

# МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

## MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

### ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *soxRS*-РЕГУЛОНА В КЛЕТКАХ БАКТЕРИЙ, ПОДВЕРГНУТЫХ ДЕЙСТВИЮ РАЗЛИЧНЫХ СТРЕСС-ФАКТОРОВ

#### РЕЗЮМЕ

Ахова А.В.<sup>1,2</sup>,  
Ткаченко А.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН (614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» (614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Ахова Анна Викторовна,  
e-mail: akhovan@mail.ru

**Актуальность.** В формирование устойчивости бактерий к антибиотикам вносят вклад различные адаптивные механизмы, в том числе гены защитного ответа на окислительный стресс, объединённые в *soxRS*-регулон. В стрессовых условиях в клетках бактерий происходит повышение продукции активных форм кислорода и развитие окислительного стресса. Можно предположить, что повышенный уровень активных форм кислорода будет активировать экспрессию генов *soxRS*-регулона, что может обеспечить преадаптацию бактерий к воздействию антибиотиков.

**Цель.** Исследовать изменение экспрессии генов, входящих в *soxRS*-регулон, в клетках *Escherichia coli*, подвергнутых действию NaCl, повышенных температур и уксусной кислоты.

**Материалы и методы.** Уровень экспрессии генов определяли с использованием штаммов *E. coli*, несущих репортерные генные слияния промотора исследуемого гена (*soxS*, *pfo*) со структурной частью гена *lacZ*, в условиях периодического культивирования в бульоне LB без перемешивания.

**Результаты.** Активацию экспрессии генов *soxRS*-регулона вызывало воздействие NaCl и уксусной кислоты, а тепловой шок сопровождался снижением генной экспрессии. Увеличение уровня экспрессии наблюдалось в клетках, подвергнутых стрессам низкой (не вызывавшим снижения количества колониеобразующих единиц в культуре к четвёртому часу воздействия по сравнению с началом стрессового воздействия) и средней интенсивности (вызывавшим снижение количества колониеобразующих единиц на порядок), а стрессовые воздействия высокой интенсивности (вызывавшие снижение количества колониеобразующих единиц более чем на порядок) вне зависимости от их физико-химической природы сопровождалось снижением экспрессии генов *soxRS*-регулона.

**Заключение.** В исследованных условиях только осмотический стресс, вызванный внесением NaCl, сопровождался значимой активацией генов, входящих в *soxRS*-регулон. Сублетальное воздействие NaCl, вызывая повышение экспрессии генов *soxRS*-регулона в 2–2,5 раза, может обеспечивать преадаптацию бактерий к факторам, на противодействие которым направлен данный регулон, в том числе к антибактериальным препаратам.

**Ключевые слова:** осмотический шок, кислотный стресс, нагревание, окислительный стресс, антибиотики, *soxS*

Статья поступила: 17.10.2022

Статья принята: 17.02.2023

Статья опубликована: 05.05.2023

**Для цитирования:** Ахова А.В., Ткаченко А.Г. Экспрессия генов *soxRS*-регулона в клетках бактерий, подвергнутых действию различных стресс-факторов. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(2): 117-123. doi: 10.29413/ABS.2023-8.2.11

## EXPRESSION OF THE *soxRS* REGULON IN BACTERIAL CELLS EXPOSED TO VARIOUS STRESS FACTORS

Akhova A.V.<sup>1,2</sup>,  
Tkachenko A.G.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Ecology and Genetics  
of Microorganisms, Ural Branch  
of the Russian Academy of Sciences –  
Branch of the Perm Federal Research Center  
UB RAS (Goleva str. 13, Perm 614081,  
Russian Federation)

<sup>2</sup> Perm State University (Bukireva str. 15,  
Perm 614068, Russian Federation)

Corresponding author:  
**Anna V. Akhova**,  
e-mail: akhovan@mail.ru

### ABSTRACT

**Background.** Some stress responses contribute to the formation of bacterial antibiotic resistance, including the *soxRS* oxidative defense regulon. Elevation of reactive oxygen species production and oxidative stress was detected in bacterial cells exposed to various environmental stresses. It can be supposed that a stress-mediated increase in the level of reactive oxygen species will activate the expression of the *soxRS* regulon genes, which may provide pre-adaptation to antibiotics.

**The aim.** To study changes in the expression of *soxRS* regulon genes in *Escherichia coli* cells exposed to NaCl, acetic acid, and heating.

**Materials and methods.** Gene expression was measured in cells bearing reporter gene fusions (*soxS::lacZ*, *nfo::lacZ*). An overnight broth culture was diluted in fresh LB broth to OD<sub>600</sub> = 0.1 and cultivated at 37 °C without stirring until OD<sub>600</sub> = 0.3, then the stressors were applied.

