

## РЕАКЦИЯ БАКТЕРИЙ НА МЕХАНИЧЕСКИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

© 2021 г. С. С. Евстигнеева<sup>а</sup>, Е. М. Телешева<sup>а</sup>, Д. И. Мокеев<sup>а</sup>,  
И. В. Борисов<sup>а</sup>, Л. П. Петрова<sup>а, \*\*</sup>, А. В. Шелудько<sup>а, \*</sup>

<sup>а</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, 410049 Россия

\*e-mail: shel71@yandex.ru

\*\*e-mail: petrova\_lp@mail.ru

Поступила в редакцию 01.04.2021 г.

После доработки 02.05.2021 г.

Принята к публикации 09.05.2021 г.

Бактерии быстро приспосабливаются к изменениям окружающей их среды, используя сенсорные системы, с помощью которых постоянно исследуют свое окружение. Одно из распространенных мнений состоит в том, что такие системы реагируют на сигналы, имеющие химическую природу. Но бактерии часто испытывают воздействия механических сил, например, при переходе из планктонного состояния в неподвижное. Однако механические воздействия редко рассматривались как сигнал, который бактерии могли бы почувствовать и отреагировать. Тем не менее, бактерии воспринимают механические стимулы, генерируют сигналы и формируют ответ. В обзоре мы анализируем информацию о том, каким образом бактерии реагируют на механические воздействия, а также кратко описываем механизмы, позволяющие преобразовывать поступающие сигналы в соответствующие ответы.

**Ключевые слова:** бактерии, механочувствительность, механотрансдукция, подвижность, биопленки, роение, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Proteus*, *Pseudomonas*

**DOI:** 10.31857/S0026365621050050

### МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СРЕДЫ ВЛИЯЮТ НА ПОВЕДЕНИЕ БАКТЕРИЙ

Микроорганизмы способны заселять разнообразные по своим свойствам места обитания, которые характеризуются гетерогенностью и динамичностью физико-химических и механических свойств (Dufrêne, Persat, 2020). Бактерии быстро приспосабливаются к изменениям окружающей их среды, используя сенсорные системы, с помощью которых постоянно исследуют свое окружение (Berg, 1975; Bible et al., 2008; Vladimirov, Sourjik, 2009; Chawla et al., 2020; Fajardo-Cavazos, Nicholson, 2021). Свободно плавающие в жидких средах (планктонные) бактерии взаимодействуют со множеством факторов. Это могут быть абиотические особенности среды, другие микробы, а также крупные многоклеточные организмы. Подвижность вкупе с разнообразными проявлениями таксиса способствует быстрым ответам бактерий на изменения в окружающей среде и позволяет им активно искать оптимальную для обитания нишу (Berg, 1975; Sauer, 2004; Flemming, Wingender, 2010; Guttenplan et al., 2013).

Плавающие бактерии движутся вперед под действием толкающего усилия вращающихся жгутиков, а когда направление вращения органелл меняется на обратное, развивается тянущее уси-

лие, которое заставляет бактерию двигаться назад или кувыркаться (Taylor, Koshland, 1974; Berg, 1975; Lele et al., 2013). Это повторяется многократно (ориентация клетки при этом меняется на угол различной величины), и в результате траектория движения клетки получается ломаная. Вращение жгутика вызывает вращение клетки (Taylor, Koshland, 1974; Berg, 1975; Chawla et al., 2020), но в противоположном направлении, однако, поскольку клетка все же значительно массивнее жгутика, она совершает намного меньше оборотов. Таким образом, в планктонной культуре подвижные бактерии испытывают определенную механическую нагрузку со стороны среды, которая может меняться в результате гидродинамического сдвига или изменения механических свойств окружения. Увеличение вязкости/плотности среды увеличивает нагрузку на жгутик (Chawla et al., 2020), что сказывается на скорости перемещения клеток и может повлиять как на морфологию бактерий, так и на их поведение (McCarter, 1999; Whitchurch et al., 2004; Belas, Suvanasuthi, 2005; Harshey et al., 2015; Petrova et al., 2020).

Сталкиваясь с вязкими/гелеобразными/плотными средами и поверхностями, бактерии переходят от свободного плавания к роению, то есть зависящему от работы двигательных органелл (жгутиков), межклеточных контактов, продукции

сурфактантов и ряда других факторов согласованному перемещению по влажным поверхностям (Harshey et al., 2015). Для колонизации поверхностей роение используют разные виды бактерий (Harshey et al., 2015), в том числе патогенные *Vibrio parahaemolyticus* и *Proteus mirabilis*, почвенные бактерии *Azospirillum brasilense* и *Azospirillum baldaniorum*, клетки которых для реализации этого способа подвижности увеличиваются в размере и дополнительно синтезируют многочисленные жгутики (McCarter et al., 1988; Kawagishi et al., 1996; Moens et al., 1996; Scheludko et al., 1998; Velas, Suvanasthi, 2005; Petrova et al., 2020).

У глубоководных морских бактерий подвижность, обусловленная жгутиками, изменяется в ответ на перепады давления (Elloe et al., 2008; Wang F. et al., 2008). Предполагают, что в глубинах океана фенотип роящихся бактерий может быть предпочтительнее фенотипа планктонных клеток (Dufrière, Persat, 2020). В зависимости от давления планктонные клетки этих микробов дифференцируются к фенотипу роящихся. Глубоководные бактерии *Photobacterium profundum* и *Shewanella piezotolerans*, оптимально растущие при высоком давлении, сохраняют подвижность под давлением в тысячу раз выше атмосферного (Dufrière, Persat, 2020), что не характерно для *E. coli* и других микробов, которые не способны адаптироваться к подобным условиям (Elloe et al., 2008). Геном пьезофила *Ph. profundum* содержит два кластера жгутиковых генов: один кодирует полярный жгутик, а другой предполагаемый кластер – систему латеральных жгутиков (Elloe et al., 2008). Латеральные жгутики синтезируются под высоким давлением или в средах с высокой вязкостью и обеспечивают подвижность в этих условиях (Elloe et al., 2008). Активация генов, кодирующих систему латеральных жгутиков, зависит от наличия полярной флагеллы, не функционирующей при высоком давлении. Эти наблюдения позволили сделать заключение, что клетки *Ph. profundum* чувствуют изменение давления и вязкости полярным жгутиком и реагируют, активируя синтез латеральных жгутиков, обеспечивая подвижность в условиях высокого давления (Dufrière, Persat, 2020). Аналогично *Sh. piezotolerans* инициирует роение при повышении давления (Wang et al., 2008; Dufrière, Persat, 2020).

Плавающие планктонные бактерии *Pseudomonas aeruginosa* могут кардинально менять способ перемещения и переходить к тянущей подвижности за счет механической работы пилей IV типа по вязким/гелеобразным поверхностям (Whitchurch et al., 2004; McCallum et al., 2017). Двигательные органеллы также часто обеспечивают физический контакт микробов с различными поверхностями, включая других членов экологического сообщества, выступая в роли адгезинов (Croes et al., 1993; Шелудько и соавт., 2010).

Подвижность и жгутики способствуют попаданию бактерий на интерфейс, подходящую для строительства биопленки (граница раздела плотной/жидкой или жидкой/газовой сред), проникновению в уже существующую биопленку и распространению биопленки по поверхности (Hough et al., 2010). Бактериальные биопленки представляют собой пространственно и метаболически структурированные сообщества микроорганизмов, заключенных в матрикс, состоящий в основном из полисахаридов (ПС), белков и экстраклеточных ДНК (Flemming, Wingender, 2010). Жгутики и пили бактерий также интегрированы в матрикс и поддерживают его архитектуру, зависящую от многих факторов, включая гидродинамические условия, концентрацию питательных веществ, подвижность бактерий и их коммуникацию друг с другом. В процессе строительства биопленок бактериями с разной физиологией и характером взаимодействия с колонизируемым объектом выявлены общие этапы: адгезия клеток к поверхности, формирование микроколоний, монослоя и многослойной биопленки. По мере старения биопленки претерпевают дисперсию, в результате которой бактерии переходят к планктонному образу жизни и к поиску новых местообитаний (Verstraeten et al., 2008; López et al., 2010; Flemming, Wingender, 2010; Guttenplan et al., 2013). Распад биопленок может происходить тремя путями: эрозией, сбрасыванием и дисперсионным распылением клеток (Kaplan, 2004). Данная стадия очень важна, так как приводит не столько к гибели клеток биопленки, сколько к появлению новых свободноживущих клеток, способных к образованию новой пленки (Sauer, 2004). Дисперсия чаще всего является ответом на изменение внешней среды (гидродинамический сдвиг, прекращение поступления питательных веществ или, наоборот, резкое их появление) (Sauer, 2004; Shelud'ko et al., 2019).

