

Актуальные проблемы развития пищевых и биотехнологий

Topical Issues of Development of Food and Biological Technologies

Научная статья
УДК 579.66
DOI: 10.14529/food220101

ТОЛЕРАНТНОСТЬ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS* К ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТУ НАТРИЯ

Илья Николаевич Зубков, zub-i@bk.ru

Сергей Михайлович Шишлянников, sershilin@gmail.com

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал
«Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН,
Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Уникальная способность бактерий *Pseudomonas* расти в присутствии додецилсульфата натрия (SDS) позволяет использовать их при создании промышленных биопроцессов, не предполагающих стерилизации сред. Механизмы, обеспечивающие толерантность к SDS можно условно разделить на три группы: процессы агрегации, включающие продукцию защитных экзополимеров и адгезинов, модификацию мембран и синтез ферментов, расщепляющих алкилсульфаты. Образование агрегатов регулируется с помощью различных механизмов, таких как трансдукция SiaABCD и продукция циклического монофосфата дигуанозина, который инициирует синтез компонентов матрикса (углеводов, нуклеиновых кислот и белков). Также клетки могут модифицировать жирные кислоты, входящие в состав мембранных фосфолипидов, чтобы снизить растворимость компонентов билипидного слоя в ядрах мицелл додецилсульфата. Для расщепления SDS в периплазматическом пространстве и цитозоле псевдомонадами продуцируются сульфатазы, принадлежащие трем различным группам. Наличие этих ферментов обеспечивает динамическое равновесие между диффузией SDS внутрь клетки и его разложением, что предохраняет компоненты цитозоля от действия высоких концентраций додецилсульфата. Все три группы механизмов устойчивости бактерий *Pseudomonas* к SDS хорошо изучены, однако усиление или подавление этой толерантности путем варьирования условий культивирования все еще является трудной задачей. На сегодняшний день известно только два способа подавления толерантности к додецилсульфату, которые не приводят к немедленной гибели клеток. К ним относятся ингибирование клеточного дыхания, которое предотвращает образование агрегатов и добавление к культурам клеток легко метаболизируемого субстрата (например, углеводов), который замедляет продукцию сульфатаз.

Ключевые слова: *Pseudomonas*, додецилсульфат натрия, образование агрегатов, матрикс, мембранные липиды, жирнокислотный состав, сульфатаза, трансдукция SiaABCD, циклический монофосфат дигуанозина, устойчивость к детергентам

Для цитирования: Зубков И.Н., Шишлянников С.М. Толерантность бактерий *Pseudomonas* к додецилсульфату натрия // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2022. Т. 10, № 1. С. 5–14. DOI: 10.14529/food220101

Original article
DOI: 10.14529/food220101

TOLERANCE OF *PSEUDOMONAS* BACTERIA TO SODIUM DODECYL SULFATE

Ilya N. Zubkov, zub-i@bk.ru

Sergey M. Shishlyannikov, sershilin@gmail.com

All-Russian Research Institute for Food Additives, branch of V.M. Gorbatov
Federal Research Center for Food Systems (RAS), St. Petersburg, Russia

Abstract. The unique ability of *Pseudomonas* bacteria to grow in the presence of sodium dodecyl sulfate (SDS) allows to use them in the development of the industrial bioprocesses that do not include a sterilization stage. The mechanisms that provide tolerance to SDS can be divided into three groups: aggregation processes, including production of protective polymers and adhesins, the cell wall modification, and synthesis of enzymes that cleave alkyl sulfates. Autoaggregation has a lot of regulation pathways such as SiaABCD transduction and induction of the matrix synthesis with the help of cyclic diguanosine monophosphate. This matrix consists of polysaccharides, nucleic acids and proteins. Fatty acids of the membrane phospholipids can be modified in order to decrease the bilayer solubility in the detergent micelles. *Pseudomonads* can produce three types of sulfatases capable to metabolize dodecyl sulfate in periplasm and cytosol. The presence of these enzymes provides dynamic equilibrium between SDS uptake and its decomposition, which protects cytosol structures from the interaction with the detergent. Despite all these strategies of tolerance to dodecyl sulfate are well studied, it is still difficult to induce or suppress the detergent resistance. There are only two ways, which can inhibit resistance to SDS without killing the cell. They are suppression of cell respiration, which prevents autoaggregation, and addition of an easily digestible substrate that slows down a sulfatase production.

