

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.22

EDN: HVUEOQ

doi: 10.17072/1994-9952-2025-2-178-184



Изменение соотношения адениловых нуклеотидов в клетках *Escherichia coli* как интегральный показатель стресса

Анна Викторовна Ахова¹✉, Александр Георгиевич Ткаченко²

^{1,2} Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

¹✉akhovan@mail.ru

² agtkachenko@iegm.ru

Аннотация. Исследовано изменение концентрации АТФ и АДФ в клетках *Escherichia coli*, подвергнутых сублетальному стрессу. Сублетальный стресс – воздействие стрессоров, не приводящее к снижению количества колониеобразующих единиц относительно момента их внесения в культуру, но ингибирующее рост. Бактерии культивировали в минимальной среде М9 с добавкой 0.4% глюкозы при 37°C и перемешивании со скоростью 120 об/мин. Стressоры (50 г/л хлорида натрия, 1 г/л уксусной кислоты, 7% этиanol) вносили в экспоненциальной фазе роста ($OD_{600}=0.3$). Нуклеотиды экстрагировали 0.4 N $HClO_4$ на ледяной бане из предварительно отмытых от среды бактериальных клеток с последующей нейтрализацией 2M K_2CO_3 . Количественный анализ нуклеотидов проводили методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с тетрабутиламмония гидрогенсульфатом в качестве ион-парного реагента. Воздействие хлорида натрия вызывало повышение [АТФ] и [АДФ], воздействие этианола – повышение [АТФ] и повышение с последующим снижением [АДФ], уксусной кислоты – снижение с последующим повышением [АТФ] и снижение [АДФ] относительно уровня нестressedированной культуры. Несмотря на разнонаправленное изменение концентрации АТФ и АДФ в клетках, подвергнутых разным типам стресса, все они характеризовались повышенным уровнем показателя [АТФ]/[АДФ] по сравнению с контрольной культурой.

Ключевые слова: АТФ/АДФ, адениловые нуклеотиды, энергетический заряд, осмотический стресс, этиanol, кислотный стресс

Для цитирования: Ахова А. В., Ткаченко А. Г. Изменение соотношения адениловых нуклеотидов в клетках *Escherichia coli* как интегральный показатель стресса // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2025. Вып. 2. С. 178–184. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2025-2-178-184>.

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания № 124020500028-4; авторы выражают благодарность профессору Р. Хенгге за предоставленный штамм.

MICROBIOLOGY

Original article

Changes in the ratio of adenyl nucleotides in *Escherichia coli* cells as an integral indicator of stress

Anna V. Akhova¹✉, Alexander G. Tkachenko²

^{1,2} Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm, Russia

¹✉akhovan@mail.ru

² agtkachenko@iegm.ru

Abstract. The paper describes changes in the concentration of ATP and ADP in *Escherichia coli* cells subjected to sublethal stress. Sublethal stress did not lead to a decrease in the number of colony-forming units relative to the moment of the onset of stress exposure, but inhibited growth. Bacteria were cultured in minimal M9 medium supplemented with 0.4% glucose at 37°C and stirring at 120 rpm. Stressors (50 g/L sodium chloride, 1 g/L acetic acid, 7% ethanol) were added at the exponential growth phase ($OD_{600}=0.3$). Nucleotides were extracted with 0.4 N $HClO_4$ on ice bath from bacterial cells previously washed from the medium, followed by neutralization with 2 M K_2CO_3 . Quantitative analysis of nucleotides was performed by reversed-phase high-performance liquid chromatography with tetrabutylammonium hydrogen sulfate as an ion-pair reagent. Sodium chloride caused an increase in [ATP] and [ADP], ethanol caused an increase in [ATP] and an increase followed by a de-

crease in [ADP], and acetic acid caused a decrease followed by an increase in [ATP] and a decrease in [ADP] relative to the unstressed culture. Despite the dissimilar changes in the concentration of ATP and ADP in cells subjected to different types of stress, all of them were characterized by an increased level of the [ATP]/[ADP] compared to the control culture.

