**ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ**

**ВЫЖИВАНИЕ СТАРЕЮЩИХ МИКРОБНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПРИ ЛЕТАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ**

**© 2022 г. Г. И. Эль-Регистан\*, Н. Г. Лойко, Ю. А. Николаев**

*Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН,*

*Москва, 119071 Россия*

*\*e-mail:* [*anmsaa@yandex.ru*](mailto:anmsaa@yandex.ru)

**Таблица S1**. Длительность выживания 1 и 3 сут популяций *E.coli* после летального воздействия CIP

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Время**  **хране-ния** | **Параметр**  **оценки**  **количества клеток** | **Количество выживших клеток** | | | | | | | |
| **1 сут популяция** | | | | **3 сут популяция** | | | |
| Контр  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  буфер | Контр  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  буфер |
| Исход-ное колич. клеток | КОЕ/мл | 4.6×109 | | | | 3.2×109 | | | |
| 0 \*  Начало хране-ния | КОЕ/мл  в % от исходного количества клеток | 2.4×109  52.2 | 1.4×108  3.0 | 1.9×109  41.3 | 1.0×108  2.2 | 1.6×109  50.0 | 7.2× 107  2.3 | 1.1×109  34.4 | 6.8×107  2.1 |
| 1 мес | КОЕ/мл  в % от кол-ва кл. на начало хранения  в % от исходного количества клеток | 1.7×108  7.1  3.7 | 4.9×106  3.5  0.1 | 2.3×108  12.1  5.0 | 2.3×107  23.0  0.5 | 2.1×108  13.1  6.6 | 2.5×107  34.7  0.8 | 2.6×108  23.6  8.1 | 6.8×107  100  2.1 |
| 7 мес | КОЕ/мл  в % от кол-ва кл. на начало хранения  в % от исходного количества клеток | Не определяли | | | | 6.5×106  0.4  0.2 | 6.5×106  9.0  0.2 | 1.3×106  0.1  0.04 | 3.0×106  4.4  0.09 |

\* Для контрольных образцов - это перенос клеток в новую среду или буфер после 5- сут инкубации; для опытных образцов - это отмывка и перенос клеток в новую среду или буфер после 5 сут инкубации с 10 мкг/мл CIP.

**Таблица S2.** Влияние теплового шока на жизнеспособность контрольных и выживших после воздействия CIP клеток

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Время**  **воздействия** | **Количество выживших клеток, КОЕ/мл**  **(в % от начального количества до воздействия)** | | | | | | | |
| **1 сут популяция** | | | | **3 сут популяция** | | | |
| Контр  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  буфер | Контр  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  буфер |
| До возд.  (начальное количество) | 2.4×109  (100) | 1.4×108  (100) | 1.9×109  (100) | 1.0×108  (100) | 1.6×109  (100) | 7.2×107  (100) | 1.1×109  (100) | 6.8×107  (100) |
| 15 мин | 1.8×105  (0.0075) | 1.9×104  (0.014) | 4.3×106  (0.23) | 3.3×105  (0.33) | 1.5×106  (0.094) | 3.0×105  (0.42) | 3.2×106  (0.29) | 7.3×105  (1.07) |
| 30 мин | 1.3×103  (5.4 10-5) | 1.4×104  (0.01) | 4.1×104  (0.0022) | 5.0×104  (0.05) | 2.2×104  (0.0014) | 9.6×103  (0.013) | 9.7×105  (0.088) | 8.5×104  (0.13) |

**Таблица S3**. Влияние щелочного шока (рН 10) на жизнеспособность контрольных и выживших после воздействия CIP клеток (эксперимент проводили только с популяциями, инкубируемыми в среде роста)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Количество выживших клеток, КОЕ/мл**  **(в % от начального количества до воздействия)** | | | |
| **1 сут популяция** | | **3 сут популяция** | |
| Конт  Среда | П  Среда | Конт  Среда | П  Среда |
| До воздействия | 2.4×109  (100) | 1.4×108  (100) | 1.6×109  (100) | 7.2×107  (100) |
| После воздействия (КОН, рН 10.0, 2 ч) | 1.1×108  (4.6) | 2.7×107  (19.3) | 1.8×108  (11.3) | 3.0×107  (41.7) |