Keywords: *Pseudomonas*, sodium dodecyl sulfate, aggregation, matrix, membrane lipids, fatty acid composition, sulfatase, SiaABCD transduction, cyclic diguanosine monophosphate, detergent resistance

For citation: Zubkov I.N., Shishlyannikov S.M. Tolerance of *Pseudomonas* bacteria to sodium dodecyl sulfate. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2022, vol. 10, no. 1, pp. 5–14. (In Russ.) DOI: 10.14529/food220101

Введение

Рост большинства известных бактерий значительно замедляется или полностью прекращается в присутствии сильных ионных поверхностно-активных веществ (ПАВ), таких как додецилсульфат натрия (SDS). Однако на сегодняшний день известно, что часть бактерий активно растут и развиваются в присутствии SDS. Большинство таких микроорганизмов относится к роду *Pseudomonas*. Псевдомонады способны продуцировать множество ценных веществ, таких как био-разлагаемые полиэфиры [1], гликолипиды [2], липазы [3], антимикробные агенты и хиральные амины [4]. Благодаря этому, они находят множество применений в биотехнологии. Культивирование бактерий *Pseudomonas* в присутствии додецилсульфата натрия позво-

ляет отказаться от предварительной стерилизации сред, если концентрация ПАВ достаточно высока, чтобы ингибировать рост посторонней микрофлоры. Учитывая, что расходы на проведение паровой стерилизации составляют существенную часть общих издержек, культивирование в средах, содержащих SDS, позволило бы значительно снизить стоимость готовых продуктов. В свете постоянного роста стоимости энергоносителей detergent-устойчивые продуценты могли бы послужить одним из главных способов улучшения эффективности промышленных биопроцессов.

Как псевдомонады могут противостоять действию SDS? В первую очередь это обусловлено образованием клеточных агрегатов. Агрегаты состоят из множества одиночных

клеток, связанных с матриксом, который состоит из полисахаридов, белков и нуклеиновых кислот [5–7]. Матрикс затрудняет диффузию SDS к клеткам. Та часть молекул ПАВ, которая все же достигает клеточной стенки, должна через нее проникнуть. Модификации мембран значительно снижают скорость диффузии додецилсульфата [8]. Однако если содержание SDS в среде очень велико, то некоторая его часть все равно проникает в периплазму и цитозоль. В этом случае додецилсульфат быстро метаболизируется с помощью соответствующих ферментов [9–12]. Таким образом, обеспечивающие устойчивость к SDS механизмы можно разделить на три группы: образование окруженных матриксом агрегатов, модификации мембран и продукция сульфатаз. Каждой из групп посвящена отдельная глава обзора. Также приводятся описанные в литературе закономерности о регуляции механизмов толерантности бактерий *Pseudomonas* к алкилсульфатам.

1. Агрегатообразование

Процессы образования агрегатов были изучены, в первую очередь, у синегнойной палочки *Pseudomonas aeruginosa*. Тем не менее, описанные в литературе закономерности, применимые к *P. aeruginosa*, часто оказываются справедливыми и для других видов бактерий [8, 13, 14].

Показано, что образование агрегатов представляет собой зависимый от поступления энергии процесс, и что клетки, находящиеся в агрегированной форме, значительно более устойчивы к действию анионных ПАВ [15]. Скопления *P. aeruginosa* состоят из двух видов клеток: находящихся на поверхности или в центре агрегатов. Бактерии в ядре сферической колонии менее активны, и если поместить их в раствор, содержащий додецилсульфат натрия, они быстро погибают [16]. В то же время клетки на поверхности агрегата значительно более устойчивы к действию SDS [17].

В состав матрикса, продуцируемого *P. aeruginosa* во время роста в агрегированной форме, входит несколько полисахаридов. Одним из них является альгинат [5]. Судя по всему, этот полимер выполняет исключительно структурную функцию. Он способствует образованию «слизи», которая предохраняет клетки от действия агрессивной среды. Другой полисахарид – Pel – имеет катионную природу и связывается со внеклеточной ДНК,

которая играет важную роль в стабильности агрегатов [6, 18]. Еще одним полисахаридом биопленок и агрегатов *P. aeruginosa* является Pls. Pls обладает разветвленной структурой и состоит из мономеров маннозы, рамнозы и глюкозы. Считается, что этот сополимер способен взаимодействовать с адгезином CdrA и, следовательно, усиливает связывание между матриксом и клеточной стенкой [7]. Синтез всех перечисленных полисахаридов у *P. aeruginosa* и ответственные за это гены описаны в [19].

Что касается нуклеиновых кислот, первоначально считалось, что их наличие в матриксе обусловлено лизисом клеток. В настоящее время установлено, что ДНК выполняет структурную функцию и усиливает связывание компонентов матрикса между собой [5].

Очевидно, что поверхностные белки и пили обладают наибольшим вкладом в стабильность клеточных агрегатов. Установлено, что *P. aeruginosa* имеет пять различных видов пилей (CupA/B/C/D/E) [20, 21]. Все они синтезируются с помощью шаперонов и ашер-белков (chaperone usher pathway, CUP). Механизм сборки пилей и его регуляция детально описаны в [22]. Другим важным поверхностным белком, который непосредственно связывается с Pls, является CdrA [7]. Регуляция CdrA в клетках *P. aeruginosa* хорошо изучена: обнаружен особый белок CdrB, который необходим для транспорта CdrA [7], а также протеаза LapG, расщепляющая адгезин [23].