Keywords: ATP/ADP, adenyl nucleotides, energy charge, osmotic shock, ethanol, acid stress

For citation: Akhova A. V., Tkachenko A. G. [Changes in the ratio of adenyl nucleotides in *Escherichia coli* cells as an integral indicator of stress]. *Bulletin of the Perm University. Biology.* Iss. 2 (2025): pp. 178-184. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2025-2-178-184>.

Acknowledgments: the work was carried out under the state assignments 124020500028-4; the authors are grateful to professor Regine Hengge for providing the strain.

Введение

Направленная регуляция внутриклеточной концентрации важных кофакторов, например адениловых нуклеотидов, рассматривается как один из способов повышения эффективности синтеза целевых соединений в биотехнологических процессах [Sun et al., 2023]. Однако для успешного воплощения такого подхода должны быть подробно изучены регуляторные механизмы и физиологическая роль данных соединений.

Более 50 лет назад Аткинсон с коллегами предложили концепцию аденилатного энергетического заряда (ЕС) как меры энергии, доступной для метаболических процессов, которая может быть использована в метаболических реакциях [Chapman, Fall, Atkinson, 1971]. Энергетический заряд клетки определяется концентрацией в ней АТФ, АДФ и АМФ и рассчитывается по следующей формуле:

$$EC = ([ATF] + 1/2[ADF])/([ATF] + [ADF] + [AMF]).$$

У бактерий концентрация АМФ – величина относительно постоянная и находится на низком уровне, поэтому их энергетический заряд в значительной мере определяется соотношением [АТФ]/[АДФ]. Энергетический заряд растущих клеток находится в интервале 0.8–0.95, у бактерий, рост которых замедляется, например, вследствие голодания по источнику углерода, ЕС снижается до 0.1–0.6 [Jiang, Nifna, 2007].

Многие ферменты и регуляторные белки имеют сайты связывания АТФ/АДФ, и если активность такого белка зависит от характера лиганды, то возможность протекания процесса, осуществляемого таким белком, будет зависеть от уровня энергетического заряда (или [АТФ]/[АДФ]). Изменение соотношения адениловых нуклеотидов является также сигналом, регулирующим топологическое состояние ДНК и посредством этого экспрессию генов [Maldonado, Lemasters, 2014; Dorman, 2023]. Поэтому набор метаболических процессов, протекающих в клетке в определенный момент времени, во многом определяется ее энергетическим статусом.

Отклонение ЕС и [АТФ]/[АДФ] от нормального значения наблюдается в бактериальных клетках, подвергнутых воздействию различных стрессовых условий, в частности гиперосмотического стресса, повышения температуры, голодания, исчерпания кислорода, воздействия антибиотиков [Ткаченко, 1990; Hsieh, Burger, Drlica, 1991; Hsieh, Rouviore-Yaniv, Drlica, 1991; Camacho-Carranza et al., 1995; Ткаченко и др., 1998, 1999; Akhova, Tkachenko, 2014]. Таким образом, изменения энергетических показателей клетки могут рассматриваться в качестве признаков развития стресса и сигнала к запуску адаптивных механизмов. Кроме того, они могут быть использованы для тестирования оптимальности условий культивирования на разных этапах биотехнологических процессов [Demling et al., 2021].

Состав свободных нуклеотидов клетки (как вторичных мессенджеров, так и энергетических резервов – [АТФ]/[АДФ]/[АМФ]) играет решающую роль в выборе пути развития отдельной клетки с целью максимального приспособления к конкретным условиям. От энергетического статуса клетки зависит будет ли продолжено размножение с последующим ростом численности популяции, или ресурсы будут перенаправлены на защиту и сохранение жизнеспособности, или найден оптимальный баланс между этими процессами [Abram et al., 2021].

Цель настоящей работы – исследовать изменение внутриклеточной концентрации АТФ и АДФ в клетках *Escherichia coli*, подвергнутых одинаковому по интенсивности стрессу, вызванному воздействием факторов разной физико-химической природы (этанола, хлорида натрия и уксусной кислоты). Это позволит оценить универсальность изменения энергетических параметров бактериальных клеток в ответ на стресс.