**Таблица S4.** Длительность выживания 1 и 3 сут популяций *E.coli* после щелочного шока (КОН, рН 10.0).

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Время**  **хране-ния** | **Параметр**  **оценки**  **количества клеток** | **Количество выживших клеток** | | | | | | | |
| **1 сут популяция** | | | | **3 сут популяция** | | | |
| Контр  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  буфер | Контр  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  буфер |
| Исход-ное колич. клеток | КОЕ/мл | 4.6×109 | | | | 3.2×109 | | | |
| 0 \*  Начало хране-ния | КОЕ/мл  в % от исходного количества клеток | 4.6×109  100 | 1.3×107  0.3 | 4.1×109  89.1 | 9.1×106  0.2 | 3.2×109  100 | 6.1× 107  1.9 | 2.8×109  87.5 | 5.7×107  1.8 |
| 1 мес | КОЕ/мл  в % от кол-ва кл. на начало хранения  в % от исходного количества клеток | 2.1×108  4.6  4.6 | 3.5×108  >100  7.6 | 5.0×108  12.2  10.9 | 1.2×108  >100  2.6 | 1.7×108  5.3  5.3 | 2.4×108  >100  7.5 | 3.9×108  12.2  12.2 | 7.2×107  >100  2.3 |
| 4 мес | КОЕ/мл  в % от кол-ва кл. на начало хранения  в % от исходного количества клеток | 1.9×107  0.4  0.4 | 6.5×107  >100  1.4 | 2.3×107  0.6  0.5 | 3.6×107  >100  0.8 | 1.5×107  0.5  0.5 | 3.4×107  55.7  1.1 | 2.0×107  0.7  0.6 | 2.7×107  47.4  0.8 |

**Таблица S5**. Влияние CIP на жизнеспособность контрольных и выживших после щелочного шока клеток

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Количество выживших клеток, КОЕ/мл**  **(в % от начального количества до воздействия)** | | | | | | | |
| **1 сут популяция** | | | | **3 сут популяция** | | | |
| Конт  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  Буфер | Конт  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  Буфер |
| До возд.  CIP | 4.6×109  (100) | 1.3×107  (100) | 4.1×109  (100) | 9.1×106  (100) | 3.2×109  (100) | 6.1×107  (100) | 2.8×109  (100) | 5.7×107  (100) |
| После возд.  CIP, 5 сут | 1.2×108  (2.6) | 1.0×106  (7.7) | 4.4×108  (10.7) | 3.3×105  (3.6) | 7.6×107  (2.4) | 2.0×107  (32.8) | 2.5×108  (8.9) | 1.3×107  (22.8) |

**Таблица S6.** Влияние теплового шока (550С) на жизнеспособность контрольных и выживших после щелочного шока клеток

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Время**  **воздейст-вия** | **Количество выживших клеток, КОЕ/мл**  **(в % от начального количества до воздействия)** | | | | | | | |
| **1 сут популяция** | | | | **3 сут популяция** | | | |
| Контр  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  буфер | Контр  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  буфер |
| До возд.  (начальное количество) | 4.6×109  (100) | 1.3×107  (100) | 4.1×109  (100) | 9.1×106  (100) | 3.2×109  (100) | 6.1×107  (100) | 2.8×109  (100) | 5.7×107  (100) |
| 15 мин | 7.5×105  (0.02) | 2.5×104  (0.2) | 3.3×107  (0.8) | 2.0×105  (2.2) | 6.5×106  (0.2) | 5.3×105  (0.9) | 3.9×107  (1.4) | 9.2×105  (1.6) |
| 30 мин | 4.4×103  (0.0001) | 2.2×103  (0.02) | 1.3×105  (0.003) | 8.8×103  (0.1) | 4.5×104  (0.001) | 1.6×104  (0.03) | 2.4×106  (0.09) | 7.1×104  (0.1) |