Как и многие другие аналогичные процессы, агрегатообразование начинается при достижении концентрацией клеток некоторого порогового значения [22]. Группа Брэндана Колли при изучении *P. aeruginosa* обнаружила, что каскад образования агрегатов инициируется с помощью трансдукции SiaABCD. Эта трансдукция активирует синтез адгезинов и компонентов матрикса при содействии небольшой сигнальной молекулы – циклического монофосфата дигуанозина (c-di-GMP) [24]. Это вещество синтезируется специфическим ферментом, кодированным генами SiaD [20]. Несмотря на то, что c-di-GMP играет ведущую роль в образовании агрегатов, его синтез сам по себе также стимулируется некоторыми компонентами матрикса, такими как Pls [25]. Имеет место положительная обратная связь: вызванное трансдукцией увеличение уровня

c-di-GMP инициирует синтез матрикса, который, в свою очередь, способствует дальнейшей продукции c-di-GMP [26]. Все описанные выше процессы обратимы: как только исчезает воздействие SDS на культуры, клетки сразу же переходят из агрегированной в планктонную форму [8, 13].

Необходимо подчеркнуть, что вызываемое присутствием додецилсульфата образование агрегатов далеко не всегда обеспечивает толерантность к прочим ПАВ [27]. Однако в некоторых случаях биопленки бактерий *Pseudomonas* способны противостоять токсическому действию других детергентов, таких как четвертичные аммониевые соли [28, 29]. Агрегатообразование не является необходимым условием устойчивости к SDS-содержащим средам: некоторые изоляты выживают и в планктонной форме. Тем не менее, агрегированные клетки лучше противостоят совместному действию алкилсульфатов и других факторов стресса, таких как низкая аэрация [15] или деформация биопленок под действием быстрого турбулентного потока [30].

2. Модификация мембран

Большое количество ПАВ способны растворять (солюбилизовать) мембранные липиды в ядрах своих мицелл [31, 32]. Псевдомонады могут изменять состав своих мембран, снижая их способность к солюбилизации. Показано, что эти бактерии синтезируют множество типов жирных кислот [33], и были описаны ферменты, ответственные за модификацию мембранных липидов [34, 35]. При культивировании псевдомонад в средах, содержащих додецилсульфат, текучесть их мембран (а значит и их растворимость в присутствии SDS) заметно снижается [8]. Другие сильные ионные ПАВ, такие как четвертичные аммониевые соли, обладают схожим действием на липидный состав клеток псевдомонад [36, 37]. Известно, что некоторые организмы схожим образом изменяют состав мембранных липидов в ответ на действие ионных детергентов [38, 39], т. е. бактерии *Pseudomonas* приспосабливаются к растворам ПАВ довольно типичным образом. Важным компонентом клеточной стенки грамотрицательных является липополисахарид. Он также претерпевает некоторые изменения состава в присутствии детергентов [40]. Однако его роль в устойчивости псевдомонад к различным ПАВ еще только предстоит выяснить.

3. Ферменты, расщепляющие алкилсульфаты

Бактерии, деградирующие алкилсульфаты, широко распространены в водных экосистемах [41]. Для штаммов *Pseudomonas* известны три различных типа сульфатаз. Ферменты первого типа представляют собой кальций-зависимые сульфатазы *P. aeruginosa* с остатком формилглицина в активном центре [10]. Ко второму типу (AtsK) относятся ферменты, выделенные из клеток *P. putida*, которые катализируют расщепление алкилсульфатов с одновременным декарбоксилированием α -кетоглутарата [11, 42]. Наконец, из *P. aeruginosa* также выделена сульфатаза третьего типа (sdsA1), которая имеет два катиона цинка в активном центре [12]. Схемы реакций, которые катализируются указанными типами ферментов, приведены на рис. 1. Нуклеофильная атака при гидролитическом расщеплении SDS (рис. 1 А) может быть направлена как на атом серы, так и на α -углерод [43]. В результате гидролиза образуется гидросульфат-ион и соответствующий спирт. Последующее двухстадийное окисление этого спирта приводит к образованию жирной кислоты, которая используется клеткой в цикле β -окисления или в других процессах [44].

Описаны несколько ферментов, расщепляющих как первичные алкилсульфаты [45] или их вторичные аналоги [46], так и другие разветвленные субстраты [45]. Наибольшая активность таких ферментов обычно наблюдается, когда субстрат содержит 4–12 атомов углерода в главной цепи [11]. Ферментативный гидролиз субстратов, имеющих асимметрический атом углерода (например, вторичных алкилсульфатов), часто протекает с абсолютной энантиоселективностью [43, 46]. Оптимальные температура и pH для описанных ферментов составляют, как правило, 30–40 °C и 7,0 соответственно. Однако описаны сульфатазы некоторых термофильных штаммов с температурным оптимумом в пределах 50–70 °C [47–49].