**Results.** Exposure to NaCl and acetic acid activated the expression of *soxRS* regulon genes, while heating caused a decrease in gene expression. An increase in the expression level was observed in cells subjected to stresses of low intensity (which did not cause a decrease in the number of colony-forming units (CFU) by the 4<sup>th</sup> hour of exposure compared to the beginning of the stress exposure) and medium intensity (which caused a 10-fold decrease in the number of CFU), whereas high-intensity stresses (which caused a decrease in the number of CFU by more than 10 times), regardless of their nature, were accompanied by a decrease in the expression of the *soxRS* regulon genes.

**Conclusion.** Under the conditions studied, only the osmotic stress caused by the addition of NaCl was accompanied by a significant activation of the *soxRS* regulon genes. Sublethal exposure to NaCl, causing an increase in the expression of *soxRS* regulon genes by 2–2.5 times, may provide pre-adaptation of bacteria to the factors that this regulon is aimed at counteracting, including antibacterial drugs.

**Keywords:** osmotic shock, acid stress, heat shock, oxidative stress, antibiotics, *soxS*

Received: 17.10.2022  
Accepted: 17.02.2023  
Published: 05.05.2023

**For citation:** Akhova A.V., Tkachenko A.G. Expression of the *soxRS* regulon in bacterial cells exposed to various stress factors. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(2): 117-123. doi: 10.29413/ABS.2023-8.2.11

Формирование резистентных форм микроорганизмов является причиной снижения эффективности антибиотикотерапии. В основе резистентности к антибактериальным препаратам могут лежать различные механизмы, в частности изменение или экранирование мишени, модификация и инактивация антибактериального соединения, перестройка метаболических путей или ограничение аккумуляции антибиотика в микробной клетке (за счёт снижения транспорта препарата в клетку и повышения его активного выброса из неё) [1–3].

В адаптацию бактерий к действию антибиотиков могут вовлекаться различные механизмы защитных ответов на естественные стрессовые факторы [4, 5]. В частности, в ответ на воздействие антибиотиков активируется экспрессия генов, объединённых в *soxRS*-регулон и защищающих бактерии от окислительного стресса, а повышенный базовый уровень экспрессии данного регулона в некоторых случаях обуславливает появление у бактерий клинически значимой антибиотикоустойчивости [6–9].

*soxRS*-регулон представляет собой систему двухступенчатого контроля. Белок SoxR переходит в активную форму и запускает экспрессию гена *soxS*; затем вновь синтезированный белок SoxS активирует экспрессию других генов, входящих в данный регулон. Переход белка SoxR в активную форму происходит в результате одноэлектронного окисления, входящих в его структуру [2Fe-2S]-кластеров, а также их нитрозилирования в реакции с активными формами азота [10–13]. В состав *soxRS*-регулона входят гены, кодирующие супероксиддисмутазу, нейтрализующую супероксидные анионы (*sodA*), эндонуклеазу, участвующую в репарации ДНК (*nfo*), изоформы ферментов, устойчивые к окислительному повреждению (*fumC*, *acnA*), регулятор транспорта железа (*fur*), белки, ограничивающие аккумуляцию гидрофильных ксенобиотиков в клетке (*tolC*, *micF*, *acrAB*), белки, предположительно участвующие в поддержании восстановленной формы железосерных центров ферментов (*fldAB*, *fpr*), и другие белки с неизвестными пока функциями [14].

Известно, что воздействие антибактериальных препаратов и естественных стрессовых факторов различной природы вызывает повышение продукции свободных радикалов и развитие окислительного стресса в бактериальных клетках. Если роль активных форм кислорода и их вклад в гибель клеток, подвергнутых действию различных стрессоров, остаётся дискуссионным вопросом, то накопление свободных радикалов под действием стрессов, прямо не связанных с их продукцией, подтверждено многочисленными публикациями [15–20]. Многие из этих стрессоров, например, высокая осмолярность среды, нагревание, воздействие этанола, короткоцепочечных жирных кислот, применяют в качестве средств противомикробной обработки или консервантов. Если данные стрессоры вызывают индукцию *soxRS*-регулона, их сублетальное действие может способствовать преадаптации бактерий к воздействию антибиотиков.

В данной работе с применением метода генных слияний исследована экспрессия генов, входящих в *soxRS*-регулон, в клетках *Escherichia coli*, подвергнутых действию хлорида натрия, повышенных температур и уксусной кислоты.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Объекты исследования и условия культивирования.** В качестве объектов исследования использованы культуры клеток *Escherichia coli*, несущих транскрипционные генные слияния. Штамм *E. coli* EH40 (GC4468, но *soxS::lacZ*) любезно предоставлен Б. Демплом [21], штамм *E. coli* N9213 (GC4468, но *nfo::lacZ Δmar rob::kan*) любезно предоставлен Р.Г. Мартином [22].