Разнообразие регуляторных механизмов формирования и структурных элементов биопленок сопоставимо с количеством видов и даже штаммов бактерий, эти биопленки образующих. Нередко у разных штаммов бактерий одного вида выявляется разный арсенал сигналов и путей, значимых для реализации того или иного поведенческого ответа (López et al., 2010; Flemming, Wingender, 2010; Bogino et al., 2013).

Таким образом, бактериям приходится испытывать разнообразные механические воздействия. О реализации восприятия таких воздействий, передаче сигнала о них и соответствующих индивидуальных или групповых ответов бактерий (изменение подвижности, переход от свободного плавания к роению, адгезия на поверхности, формирование колоний и биопленок и пр.) пока известно немного (Ellison, Brun, 2015; Persat, 2017; Chawla et al., 2020). Известны примеры участия в вышеназванных процессах белков внешней мембраны, экстраклеточных

точных органелл – пилей I и IV типа, жгутиков, первыми вступающих в контакт с микроокружением бактерий (Otto, Silhavy, 2002; Kuchma et al., 2012; Cairns et al., 2013; Belas, 2014; Blanka et al., 2015; Narapanahalli et al., 2015; Luo et al., 2015; Persat et al., 2015; Rodesney et al., 2017).

Молекулярные механизмы механочувствительности относительно хорошо изучены только у эукариот (Iskratsch et al., 2014; Ohashi et al., 2017; Fajardo-Cavazos, Nicholson, 2021). Поэтому получение наиболее полных сведений о структурах и молекулярных событиях, обеспечивающих механоответы бактерий, является актуальной и важной задачей.

### МЕХАНОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОЧНОЙ ОБОЛОЧКИ

Прикрепившись к твердой поверхности, бактерии ощущают силу адгезии. Эта сила создает механическое напряжение, вызывающее обратимые деформации клеточной оболочки (Chen et al., 2014). Известно, что активность мембранных механочувствительных каналов бактерий, открывающихся при деформации липидного бислоя клеточной мембраны, способствует осморегуляции (Sukharev et al., 1999; Booth, 2014). Выявленные у некоторых бактерий чувствительные к деформации клеточной стенки мембранные белки входят в состав сенсорно-регуляторных систем, передающих механосигналы к генетическому аппарату клетки (Otto, Silhavy, 2002).

У *Escherichia coli* двухкомпонентная сенсорно-регуляторная система CpxA/CpxR воспринимает разнообразную пертурбации оболочки. Получая сигнал из периплазмы, гистидинкиназа CpxA фосфорилирует цитоплазматический регулятор ответа CpxR, включающий транскрипцию контролируемых генов (Ruiz, Silhavy, 2005). Прикрепление к гидрофобной поверхности активирует зависимую от CpxR транскрипцию генов (Otto, Silhavy, 2002). Мутанты по гену *cpxA* нечувствительны к контактам, следовательно, гистидинкиназа CpxA может воспринимать сигнал, индуцируемый при прикреплении бактерий к поверхности. Для соответствующей активации системы Cpx необходим белок NlpE. Предполагается, что NlpE может быть сенсором поверхности, а состояние этого белка “считывается” системой Cpx. Неизвестно, как сила адгезии влияет на NlpE и активирует опосредуемую CpxA передачу сигнала. Возможно, что контакт с поверхностью индуцирует изменения конформации NlpE, а CpxA воспринимает эти изменения как появление белка с неправильным фолдингом (Otto, Silhavy, 2002).

Роль сенсорно-регуляторной системы CpxA/CpxR в восприятии сигнала, индуцируемого при прикреплении бактерий к поверхности, была оспорена

(Kimkes, Heinemann, 2018). В работе Kimkes и Heinemann (2018) не удалось обнаружить активации Cpx-системы при контакте бактерий с поверхностью как на клеточном уровне, так и в случае популяции. Однако при сравнении этого исследования с другими работами (Otto, Silhavy, 2002; Shimizu et al., 2016) можно отметить ряд методологических различий, которые затрудняют окончательную трактовку роли NlpE–CpxA/CpxR в зондировании поверхности. Очевидно, что противоречивые выводы (Otto, Silhavy, 2002; Shimizu et al., 2016; Kimkes, Heinemann, 2018) указывают на необходимость дальнейшего изучения участия NlpE–CpxA/CpxR в ответе бактерий на прикрепление к поверхности.

Система Cpx обнаружена у многих грамотрицательных бактерий и, кроме поддержания состояния белков периплазмы, регулирует вирулентность и ряд других фенотипических характеристик (Raivio, 2005; Vogt, Raivio, 2012). Например, при контакте с гидрофобными поверхностями энтерогеморрагических (EHEC) штаммов *E. coli* система NlpE–Cpx регулирует работу системы секреции III типа (Shimizu et al., 2016).

### МЕХАНОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ, ОПОСРЕДОВАННАЯ ПИЛЯМИ

Механосенсорные функции, по-видимому, могут выполнять пили I и IV типов. Гетерополимерные пили I типа опосредуют адгезию бактерий на субстратах (Busch, Waksman, 2012). Пили IV типа – длинные тонкие органеллы, попеременно вытягивающиеся и сжимающиеся за счет полимеризации и деполимеризации субъединиц белка-пилина. Они определяют тянущую подвижность бактерий и формирование их микроколоний на поверхностях (McCallum et al., 2017). У *E. coli* адгезивная субъединица FimH пилей I типа, по-видимому, может воспринимать силу сдвига, что приводит к усилению адгезии бактерий к поверхности (Thomas et al., 2002).

У *P. aeruginosa* ассоциированный с поверхностью адгезин PilY1 необходим для биосинтеза пилей и для прикрепления бактерий к поверхности клеток эукариот, а также, предположительно, участвует в регуляции роения псевдомонад. В 2014 г. было показано, что PilY1 может выполнять функции бактериального механосенсора. Оказалось, что наряду с минорными пилинами PilW и PilX, PilY1 необходим для вирулентности, индуцируемой контактом с поверхностью. Мутантные по генам других пилинов псевдомонады были дефектны по синтезу пилей, но сохраняли вирулентность, что свидетельствует об участии PilY1, PilW и PilX в регуляции вирулентности, независимой от синтеза пилей. С помощью направленного мутагенеза было доказано участие PilY1 в регуляции вирулентности бактерий, хотя и непонятно, обязана

ли эта регуляция механосенсингу (Siryaporn et al., 2014).

Основным структурным компонентом пилей IV типа являются субъединицы белка-пилина PilA. Полимеризация и деполимеризация мономеров PilA регулируется, соответственно, моторами PilB и PilT (Burrows, 2012). Индуцируемое контактом с поверхностью увеличение содержания сАМР зависит от пилина PilA, что предполагает участие пилей IV типа в восприятии контакта *P. aeruginosa* с поверхностью (Luo et al., 2015; Persat et al., 2015). Мутации в моторах PilB и PilT, а также прикрепление к менее плотным поверхностям снижали выраженность механоответов (Persat et al., 2015). Исследования на изолированных пиях IV типа показали, что их нити могут менять конформацию под воздействием натяжения (Biais et al., 2010; Beaussart et al., 2014), что, возможно, запускает каскад бактериальных реакций на механическое воздействие (Persat, 2017).

При контакте *P. aeruginosa* с поверхностями фактор транскрипции Vfr выступает как позитивный регулятор систем секреции III типа и тянущей подвижности, определяемой пиями, и как негативный регулятор роения. Транскрипцию гена, кодирующего Vfr, активирует вторичный мессенджер циклический аденозинмонофосфат (сАМР). Уровень экспрессии зависимых от Vfr генов повышен в колониях, растущих на твердых поверхностях, и подавлен в планктонных клетках. С использованием флуоресцентного репортера транскрипции было доказано, что активация зависимых от сАМР/Vfr ответов при контакте с поверхностью действительно является ответом на механическое воздействие. Этот ответ зависит от активности мотора пилей IV типа и от передачи сигналов через сенсорную систему Chp. Система Chp гомологична Che-системе хемотаксиса *E. coli*. Метил-акцептирующий белок PilJ, являющийся сенсором внешних стимулов, контролирует уровень фосфорилирования гистидинкиназы ChpA и соответствующего ей регулятора ответа PilG (Wolfgang et al., 2003; Whitchurch et al., 2004; Michel et al., 2011; Luo et al., 2015; Persat et al., 2015).