Гены, кодирующие синтез сульфатаз, обнаружены у многих штаммов *Pseudomonas*. *P. aeruginosa* синтезирует, как правило, сульфатазы первого и третьего типа [12, 50]. AtsK, напротив, чаще встречается у различных штаммов *P. putida* [42]. Бактерии, продуцирующие сульфатазу sdsA (цинк-зависимый фермент) имеют также гены sdsB, которые

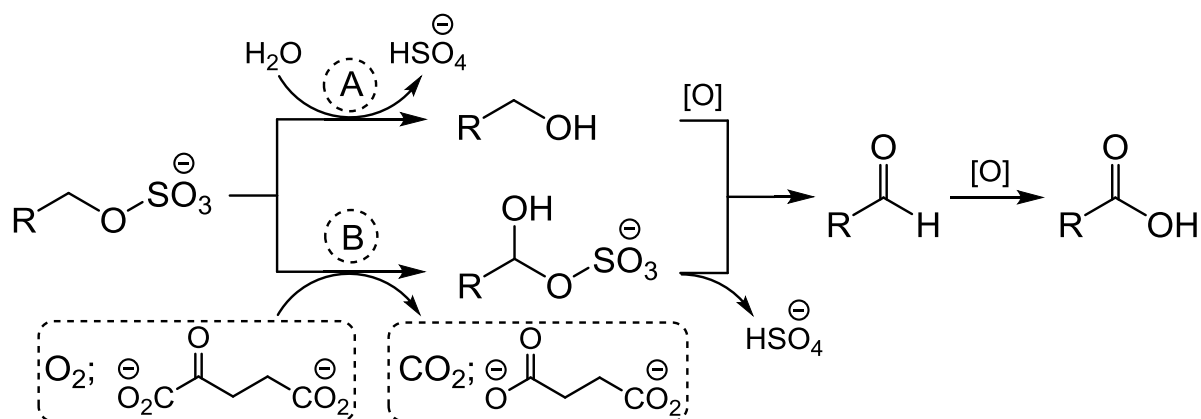


Рис. 1. Возможные пути ферментативного расщепления алкилсульфатов:

А – реакция, катализируемая сульфатазами первого и третьего типов;

В – окислительное разложение алкилсульфатов ферментами второго типа

кодируют синтез белка-регулятора. Этот белок индуцирует продукцию соответствующей сульфатазы [44, 51, 52]. Также были идентифицированы гены, кодирующие синтез фермента второго типа (AtsK) [11]. Что касается окисления образующегося при гидролизе алкилсульфатов жирного спирта (рис. 1, путь А), было показано, что гены, которые кодируют синтез соответствующих дегидрогеназ, образуют оперон *laoCBA* [44]. Необходимо подчеркнуть, что в природных штаммах все перечисленные гены находятся в нуклеоиде [44, 53].

Большинство сульфатаз бактерий *Pseudomonas* расположены в цитозоле или периплазме [10, 11]. Следовательно, эти ферменты могут разлагать додецилсульфат только после его диффузии внутрь клетки. Сульфатазы, расщепляющие SDS, чаще всего расположены в периплазматическом пространстве, в то время как ферменты, необходимые для метаболизма алкилсульфатов с малым числом атомов углерода (4–8) в главной цепи, остаются в цитозоле [11].

Периплазматические сульфатазы позволяют клетке разлагать SDS до его проникновения в цитоплазму, и, следовательно, предохраняют компоненты цитозоля от разрушения под действием додецилсульфата. Также они защищают липиды плазматической мембраны от солюбилизации. Присутствие ферментов обеспечивает динамическое равновесие: SDS медленно поступает через плотный матрикс и внешнюю мембрану внутрь, однако сульфатазы тут же его расщепляют.

4. Стимуляция и подавление устойчивости к SDS

Конечная цель всех исследователей, работающих с устойчивостью бактерий к детергентам, – это найти простой способ контролировать эту особенность метаболизма. До сих пор в литературе не описаны примеры генетических модификаций, которые позволили бы наделить какой-либо подверженный действию додецилсульфата микроорганизм способностью противостоять SDS. Следовательно, единственным инструментом стимуляции или подавления толерантности к SDS становится варьирование состава среды. Стимуляция образования агрегатов до сих пор является трудной задачей. Казалось бы, простое добавление к среде для культивирования *c-di-GMP* должно облегчать агрегацию, так как эта сигнальная молекула является ключевым фактором каскада агрегатообразования. Однако нет никаких публикаций, в которых указывалось бы, что добавка *c-di-GMP* способна усиливать устойчивость к SDS.

Столь же мало информации известно о регуляции активности сульфатаз. Сообщалось, что аскорбиновая кислота способна стимулировать активность фермента второго типа, который катализирует α -окисление алкилсульфатов [11]. Тем не менее, эти эксперименты проводились *in vitro*, и увеличение концентрации аскорбата в среде для культивирования, скорее всего, вообще никак не влияет на скорость разложения SDS *in vivo*.

