УДК 579.695

АДАПТАЦИЯ ИЗОЛЯТА *PSEUDOMONAS HELMANTICENSIS* К СРЕДАМ, СОДЕРЖАЩИМ ГЛИЦЕРИН И ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТ НАТРИЯ

Зубков И.Н. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – д.т.н., доцент **Кременевская М.И.** (Университет ИТМО)

Использование сред, содержащих сильный ионный детергент (например, додецилсульфат натрия, SDS), позволяет проводить культивирование без предварительной паровой стерилизации оборудования и рабочих растворов. Показано, что изолят *Pseudomonas helmanticensis*, выделенный из образца почвы в Ленинградской области, эффективно приспосабливается к средам, которые содержат глицерин и SDS, путем образования клеточных агрегатов, продукции эндогенных сульфатаз и модификации мембран. Изучаемая культура может применяться для создания процесса биоконверсии глицерина в поли-3-гидроксиалканоаты (ПГА) в неаксеничных условиях при использовании добавки додецилсульфата.

Введение. Паровая стерилизация требует большого количества электроэнергии. Учитывая постоянно возрастающую стоимость энергоносителей, проведение культивирования в неаксеничных условиях является перспективной стратегией снижения финансовых издержек биотехнологических производств. Чтобы избежать контаминации при использовании нестерильных сред, требуется повысить их селективность. Одним из способов увеличения селективности сред является использование добавки сильного ионного поверхностно-активного вещества в сочетании с устойчивым к нему продуцентом. Целью настоящей работы было изучение адаптации ПГА-аккумулирующего изолята *Pseudomonas helmanticensis* к средам, которые содержат глицерин в качестве субстрата и SDS как предотвращающую контаминацию добавку. Известно, что бактерии *Pseudomonas* приспосабливаются к наличию додецилсульфата в среде тремя способами: образованием агрегатов, окруженных защитным матриксом, модификацией клеточных мембран и синтезом разлагающих SDS ферментов. Эти три защитных механизма были экспериментально изучены в случае *Pseudomonas helmanticensis*.

Основная часть. С помощью эпифлуоресцентной микроскопии окрашенных акридиновым оранжевым культур клеток было показано, что изучаемый изолят при воздействии SDS образует агрегаты, окруженные защитным матриксом. Помимо полисахаридов, матрикс содержит также внеклеточную ДНК, которая ранее была обнаружена у устойчивых к додецилсульфату агрегатов *Pseudomonas aeruginosa*. Изучение жирнокислотного состава мембранных липидов *Pseudomonas helmanticensis* методом газовой хроматографии — масс-спектрометрии позволило установить, что в присутствии SDS происходит восстановление цис-изомеров ненасыщенных жирных кислот в насыщенные кислоты, которые обладают меньшей способностью к солюбилизации в растворах додецилсульфата. Присутствие сульфатаз подтверждено путем измерения кинетики деградации додецилсульфата в среде. Показано, что клетки *Pseudomonas helmanticensis* быстро расщепляют SDS в токсичных концентрациях и тем самым предотвращают повреждение компонентов цитозоля детергентом.

Выводы. Таким образом, выделенный изолят *Pseudomonas helmanticensis* активирует все три механизма адаптации к додецилсульфату натрия при культивировании на среде, содержащей глицерин и SDS. Эффективное приспособление этой бактерии к содержащим детергент средам позволяет использовать ее в качестве продуцента полигидроксиалканоатов, проводя культивирование в неаксеничных условиях.