Бактерии, сохраняемые на скошенном агаре LB, переносили в 5 мл бульона LB и культивировали без перемешивания при 37 °C в течение 5–6 ч. Выращенные клетки переносили в 50 мл бульона LB и культивировали при 37 °C в течение 14–16 ч. Затем бактериальную культуру разводили в свежей питательной среде до оптической плотности, измеренной на длине волны 600 нм (ОП600), равной 0,1, и культивировали в описанных выше условиях. По достижении бактериальной культурой ОП600 = 0,3 её подвергали воздействию стрессоров. Хлорид натрия и уксусную кислоту вносили в бактериальную культуру, для воспроизведения теплового шока культуру помещали на водяную баню с соответствующей температурой.

**Определение уровня генной экспрессии** проводили с применением репортерных генных слияний промотора исследуемого гена и структурной части гена *lacZ*, кодирующего β-галактозидазу. Принимается, что количество (активность) репортерного белка прямо пропорционально уровню экспрессии исследуемого гена. Активность β-галактозидазы измеряли в клетках, предварительно обработанных смесью додецилсульфата натрия и хлороформа, используя в качестве субстрата *o*-нитрофенил-β-D-галактопиранозид. Активность β-галактозидазы определяли и рассчитывали (в условных единицах Миллера) по стандартному протоколу, предложенному Дж. Миллером [23].

**Оценку плотности бактериальной культуры** проводили, измеряя её ОП600 с использованием спектрофотометра UV1280 (Shimadzu, Япония) и кюветы с длиной оптического пути равным 10 мм.

**Определение количества колониеобразующих единиц (КОЕ)** проводили путём посева культуры на поверхность агара LB в чашках Петри. Количество образовавшихся колоний подсчитывали после инкубации при 37 °C в течение 16–18 ч.

**Статистическая обработка данных** выполнена с применением пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего, рассчитанных по результатам не менее трёх отдельных экспериментов. Статистическая значимость отличий средних значений сравниваемых групп определена с использованием непарного Т-критерия при  $p \leq 0,050$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Осмотический стресс воспроизводили добавкой хлорида натрия, кислотный шок вызывали добавкой уксусной кислоты, а тепловой стресс – нагреванием с 37 до 42–55 °С. В ходе работы исследовано влияние данных стрессовых воздействий разной интенсивности на экспрессию гена *soxS*, кодирующего транскрипционный регулятор ответственный за активацию генов всего регулона, и подконтрольного ему гена *nfo*, кодирующего фермент репарации ДНК. Интенсивность стресса оценивали по изменению количества колониеобразующих единиц к четвёртому часу после начала стрессового воздействия относительно момента внесения стрессора в культуру (табл. 1). Условно выделено несколько уровней силы стресса: субингибиторное воздействие (количество КОЕ в стрессированной культуре увеличивалось за время культивирования); слабый стресс (ингибиторное воздействие, количество КОЕ в культуре оставалось на том же уровне, что в момент добавки стрессора); средний стресс (количество КОЕ снижалось примерно на один порядок) и сильный стресс (количество КОЕ снижалось более чем на один порядок).

ТАБЛИЦА 1  
КОЛИЧЕСТВО КОЛОНИЕОБРАЗУЮЩИХ ЕДИНИЦ  
В КУЛЬТУРЕ *E. COLI* ПОСЛЕ ЧЕТЫРЁХ ЧАСОВ  
ВОЗДЕЙСТВИЯ СТРЕССОРОВ

TABLE 1  
THE NUMBER OF COLONY-FORMING UNITS  
(lgCFU/ml) IN *E. COLI* CULTURE AFTER FOUR-HOUR  
EXPOSURE TO STRESSORS

| Условия                      | lgКОЕ/мл   |
|------------------------------|------------|
| Контроль, без добавок        | 8,3 ± 0,4* |
| 30 мг/мл NaCl                | 8,1 ± 0,3* |
| 50 мг/мл NaCl                | 7,6 ± 0,1  |
| 70 мг/мл NaCl                | 6,9 ± 0,6  |
| 100 мг/мл NaCl               | 6,1 ± 0,4* |
| 200 мг/мл NaCl               | 2,8 ± 1,9* |
| 0,125 мг/мл уксусной кислоты | 8,4 ± 0,5* |
| 0,25 мг/мл уксусной кислоты  | 7,5 ± 0,4  |
| 0,5 мг/мл уксусной кислоты   | 7,3 ± 0,1  |
| 2 мг/мл уксусной кислоты     | 5,7 ± 1,2* |
| 42 °С                        | 8,2 ± 0,3* |
| 45 °С                        | 8,1 ± 0,2* |
| 55 °С                        | 0          |

**Примечание.** Количество КОЕ/мл в момент внесения стрессора в культуру равно  $7,4 \pm 0,3$ ; \* – статистически значимое отличие от показателя в момент внесения стрессора ( $N \geq 3$ ; Т-критерий;  $p \leq 0,050$ )

Субингибиторное воздействие не оказывало влияния на уровень экспрессии генов, входящих в *soxRS*-регулон (данные не показаны). В ответ на воздействие 50–100 мг/мл хлорида натрия (слабый и средний стресс) в клетках *E. coli* возрастал уровень экспрессии гена *soxS* по принципу доза-эффект; более интенсивный осмотический стресс не вызывал изменения генной экспрессии (рис. 1б).