#### УЧАСТИЕ ЖГУТИКОВ В ВОСПРИЯТИИ МЕХАНИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Жгутики бактерий – более крупные, чем пили, двигательные органеллы, также принимают участие в восприятии механических воздействий. Бактериальные жгутики давно являются популярным объектом исследований молекулярных биологов, тем не менее, интерес к их изучению только усиливается. До сих пор продолжают обнаруживаться новые факты о строении и разнообразии функций этих органелл. Например, у флагеллина и нативных жгутиков разных видов

бактерий недавно была выявлена протеолитическая активность (Eckhard et al., 2017).

Бактериальные жгутики состоят из трех основных частей: базальное тело, крюк и филламент, которые синтезируются в таком же порядке. Выделяют три основные группы флагеллярных генов, последовательно экспрессируемых с промоторов разного типа: (1) гены активаторов транскрипции флагеллярных генов, (2) гены компонентов базального тела (белковых MS-, C-, P-, L-колец, системы секреции III типа, стержня) и крюка и (3) гены белка, кэпирующего филламент, и гены флагеллинов. У наиболее хорошо изученных гаммапротеобактерий *E. coli* и *Salmonella enterica* с перитрихальным жгутикованием около 50 регуляторных и структурных генов нужны для сборки и работы жгутиков. Экспрессия флагеллярных генов и процесс сборки жгутиков находятся под многоуровневым регуляторным контролем, реагирующим на разнообразные сигналы и имеющим свою специфику у разных классов, родов и видов бактерий (Brutinel, Yahr, 2008; Chevance, Hughes, 2008; Smith, Hoover, 2009; Patrick, Kearns, 2012; Tsang, Hoover, 2014; Altegoer, Bange, 2015; Osterman et al., 2015).

Базальное тело, выполняющее функции якоря жгутика в оболочке клетки, мотора и экспортной машины, включает несколько кольцевых белковых комплексов, стержень и систему секреции III типа. Эта система секреции экспортирует нужные белки через центральный канал жгутика в процессе его сборки (Minamino, 2014). Экспрессия флагеллярных генов скоординирована с активностью системы секреции III типа. В результате секреторируемые субстраты появляются только в нужный момент сборки жгутика, а транскрипция более ранних флагеллярных генов подавляется (Brutinel, Yahr, 2008). Экспрессия поздних жгутиковых генов подавляется до завершения сборки базального тела, что способствует сохранению энергетических ресурсов (Brutinel, Yahr, 2008).

Вращение бактериальных жгутиков обеспечивается работой мотора, располагающегося у основания жгутика в цитоплазматической мембране и, как все моторы, состоящего из ротора и статора (статор образуют Mot-белки). Мотор приводится в движение, в зависимости от организма и типа жгутика, потоком ионов водорода или ионов натрия через плазматическую мембрану; гидролиз АТФ для вращения жгутиков бактерий не требуется. Вращающаяся часть мотора состоит из набора колец, пронизывающих оболочку клетки и включающих несколько сотен молекул более 10 разных белков. Мотор может вращаться в разном направлении, обеспечивая или поступательное движение клетки, или ее кувырок и переориентацию в пространстве. О том, что комплекс статоров жгутика может воспринимать механические воздей-

ствия на жгутик и отвечать на них, свидетельствует увеличение количества статорных единиц в ответ на повышение нагрузки на жгутик (Lele et al., 2013).

Существующие гипотезы, каким образом жгутики опосредуют реакцию бактерий на изменение плотности среды, предполагают, что какие-то сигналы ингибируют работу мотора жгутика.

Так, мутации в генах *fliL*, *fliF* и *fliG* патогенной бактерии *Pr. mirabilis*, кодирующих компоненты базального тела жгутика, приводят к дифференциации ее клеток к роящемуся фенотипу в неподходящих для роения жидких средах и к образованию супердлинных клеток на плотной среде; кроме того, повышается вирулентность бактерий. Ген *fliL* входит в состав оперона *fliLMNOPQR*, включающего также белки переключателя ротора жгутика и белки аппарата экспорта. На основании подробной характеристики *fliL* мутантов *Pr. mirabilis* был сделан вывод о необходимости FliL для перехода бактерий к роению и для экспрессии генов вирулентности. Предполагается, что небольшой (17–18 кДа) белок FliL с неясной функцией ассоциирован с базальным телом. Сформулировано предположение о том, что *Pr. mirabilis* определяет свою локализацию в окружающей среде или в организме хозяина в результате оценки статуса моторов жгутиков, который (статус) контролирует экспрессию генов роения и вирулентности (Belas, Suvanasthi, 2005).

Последующий анализ транскрипта *fliL* мутанта *Pr. mirabilis* показал, что почти все флагеллярные гены (2) и (3) классов и гены хемотаксиса у него репрессированы. Дополнительные данные позволили авторам предположить, что в восприятии механических воздействий участвует С-конец FliL, а регулятор роящихся клеток UmoA является частью сигнального реле, ведущего к флагеллярному мастер-оперону протей (Cusick et al., 2012).

Позже были получены данные о возможной вовлеченности FliL в контроль потока протонов, когда мотор находится в условиях высокого крутящего момента. Участие FliL в этом контроле, по мнению авторов, может осуществляться через взаимодействие FliL с каким-то из белков мотора, возможно, MotB. Авторы высказали предположение о том, что бактерия может чувствовать изменение в протондвижущей силе, мембранном потенциале или градиенте pH, если вращение жгутиков ингибируется при контакте с поверхностью. Этот “поверхностный” сигнал затем запускает переход бактерий к роению через сигнальный путь, включающий белки UmoA, UmoD и Rsc и приводящий к увеличению экспрессии флагеллярного мастер-оперона (Lee, Belas, 2015). У протей и ряда других бактерий это мастер-оперон *flhDC*, отсутствующий у альфапротеобактерий. Другие исследования показали, что описанная выше мо-

дель участия белка FliL в обеспечении бактериального механоответа применима далеко не ко всем бактериям (Chawla et al., 2017).

При изучении мутантов грамположительной бактерии *Bacillus subtilis* по *motB* гену жгутикового статора также выявлена возможная механосенсорная роль жгутиков. Ингибирование подвижности жгутика связыванием с поликлональными антителами, как и делеция гена *motB*, запускали процесс формирования биопленки. Механоответ *B. subtilis* зависит от сенсорно-регуляторной системы DegS/DegU. Цитоплазматическая сенсорная гистидинкиназа DegS фосфорилирует регулятор ответа DegU в ответ на внешний сигнал. Фосфорилированный регулятор ответа DegU активирует гены компонентов матрикса биопленок. По-видимому, DegS воспринимает сигнал, генерируемый при подавлении вращения жгутиков посредством пока непонятого механизма (Cairns et al., 2013).

Предложена также модель участия филамента жгутика *Salmonella typhimurium* совместно с регулятором морфогенеза жгутиков FlgM в восприятии внешних сигналов, в частности, пониженной влажности (и ингибирования роста филамента при этом) (Wang et al., 2005). FlgM транскрибируется с промоторов класса (2) и, преимущественно, класса (3). В первом случае FlgM в основном остается в клетке, во втором – секретируется из нее. Авторы предполагают, что основное назначение экскреции FlgM, экспрессируемого с промоторов класса (3), – тестирование, благоприятны ли внешние условия для опосредуемой жгутиками подвижности. Это особенно важно в случае поверхностей, уровень увлажнения которых критичен для движения. Авторы спекулируют, что условия поверхности, способствующие облегченной секреции FlgM, могут сигнализировать клеткам, что можно увеличивать количество жгутиковых филаментов за счет транскрипции поздних флагеллярных генов с промоторов (3) класса. В их модели, родившейся в результате изучения дефектных по роению *che*-мутантов сальмонелл (хотя роение не зависит от собственно хемотаксиса), сенсором свойств поверхности является филамент жгутика (Wang et al., 2005).

*Vibrio cholerae* также может использовать жгутик в качестве механосенсора: при контакте с твердой средой остановка мотора и замирание потока ионов через мотор приводили к увеличению мембранного потенциала и инициации формирования биопленки (Van Dellen et al., 2008).

У *Vibrio parahaemolyticus*, морской патогенной бактерии со смешанным жгутикованием, замедление или блокирование вращения полярного жгутика запускает сборку латеральных жгутиков, необходимых для роения по поверхностям, а также экспрессию генов колонизации хозяина и ви-

рулентности. Делеция гена жгутикового статора *motB* или флагеллина *flaC* также приводит к конститутивной транскрипции генов роения, возможно, в результате ложного “впечатления” мутантных бактерий о контакте с поверхностью (McCarter et al., 1988; Kawagishi et al., 1996).