Подавление толерантности к додецилсульфату, напротив, значительно лучше изу-

чено. Как указывалось выше, угнетение клеточного дыхания псевдомонад способно предотвращать образование устойчивых к SDS агрегатов [15]. Совершенно очевидно, что комбинация антибиотика и сильного ионного ПАВ вызывает гибель абсолютно всех клеток в культуре [54]. Однако существует не так много соединений, которые могут подавлять устойчивость к додецилсульфату без ингибирования таких жизненно важных процессов, как клеточное дыхание или синтез компонентов клеточной стенки. Сообщалось, что различные интермедиаты цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) способны подавлять экспрессию генов, кодирующих синтез сульфатаз [15, 55, 56]. Авторы указанных статей предполагают, что это замедление вызвано присутствием дополнительного источника энергии. Клеткам нет необходимости метаболизировать органические сульфаты, если в среде присутствует более доступный источник энергии. Однако это предположение не было подтверждено большим количеством экспериментов. Продукция арилсульфатазы, имеющей аналогичную алкилсульфатазам функцию, в присутствии АТФ ощутимо усиливается [57]. Более того, существует отдельный класс расщепляющих SDS ферментов (AtsK), для которых необходим α -кетоглутарат [42]. Кетоглутарат сам по себе является участником ЦТК, однако его присутствие не замедляет экспрессии генов AtsK.

Другим примером веществ, которые ослабляют толерантность к додецилсульфату

путем ингибирования синтеза соответствующих ферментов, являются углеводы [8, 58, 59]. Механизм этого ингибирования до сих пор точно не установлен, несмотря на прогресс, достигнутый в исследованиях метаболизма бактерий *Pseudomonas*. Единственным объяснением может быть присутствие более эффективного субстрата, если культивирование проводится в средах, одновременно содержащих углеводы и SDS. Помимо ингибирования синтеза сульфатаз, углеводы также могут подавлять способность клеток к образованию агрегатов [7].

Выводы

Ряд штаммов *Pseudomonas* обладают способностью противостоять действию додецилсульфата натрия, которая обусловлена наличием нескольких защитных механизмов. Эта способность плохо поддается контролю путем варьирования состава среды. Однако было показано, что ингибирование клеточного дыхания и добавление в среду углеводов способно предотвратить появление в культуре клеток, толерантных к SDS. Поведение псевдомонад во всех других средах, содержащих одновременно додецилсульфат натрия и какой-либо иной источник углерода, пока не изучено и является предметом будущих исследований. Такие селективные среды могут стать хорошей базой для разработки промышленных биотехнологических процессов, не включающих стадию паровой стерилизации.

Список литературы/ References

1. Pobleto-Castro I., Wittmann C., Nikel P.I. Biochemistry, genetics and biotechnology of glycerol utilization in *Pseudomonas* species. *Microb. Biotechnol.*, 2019, vol. 13, no. 1, pp. 32–53.
2. Weimer A., Kohlstedt M., Volke D.C., Nikel P.I., Wittmann C. Industrial biotechnology of *Pseudomonas putida*: advances and prospects. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2020, vol. 104, no. 18, pp. 7745–7766.
3. Rios N.S., Pinheiro B.B., Pinheiro M.P., Bezerra R.M., Sousa dos Santos J.C., Goncalves L.R.B. Biotechnological potential of lipases from *Pseudomonas*: sources, properties and applications. *Process Biochem.*, 2018, vol. 75, pp. 99–120.
4. Pobleto-Castro I., Becker J., Dohnt K., dos Santos V.M., Wittmann C. Industrial biotechnology of *Pseudomonas putida* and related species. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, vol. 93, pp. 2279–2290.
5. Flemming H.-C., Wingender J. The biofilm matrix. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2010, vol. 8, pp. 623–633.
6. Friedman L., Kolter R. Two genetic loci produce distinct carbohydrate-rich structural components of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. *J. Bacteriol.*, 2004, vol. 186, no. 14, pp. 4457–4465.