Материалы и методы исследования

Объекты и условия культивирования

Объектом исследования является штамм *Escherichia coli* RO91, любезно предоставленный профессором R. Hengge [Lange, Hengge-Aronis, 1994]. Бактериальные клетки со скошенного агара LB переносили

в 5 мл бульона LB с добавкой 25 мкг/мл стрептомицина и культивировали в течение 5–6 ч. при температуре 37°C без перемешивания. Полученную культуру в соотношении 1:500 переносили в 50 мл среды M9 с добавкой 0.4% глюкозы и 25 мкг/мл стрептомицина и выращивали при температуре 37°C и перемешивании со скоростью 120 об/мин в течение 16–18 ч. Ночную культуру разводили в 50 мл среды M9 с добавкой 0.4% глюкозы до оптической плотности ОП₆₀₀=0.1 и выращивали при температуре 37°C и перемешивании со скоростью 120 об/мин. По достижении ОП₆₀₀=0.3 вносили стрессирующие факторы.

Определение оптической плотности культуры и концентрации абсолютно сухой биомассы

Оптическую плотность измеряли на длине волны $\lambda=600$ нм (ОП₆₀₀) в кювете с длиной оптического пути, равной 1 см, с использованием спектрофотометра UV1280 (Shimadzu, Япония). Абсолютно сухую биомассу рассчитывали на основе измерений оптической плотности культуры по предварительно построенной калибровочной кривой.

Определение количества колониеобразующих единиц (КОЕ)

Готовили последовательные десятикратные разведения культуры в физиологическом растворе и 10 мкл каждой суспензии наносили на поверхность агара LB в чашках Петри. Чашки инкубировали при температуре 37°C и через 18–20 ч. производили подсчет сформировавшихся колоний.

Измерение внутриклеточной концентрации адениловых нуклеотидов

2 мл бактериальной культуры центрифугировали (16 000 g, 0°C, 1 мин.) с применением центрифуги 5415R (Eppendorf, Германия), надосадочную жидкость удаляли, а осадок ресуспенсировали в 200 мкл охлажденной 0.4 N HClO₄. Микропробирки с суспензией клеток помещали на ледяную баню на 25 мин. для экстракции. Затем пробы центрифугировали (16 000 g, 0°C, 2 мин.), и надосадок переносили в микропробирки, содержащие 2M K₂CO₃. Соотношение надосадка и карбоната калия подбиралось таким образом, чтобы pH смеси был нейтральным. На этом этапе пробы могли быть заморожены. Количественный анализ адениловых нуклеотидов проводили методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с тетрабутиламмония гидрогенсульфатом в качестве ион-парного реагента [Akhova, Tkachenko, 2014].

Результаты и их обсуждение

Гиперосмотический стресс моделировали добавкой в среду культивирования 50 г/л хлорида натрия, кислотный шок – внесением 1 г/л уксусной кислоты. Также бактериальные клетки подвергали воздействию 7% этанола, что моделировало условия теплового шока и стресса повреждения клеточной оболочки (envelope stress) [Mitchell, Silhavy, 2019]. Изменение внутриклеточной концентрации адениловых нуклеотидов изучали в клетках периодической культуры, а стрессирующие факторы вносили на стадии экспоненциального роста бактерий. Концентрации стрессоров подобраны таким образом, что их воздействие в течение четырех часов не приводило к снижению количества КОЕ по сравнению с моментом их внесения в культуру (таблица), но ингибировало рост (рис., д).