Как некоторые другие виды бактерий, бактерии видов *A. brasilense* и *A. baldaniorum* могут продуцировать два вида жгутиков: одиночный полярный (Fla) конститутивно и многочисленные латеральные (Laf) – только при повышенной плотности среды (например, в присутствии в среде от 0.4% агара и выше; Petrova et al., 2020). В жидкостях азоспириллы быстро плавают за счет работы Fla, на вязких и полужидких средах роятся. Как и у штамма *A. brasilense* Sp7, Fla штамма *A. baldaniorum* Sp245 (ранее *A. brasilense*; Dos Santos Ferreira et al., 2020) покрыт полисахаридным чехлом, а флагеллин Fla гликозилирован (Moens et al., 1995; Бурыгин и соавт., 2007).

Для ряда бактерий со смешанным жгутикованием высказывались предположения о контроле Laf-системы со стороны Fla-системы (McCarter et al., 1988; Kawagishi et al., 1996; Moens et al., 1996). В случае штамма *A. brasilense* Sp7 экспрессия структурного гена *laf1* флагеллина латеральных жгутиков индуцировалась в условиях затруднения вращения Fla (на плотных средах или в жидкостях, содержащих антифлагеллиновые поликлональные антитела) (Moens et al., 1996). С другой стороны, были получены инсерционные нероящиеся мутанты *A. baldaniorum* Sp245 и *Rhodospirillum centenum* SW (бактерии из того же семейства *Rhodospirillaceae*, что и азоспириллы), которые по-прежнему продуцировали индуцибельные Laf при повышенной плотности среды, хотя их Fla был парализован или отсутствовал (Jiang et al., 1998; Scheludko et al., 1998). Таким образом, сигнал, используемый азоспириллами для индукции сборки Laf, по-видимому, более сложен, чем просто трудности во вращении Fla. Поскольку названные мутанты азоспирилл и родоспирилл не роились, функциональный Fla, возможно, осуществляющий координацию Laf и правильное формирование пучка жгутиков, по-видимому, также необходим для роения азоспирилл и *R. centenum* по поверхности полужидких сред (Jiang et al., 1998; Scheludko et al., 1998; McClain et al., 2002).

В отличие от нероящихся Fla-минус мутантов *A. baldaniorum* Sp245 и *R. centenum* SW, Fla-минус мутанты гаммапротеобактерий *V. parahaemolyticus* и *Aeromonas hydrophila* не утрачивают способность роиться с помощью Laf (McCarter et al., 1988). Также, при попадании штаммов дикого типа в жидких на плотные среды, клетки бактерий видов *A. baldaniorum*, *A. brasilense*, *Aer. hydrophila* и *Aer. caviae* удлиняются незначительно (Moens

et al., 1995, 1996; Scheludko et al., 1998) по сравнению с удлиняющимися в несколько раз клетками, например, *V. parahaemolyticus* (McCarter, 1999). Таким образом, процессы клеточной дифференциации на поверхностях и характер взаимодействия между Fla и Laf системами у разных бактерий имеют свои отличительные черты.

### РОЛЬ В ИЗМЕНЕНИИ ОБРАЗА ЖИЗНИ БАКТЕРИЙ ВТОРИЧНОГО МЕССЕНДЖЕРА ДИГУАНОЗИНМОНОФОСФАТА (c-di-GMP)

Существенную роль в изменении образа жизни бактерий и их переходе, например, от планктонного к прикрепленному существованию или к роению по поверхностям, играет такой вторичный мессенджер, как циклический дигуанозинмонофосфат (c-di-GMP) (Jenal, 2004; Roemling et al., 2005).

Синтез c-di-GMP из двух молекул GTP осуществляют бактериальные дигуанилатциклазы, содержащие домен GGDEF (Paul et al., 2004), а гидролизуют c-di-GMP фосфодиэстеразы, для которых характерно наличие домена EAL или HD-GYP (Christen et al., 2005; Ryan et al., 2006). Активность этих ферментов изменяется под действием разнообразных внешних и внутренних сигналов, что приводит к изменению концентрации c-di-GMP в клетке и, в итоге, к значительным изменениям фенотипа бактерий, например, к их переходу от одиночного плавания к жизни в многоклеточной биопленке (Jenal, Malone, 2006; Cotter, Stibitz, 2007; Monds et al., 2007; Newell et al., 2009; Hengge, 2009; Valentini, Filloux, 2016; Rodesney et al., 2017). Однако предстоит еще многое узнать о том, каким именно образом механические и иные воздействия вызывают флуктуации в концентрации c-di-GMP и других вторичных мессенджеров в клетках (Petrova, Sauer, 2012; Siryaporn et al., 2014; Luo et al., 2015). Одна из моделей предполагает, что изменения силы адгезии, которая связывает бактерии с поверхностью, или скорости потоков жидкости, омывающие клетки, связанные с поверхностью, приводит к изменению концентрации c-di-GMP в клетках и, в итоге, к переходу бактерий от одиночного плавания к жизни в многоклеточной биопленке (Rodesney et al., 2017). Высокий уровень c-di-GMP снижает синтез и/или активность жгутиков и стимулирует продукцию бактериями различных адгезинов и экзополисахаридов, являющихся компонентами матрикса биопленок (Hengge, 2009). Низкий уровень клеточного c-di-GMP характерен для планктонных свободно плавающих бактерий (Valentini, Filloux, 2016). На модельных штаммах *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Caulobacter crescentus* получены данные, доказывающие зависимость синтеза c-di-GMP от активности жгутикового мотора (Hershey, 2021). Воздействие механических сил на

активность жгутика или мутации по генам его мотора вызывают у бактерий реакции, влияющие на продукцию с-di-GMP (Hershey, 2021).

## МЕХАНООТВЕТЫ

Ощущая механические нагрузки, бактерии формируют механоответ, модулируя разнообразные программы развития и поведения. Контакты с поверхностями опосредуют регуляцию вирулентности бактерий (Belas, Suvanasthi, 2005; Raivio, 2005; Vogt, Raivio, 2012; Siryaporn et al., 2014), запуск процесса формирования биопленок (Jenal, Malone, 2006; Cotter, Stibitz, 2007; Monds et al., 2007; Van Dellen et al., 2008; Newell et al., 2009; Hengge, 2009; Cairns et al., 2013; Valentini, Filloux, 2016; Rodesney et al., 2017). Изменение размера клеток, характера их жгутикования и переход от свободного плавания к роению происходит у микробов, попадающих из жидкости на биотические/абиотические вязкие/гелеобразные или плотные поверхности (Jiang et al., 1998; McCarter et al., 1988; Moens et al., 1995; Kawagishi et al., 1996; Moens et al., 1996; Scheludko et al., 1998; McCarter, 1999; McClain et al., 2002; Belas, Suvanasthi, 2005; Bible et al., 2008; Eloe et al., 2008; Wang F. et al., 2008; Chawla et al., 2017; Petrova et al., 2020).

Индивидуальные или групповые отклики бактерий на изменение механических сил и свойств окружения не ограничиваются перечисленными и кратко охарактеризованными в обзоре выше механоответами.

У морской восстанавливающей металлы бактерии *Shewanella oneidensis* пилей IV типа и жгутики опосредуют механосенсинг (Dufrêne, Persat, 2020). Изменение размера и деления клеток *She. oneidensis*, контактирующих с поверхностью, и планктонных отличаются (Dufrêne, Persat, 2020). Рост клеток прикрепленных мутантов *She. oneidensis* без пилей IV типа и жгутиков подобен темпам роста планктонных бактерий (Lee et al., 2016), это позволило отметить важную роль этих органелл в восприятии механических стимулов окружающей среды (Dufrêne, Persat, 2020). Глубоководные микроорганизмы сталкиваются с силами, создаваемыми высоким гидростатическим давлением. При переходе от низкого давления к условиям роста при высоком давлении глубоководные микроорганизмы претерпевают фенотипические изменения, которые не ограничиваются подвижностью, которую обсуждали выше (Bartlett et al., 1989; Eloe et al., 2008; Wang F. et al., 2008). По мере увеличения давления изменяются белковый и липидный составы внешней мембраны, уменьшается ее текучесть и увеличивается жесткость (Bartlett et al., 1989).

