**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*

**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** |
| КонтрСреда | ПСреда | КонтрБуфер | Пбуфер | КонтрСреда | ПСреда | КонтрБуфер | Пбуфер |
|  Исход-ное колич. клеток | КОЕ/мл | 4.6×109 | 3.2×109 |
| 0 \*Начало хране-ния | КОЕ/млв % от исходного количества клеток | 2.4×10952.2 | 1.4×1083.0 | 1.9×10941.3 | 1.0×1082.2 | 1.6×10950.0 | 7.2× 1072.3 | 1.1×10934.4 | 6.8×1072.1 |
| 1 мес | КОЕ/млв % от кол-ва кл. на начало хранения в % от исходного количества клеток | 1.7×1087.13.7 | 4.9×1063.50.1 | 2.3×10812.15.0 | 2.3×10723.00.5 | 2.1×10813.16.6 | 2.5×10734.70.8 | 2.6×10823.68.1 | 6.8×1071002.1 |
| 7 мес  | КОЕ/млв % от кол-ва кл. на начало хранения в % от исходного количества клеток | Не определяли | 6.5×1060.40.2 | 6.5×1069.00.2 | 1.3×1060.10.04 | 3.0×1064.40.09 |

\* 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** |
| КонтрСреда | ПСреда | КонтрБуфер | Пбуфер | КонтрСреда | ПСреда | КонтрБуфер | Пбуфер |
| 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** |
| КонтСреда | ПСреда | КонтСреда | ПСреда |
| 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** |
| КонтрСреда | ПСреда | КонтрБуфер | Пбуфер | КонтрСреда | ПСреда | КонтрБуфер | Пбуфер |
|  Исход-ное колич. клеток | КОЕ/мл | 4.6×109 | 3.2×109 |
| 0 \*Начало хране-ния | КОЕ/млв % от исходного количества клеток | 4.6×109100 | 1.3×1070.3 | 4.1×10989.1 | 9.1×1060.2 | 3.2×109100 | 6.1× 1071.9 | 2.8×10987.5 | 5.7×1071.8 |
| 1 мес | КОЕ/млв % от кол-ва кл. на начало хранения в % от исходного количества клеток  | 2.1×1084.64.6 | 3.5×108>1007.6 | 5.0×10812.210.9 | 1.2×108>1002.6 | 1.7×1085.35.3 | 2.4×108>1007.5 | 3.9×10812.212.2 | 7.2×107>1002.3 |
| 4 мес  | КОЕ/млв % от кол-ва кл. на начало хранения в % от исходного количества клеток | 1.9×1070.40.4 | 6.5×107>1001.4 | 2.3×1070.60.5 | 3.6×107>1000.8 | 1.5×1070.50.5 | 3.4×10755.71.1 | 2.0×1070.70.6 | 2.7×10747.40.8 |

**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** |
| КонтСреда | ПСреда | КонтрБуфер | ПБуфер | КонтСреда | ПСреда | КонтрБуфер | ПБуфер |
| 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** |
| КонтрСреда | ПСреда | КонтрБуфер | Пбуфер | КонтрСреда | ПСреда | КонтрБуфер | Пбуфер |
| 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** |
| КонтрСреда | ПСреда | КонтрБуфер | Пбуфер | КонтрСреда | ПСреда | КонтрБуфер | Пбуфер |
|  Исход-ное колич. клеток | КОЕ/мл | 4.6×109 | 3.2×109 |
| 0 \*Начало хране-ния | КОЕ/млв % от исходного количества клеток | 4.6×109100 | 2.4×1030.00005 | 4.1×10989.1 | 5.6×1050.01 | 3.2×109100 | 4.5× 1040.001 | 2.8×10987.5 | 1.8×1060.06 |
| 11 сут  | КОЕ/млв % от кол-ва кл. на начало хранения в % от исходного количества клеток  | 9.2×10820.020.0 | 0 00 | 3.4×10982.973.9 | 2.6×107 >1000.6 | 3.7×10811.611.6 | 0 00 | 1.1×10939.334.4 | 5.3×107 >1001.7 |
| 1 мес | КОЕ/млв % от кол-ва кл. на начало хранения в % от исходного количества клеток | 2.1×1084.64.6 | 000 | 5.0×10812.210.9 | 3.1×107 >1000.7 | 1.7×1085.35.3 | 0 00 | 3.9×10813.912.2 | 4.1×107 >1001.3 |
| 4 мес  | КОЕ/млв % от кол-ва кл. на начало хранения в % от исходного количества клеток | 4.2×1070.90.9 | 000 | 2.3×1070.60.5 | 3.0×107 >1000.7 | 1.5×1070.50.5 | 000 | 2.0×1070.70.6 | 3.9×107 >1001.2 |

**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** |
| КонтСреда | ПСреда | КонтСреда | ПСреда |
| 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** |
| КонтСреда | ПСреда | КонтрБуфер | ПБуфер | КонтСреда | ПСреда | КонтрБуфер | ПБуфер |
| 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) |