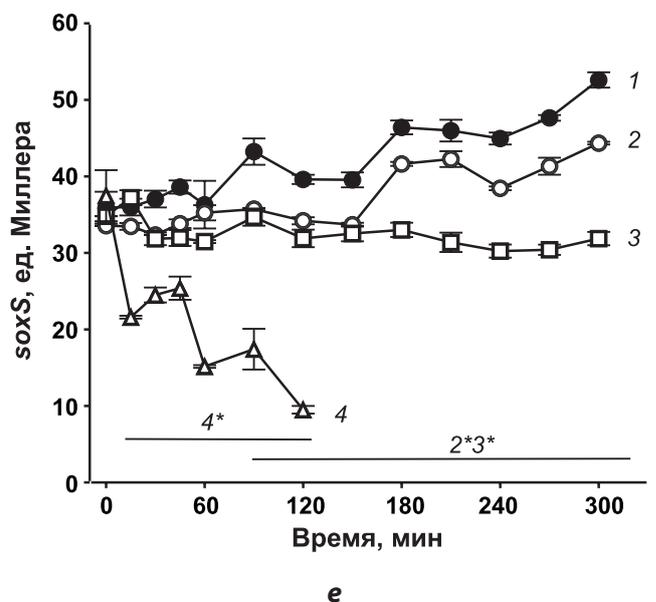
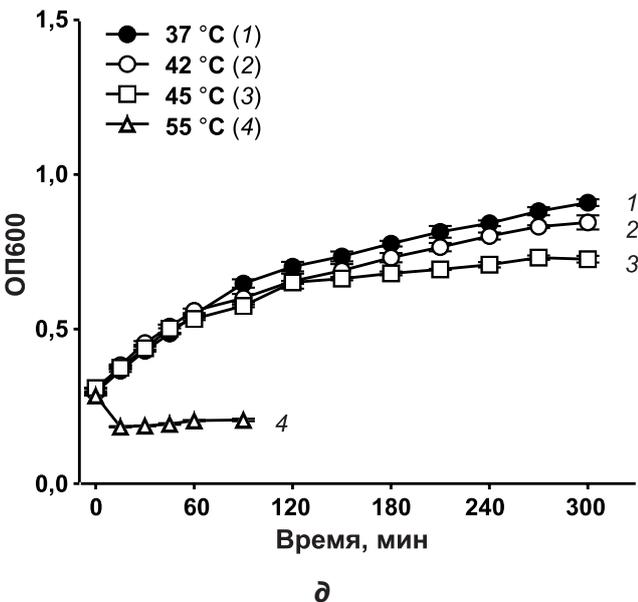
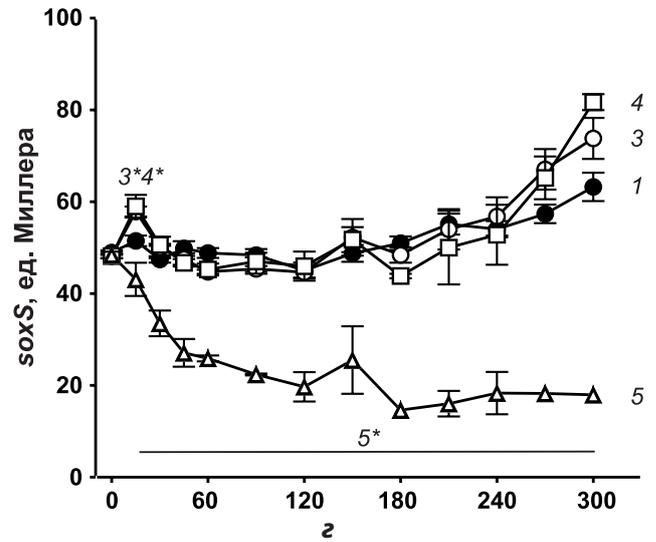
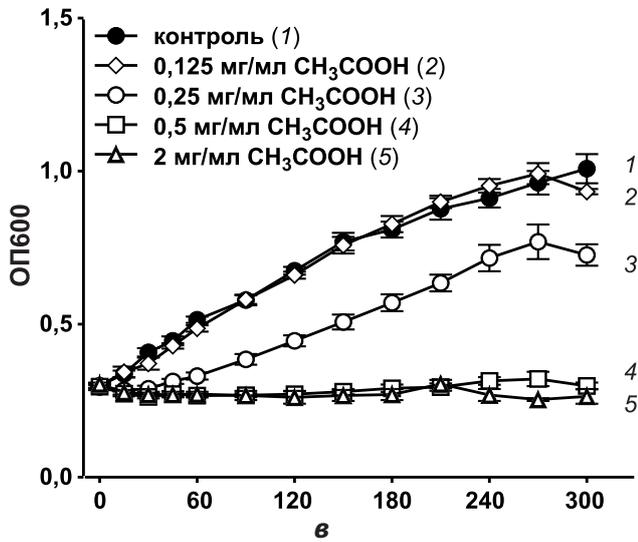
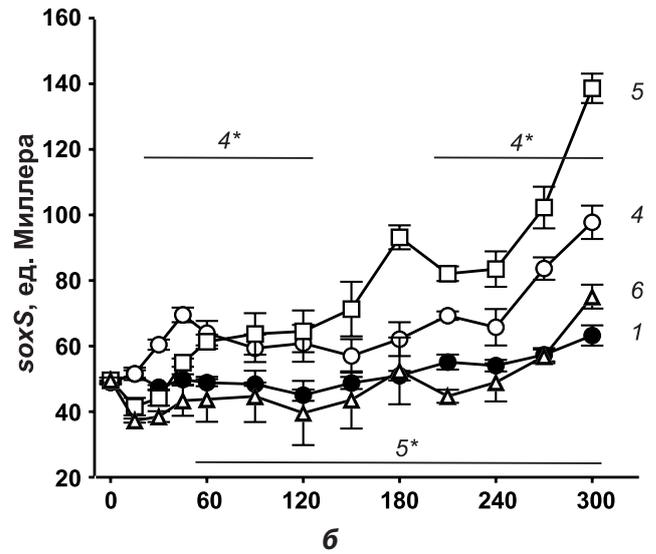
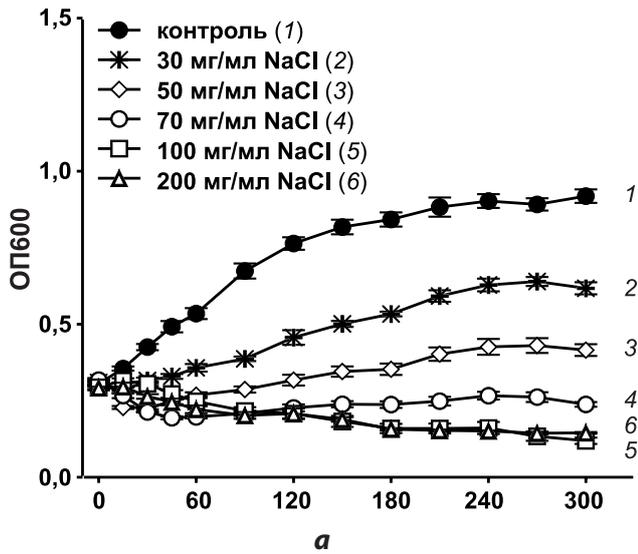
В условиях слабого осмотического стресса изменение экспрессии происходило в два этапа: после повышения на начальном этапе воздействия хлорида натрия уровень экспрессии гена снижался, а затем вновь начинал возрастать после третьего часа культивирования. Увеличение экспрессии гена *soxS* при добавке уксусной кислоты в концентрациях, не приводивших к снижению количества колониеобразующих единиц в культуре (0,25–0,5 мг/мл), наблюдалось в первые 15 минут от начала воздействия, более интенсивный кислотный стресс сопровождался снижением генной экспрессии (рис. 1г). В клетках, подвергнутых нагреванию, экспрессия *soxS* была ниже по сравнению с клетками, выращиваемыми в оптимальных условиях (37 °С) вне зависимости от силы теплового стресса (рис. 1е).