Адгезивная субъединица FimH пилей I типа *E. coli* воспринимает силу гидродинамического

сдвига, что приводит к усилению адгезии бактерий к поверхности (Thomas et al., 2002). У стельчатых бактерий *Caulobacter crescentus* контакт с поверхностью стимулирует синтез полисахаридов, позволяющих клеткам необратимо прикрепляться к твердому субстрату (Li et al., 2012). Пили и вращающийся жгутик совместно опосредуют этот ответ *C. crescentus* (Li et al., 2012; Hug et al., 2017; Dufrêne, Persat, 2020). Аналогично это происходит у *Asticcacaulis biprosthecum*, *Agrobacterium tumefaciens* и *P. aeruginosa*, что позволяет одиночным планктонным клеткам быстро адаптироваться к прикрепленному образу жизни и образованию биопленок (Dufrêne, Persat, 2020). *B. subtilis* реагирует на прикрепление к поверхности и торможение вращения жгутиков активацией двухкомпонентной системы передачи сигналов DegS–DegU, способствующих транскрипции генов экзополимера поли- $\gamma$ -dl-глутаминовой кислоты, являющейся компонентом матрикса биопленки (Cairns et al., 2013). Ряд бактериальных белков имеют амилоидобразующие последовательности аминокислот. Амилоиды обнаружены в биопленках, сформированных бактериями различных систематических групп (Blanco et al., 2012). Амилоидные структуры образуют каркас пленок, опосредуют адгезию к поверхностям или тканям и устойчивость биопленок к различным воздействиям окружающей среды (Larsen et al., 2007; Romero et al., 2010; Blanco et al., 2012). Действие механических сил может способствовать агрегации амилоидных адгезинов у *E. coli* и *B. subtilis* (Dufrêne, Persat, 2020).

В биопленках матрикс, служащий структурным каркасом, характеризуется вязкоупругостью (Flemming, Wingender, 2010; Douarche et al., 2015; Jana et al., 2020). Матрикс демонстрирует противоположные механические свойства (вязкий/упругий) в ответ на воздействие периодических или регулярных сил гидродинамического сдвига и в течение жизненного цикла биопленок (Jana et al., 2020). Бактерии в биопленках генотипически, физиологически и фенотипически гетерогенны (Stewart et al., 2008; Serra et al., 2014; Wang et al., 2017; Шелудько и соавт., 2020; Jana et al., 2020; Røder et al., 2020). Рост бактерий может вызывать механический стресс внутри биопленки, деформируя матрикс, что создает механическое напряжение и сказывается на ориентации клеток в сообществе (Douarche et al., 2015). Относительное расположение отдельных бактерий определяет их взаимодействие между собой, в том числе, и в биопленках, в которых они разделены между собой на расстояние меньше микрометра (Nadel et al., 2016; Tropini et al., 2017). Например, пространственная организация влияет на то, как отдельные клетки воспринимают сигнальные молекулы, такие как аутоиндукторы, питательные вещества или противомикробные факторы (Mukherjee et al., 2019). В многовидовых биопленках расположение бак-

терий также влияет на межвидовые социальные взаимодействия, в конечном итоге определяет, конкурируют ли штаммы или сотрудничают (Nadel et al., 2016).

Нагрузка со стороны окружающей среды, такая как гидродинамический сдвиг, с которым бактерии сталкиваются в процессе формирования биопленок, может влиять на свойства зрелых пленок, например, повышать эластичность и прочность белков и полисахаридов матрикса (Herbert-Guillou et al., 2001; Lemos et al., 2015; Araujo et al., 2016). Механические силы, создаваемые потоками жидкости, помимо воздействия на транспорт различных сигналов и питательных веществ могут повредить матрицу пленок, доставлять новые бактерии к биопленкам или способствовать распространению клеток из них, тем самым влияя на видовой состав популяции, а также динамику распространения бактериальных видов (Kaplan, 2004; Sauer, 2004).

В этот обзор мы включили лишь небольшую часть обширной литературы о восприятии бактериями механической нагрузки. Простая модель реакции микроорганизмов на изменение механических свойств среды/окружения состоит из последовательности трех элементарных событий: механоотсиссии, механочувствительности и механоответа (Iskratsch et al., 2014; Persat, 2017). Контакт бактерий с поверхностью и/или гидродинамический сдвиг создают силы, которые механически передаются либо через активные органеллы, такие как подвижные пилы IV типа и жгутики (механически исследуют окружающую среду), либо пассивные компоненты, такие как внешняя мембрана, которая деформируется под механической нагрузкой. Они связаны с сенсорными системами, действующими как механочувствительные компоненты. Эту роль могут выполнять хемосенсорные системы. В конечном итоге последовательность перечисленных событий приводит к механоответам. Определенную роль в изменении образа жизни бактерий и их переходе, например, от планктонного к прикрепленному существованию или к роению по поверхностям, играет вторичный мессенджер c-di-GMP (Jenal, 2004; Roemling et al., 2005). Необходимо отметить, что механоотчеты разнообразны, бактериальные клетки изменяют морфологию, модулируют подвижность, активируют вирулентность или иницируют образование биопленок. Подобные реактивные изменения в бактериальном фенотипе, интересные для фундаментальной науки, также имеют экологическую, медицинскую, сельскохозяйственную, биотехнологическую значимость. Поэтому весьма заманчиво научиться подавлять опасные или стимулировать практически полезные механоотчеты микробов. Так идентификация механического стресса, как сигнала, ведущего к развитию биопленки, указывает на актуальность подхода к

конструированию поверхностей, которые являются не только бактерицидными, но и сопротивляются прикреплению бактерий или не создают механического напряжения (Salwiczek et al., 2014; MacCallum et al., 2015).

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность д. б. н. профессору Е.И. Кацы за разработку концепции анализа литературных данных и направления исследований в области механосенсинга и механотрансдукции бактерий.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00006-а (“Генетические аспекты механочувствительности альфапротеобактерий со смешанным жгутикованием *Azospirillum brasilense*”).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований, в которых в качестве объектов использовались животные или участвовали люди.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бурьгин Г.Л., Широков А.А., Шелудько А.В., Кацы Е.И., Щеголев С.Ю., Матора Л.Ю. Выявление чехла на поверхности полярного жгутика *Azospirillum brasilense* // Микробиология. 2007. Т. 76. С. 822–829.
- Burygin G.L., Shirokov A.A., Shelud'ko A.V., Katsy E.I., Shchygolev S.Yu., Matora L.Yu. Detection of a sheath on *Azospirillum brasilense* polar flagellum // Microbiology (Moscow). 2007. V. 76. P. 728–734.
- Остерман И.А., Дикхтяр Ю.Ю., Богданов А.А., Донцова О.А., Сергеев П.В. Регуляция экспрессии генов бактериальной флагеллы // Биохимия. 2015. Т. 80. С. 1662–1672.
- Osterman I.A., Dikhtyar Y.Y., Bogdanov A.A., Dontsova O.A., Sergiev P.V. Regulation of flagellar gene expression in bacteria // Biochemistry (Moscow). 2015. V. 80. P. 1447–1456.
- Шелудько А.В., Мокеев Д.И., Евстигнеева С.С., Филиппьева Ю.А., Буров А.М., Петрова Л.П., Пономарева Е.Г., Кацы Е.И. Анализ ультраструктуры клеток в составе биопленок бактерий *Azospirillum brasilense* // Микробиология. 2020. Т. 89. С. 59–73.
- Shelud'ko A.V., Mokeev D.I., Evstigneeva S.S., Filip'cheva Yu.A., Burov A.M., Petrova L.P., Ponomareva E.G., Katsy E.I. Cell ultrastructure in biofilms of *Azospirillum brasilense* // Microbiology (Moscow). 2020. V. 89. P. 50–63.
- Шелудько А.В., Широков А.А., Соколова М.К., Соколов О.И., Петрова Л.П., Матора Л.Ю., Кацы Е.И. Колонизация корней пшеницы бактериями *Azospirillum brasilense* с различной подвижностью // Микробиология. 2010. Т. 79. С. 696–704.