Количество колониеобразующих единиц в культуре *E. coli* через четыре часа после начала стрессового воздействия

[The number of colony-forming units in *E. coli* culture four hours after the onset of stress exposure]

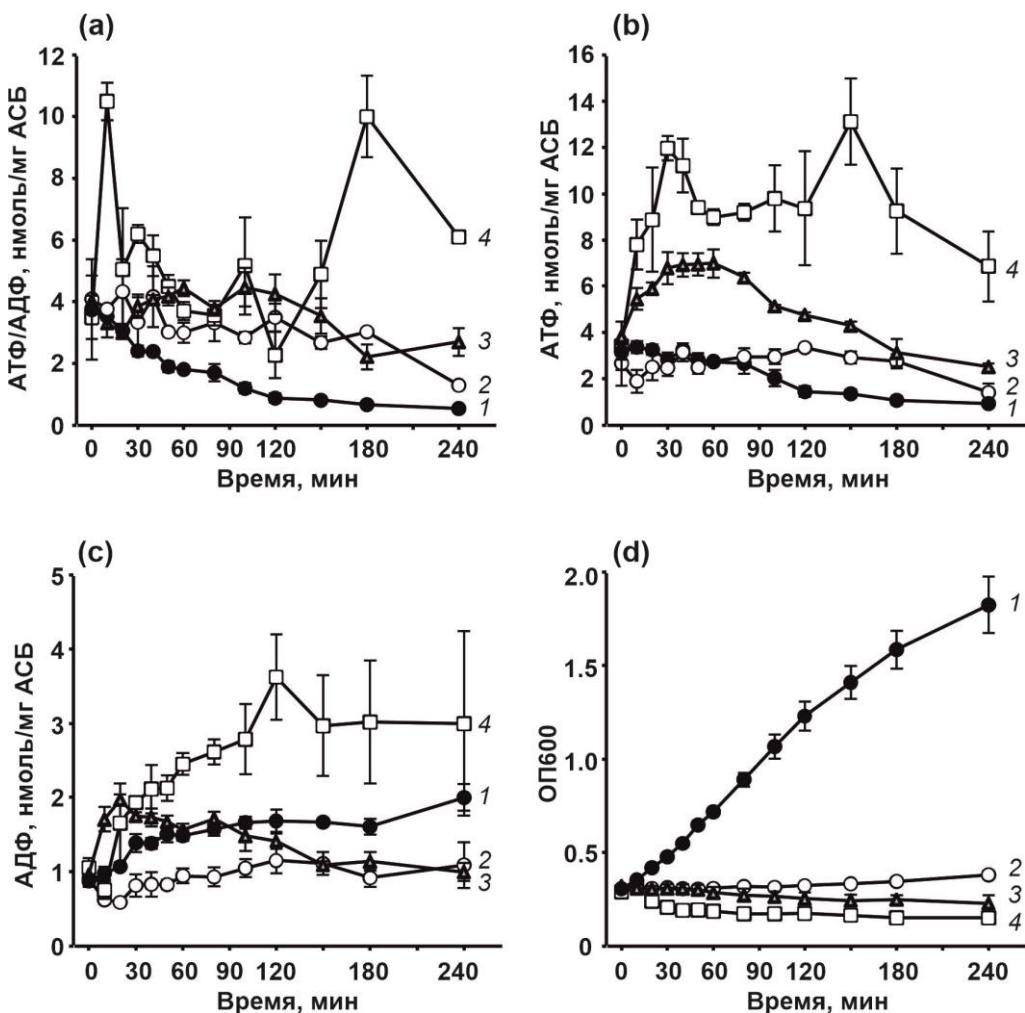
Условия	КОЕ/мл
Контроль, без воздействия	14.2±0.3
7% этанол	9.0±0.3
1 г/л уксусная кислота	8.8±0.2
50 г/л NaCl	9.1±0.2

Примечание: в момент начала стрессового воздействия КОЕ/мл равнялось 8.7±0.3. Данные представлены как среднее±стандартное отклонение, рассчитанные на основе результатов не менее трех отдельных экспериментов.

Изменение количества КОЕ и скорости роста культуры были выбраны в качестве меры интенсивности стресса. Стресс, формирующийся в бактериальных клетках в выбранных условиях, был обозначен как сублетальный. Подбор условий, вызывающих одинаковый по силе стресс, позволил сравнить стрессирующие факторы разной природы между собой.

