах изменение стимулирует у тест-микроба развитие радиорезистентности с изменением клеточного метаболизма, что сопровождается усилением синтеза нуклеиновых кислот (ДНК) и ферментов антиоксидантной защиты, а именно каталазы, пероксидазы и супероксиддисмутаза, а также усилением синтеза серосодержащей аминокислоты цистеина из ее предшественников – серина и глицина.

Таким образом, в результате радиомикробиологических исследований получен радиорези-

стентный (радиомодифицированный) вариант *E. coli* (R), отличающийся от исходного штамма *E. coli* ПЛ-6 биохимическими характеристиками (увеличение синтеза ДНК, усиленная активация ключевых ферментов антирадикальной защиты: супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, а также серосодержащей аминокислоты цистеин обладающих радиопротекторными свойствами).

Усиление синтеза нуклеиновых кислот под воздействием гамма-лучей, как видно из вышеприведенных данных, может свидетельствовать о том, что повышение радиорезистентности тест-штамма *E. coli* в процессе радиомутации может осуществляться за счет изменения синтеза тиоловых (сульфгидрильных) групп белков, особенно важнейшей аминокислоты цистеина, синтез и взаимопревращение которого находится под контролем генетического аппарата клеток – РНК, ДНК. Данные табл. 2 свидетельствуют о том, что в процессе роста на питательной среде исследуемый микроорганизм выделяет ценные метаболиты. При облучении культуры последовательно возрастающими дозами гамма-квантов повышается ее устойчивость, при которой происходит изменение метаболизма бактериальных клеток, что приводит к увеличению синтеза антиоксидантных ферментов.

Для изучения возможных изменений генома предварительно перед амплификацией ДНК проводили контрольный электрофорез для выявления фрагментов ДНК с низкой молекулярной массой (100–5000 п. н.). Контрольный образец характеризовался отсутствием визуально видимых фрагментов ДНК различной молекулярной массы. Результат электрофореза радиомодифицированного восстановленного образца был идентичен контрольному образцу.

Разработанные праймерные комбинации подвергали амплификации в различных температурных режимах отжига олигонуклеотидных затравок. В результате чего установлено, что во время амплификации при температуре отжига индивидуальной для каждой комбинации праймеров образуется множество продуктов ПЦР. Данное обстоятельство позволило произвести анализ полиморфизма длин амплифицированных фрагментов. Результат электрофоретического разделения продуктов амплификации в режиме температурного градиента представлен в табл. 3. Исходя из резуль-

Таблица 3. Количество продуктов амплификации при различных температурных режимах отжига праймеров с ДНК необлученной бактериальной культуры

Название локуса	Температура отжига					GenBank ID
	48°C	50°C	54°C	57°C	58°C	
1pO26-Vir	—	9*	3	—	—	NC_012487
1pVM01	10*	5	—	1	—	EU330199
1p417H-90	3	3*	—	—	—	JQ418522
1pNDM102337	1	2	—	3*	—	NC_019045
1pChi7122-2	3	3	3	8*	—	NC_019037
3pO26-Vir	2	2*	—	—	1	NC_012487
2pNDM102337	—	3*	—	—	—	NC_019045
1pChi7122-3	—	1	1	4*	—	FR851304
4pO26-Vir	—	1*	—	—	—	NC_012487
1pO86A1	—	—	—	3*	—	AB255435
4pVM01	—	3*	—	—	—	EU330199

Примечание. * – температура отжига праймеров, используемая в дальнейшей работе.

татов электрофореза были подобраны режимы, характеризующиеся накоплением множества ярких и дискретных полос, позволяющих провести анализ генетических различий (в случае наличия таковых) у облученных и необлученных микробных культур.

Амплификация облученной и исходной ДНК характеризовалась формированием паттернов, молекулярная масса которых в обеих пробах имела значительные различия. Такая картина была установлена во всех 11 амплифицируемых локусах. На представленных рис. 1, 2 четко видны различия молекулярных масс ампликонов контрольных и облученных эшерихий. Для выявления количества амплифицированных фрагментов и их размеров был проведен анализ результатов электрофореза в программе GelAnalyzer 19.1. Числовые данные представлены в табл. 4. Исходя из показателей количества и размера амплифицированных продуктов с при-

менением каждого из представленных праймерных комбинаций у кишечной палочки до и после гамма-облучения установлено значительное изменение генома.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате радиомикробиологических исследований получен радиорезистентный (радио-модифицированный) вариант *E. coli* ПЛ-6 (R), отличающийся от исходного штамма *E. coli* ПЛ-6 биохимическими свойствами, усилением синтеза нуклеиновых кислот (ДНК) и ферментов антиоксидантной защиты, а именно каталазы, пероксидазы и супероксиддисмутазы, а также усилением синтеза серосодержащей аминокислоты цистеин из ее предшественников – серина и глицина.