- Shelud'ko A.V., Shirokov A.A., Sokolova M.K., Sokolov O.I., Petrova L.P., Matora L.Y., Katsy E.I.* Wheat root colonization by *Azospirillum brasilense* strains with different motility // *Microbiology (Moscow)*. 2010. V. 79. P. 688–695.
- Altegoer F., Bange G.* Undiscovered regions on the molecular landscape of flagellar assembly // *Curr. Opin. Microbiol.* 2015. V. 28. P. 98–105.
- Araújo P.A., Malheiro J., Machado I., Mergulhão F., Melo L., Simões M.* Influence of flow velocity on the characteristics of *Pseudomonas fluorescens* biofilms // *J. Environ. Eng.* 2016. V. 142. P. 04016031-1–04016031-8.
- Bartlett D., Wright M., Yayanos A.A., Silverman M.* Isolation of a gene regulated by hydrostatic pressure in a deep-sea bacterium // *Nature*. 1989. V. 342. P. 572–574.
- Beaussart A., Baker A.E., Kuchma S.L., El-Kirat-Chatel S., O'Toole G.A., Dufrière Y.F.* Nanoscale adhesion forces of *Pseudomonas aeruginosa* type IV pili // *ACS Nano*. 2014. V. 8. P. 10723–10733.
- Belas R.* Biofilms, flagella, and mechanosensing of surfaces by bacteria // *Trends Microbiol.* 2014. V. 22. P. 517–527.
- Belas R., Suvanasuthi R.* The ability of *Proteus mirabilis* to sense surfaces and regulate virulence gene expression involves FliL, a flagellar basal body protein // *J. Bacteriol.* 2005. V. 187. P. 6789–6803.
- Berg H.C.* Bacterial behaviour // *Nature*. 1975. V. 254. P. 389–392.
- Biais N., Higashi D.L., Brujic J., So M., Sheetz M.P.* Force-dependent polymorphism in type IV pili reveals hidden epitopes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010. V. 107. P. 11358–11363.
- Bible A.N., Stephens B.B., Ortega D.R., Xie Z., Alexandre G.* Function of a chemotaxis-like signal transduction pathway in modulating motility, cell clumping, and cell length in the alphaproteobacterium *Azospirillum brasilense* // *J. Bacteriol.* 2008. V. 190. P. 6365–6375.
- Blanka A., Düvel J., Dötsch A., Klinkert B., Abraham W.-R., Kaever V., Ritter C., Narberhaus F., Häussler S.* Constitutive production of c-di-GMP is associated with mutations in a variant of *Pseudomonas aeruginosa* with altered membrane composition // *Sci. Signal*. 2015. V. 8. P. ra36.
- Blanco L.P., Evans M.L., Smith D.R., Badtke M.P., Chapman M.R.* Diversity, biogenesis and function of microbial amyloids // *Trends Microbiol.* 2012. V. 20. P. 66–73.
- Bogino P.C., Oliva M.M., Sorroche F.G., Giordano W.* The role of bacterial biofilms and surface components in plant-bacterial associations // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. V. 14. P. 15838–15859.
- Booth I.R.* Bacterial mechanosensitive channels: progress towards an understanding of their roles in cell physiology // *Curr. Opin. Microbiol.* 2014. V. 18. P. 16–22.
- Brutinel E.D., Yahr T.L.* Control of gene expression by type III secretory activity // *Curr. Opin. Microbiol.* 2008. V. 11. P. 128–133.
- Burrows L.L.* *Pseudomonas aeruginosa* twitching motility: type IV pili in action // *Annu. Rev. Microbiol.* 2012. V. 66. P. 493–520.
- Busch A., Waksman G.* Chaperone-usheer pathways: diversity and pilus assembly mechanism // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2012. V. 367. P. 1112–1122.
- Cairns L.S., Marlow V.L., Bissett E., Ostrowski A., Stanley-Wall N.R.* A mechanical signal transmitted by the flagellum controls signalling in *Bacillus subtilis* // *Mol. Microbiol.* 2013. V. 90. P. 6–21.
- Chawla R., Ford K.M., Lele P.P.* Torque, but not FliL, regulates bacterial mechanosensitive flagellar motor-function // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 5565(1–9).
- Chawla R., Gupta R., Lele T.P., Lele P.P.* A skeptic's guide to bacterial mechanosensing // *J. Mol. Biol.* 2020. V. 432. P. 523–533.
- Chen Y., Harapanahalli A.K., Busscher H.J., Norde W., van der Mei H.C.* Nanoscale cell wall deformation impacts long-range bacterial adhesion forces on surfaces // *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. V. 80. P. 637–643.
- Chevance F.F.V., Hughes K.T.* Coordinating assembly of a bacterial macromolecular machine // *Nat. Rev. Microbiol.* 2008. V. 6. P. 455–465.
- Christen M., Christen B., Folcher M., Schauerte A., Jenal U.* Identification and characterization of a cyclic di-GMP-specific phosphodiesterase and its allosteric control by GTP // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 30829–30837.
- Cotter P.A., Stibitz S.* c-di-GMP-mediated regulation of virulence and biofilm formation // *Curr. Opin. Microbiol.* 2007. V. 10. P. 17–23.
- Croes C.L., Moens S., van Bastelaere E., Vanderleyden J., Michiels K.W.* The polar flagellum mediates *Azospirillum brasilense* adsorption to wheat roots // *J. Gen. Microbiol.* 1993. V. 139. P. 2261–2269.
- Cusick K., Lee Y.-Y., Youchak B., Belas R.* Perturbation of FliL interferes with *Proteus mirabilis* swarmer cell gene expression and differentiation // *J. Bacteriol.* 2012. V. 194. P. 437–447.
- Douarce C., Allain J.-M., Raspaud E.* *Bacillus subtilis* bacteria generate an internal mechanical force within a biofilm // *Biophys. J.* 2015. V. 109. P. 2195–2202.
- Dos Santos Ferreira N., Hayashi Sant'Anna F., Massena Reis V., Ambrosini A., Gazolla Volpiano C., Rothballer M., Schwab S., Baura V.A., Balsanelli E., Pedrosa F.O., Pereira Passaglia L.M., Maltempi de Souza E., Hartmann A., Cassan F., Zilli J.E.* Genome-based reclassification of *Azospirillum brasilense* Sp245 as the type strain of *Azospirillum baldaniorum* sp. nov. // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2020. V. 70. P. 6203–6212.
- Dufrière Y.F., Persat A.* Mechanomicrobiology: how bacteria sense and respond to forces // *Nature Rev. Microbiol.* 2020. V. 18. P. 227–240.
- Eckhard U., Bandukwala H., Mansfield M.J., Marino G., Cheng J., Wallace I., Holyoak T., Charles T.C., Austin J., Overall C.M., Doxey A.C.* Discovery of a proteolytic flagellin family in diverse bacterial phyla that assembles enzymatically active flagella // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. P. 521 (1–9).
- Ellison C., Brun Y.V.* Mechanosensing: a regulation sensation // *Curr. Biol.* 2015. V. 25. P. R113–R115.
- Eloe E.A., Lauro F.M., Vogel R.F., Bartlett D.H.* The deep-sea bacterium *Photobacterium profundum* ss9 utilizes separate flagellar systems for swimming and swarming under high-pressure conditions // *Appl. Environ. Microbiol.* 2008. V. 74. P. 6298–6305.
- Fajardo-Cavazos P., Nicholson W.L.* Mechanotransduction in prokaryotes: a possible mechanism of spaceflight adaptation // *Life*. 2021. V. 11. P. 33–44.
- Fibach-Paldi S., Burdman S., Okon Y.* Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense* // *FEMS Microbiol. Lett.* 2012. V. 326. P. 99–108.