Изменение экспрессии гена *nfo* под действием стрессовых факторов было аналогично изменению экспрессии гена *soxS*: осмотический шок слабой и средней интенсивности вызывал увеличение генной экспрессии, кислотный шок, не приводивший к снижению количества КОЕ, незначительно увеличивал генную экспрессию (рис. 2), а более сильный кислотный стресс и тепловое воздействие приводили к снижению экспрессии гена (данные не показаны).

Таким образом, в исследованных условиях активацию экспрессии генов *soxRS*-регулона вызывало воздействие хлорида натрия и, в меньшей степени, уксусной кислоты, а тепловой шок сопровождался снижением генной экспрессии. Увеличение уровня экспрессии наблюдалось в клетках, подвергнутых стрессам низкой и средней интенсивности, а стрессовые воздействия высокой интенсивности, вызывавшие гибель значительной части клеток бактериальной культуры вне зависимости от их физико-химической природы, сопровождалось снижением экспрессии генов *soxRS*-регулона. Снижение экспрессии генных слияний, по-видимому, является не специфичным ответом, а следствием общего угнетения метаболизма и ингибирования синтеза белка, в том числе и репортерной β-галактозидазы.

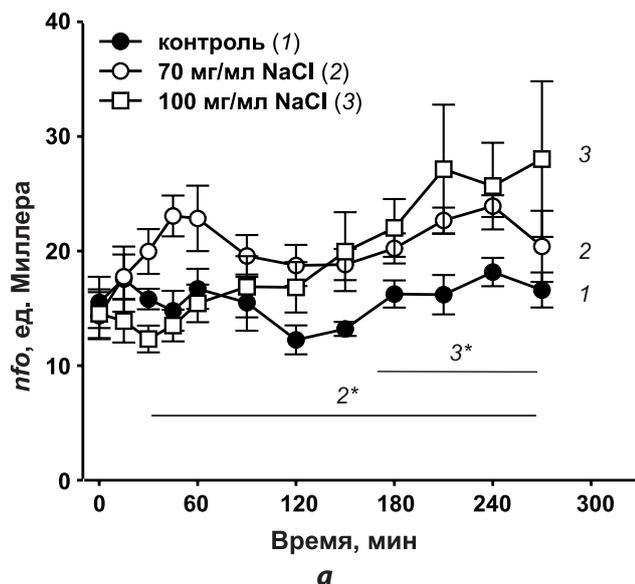
Полученные данные согласуются с результатами транскриптомного анализа, продемонстрировавшего увеличение экспрессии генов, входящих в *soxRS*-регулон (*soxS*, *fumC*, *fpr*, *acnA*), в клетках *E. coli* под действием 0,3 М (17,5 мг/мл) хлорида натрия [24]. Активация экспрессии гена *soxS* также наблюдалась в клетках *E. coli*, подвергнутых осмотическому шоку, вызванному воздействием 0,4 и 0,9 М сахарозы [25].

Ранее показано увеличение синтеза мРНК *sodA* в клетках *Bacillus cereus*, выращиваемых на средах с pH = 5,4–4,5, и повышение супероксиддисмутазной активности в клетках *Staphylococcus aureus*, выращиваемых

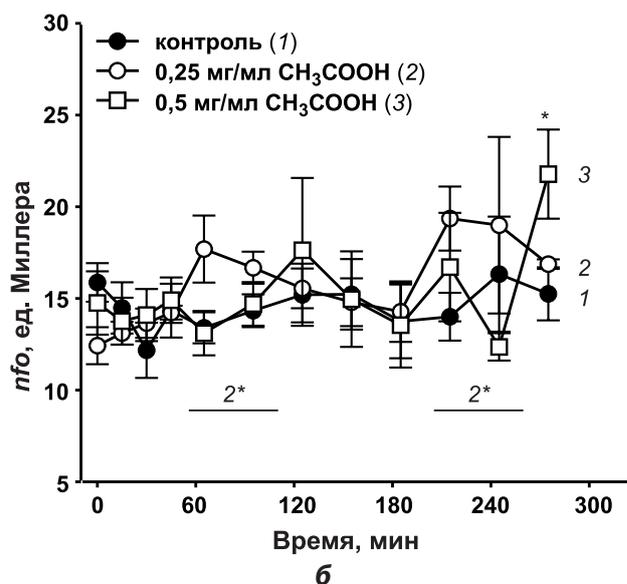


**РИС. 1.**  
Изменение оптической плотности культуры *E. coli* и экспрессии гена *soxS* в клетках *E. coli* EH40 в условиях осмотического (а, б), кислотного (в, г) и теплового (д, е) стрессов; \* – статистически значимые отличия от нестрессированной культуры (контроль (1)) (N ≥ 3; T-критерий; p ≤ 0,050)

**FIG. 1.**  
Changes in the optical density (OD600) of *E. coli* culture and *soxS* gene expression in *E. coli* EH40 cells in response to osmotic (а, б), acid (в, г), and heat stress (д, е); \* – statistically significant difference from the unstressed culture (control (1)) (N ≥ 3, T-test; p ≤ 0.050)



**РИС. 2.** Изменение экспрессии гена *nfo* в клетках *E. coli* N9213, подвергнутых действию осмотического (а) и кислотного (б) стрессов: \* – статистически значимые отличия от нестрессированной культуры (контроль (1)) ( $N \geq 3$ ; T-критерий;  $p \leq 0,050$ )



**FIG. 2.** Changes in *nfo* gene expression in *E. coli* N9213 cells in response to osmotic (а) and acid (б) stress: \* – statistically significant difference from the unstressed culture (control (1)) ( $N \geq 3$ ; T-test;  $p \leq 0.050$ )

на среде с  $pH = 4,0$  и  $pH = 2,0$ , по сравнению с культивированием на среде с нейтральным  $pH$  [26, 27], что предполагает активацию *soxRS* регулона в условиях кислотного стресса. В данной работе продемонстрировано незначительное увеличение экспрессии генов *soxRS*-регулона на начальных этапах развития кислотного стресса, вызванного воздействием уксусной кислоты.