Перестройка генома *E. coli* ПЛ-6 (R) после восстановления повреждений, полученных в ре-

Таблица 4. Молекулярные массы ампликонов

Название локуса	Культура <i>E. coli</i> до облучения	Культура <i>E. coli</i> после облучения
1pO26-Vir	1836, 1586, 1312, 1121, 991, 807, 736, 298, 228	1014, 845, 316
1pVM01	2079, 1759, 1594, 1356, 1205, 938, 879, 661, 570, 462	1736, 1605, 1090, 983, 884, 675, 579, 224
1p417H-90	1638, 557, 204	1992, 1292, 972, 784, 660, 476, 408, 252, 207
1pNDM102337	1261, 878, 237	1776, 1140, 929, 536, 435, 302, 239, 150
1pChi7122-2	1763, 1021, 942, 768, 690, 651, 482, 270	1366, 1056, 680, 544, 481, 398, 372
3pO26-Vir	997, 517	963, 832, 665, 378, 305
2pNDM102337	1013, 930, 293	1043, 735, 583
1pChi7122-3	1817, 1102, 931, 227	1627, 1099, 482
4pO26-Vir	1122	1817, 1550, 650, 481
1pO86A1	1053, 809, 349	1380, 1262, 790, 472
4pVM01	1224, 827, 523	1740, 1334, 983, 933, 896, 253

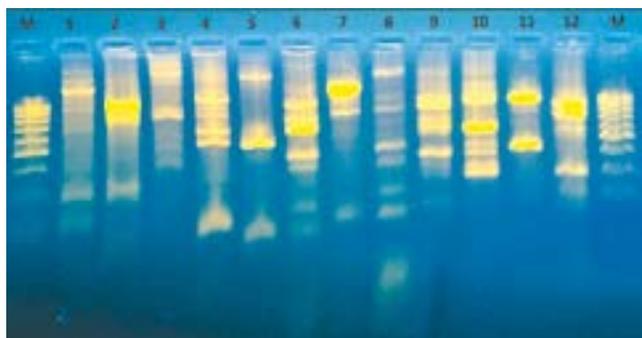


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации локусов *1pO26-Vir*, *1pVM01*, *1p417H-90*, *1pNDM102337*, *1pChi7122-2* и *3pO26-Vir*. М – маркер молекулярной массы ДНК “М16” (Сибэнзим, Россия); 1, 2 – локус *1pO26-Vir*; 3, 4 – локус *1pVM01*; 5, 6 – локус *1p417H-90*; 7, 8 – локус *1pNDM102337*; 9, 10 – локус *1pChi7122-2*; 11, 12 – локус *3pO26-Vir*; контрольные образцы – 1, 3, 5, 7, 9 и 11; облученные образцы – 2, 4, 6, 8, 10 и 12.