7. Borlee B.R., Goldman A.D., Murakami K., Samudrala R., Wozniak D.J., Parsek M.R. *Pseudomonas aeruginosa* uses a cyclic-di-GMP-regulated adhesin to reinforce the biofilm extracellular matrix. *Mol. Microbiol.*, 2010, vol. 75, no. 4, pp. 827–842.
8. Zubkov I.N., Nepomnyshchii A.P., Kondratyev V.D., Sorokoumov P.N., Sivak K.V., Ramsay E.S., Shishlyannikov S.M. Adaptation of *Pseudomonas helmanticensis* to fat hydrolysates and SDS: fatty acid response and aggregate formation. *J. Microbiol.*, 2021, vol. 59, no. 11.
9. Jovcic B., Begovic J., Lozo J., Topisirovic L., Kojic M. Dynamics of sodium dodecyl sulfate utilization and antibiotic susceptibility of strain *Pseudomonas* sp. ATCC19151. *Arch. Biol. Sci.*, 2009, vol. 61, no. 2, pp. 159–164.
10. Boltes I., Czapinska H., Kahnert A., von Bulow R., Dierks T., Schmidt B., von Figura K., Kertesz M.A., Uson I. 1.3 A structure of arylsulfatase from *Pseudomonas aeruginosa* establishes the catalytic mechanism of sulfate ester cleavage in the sulfatase family. *Structure*, 2001, vol. 9, no. 6, pp. 483–491.
11. Kahnert A., Kertesz M.A. Characterization of a sulfur-regulated oxygenative alkylsulfatase from *Pseudomonas putida* S-313. *Int. J. Biol. Chem.*, 2000, vol. 275, no. 41, pp. 31661–31667.
12. Hagelueken G., Adams T.M., Wiehlmann L., Widow U., Kolmar H., Tummler B., Heinz D.W., Schubert W.-D. The crystal structure of SdsA1, an alkylsulfatase from *Pseudomonas aeruginosa*, defines a third class of sulfatases. *PNAS*, 2006, vol. 103, no. 20, pp. 7631–7636.
13. Chaturvedi V., Kumar A. Diversity of culturable sodium dodecyl sulfate (SDS) degrading bacteria isolated from detergent contaminated ponds situated in Varanasi city, India. *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 2011, vol. 65, no. 7, pp. 961–971.
14. Kharadi R.R., Sundin G.W. Cyclic-di-GMP regulates autoaggregation through the putative peptidoglycan hydrolase, EagA, and regulates transcription of the *znuABC* zinc uptake gene cluster in *Erwinia amylovora*. *Front. Microbiol.*, 2011, vol. 11, 605265.
15. Klebensberger J., Rui O., Fritz E., Schink B., Philipp B. Cell aggregation of *Pseudomonas aeruginosa* strain PAO1 as an energy-dependent stress response during growth with sodium dodecyl sulfate. *Arch. Microbiol.*, 2006, vol. 185, no. 6, pp. 417–427.
16. Ciofu O., Tolker-Nielsen T. Tolerance and resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to antimicrobial agents – How *P. Aeruginosa* can escape antibiotics. *Front. Microbiol.*, 2019, vol. 10, p. 913.
17. Haagensen J.A.J., Klausen M., Ernst R.K., Miller S.I., Folkesson A., Tolker-Nielsen T., Molin S. Differentiation and distribution of colistin- and sodium dodecyl sulfate-tolerant cells in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *J. Bacteriol.*, 2007, vol. 189, no. 1, pp. 28–37.
18. Jennings L.K., Storeka K.M., Ledvina H.E., Coulon C., Marmont L.S., Sadovskaya I., Secor P.R., Tseng B.S., Scian M., Filloux A., Wozniak D.J., Howell P.L., Parsek M.R. Pel is a cationic exopolysaccharide that cross-links extracellular DNA in the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. *Microbiology*, 2015, vol. 112, no. 36, pp. 11353–11358.
19. Byrd M.S., Sadovskaya I., Vinogradov E., Lu H., Sprinkle A. B., Richardson S.H., Ma L., Ralston B., Parsek M.R., Anderson E.M., Lam J.S., Wozniak D.J. Genetic and biochemical analyses of the *Pseudomonas aeruginosa* Psl exopolysaccharide reveal overlapping roles for polysaccharide synthesis enzymes in Psl and LPS production. *Mol. Microbiol.*, 2009, vol. 73, no. 4, pp. 622–638.
20. Klebensberger J., Birkenmaier A., Geffers R., Kjelleberg S., Philipp B. SiaA and SiaD are essential for inducing autoaggregation as a specific response to detergent stress in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ. Microbiol.*, 2009, vol. 11, no. 12, pp. 3073–3086.
21. Giraud C., de Bentzmann S. Inside the complex regulation of *Pseudomonas aeruginosa* chaperone usher systems. *Environ. Microbiol.*, 2011, vol. 14, no. 18, pp. 1805–1816.
22. Colley, B. Regulatory mechanisms involved in the aggregation of *Pseudomonas aeruginosa* cells: PhD thesis – Sydney, Australia, 2014. 240 p.
23. Rybtke M., Berthelsen J., Yang L., Hoiby N., Givskov M., Tolker-Nielsen T. The LapG protein plays a role in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by controlling the presence of the CdrA adhesin on the cell surface. *MicrobiologyOpen*, 2015, vol. 4, no. 6, pp. 917–930.