Результаты наших исследований показали снижение уровня генной экспрессии в клетках, выращиваемых при температурах выше оптимальной ( $37^\circ C$ ). В более ранних работах продемонстрирован повышенный уровень экспрессии гена *soxS* в клетках, выращенных при температуре  $43^\circ C$ , по сравнению с клетками, выращенными при  $30^\circ C$ , что расценивается как активация экспрессии в ответ на тепловое воздействие [24]. Но с другой стороны, снижение температуры культивирования относительно оптимального уровня могло бы вызвать снижение генной экспрессии, что также может объяснять наблюдаемые различия в уровне экспрессии *soxS*.

Таким образом, из трёх исследованных стрессовых условий (воздействие уксусной кислоты, хлорида натрия или нагревания) только осмотический стресс, вызванный внесением хлорида натрия, сопровождался значимой активацией генов, входящих в *soxRS*-регулон антиоксидантной защиты. Сублетальное воздействие хлорида натрия, вызывая повышение экспрессии генов *soxRS*-регулона в 2–2,5 раза, может обеспечивать преадаптацию бактерий к факторам, на противодействие которым направлен данный регулон, в том числе к антибактериальным препаратам.

#### Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (AAAA-A19-119112290009-1).

#### Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Исследования проведены без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых.

#### Благодарности

Авторы выражают искреннюю благодарность профессору Б. Демплу и профессору Р.Г. Мартину за предоставленные бактериальные штаммы.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Blair JM, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJ. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol*. 2015; 13(1): 42-51. doi: 10.1038/nrmicro3380
- Darby EM, Trampari E, Siasat P, Gaya MS, Alav I, Webber MA, et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nat Rev Microbiol*. 2022 Nov 21. doi: 10.1038/s41579-022-00820-y
- Windham S, Kollef MH. How to use new antibiotics in the therapy of serious multidrug resistant Gram-negative infections? *Curr Opin Infect Dis*. 2022; 35(6): 561-567. doi: 10.1097/QCO.0000000000000858
- Poole K. Bacterial stress responses as determinants of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2012; 67(9): 2069-2089. doi: 10.1093/jac/dks196
- Chetri S, Das BJ, Bhowmik D, Chanda DD, Chakravarty A, Bhattacharjee A. Transcriptional response of *mar*, *sox* and *rob* regulon against concentration gradient carbapenem stress within *Escherichia coli* isolated from hospital acquired infection. *BMC Res Notes*. 2020; 13(1): 168. doi: 10.1186/s13104-020-04999-2
- Koutsolioutsou A, Peña-Llopis S, Demple B. Constitutive *soxR* mutations contribute to multiple-antibiotic resistance in clinical *Escherichia coli* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49(7): 2746-2752. doi: 10.1128/AAC.49.7.2746-2752.2005