В условиях кислотного стресса, вызванного добавкой уксусной кислоты, на начальном этапе происходило снижение внутриклеточной концентрации АТФ, которое сменялось небольшим повышением

уровня трифосфата в сравнении с контрольной культурой. Концентрация АДФ в стрессированных клетках была ниже по сравнению с клетками, не подвергнутыми воздействию кислоты (рис., б, с).



Влияние стрессовых условий на соотношение АТФ/АДФ (а), концентрацию АТФ (б), концентрацию АДФ (с) в клетках *E. coli*, а также оптическую плотность бактериальной культуры (д):

1 – культура, не подвергнутая воздействию (темные круги); 2 – воздействие 1 г/л уксусной кислоты (светлые круги); 3 – воздействие 7% этилола (серые треугольники); 4 – воздействие 50 г/л хлорида натрия (светлые квадраты). АСБ – абсолютно сухая биомасса. Символы отображают средние значения, отрезки (вискеры) – стандартную ошибку среднего, рассчитанные на основе результатов не менее трех отдельных экспериментов

[The effect of stress conditions on the ATP/ADP (a), ATP (b), and ADP (c) in *E. coli* cells (in nmol/mg dry weight), and the optical density of bacterial culture (OD₆₀₀) (d):

1 – control, untreated culture (dark circles); 2 – 1 g/L acetic acid (light circles); 3 – 7% ethanol (grey triangles); 4 – 50 g/L sodium chloride (light squares). АСБ – absolutely dry biomass in mg. Symbols represent mean values and whiskers represent standard errors of the mean (SE), calculated based on the results of at least three independent experiments]

Добавка в среду этилола вызывала повышение концентрации АТФ на протяжении первого часа наблюдения, после чего следовало снижение концентрации трифосфата, уровень которого при этом оставался выше контрольного. Параллельно сразу после начала стрессового воздействия резко повышалась концентрация АДФ, после чего она снижалась ниже уровня контрольной культуры (рис., б, с).

В клетках, подвергнутых гиперосмотическому стрессу, уровень АТФ был повышен по сравнению с контрольной культурой практически в течение всего периода наблюдения. На кривой изменения концентрации АТФ в стрессированных клетках можно выделить два пика, первый из которых наблюдался через 30 мин после начала стрессового воздействия, а второй – спустя два часа. Концентрация АДФ в этих условиях плавно возрастала на протяжении первых двух часов наблюдения и далее стабилизировалась на уровне более высоком, чем в контрольной культуре (рис., б, с).

Одним из важных показателей, характеризующих энергетический статус клетки, является соотношение [АТФ]/[АДФ]. В контрольных условиях наблюдалось плавное снижение значения данного показате-

ля по мере развития периодической культуры. С приближением к стационарной фазе роста показатель [АТФ]/[АДФ] стабилизировался на минимальном уровне (рис., а). В стрессированных клетках значения [АТФ]/[АДФ] было выше по сравнению с клетками, не подвергнутыми воздействию. Профиль изменения показателя [АТФ]/[АДФ] зависел от природы стрессора. Например, изменение [АТФ]/[АДФ] в условиях осмотического стресса, как и концентрация АТФ, характеризовалось наличием двух пиков. В клетках, подвергнутых действию этанола, повышение показателя [АТФ]/[АДФ] происходило позже, чем в условиях кислотного и осмотического стрессов. Тем не менее, микроорганизмы в состоянии сублетального стресса, вне зависимости от его природы, характеризовались повышенным уровнем показателя [АТФ]/[АДФ] по сравнению с микроорганизмами в контрольных условиях.