**Таблица S7.** Длительность выживания 1 и 3 сут популяций *E.coli* после летального воздействия теплового шока.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Время**  **хране-ния** | **Параметр**  **оценки**  **количества клеток** | **Количество выживших клеток** | | | | | | | |
| **1 сут популяция** | | | | **3 сут популяция** | | | |
| Контр  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  буфер | Контр  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  буфер |
| Исход-ное колич. клеток | КОЕ/мл | 4.6×109 | | | | 3.2×109 | | | |
| 0 \*  Начало хране-ния | КОЕ/мл  в % от исходного количества клеток | 4.6×109  100 | 2.4×103  0.00005 | 4.1×109  89.1 | 5.6×105  0.01 | 3.2×109  100 | 4.5× 104  0.001 | 2.8×109  87.5 | 1.8×106  0.06 |
| 11 сут | КОЕ/мл  в % от кол-ва кл. на начало хранения  в % от исходного количества клеток | 9.2×108  20.0  20.0 | 0  0  0 | 3.4×109  82.9  73.9 | 2.6×107  >100  0.6 | 3.7×108  11.6  11.6 | 0  0  0 | 1.1×109  39.3  34.4 | 5.3×107  >100  1.7 |
| 1 мес | КОЕ/мл  в % от кол-ва кл. на начало хранения  в % от исходного количества клеток | 2.1×108  4.6  4.6 | 0  0  0 | 5.0×108  12.2  10.9 | 3.1×107  >100  0.7 | 1.7×108  5.3  5.3 | 0  0  0 | 3.9×108  13.9  12.2 | 4.1×107  >100  1.3 |
| 4 мес | КОЕ/мл  в % от кол-ва кл. на начало хранения  в % от исходного количества клеток | 4.2×107  0.9  0.9 | 0  0  0 | 2.3×107  0.6  0.5 | 3.0×107  >100  0.7 | 1.5×107  0.5  0.5 | 0  0  0 | 2.0×107  0.7  0.6 | 3.9×107  >100  1.2 |

**Таблица S8.** Влияние щелочного шока (рН 10) на жизнеспособность контрольных и выживших после теплового шока клеток (эксперимент проводили только с популяциями, инкубируемыми в среде роста). (КОН вносили через 30-40 мин после теплового шока)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Количество выживших клеток, КОЕ/мл**  **(в % от начального количества до воздействия)** | | | |
| **1 сут популяция** | | **3 сут популяция** | |
| Конт  Среда | П  Среда | Конт  Среда | П  Среда |
| До воздействия | 4.6×109  (100) | 2.4×103  (100) | 3.2×109  (100) | 4.5×104  (100) |
| После воздействия  (КОН, рН 10.0, 2 ч) | 2.9×108  (6.3) | 0  (0) | 3.8×108  (11.9) | 0  (0) |

**Таблица S9.** Влияние CIP на жизнеспособность контрольных и выживших после теплового шока (550С, 30 мин) клеток (CIP вносили через 30-40 мин после теплового шока).

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Количество выживших клеток, КОЕ/мл**  **(в % от начального количества до воздействия)** | | | | | | | |
| **1 сут популяция** | | | | **3 сут популяция** | | | |
| Конт  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  Буфер | Конт  Среда | П  Среда | Контр  Буфер | П  Буфер |
| До возд.  CIP | 4.6×109  (100) | 2.4×103  (100) | 4.1×109  (100) | 5.6×105  (100) | 3.2×109  (100) | 4.5×104  (100) | 2.8×109  (100) | 1.9×106  (100) |
| После возд.  CIP, 5 сут | 1.2×108  (2.6) | 8.3×102  (34.6) | 4.4×108  (10.7) | 7.0×104  (12.5) | 7.6×107  (2.4) | 3.5×104  (77.8) | 2.5×108  (8.9) | 4.1×105  (21.6) |