7. Tkachenko AG, Akhova AV, Shumkov MS, Nesterova LY. Polyamines reduce oxidative stress in *Escherichia coli* cells exposed to bactericidal antibiotics. *Res Microbiol.* 2012; 163(2): 83-91. doi: 10.1016/j.resmic.2011.10.009
8. Fàbrega A, Martin RG, Rosner JL, Tavio MM, Vila J. Constitutive SoxS expression in a fluoroquinolone-resistant strain with a truncated SoxR protein and identification of a new member of the *marA-soxS-rob* regulon, *mdtG*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54(3): 1218-1225. doi: 10.1128/AAC.00944-09
9. Aly SA, Boothe DM, Suh S-J. A novel alanine to serine substitution mutation in SoxS induces overexpression of efflux pumps and contributes to multidrug resistance in clinical *Escherichia coli* isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2015; 70(8): 2228-2233. doi: 10.1093/jac/dkv105
10. Hidalgo E, Bollinger JM Jr, Bradley TM, Walsh CT, Demple B. Binuclear [2Fe-2S] clusters in the *Escherichia coli* SoxR protein and role of the metal centers in transcription. *J Biol Chem.* 1995; 270(36): 20908-20914. doi: 10.1074/jbc.270.36.20908
11. Nunoshiba T, Hidalgo E, AmáBILE Cuevas CF, Demple B. Two-stage control of an oxidative stress regulon: the *Escherichia coli* SoxR protein triggers redox-inducible expression of the *soxS* regulatory gene. *J Bacteriol.* 1992; 174(19): 6054-6060. doi: 10.1128/jb.174.19.6054-6060.1992
12. Wu J, Weiss B. Two-stage induction of the *soxRS* (superoxide response) regulon of *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 1992; 174(12): 3915-3920. doi: 10.1128/jb.174.12.3915-3920.1992
13. Ding H, Demple B. Direct nitric oxide signal transduction via nitrosylation of iron-sulfur centers in the SoxR transcription activator. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97(10): 5146-5150. doi: 10.1073/pnas.97.10.5146
14. Imlay JA. The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: Lessons from a model bacterium. *Nat Rev Microbiol.* 2013; 11(7): 443-454. doi: 10.1038/nrmicro3032
15. Mols M, Abee T. Primary and secondary oxidative stress in *Bacillus*. *Environ Microbiol.* 2011; 13(6): 1387-1394. doi: 10.1111/j.1462-2920.2011.02433.x
16. Liu Y, Imlay JA. Cell death from antibiotics without the involvement of reactive oxygen species. *Science.* 2013; 339(6124): 1210-1213. doi: 10.1126/science.1232751
17. Dwyer DJ, Belenky PA, Yang JH, MacDonald IC, Martell JD, Takahashi N, et al. Antibiotics induce redox-related physiological alterations as part of their lethality. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014; 111(20): E2100-E21009. doi: 10.1073/pnas.1401876111
18. Akhova AV, Sekatskaya PA, Tkachenko AG. Formation of associated oxidative stress in cells of *Escherichia coli* exposed to different environmental stressors. *Appl Biochem Microbiol.* 2019; 55(6): 582-587. doi: 10.1134/S0003683819060036
19. Imlay JA. Where in the world do bacteria experience oxidative stress? *Environ Microbiol.* 2019; 21(2): 521-530. doi: 10.1111/1462-2920.14445
20. Drlica K, Zhao X. Bacterial death from treatment with fluoroquinolones and other lethal stressors. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2021; 19(5): 601-618. doi: 10.1080/14787210.2021.1840353
21. Hidalgo E, Demple B. Spacing of promoter elements regulates the basal expression of the *soxS* gene and converts SoxR from a transcriptional activator into a repressor. *EMBO J.* 1997; 16(5): 1056-1065. doi: 10.1093/emboj/16.5.1056
22. Martin RG, Gillette WK, Rosner JL. Promoter discrimination by the related transcriptional activators MarA and SoxS: Differential regulation by differential binding. *Mol Microbiol.* 2000; 35(3): 623-634. doi: 10.1046/j.1365-2958.2000.01732.x
23. Miller HJ. *Experiments in molecular genetics*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory; 1972.
24. Gunasekera TS, Csonka LN, Paliy O. Genome-wide transcriptional responses of *Escherichia coli* K-12 to continuous osmotic and heat stresses. *J Bacteriol.* 2008; 190(10): 3712-3720. doi: 10.1128/JB.01990-07
25. Smirnova GV, Muzyka NG, Oktyabrsky ON. The role of antioxidant enzymes in response of *Escherichia coli* to osmotic upshift. *FEMS Microbiol Lett.* 2000; 186(2): 209-213. doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09106.x
26. Clements MO, Watson SP, Foster SJ. Characterization of the major superoxide dismutase of *Staphylococcus aureus* and its role in starvation survival, stress resistance, and pathogenicity. *J Bacteriol.* 1999; 181(13): 3898-3903. doi: 10.1128/JB.181.13.3898-3903.1999
27. Mols M, van Kranenburg R, van Melis CC, Moezelaar R, Abee T. Analysis of acid-stressed *Bacillus cereus* reveals a major oxidative response and inactivation-associated radical formation. *Environ Microbiol.* 2010; 12(4): 873-885. doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.02132.x

#### Сведения об авторах

**Ахова Анна Викторовна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН; ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории органического синтеза, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: akhovan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3477-750X>

**Ткаченко Александр Георгиевич** – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией адаптации микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН; профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: agtkachenko@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8631-8583>

#### Information about the authors

**Anna V. Akhova** – Cand. Sc (Biol), Researcher Officer at the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – Branch of the Perm Federal Research Center UB RAS; Senior Research Officer at the Laboratory of Organic Synthesis, Perm State University, e-mail: akhovan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3477-750X>

**Alexander G. Tkachenko** – Dr. Sc (Med), Head of the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – Branch of the Perm Federal Research Center UB RAS, Professor at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University, e-mail: agtkachenko@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8631-8583>