Полученные нами данные совпадают с описанными ранее результатами, демонстрирующими резкое повышение соотношения [АТФ]/[АДФ] сразу после внесения в культуру хлорида натрия (29 г/л) и быстрое падение этого показателя через 10 мин после начала стресса [Hsieh, Rouviore-Yaniv, Drlica, 1991]. Сходная картина наблюдалась в условиях голодания по источнику азота (аммонию): снижение содержания в клетках АДФ и АМФ на фоне стабильной концентрации АТФ, что в итоге приводило к повышению соотношения [АТФ]/[АДФ] [Ткаченко, 1990]. Голодание по источнику углерода и энергии (глюкозы) приводило к резкому снижению АТФ и повышению АДФ и АМФ в первые минуты, после чего следовало плавное снижение концентрации дифосфата и монофосфата и увеличение концентрации АТФ, а вместе с этим и возрастание [АТФ]/[АДФ] [Ткаченко, 1990]. Повышение температуры с 37°C до 47–52°C (тепловой шок) вызывало возрастание ЕС и [АТФ]/[АДФ], главным образом за счет возрастания пула АТФ [Camacho-Carranza et al., 1995; Ткаченко и др., 1998]. Подъем уровня [АТФ]/[АДФ] наблюдался при переносе бактериальной культуры из аэробных в анаэробные условия [Hsieh, Burger, Drlica, 1991]. Непродолжительное резкое повышение [АТФ]/[АДФ] наблюдалось в клетках, подвергнутых действию фторхинолоновых, бета-лактамных и аминогликозидных антибиотиков [Akhova, Tkachenko, 2014]. Однако подобные закономерности не обнаружены в условиях окислительного стресса, вызванного воздействием пероксида водорода, приводящего к снижению энергетических показателей [Ткаченко и др., 1999].

Однонаправленное изменение интегрального показателя [АТФ]/[АДФ] в условиях разнообразных стрессов тем более интересно, что разные стрессоры вызывали различные, иногда прямо противоположные по характеру изменения внутриклеточной концентрации АТФ и АДФ.

Заключение

Таким образом, профиль изменения внутриклеточной концентрации отдельных адениловых нуклеотидов зависит от типа физико-химического стресса, в то время как повышение интегрального показателя [АТФ]/[АДФ] характерно для бактериальных клеток, подвергнутых всем исследованным в данной работе типам стрессирующих воздействий (гиперосмотический стресс, кислотный стресс, воздействие этанола).

Список источников

1. Ткаченко А.Г. Изменение энергетических параметров *Escherichia coli* в процессе исчерпания и возобновления подачи глюкозы и аммония как фактор, характеризующий сопряженность энергетического и конструктивного типов метаболизма // Микробиология. 1990. Т 59, вып. 2. С. 197–204.
2. Ткаченко А.Г. и др. Роль транспорта пурпуресцина и калия в регуляции топологического состояния ДНК в процессе адаптации *Escherichia coli* к температурному стрессу // Микробиология. 1998. Т. 67, № 5. С. 601–606. EDN: MPBWJZ.
3. Ткаченко А.Г. и др. Роль пурпуресцина и энергетического состояния *Escherichia coli* в регуляции топологии ДНК при адаптации к окислительному стрессу // Микробиология. 1999. Т. 68, № 1. С. 27–32. EDN: MPEAKX.
4. Abram F. et al. Evolutionary trade-offs between growth and survival: The delicate balance between reproductive success and longevity in bacteria // Adv. Microb. Physiol. 2021. Vol. 79. P. 133–162. DOI: 10.1016/bs.ampbs.2021.07.002. EDN: JNJVSR.
5. Akhova A.V., Tkachenko A.G. ATP/ADP alteration as a sign of the oxidative stress development in *Escherichia coli* cells under antibiotic treatment // FEMS Microbiol. Lett. 2014. Vol. 353, № 1. P. 69–76. DOI: 10.1111/1574-6968.12405. EDN: SKQEFL.
6. Camacho-Carranza R. et al. Topoisomerase activity during the heat shock response in *Escherichia coli* K-12 // J. Bacteriol. 1995. Vol. 177, № 12. P. 3619–3622. DOI: 10.1128/jb.177.12.3619-3622.1995.
7. Chapman A.G., Fall L., Atkinson D.E. Adenylate energy charge in *Escherichia coli* during growth and starvation // J. Bacteriol. 1971. Vol. 108, № 3. P. 1072–1086. DOI: 10.1128/jb.108.3.1072-1086.1971.
8. Demling P. et al. *Pseudomonas putida* KT2440 endures temporary oxygen limitations // Biotechnol. Bioeng. 2021. Vol. 118, № 12. P. 4735–4750. DOI: 10.1002/bit.27938. EDN: PJGLCN.