- Flemming H.-C., Wingender J. The biofilm matrix // Nat. Rev. Microbiol. 2010. V. 8. P. 623–633.
- Guttenplan S.B., Kearns D.B. Regulation of flagellar motility during biofilm formation // FEMS Microbiol. Rev. 2013. V. 37. P. 849–871.
- Harapanahalli A.K., Younes J.A., Allan E., van der Mei H.C., Busscher H.J. Chemical signals and mechanosensing in bacterial responses to their environment // PLoS Pathog. 2015. V. 11. P. e1005057 (1–6).
- Harshey R.M., Partridge J.D. Shelter in a swarm // J. Mol. Biol. 2015. V. 427. P. 3683–3694.
- Hengge R. Principles of c-di-GMP signalling in bacteria // Nat. Rev. Microbiol. 2009. V. 7. P. 263–273.
- Herbert-Guillou D., Tribollet B., Festy D. Influence of the hydrodynamics on the biofilm formation by mass transport analysis // Bioelectrochem. 2001. V. 53. P. 119–125.
- Hershey D.M. Integrated control of surface adaptation by the bacterial flagellum // Curr. Opin. Microbiol. 2021. V. 61. P. 1–7.
- Houry A., Briandet R., Aymerich S., Gohar M. Involvement of motility and flagella in *Bacillus cereus* biofilm formation // Microbiology (SGM). 2010. V. 156. P. 1009–1018.
- Hug I., Deshpande S., Sprecher K.S., Pfohl T., Jenal U. Second messenger-mediated tactile response by a bacterial rotary motor // Science. 2017. V. 358. P. 531–534.
- Iskratsch T., Wolfenson H., Sheetz M.P. Appreciating force and shape—the rise of mechanotransduction in cell biology // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2014. V. 15. P. 825–833.
- Jana S., Charlton S.G.V., Eland L.E., Burgess J.G., Wipat A., Curtis T.P., Chen J. Nonlinear rheological characteristics of single species bacterial biofilms // NPJ Biofilms Microbiomes. 2020. V. 6. Art. 19. <https://doi.org/10.1038/s41522-020-0126-1>
- Jenal U. Cyclic di-guanosine-monophosphate comes of age: a novel secondary messenger involved in modulating cell surface structures in bacteria? // Curr. Opin. Microbiol. 2004. V. 7. P. 185–191.
- Jenal U., Malone J. Mechanisms of cyclic-di-GMP signaling in bacteria // Annu. Rev. Genet. 2006. V. 40. P. 385–407.
- Jiang Z.Y., Rushing B.G., Bai Y., Gest H., Bauer C.E. Isolation of *Rhodospirillum centenum* mutants defective in phototactic colony motility by transposon mutagenesis // J. Bacteriol. 1998. V. 180. P. 1248–1255.
- Kaplan J.B., Velliyagounder K., Ragunath C., Rohde H., Mack D., Knobloch J.K., Ramasubbu N. Genes involved in the synthesis and degradation of matrix polysaccharide in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* biofilms // J. Bacteriol. 2004. V. 186. P. 8213–8220.
- Kawagishi I., Imagawa M., Imae Y., McCarter L., Homma M. The sodium-driven polar flagellar motor of marine *Vibrio* as the mechanosensor that regulates lateral flagellar expression // Mol. Microbiol. 1996. V. 20. P. 693–699.
- Kimkes T.E.P., Heinemann M. Reassessing the role of the *Escherichia coli* CpxAR system in sensing surface contact // PLoS One. 2018. V. 13. P. e0207181.
- Kuchma S.L., Griffin E.F., O'Toole G.A. Minor pilins of the type IV pilus system participate in the negative regulation of swarming motility // J. Bacteriol. 2012. V. 194. P. 5388–5403.
- Larsen P., Nielsen J.L., Dueholm M.S., Wetzel R., Otzen D., Nielsen P.H. Amyloid adhesins are abundant in natural biofilms // Environ. Microbiol. 2007. V. 9. P. 3077–3090.
- Lee C.K., Kim A.J., Santos G.S., Lai P.Y., Lee S.Y., Qiao D.F., Anda J.D., Young T.D., Chen Y., Rowe A.R., Nealsen K.H., Weiss P.S., Wong G.C.L. Evolution of cell size homeostasis and growth rate diversity during initial surface colonization of *Shewanella oneidensis* // ACS Nano. 2016. V. 10. P. 9183–9192.
- Lee Y.-Y., Belas R. Loss of FliL alters *Proteus mirabilis* surface sensing and temperature-dependent swarming // J. Bacteriol. 2015. V. 197. P. 159–173.
- Lele P.P., Hosu B.G., Berg H.C. Dynamics of mechanosensing in the bacterial flagellar motor // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. V. 110. P. 11839–11844.
- Lemos M., Mergulhao F., Melo L., Simoes M. The effect of shear stress on the formation and removal of *Bacillus cereus* biofilms // Food Bioprod. Process. 2015. V. 93. P. 242–248.
- Li G., Brown P.J.B., Tang J.X., Xu J., Quardokus E.M., Fuqua C., Brun Y.V. Surface contact stimulates the just-in-time deployment of bacterial adhesins // Mol. Microbiol. 2012. V. 83. P. 41–51.
- López D., Vlamakis H., Kolter R. Biofilms // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. V. 2. P. a000398 (1–11).
- Luo Y., Zhao K., Baker A.E., Kuchma S.L., Coggan K.A., Wolfgang M.C., Wong G.C., O'Toole G.A. A hierarchical cascade of second messengers regulates *Pseudomonas aeruginosa* surface behaviors // mBio. 2015. V. 6. P. e02456-14 (1–11).
- MacCallum N., Howell C., Kim P., Sun D., Friedlander R., Ranisau J., Ahanotu O., Lin J.J., Vena A., Hatton B., Wong T.-S., Aizenberg J. Liquid-infused silicone as a biofouling-free medical material // ACS Biomater. Sci. Eng. 2015. V. 1. P. 43–51.
- McCallum M., Tammam S., Khan A., Burrows L.L., Howell P.L. The molecular mechanism of the type IVa pilus motors // Nat. Commun. 2017. V. 8. P. 15091 (1–10).
- McCarter L. The multiple identities of *Vibrio parahaemolyticus* // J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 1999. V. 1. P. 51–57.
- McCarter L., Hilmen M., Silverman M. Flagellar dynamometer controls swarmer cell differentiation of *V. parahaemolyticus* // Cell. 1988. V. 54. P. 345–351.
- McClain J., Rollo D.R., Rushing B.G., Bauer C.E. *Rhodospirillum centenum* utilizes separate motor and switch components to control lateral and polar flagellum rotation // J. Bacteriol. 2002. V. 184. P. 2429–2438.
- Michel G.P.F., Aguzzi A., Ball G., Soscia C., Bleves S., Voulhoux R. Role of *fimV* in type II secretion system-dependent protein secretion of *Pseudomonas aeruginosa* on solid medium // Microbiology (SGM). 2011. V. 157. № 7. P. 1945–1954.
- Minamino T. Protein export through the bacterial flagellar type III export pathway // Biochim. Biophys. Acta. 2014. V. 1843. P. 1642–1648.
- Monds R.D., Newell P.D., Gross R.H., O'Toole G.A. Phosphate-dependent modulation of c-di-GMP levels regulates *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 biofilm formation by controlling secretion of the adhesin LapA // Mol. Microbiol. 2007. V. 63. P. 656–679.
- Moens S., Michiels K., Vanderleyden J. Glycosylation of the flagellin of the polar flagellum of *Azospirillum brasilense*, a Gram-negative nitrogen-fixing bacterium // Microbiology (SGM). 1995. V. 141. P. 2651–2657.