24. Chen G., Gan J., Yang C., Zuo Y., Peng J., Li M., Huo W., Xie Y., Zhang Y., Wang T., Deng X., Liang H. The SiaA/B/C/D signaling network regulates biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *EMBO J.*, 2020, vol. 39, no. 6. e103412.
25. Irie Y., Borlee B.R., O'Connor J.R., Hill P.J., Harwood C.S., Wozniak D.J., Parsek M.R. Self-produced exopolysaccharide is a signal that stimulates biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *PNAS*, 2012, vol. 109, no. 50, pp. 20632–20636.
26. Colley B., Dederer V., Carnell M., Kjelleberg S., Rice S.A., Klebensberger J. SiaA/D interconnects c-di-GMP and RsmA signaling to coordinate cellular aggregation of *Pseudomonas aeruginosa* in response to environmental conditions. *Front. Microbiol.*, 2016, vol. 7, p. 179.
27. Rajagopal S., Eis N., Nickerson K.W. Eight Gram-negative bacteria are 10,000 times more sensitive to cationic detergents than to anionic detergents. *Can. J. Microbiol.*, 2003, vol. 49, no. 12, pp. 775–779.
28. Sousa-Silva M., Simoes M., Melo L., Machado I. *Pseudomonas fluorescens* tolerance to benzyltrimethylammonium chloride: Altered phenotype and cross-resistance. *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, 2018, vol. 15, pp. 188–195.
29. Langsrud S., Sundheim G., Borgmann-Strahsen R. Intrinsic and acquired resistance to quaternary ammonium compounds in food-related *Pseudomonas* sp. *J. Appl. Microbiol.*, 2003, vol. 95, no. 4, pp. 874–882.
30. Simoes M., Simoes L.C., Pereira M.O., Vieira M.J. Sodium dodecyl sulfate allows the persistence and recovery of biofilms of *Pseudomonas fluorescens* formed under different hydrodynamic conditions. *Biofouling*, 2008, vol. 24, no. 1, pp. 35–44.
31. Henriksen J.R., Andresen T.L., Feldborg L.N., Duelund L., Ipsen J.H. Understanding detergent effects on lipid membranes: A model study of lysolipids. *Biophys. J.*, 2010, vol. 98, no. 10, pp. 2199–2205.
32. Heerklotz H., Blume A. Detergent interactions with lipid bilayers and membrane proteins. *Comprehensive Biophysics*, 2012, vol. 5, pp. 63–91.
33. Janse J.D., Derks J.H.J., Spit B.E., Van Der Tuin W.R. Classification of fluorescent soft rot *Pseudomonas* bacteria, including *P. marginalis* strains, using whole cell fatty acid analysis. *System. Appl. Microbiol.*, 1992, vol. 15, no. 4, pp. 538–553.
34. Heipieper H.J., Meinhardt F., Segura A. The cis-trans isomerase of unsaturated fatty acids in *Pseudomonas* and *Vibrio*: biochemistry, molecular biology and physiological function of a unique stress adaptive mechanism. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2003, vol. 229, no. 1, pp. 1–7.
35. Shanklin J., Whittle E. Evidence linking the *Pseudomonas oleovorans* alkane ω -hydroxylase, an integral membrane diiron enzyme, and the fatty acid desaturase family. *FEBS Lett.*, 2003, vol. 545, no. 2–3, pp. 188–192.
36. Tattawasart U., Maillard J.-Y., Furr J.R., Russell A.D. Outer membrane changes in *Pseudomonas stutzeri* resistant to chlorhexidine diacetate and cetylpyridinium chloride. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 2000, vol. 16, no. 3, pp. 233–238.
37. Guerin-Mechin L., Dubois-Brissonnet F., Heyd B., Leveau J.Y. Quaternary ammonium compound stresses induce specific variations in fatty acid composition of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, vol. 55, no. 1–3, pp. 157–159.
38. Nyberg H. The influence of ionic detergents on the phospholipid fatty acid compositions of *Porphyridium purpureum*. *Phytochemistry*, 1985, vol. 24, no. 3, pp. 435–440.
39. Carmona-Salazar L., El Hafidi M., Gutierrez-Najera N., Noyola-Martinez L., Gonzalez-Solis A., Gavilanes-Ruiz M. Fatty acid profiles from the plasma membrane and detergent resistant membranes of two plant species. *Phytochemistry*, 2015, vol. 109, pp. 25–35.
40. Nixdorff K., Gmeiner J., Martin H.H. Interaction of lipopolysaccharide with detergents and its possible role in the detergent resistance of the outer membrane of gram-negative bacteria. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1978, vol. 510, no. 1, pp. 87–98.
41. White G.F., Russell N.J., Day M.J. A Survey of sodium dodecyl sulphate (SDS) resistance and alkylsulphatase production in bacteria from clean and polluted river sites. *Environ. Pollut.*, 1985, vol. 37, no. 1, pp. 1–11.