9. Dorman C.J. Variable DNA topology is an epigenetic generator of physiological heterogeneity in bacterial populations // *Mol. Microbiol.* 2023. Vol. 119, № 1. P. 19–28. DOI: 10.1111/mmi.15014. EDN: EENMXY.
10. Hsieh L.S., Burger R.M., Drlica K. Bacterial DNA supercoiling and [ATP]/[ADP]. Changes associated with a transition to anaerobic growth // *J. Mol. Biol.* 1991. Vol. 219, № 3. P. 443–450. DOI: 10.1016/0022-2836(91)90185-9.
11. Hsieh L.S., Rouviere-Yaniv J., Drlica K. Bacterial DNA supercoiling and [ATP]/[ADP] ratio: changes associated with salt shock // *J. Bacteriol.* 1991. Vol. 173, № 12. P. 3914–3917. DOI: 10.1128/jb.173.12.3914-3917.1991.
12. Jiang P., Ninfa A.J. *Escherichia coli* PII signal transduction protein controlling nitrogen assimilation acts as a sensor of adenylate energy charge *in vitro* // *Biochemistry*. 2007. Vol. 46, № 45. P. 12979–12996. DOI: 10.1021/bi701062t.
13. Lange R., Hengge-Aronis R. The cellular concentration of the sigma S subunit of RNA polymerase in *Escherichia coli* is controlled at the levels of transcription, translation, and protein stability // *Genes Dev.* 1994. Vol. 8. P. 1600–1612. DOI: 10.1101/gad.8.13.1600.
14. Maldonado E.N., Lemasters J.J. ATP/ADP ratio, the missed connection between mitochondria and the Warburg effect // *Mitochondrion*. 2014. Vol. 19. Pt A. P. 78–84. DOI: 10.1016/j.mito.2014.09.002. EDN: UFIMYZ.
15. Mitchell A.M., Silhavy T.J. Envelope stress responses: balancing damage repair and toxicity // *Nat. Rev. Microbiol.* 2019. Vol. 17, № 7. P. 417–428. DOI: 10.1038/s41579-019-0199-0.
16. Sun Y. et al. Application of cofactors in the regulation of microbial metabolism: A state of the art review // *Front. Microbiol.* 2023. Vol. 14. Art. 1145784. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1145784. EDN: CWSUGW.