- Moens S., Schloter M., Vanderleyden J. Expression of the structural gene, *laf1*, encoding the flagellin of the lateral flagella in *Azospirillum brasilense* Sp7 // J. Bacteriol. 1996. V. 178. P. 5017–5019.
- Mukherjee S., Bassler B.L. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments // Nat. Rev. Microbiol. 2019. V. 17. P. 371–382.
- Nadell C.D., Drescher K., Foster K.R. Spatial structure, cooperation and competition in biofilms // Nat. Rev. Microbiol. 2016. V. 14. P. 589–600.
- Newell P.D., Monds R.D., O'Toole G.A. LapD is a bis-(3',5')-cyclic dimeric GMP-binding protein that regulates surface attachment by *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. P. 3461–3466.
- Ohashi K., Fujiwara S., Mizuno K. Roles of the cytoskeleton, cell adhesion and rho signalling in mechanosensing and mechanotransduction // J. Biochem. 2017. V. 161. P. 245–254.
- Otto K., Silhavy T.J. Surface sensing and adhesion of *Escherichia coli* controlled by the Cpx-signaling pathway // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. P. 2287–2292.
- Patrick J.E., Kearns D.B. Swarming motility and the control of master regulators of flagellar biosynthesis // Mol. Microbiol. 2012. V. 83. P. 14–23.
- Paul R., Weiser S., Amiot N.C., Chan C., Schirmer T., Giese B., Jenal U. Cell cycle-dependent dynamic localization of a bacterial response regulator with a novel di-guanylate cyclase output domain // Genes Dev. 2004. V. 18. P. 715–727.
- Persat A., Inclan Y.F., Engel J.N., Stone H.A., Gitai Z. Type IV pili mechanochemically regulate virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2015. V. 112. P. 7563–7568.
- Persat A. Bacterial mechanotransduction // Curr. Opin. Microbiol. 2017. V. 36. P. 1–6.
- Petrova O.E., Sauer K. Sticky situations: key components that control bacterial surface attachment // J. Bacteriol. 2012. V. 194. P. 2413–2425.
- Petrova L.P., Yevstigneyeva S.S., Borisov I.V., Shelud'ko A.V., Burygin G.L., Katsy E.I. Plasmid gene AZOBR\_p60126 impacts biosynthesis of lipopolysaccharide II and swarming motility in *Azospirillum brasilense* Sp245 // J. Basic Microbiol. 2020. V. 60. P. 613–623.
- Raivio T.L. Envelope stress responses and Gram-negative bacterial pathogenesis // Mol. Microbiol. 2005. V. 56. P. 1119–1128.
- Røder H.L., Olsen N.M.C., Whiteley M., Burmølle M. Unravelling interspecies interactions across heterogeneities in complex biofilm communities // Environ. Microbiol. 2020. V. 22. P. 5–16.
- Rodesney C.A., Roman B., Dhamani N., Cooley B.J., Katira P., Touhami A., Gordon V.D. Mechanosensing of shear by *Pseudomonas aeruginosa* leads to increased levels of the cyclic-di-GMP signal initiating biofilm development // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2017. V. 114. P. 5906–5911.
- Romero D., Aguilar C., Losick R., Kolter R. Amyloid fibers provide structural integrity to *Bacillus subtilis* biofilms // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 2230–2234.
- Römling U., Gomelsky M., Galperin M.Y. C-di-GMP: the dawning of a novel bacterial signalling system // Mol. Microbiol. 2005. V. 57. P. 629–639.
- Ruiz N., Silhavy T.J. Sensing external stress: watchdogs of the *Escherichia coli* cell envelope // Curr. Opin. Microbiol. 2005. V. 8. P. 122–126.
- Ryan R.P., Fouhy Y., Lucey J.F., Crossman L.C., Spiro S., He Y.-W., Zhang L.-H., Heeb S., Cámara M., Williams P., Dow J.M. Cell-cell signaling in *Xanthomonas campestris* involves an HD-GYP domain protein that functions in cyclic di-GMP turnover // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. P. 6712–6717.
- Salwiczek M., Qu Y., Gardiner J., Strugnell R.A., Lithgow T., McLean K.M., Thissen H. Emerging rules for effective antimicrobial coatings // Trends Biotechnol. 2014. V. 32. P. 82–90.
- Sauer K., Cullen M.C., Rickard A.H., Zeef L.A.H., Davies D.G., Gilbert P. Characterization of nutrient-induced dispersion in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm // J. Bacteriol. 2004. V. 186. P. 7312–7326.
- Schelud'ko A.V., Katsy E.I., Ostudin N.A., Gringauz O.K., Panasenka V.I. Novel classes of *Azospirillum brasilense* mutants with defects in the assembly and functioning of polar and lateral flagella // Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol. 1998. № 4. P. 33–37.
- Serra D.O., Hengge R. Stress responses go three dimensional – the spatial order of physiological differentiation in bacterial macrocolony biofilms // Environ. Microbiol. 2014. V. 16. P. 1455–1471.
- Shelud'ko A.V., Filip'echeva Yu.A., Telesheva E.M., Yevstigneeva S.S., Petrova L.P., Katsy E.I. Polar flagellum of the alphaproteobacterium *Azospirillum brasilense* Sp245 plays a role in biofilm biomass accumulation and in biofilm maintenance under stationary and dynamic conditions // World J. Microbiol. Biotechnol. 2019. V. 35. P. 19.
- Shimizu T., Ichimura K., Noda M. The surface sensor NlpE of enterohemorrhagic *Escherichia coli* contributes to regulation of the type III secretion system and flagella by the Cpx response to adhesion // Infect. Immun. 2015. V. 84. P. 537–549.
- Siryaporn A., Kuchma S.L., O'Toole G.A., Gitai Z. Surface attachment induces *Pseudomonas aeruginosa* virulence // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014. V. 111. P. 16860–16865.
- Smith T.G., Hoover T.R. Deciphering bacterial flagellar gene regulatory networks in the genomic era // Adv. Appl. Microbiol. 2009. V. 67. P. 257–295.
- Stewart P.S., Franklin M.J. Physiological heterogeneity in biofilms // Nat. Rev. Microbiol. 2008. V. 6. P. 199–210.
- Sukharev S.I., Sigurdson W.J., Kung C., Sachs F. Energetic and spatial parameters for gating of the bacterial large conductance mechanosensitive channel, MscL // J. Gen. Physiol. 1999. V. 113. P. 525–540.
- Taylor B.L., Koshland D.E., Jr. Reversal of flagellar rotation in monotrichous and peritrichous bacteria: generation of changes in direction // J. Bacteriol. 1974. V. 119. P. 640–642.
- Thomas W.E., Trintchina E., Forero M., Vogel V., Sokurenko E.V. Bacterial adhesion to target cells enhanced by shear force // Cell. 2002. V. 109. P. 913–923.
- Tropini C., Earle K.A., Huang K.C., Sonnenburg J.L. The gut microbiome: connecting spatial organization to function // Cell Host Microbe. 2017. V. 21. P. 433–442.
- Tsang J., Hoover T.R. Themes and variations: regulation of RpoN-dependent flagellar genes across diverse bacterial species // Scientifica. 2014. V. 2014. P. 681754 (1–14).

- Valentini M., Filloux A. Biofilms and cyclic di-GMP (c-di-GMP) signaling: lessons from *Pseudomonas aeruginosa* and other bacteria // *J. Biol. Chem.* 2016. V. 291. P. 12547–12555.
- Van Dellen K.L., Houot L., Watnick P.I. Genetic analysis of *Vibrio cholerae* monolayer formation reveals a key role for DeltaPsi in the transition to permanent attachment // *J. Bacteriol.* 2008. V. 190. P. 8185–8196.
- Verstraeten N., Braeken K., Debkumari B., Fauvart M., Fransaer J., Vermant J., Michiels J. Living on a surface: swarming and biofilm formation // *Trends Microbiol.* 2008. V. 16. P. 496–506.
- Vladimirov N., Sourjik V. Chemotaxis: how bacteria use memory // *Biol. Chem.* 2009. V. 390. P. 1097–2104.
- Vogt S.L., Raivio T.L. Just scratching the surface: an expanding view of the Cpx envelope stress response // *FEMS Microbiol. Lett.* 2012. V. 326. P. 2–11.
- Wang D., Xu A., Elmerich C., Ma L.Z. Biofilm formation enables free-living nitrogen-fixing rhizobacteria to fix nitrogen under aerobic conditions // *ISME J.* 2017. V. 11. P. 1602–1613.
- Wang F., Wang J., Jian H., Zhang B., Li S., Wang F., Zeng X., Gao L., Bartlett D.H., Yu J., Hu S., Xiao X. Environmental adaptation: genomic analysis of the piezotolerant and psychrotolerant deep-sea iron reducing bacterium *Shewanella piezotolerans* WP3 // *PLoS One.* 2008. V. 3. P. e1937.
- Wang Q., Suzuki A., Mariconda S., Porwollik S., Harshey R.M. Sensing wetness: a new role for the bacterial flagellum // *EMBO J.* 2005. V. 24. P. 2034–2042.
- Whitchurch C.B., Leech A.J., Young M.D., Kennedy D., Sargent J.L., Bertrand J.J., Semmler A.B., Mellick A.S., Martin P.R., Alm R.A., Hobbs M., Beatson S.A., Huang B., Nguyen L., Commolli J.C., Engel J.N., Darzins A., Mattick J.S. Characterization of a complex chemosensory signal transduction system which controls twitching motility in *Pseudomonas aeruginosa* // *Mol. Microbiol.* 2004. V. 52. P. 873–893.
- Wolfgang M.C., Lee V.T., Gilmore M.E., Lory S. Coordinate regulation of bacterial virulence genes by a novel adenylate cyclase-dependent signaling pathway // *Dev. Cell.* 2003. V. 4. P. 253–263.

## Response of Bacteria to Mechanical Stimuli

S. S. Evstigneeva<sup>1</sup>, E. M. Telesheva<sup>1</sup>, D. I. Mokeev<sup>1</sup>, I. V. Borisov<sup>1</sup>,  
L. P. Petrova<sup>1, \*\*</sup>, and A. V. Shelud'ko<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, 410049 Russia*

\*e-mail: shel71@yandex.ru

\*\*e-mail: petrova\_lp@mail.ru

Received April 1, 2021; revised May 2, 2021; accepted May 9, 2021

**Abstract**—Bacteria adapt rapidly to changes in ambient conditions, constantly inspecting their surroundings by means of their sensor systems. These systems are often thought to respond only to signals of a chemical nature. Yet, bacteria are often affected by mechanical forces, e.g., during transition from planktonic to sessile state. Mechanical stimuli, however, have seldom been considered as the signals bacteria can sense and respond to. Nonetheless, bacteria perceive mechanical stimuli, generate signals, and develop responses. This review analyzes the information on the way bacteria respond to mechanical stimuli and outlines how bacteria convert incoming signals into appropriate responses.

**Keywords:** bacteria, mechanosensitivity, mechanotransduction, motility, biofilms, swarming, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Proteus*, *Pseudomonas*