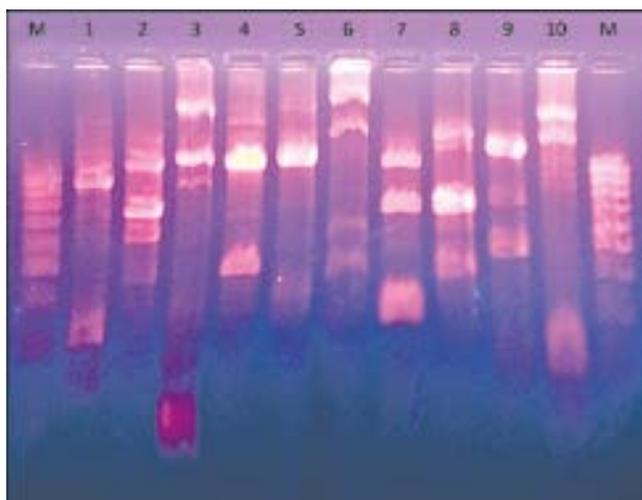


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации локусов *2pNDM102337*, *1pChi7122-3*, *4pO26-Vir*, *1pO86A1*, *4pVM01*. М – маркер молекулярной массы ДНК “М16” (Сибэнзим, Россия); 1, 2 – локус *2pNDM102337*; 3, 4 – локус *1pChi7122-3*; 5, 6 – локус *4pO26-Vir*; 7, 8 – локус *1pO86A1*; 9, 10 – локус *4pVM01*; контрольные образцы – 1, 3, 5, 7 и 9; облученные образцы – 2, 4, 6, 8 и 10.

зультате воздействия гамма-лучей ^{60}Co , заключалась в изменениях сайтов гибридизации праймеров и рекомбинации внутри амплифицируемых фрагментов ДНК.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства КФУ (Приоритет 2030).

Настоящая статья не содержит каких-либо

исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волкова П.Ю. Адаптивные реакции растений на действие ионизирующего излучения в низких дозах: Автореф. дис. ...докт. биол. наук. Обнинск: ВНИИРАЭ, 2020. 42 с.
2. Маргулис М.А., Маргулис И.М. О механизме биологического действия ионизирующей радиации // Журн. физ. химии. 2005. Т. 79. № 6. С. 1142–1151.
3. Медведев А.П., Алешкевич В.Н. Физико-химические факторы, влияющие на микроорганизмы // Ветерин. журн. Беларуси. 2017. № 1(6). С. 26–29.
4. Кобялко В.О., Пименов Е.П. Действие радиации на микроорганизмы и чувствительность разных таксономических групп к облучению // Актуал. вопр. с.-х. радиобиологии. Тр. ВНИИ РАЭ. Обнинск: 2019. С. 119–130.
5. Shuryak I. Review of microbial resistance to chronic ionizing radiation exposure under environmental conditions // J. Envir. Radioactivity. 2019. № 196. P. 50–63. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2018.10.012>
6. Beblo-Vranesovic K., Bohmeier M., Perras A.K. et al. Lack of correlation of desiccation and radiation tolerance in microorganisms from diverse extreme environments tested under anoxic conditions // FEMS Microbiol. Letters. 2018. № 365(6). <https://doi.org/10.1093/femsle/fny044>
7. Болсуновский А.Я., Дементьев Д.В., Фролова Т.С. и др. Влияние гамма-излучения на уровень повреждений ДНК в клетках проростков *Allium cepa* L. // ДАН. 2019. Т. 489. № 2. С. 199–204. <https://doi.org/10.31857/S0869-56524892199-204>
8. Belli M., Tabocchini M.A. Ionizing radiation-induced epigenetic modifications and their relevance to radiation protection // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21(17). P. 1–34. <https://doi.org/10.3390/ijms21175993>
9. Gallyamova M.Yu. Study of radioprotective properties of drugs based on *E. coli* metabolites and substances of natural origin // Ветерин. врач. 2021. № 2. P. 16–18. <https://doi.org/10.33632/1998-698X.2021-2-16-19>
10. Bruckbauer S.T., Cox M.M., Sussman M.R. et al. Ionizing radiation-induced proteomic oxidation in *Escherichia coli* // Mol. Cell. Proteomics. 2020. V. 19(8). P. 1375–1395. <https://doi.org/10.1074/mcp.ra120.002092>
11. Levien E., Min J., Kondev J. et al. Non-genetic variability in microbial populations:

- Survival strategy or nuisance? // Rep. on Progress in Physics. 2021. V. 84(11). P. 116601. <https://doi.org/10.1088/1361-6633/ac2c92>
12. Yu D., Banting G., Neumann N.F. A review of the taxonomy, genetics, and biology of the genus *Escherichia* and the type species *Escherichia coli* // Canadian J. Microbiol. 2021. V. 67(8). P. 553–571. <https://doi.org/10.1139/cjm-2020-0508>
 13. Burby P.E., Simmons L.A. Regulation of cell division in bacteria by monitoring genome integrity and DNA replication status // J. Bacteriology. 2020. V. 202(2). <https://doi.org/10.1128/JB.00408-19>
 14. Cooper T.F. Recombination speeds adaptation by reducing competition between beneficial mutations in populations of *Escherichia coli* // PLoS Biology. 2007. V. 5(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050225>
 15. Andryukov B.G., Somova L.M., Matosova E.V. et al. Phenotypic plasticity as a strategy of bacterial resistance and an object of advanced antimicrobial technologies (review) // Sovremen. Tehnologii v Medicine. 2019. V. 11(2). P. 164–182. <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.2.22>
 16. Тестов Б.В. Действие радиации на организм // Акт. вопр. совр. науки. 2012. Т. 21 № 2. С. 6–13.
 17. Nikitin A.I., Gaizatullin R.R., Koniukhov G.V. et al. Study of radioprotective properties of *E. coli* metabolites // Int. J. Pharmacy and Technology. 2016. V. 8(2). P. 14328–14340.
 18. Ишмухаметов К.Т., Низамов Р.Н., Саитов В.Р. и др. Разработка радиомодифицированных мутантов микроорганизмов для профилактики и лечения радиационных поражений животных // Уч. записки Казанской гос. акад. ветерин. медицины им. Н.Э. Баумана. 2020. Т. 241. № 1. С. 95–98. <https://doi.org/10.31588/2413-4201-1883-241-1-95-99>
 19. Matic I. Mutation rate heterogeneity increases odds of survival in unpredictable environments // Mol. Cell. 2019. V. 75(3). P. 421–425. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.06.029>
 20. Пелевина И.И., Алещенко А.В., Антошина М.М. и др. О некоторых путях формирования радиационно-индуцированного адаптивного ответа // Радиационная биология. Радиозоология. 2017. Т. 57. № 6. С. 565–572. <https://doi.org/10.7868/S0869803117060017>
 21. Тарасова Е.Ю., Матросова Л.Е., Хаммадов Н.И. и др. Исследование ДНК-повреждающего действия микотоксинов на фоне использования средств профилактики // Ветеринарный врач. 2021. № 3. С. 65–71. <https://doi.org/10.33632/1998-698X.2021-3-65-71>
 22. Галлямова М.Ю., Вагин К.Н., Низамов Р.Н. и др. Фенотипическая изменчивость *E. coli*, индуцированная γ -лучами ^{60}Co // Ветеринарный врач. 2021. № 3. С. 19–23. <https://doi.org/10.33632/1998-698X.2021-3-19-23>
 23. Коба В.В., Жаворонкова М.К. Прямое и косвенное действие ионизирующего излучения на биологические объекты // Сб. трудов Междунар. научно-техн. конф. молодых ученых БГТУ им. В.Г. Шухова. Белгород, 2015. С. 228–232.
 24. Низамов Р.Н., Галлямова М.Ю., Савкин И.В. и др. Направленное изменение фенотипа бактерий *E. coli* и *B. bifidum* с использованием ионизирующей радиации // Молодеж. разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК. Матер. Междунар. науч. конф. студентов, аспирантов и учащейся молодежи, посвященной 90-летию образования Казанской зоотехнической школы. Казань: 2020. С. 335–337.
 25. Сафонова В.Ю. Антиоксидантные свойства некоторых радиозащитных препаратов // Изв. Оренбургского гос. аграр. ун-та. 2014. №. 2. С. 149–151.

Analysis of Genome Variability of *Escherichia coli* when Exposed to Ionizing Radiation

M. Yu. Gallyamova¹, K. N. Vagin^{1, 2, *}, N. M. Vasilevsky¹, N. I. Hammadov¹

¹Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, 420075 Russia

²Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, 420008 Russia

*e-mail: kostya9938@yandex.ru

The study of changes in the genetic apparatus of biological systems due to the influence of physical factors contributes to understanding the mechanisms of adaptation. The article is devoted to the analysis of the genome of the modified *Escherichia coli* PL-6 variant obtained as a result of repeated and gradually increasing exposure to ^{60}Co γ -rays at the Researcher facility. The integrity of the genetic material of the studied bacterial cells was checked by electrophoresis in 1.7% agarose gel. For the analysis of genome modifications, primers were designed to amplify several loci characterized by homology in a variety of *E. coli* strains. Based on the indicators of the number and size of amplified products using each of the presented primer combinations in *E. coli* before and after gamma irradiation, a significant change in the genome was established.

Keywords: genome, ionizing radiation, *Escherichia coli* PL-6, DNA damage, polymerase chain reaction.