References

1. Tkachenko A.G. [Changes in the energy parameters of *Escherichia coli* in the course of glucose and ammonium shifts down and up as a factor characterizing the coupling of energetic and constructive metabolic types]. *Mikrobiologija*. V. 59, No. 2 (1990): pp. 197-204. (In Russ.).
2. Tkachenko A.G., Pshenichnov M.R., Salakheddinova O. Ya., Nesterova L. Yu. [The role of putrescine and potassium transport in the regulation of DNA topology during *Escherichia coli* adaptation to heat stress]. *Mikrobiologija*. V. 67, No. 5 (1998): pp. 601-606. (In Russ.).
3. Tkachenko A.G., Pshenichnov M.R., Salakheddinova O. Ya., Nesterova L. Yu. [The role of putrescine and the cellular energy state of *Escherichia coli* in regulation of DNA topology during adaptation to oxidative stress]. *Mikrobiologija*. V. 68, No. 1 (1999): pp. 27-32. (In Russ.).
4. Abram F., Arcari T., Guerreiro D., O'Byrne C.P. Evolutionary trade-offs between growth and survival: The delicate balance between reproductive success and longevity in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* V. 79 (2021): pp. 133-162. DOI: 10.1016/bs.ampbs.2021.07.002.
5. Akhova A.V., Tkachenko A.G. ATP/ADP alteration as a sign of the oxidative stress development in *Escherichia coli* cells under antibiotic treatment. *FEMS Microbiol. Lett.* V. 353 (2014): pp. 69-76. DOI: 10.1111/1574-6968.12405.
6. Camacho-Carranza R., Membrillo-Hernández J., Ramírez-Santos J., Castro-Dorantes J., Chagoya de Sánchez V., Gómez-Eichelmann M.C. Topoisomerase activity during the heat shock response in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* V. 177 (1995): pp. 3619-3622. DOI: 10.1128/jb.177.12.3619-3622.1995.
7. Chapman A.G., Fall L., Atkinson D.E. Adenylate energy charge in *Escherichia coli* during growth and starvation. *J. Bacteriol.* V. 108 (1971): pp. 1072-1086. DOI: 10.1128/jb.108.3.1072-1086.1971.
8. Demling P., Ankenbauer A., Klein B., Noack S., Tiso T., Takors R., Blank L.M. *Pseudomonas putida* KT2440 endures temporary oxygen limitations. *Biotechnol. Bioeng.* V. 118 (2021): pp. 4735-4750. DOI: 10.1002/bit.27938.
9. Dorman C.J. Variable DNA topology is an epigenetic generator of physiological heterogeneity in bacterial populations. *Mol. Microbiol.* V. 119 (2023): pp. 19-28. DOI: 10.1111/mmi.15014.
10. Hsieh L.S., Burger R.M., Drlica K. Bacterial DNA supercoiling and [ATP]/[ADP]. Changes associated with a transition to anaerobic growth. *J. Mol. Biol.* V. 219 (1991): pp. 443-450. DOI: 10.1016/0022-2836(91)90185-9.
11. Hsieh L.S., Rouviere-Yaniv J., Drlica K. Bacterial DNA supercoiling and [ATP]/[ADP] ratio: changes associated with salt shock. *J. Bacteriol.* V. 173 (1991): pp. 3914-3917. DOI: 10.1128/jb.173.12.3914-3917.1991.
12. Jiang P., Ninfa A.J. *Escherichia coli* PII signal transduction protein controlling nitrogen assimilation acts as a sensor of adenylate energy charge *in vitro*. *Biochemistry*. V. 46 (2007): pp. 12979-12996. DOI: 10.1021/bi701062t.

13. Lange R., Hengge-Aronis R. The cellular concentration of the sigma S subunit of RNA polymerase in *Escherichia coli* is controlled at the levels of transcription, translation, and protein stability. *Genes Dev.* V. 8 (1994): pp. 1600-1612. DOI: 10.1101/gad.8.13.1600.
14. Maldonado E.N., Lemasters J.J. ATP/ADP ratio, the missed connection between mitochondria and the Warburg effect. *Mitochondrion*. V. 19 (2014): pp. 78-84. DOI: 10.1016/j.mito.2014.09.002.
15. Mitchell A.M., Silhavy T.J. Envelope stress responses: balancing damage repair and toxicity. *Nat. Rev. Microbiol.* V. 17 (2019): pp. 417-428. DOI: 10.1038/s41579-019-0199-0.
16. Sun Y., Zhang T., Lu B., Li X., Jiang L. Application of cofactors in the regulation of microbial metabolism: A state of the art review. *Front. Microbiol.* V. 14 (2023): Art. 1145784. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1145784.

Статья поступила в редакцию 18.03.2025; одобрена после рецензирования 11.04.2025; принята к публикации 10.06.2025.

The article was submitted 18.03.2025; approved after reviewing 11.04.2025; accepted for publication 10.06.2025.

Информация об авторах

А. В. Ахова – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов;
А. Г. Ткаченко – д-р мед. наук, зав. лабораторией адаптации микроорганизмов.

Information about the authors

A. V. Akhova – Cand. Sci. (Biol), senior researcher of the Laboratory of Microbial Adaptation;
A. G. Tkachenko – Doc. Sci. (Med), head of the Laboratory of Microbial Adaptation.

Вклад авторов:

Ахова А. В. – концепция и дизайн исследования; сбор и анализ данных; написание текста статьи.
Ткаченко А. Г. – концепция исследования; доработка рукописи.

Contribution of the authors:

Akhova A. V. – research design; methodology development; data collection and analysis; writing of the manuscript.
Tkachenko A. G. – research concept; revision of the manuscript.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.