42. Muller I., Kahnert A., Pape T., Sheldrick G.M., Meyer-Klaucke W., Dierks T., Kertesz M., Uson I. Crystal structure of the alkylsulfatase AtsK: Insights into the catalytic mechanism of the Fe(II) α -ketoglutarate-dependent dioxygenase superfamily. *Biochemistry*, 2004, vol. 43, no. 11, pp. 3075–3088.
43. Knaus T., Schober M., Kepplinger B., Faccinelli M., Pitzer J., Faber K., Macheroux PP., Wagner U. Structure and mechanism of an inverting alkylsulfatase from *Pseudomonas* spp. DSM6611 specific for secondary alkyl sulfates. *FEBS. J.*, 2012, vol. 279, no. 23, pp. 4374–4384.
44. Panasia G., Oetermann S., Steinbuchel A., Philipp B. Sulfate ester detergent degradation in *Pseudomonas aeruginosa* is subject to both positive and negative regulation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2019, vol. 85, no. 23.
45. Ellis A.J., Hales S.G., Ur-Rehman N.G.A., White G.F. Novel alkylsulfatases required for biodegradation of the branched primary alkyl sulfate surfactant 2-butyloctyl sulfate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, vol. 68, no. 1, pp. 31–36.
46. Gadler P., Faber K. Highly enantioselective biohydrolysis of sec-alkyl sulfate esters with inversion of configuration catalysed by *Pseudomonas* sp. *Eur. J. Org. Chem.*, 2007, vol. 2007, no. 33, pp. 5527–5530.
47. Li S., Su Y., Liu Y., Sun L., Yu M., Wu Y. Preparation and characterization of cross-linked enzyme aggregates (CLEAs) of recombinant thermostable alkylsulfatase (SdsAP) from *Pseudomonas* spp. *Process Biochem.*, 2016, vol. 51, no. 12, pp. 2084–2089.
48. Sun L., Chen P., Su Y., Cai Z., Ruan L., Xu X., Wu Y. Crystal structure of thermostable alkylsulfatase SdsAP from *Pseudomonas* spp. *Biosci. Rep.*, 2017, vol. 37, no. 3, BSR20170001.
49. Furmanczyk E.M., Lipinski L., Dziembowski A., Sobczak A. Genomic and functional characterization of environmental strains of SDS-degrading *Pseudomonas* sp., providing a source of new sulfatases. *Front. Microbiol.*, 2018, vol. 9, 1795.
50. Chaturvedi V., Kumar A. Presence of SDS-degrading enzyme, alkyl sulfatase (SdsA1) is specific to different strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Process Biochem.*, 2013, vol. 48, no. 4, pp. 688–693.
51. Davison J., Brunel F., Phanopoulos A., Prozzia D., Terpstra P. Cloning and sequencing of *Pseudomonas* genes determining sodium dodecyl sulfate biodegradation. *Gene*, 1992, vol. 114, no. 1, pp. 19–24.
52. Jovcic B., Venturi V., Davison J., Topisirovic L., Kojic M. Regulation of the sdsA alkyl sulfatase of *Pseudomonas* spp. ATCC19151 and its involvement in degradation of anionic surfactants. *J. Appl. Microbiol.*, 2010, vol. 109, no. 3, pp. 1076–1083.
53. Kostal J., Suchanek M., Klierova H., Demnerova K., Kralova B., McBeth D.L. *Pseudomonas* C01B, an SDS degrading strain, harbours a plasmid coding for degradation of medium chain length n-alkanes. *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 1998, vol. 42, pp. 211–228.
54. Shin, S. Ahmed I., Hwang J., Seo Y., Lee E., Choi J., Moon S., Hong J.W. A microfluidic approach to investigating a synergistic effect of tobramycin and sodium dodecyl sulfate on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *Anal. Sci.*, 2016, vol. 32, no. 1, pp. 67–73.
55. Fitzgerald J.W., Kight-Olliff L.C., Stewart G.J., Beauchamp N.F. Reversal of succinate-mediated catabolite repression of alkylsulfatase in *Pseudomonas aeruginosa* by 2,4-dinitrophenol and by sodium malonate. *Can. J. Microbiol.*, 1978, vol. 24, no. 12, pp. 1567–1573.
56. Kight-Olliff L.C., Fitzgerald J.W. Inhibition of enzyme induction in *Pseudomonas aeruginosa* by exogenous nucleotides. *Can. J. Microbiol.*, 1978, vol. 24, no. 7, pp. 811–817.
57. Fitzgerald J.W., Kellogg R.B., Stewart G.J. Stimulation of arylsulphatase synthesis in *Pseudomonas aeruginosa* by exogenous nucleotides. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1981, vol. 11, pp. 93–96.
58. Fitzgerald J.W., Kight L.C. Physiological control of alkylsulfatase synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*: effects of glucose, glucose analogs, and sulfur. *Can. J. Microbiol.*, 1977, vol. 23. – pp. 1456–1464.
59. Collier D.N., Hager P.W., Phibbs Jr. P.V. Catabolite repression control in the *Pseudomonads*. *Res. Microbiol.*, 1996, vol. 147, no. 6-7, pp. 551–561.

Информация об авторах

Зубков Илья Николаевич, аспирант, младший научный сотрудник, лаборатория промышленной биотехнологии и микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Санкт-Петербург, Россия, zub-i@bk.ru

Шишлянников Сергей Михайлович, старший научный сотрудник, лаборатория промышленной биотехнологии и микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Санкт-Петербург, Россия, sershilin@gmail.com

Information about the authors

Ilya N. Zubkov, postgraduate student, junior researcher, laboratory of industrial biotechnology and microbiology, All-Russian Research Institute for Food Additives, branch of V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems (RAS), Saint-Petersburg, Russia, zub-i@bk.ru

Sergey M. Shishlyannikov, senior researcher, laboratory of industrial biotechnology and microbiology, All-Russian Research Institute for Food Additives, branch of V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems (RAS), Saint-Petersburg, Russia, sershilin@gmail.com

Статья поступила в редакцию 23.11.2021

The article was submitted 23.11.2021