

СИМБИОТИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НОРМОФЛОРЫ И ХОЗЯИНА

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

С.В.Андрющенко, Е.В.Иванова, Н.Б.Перунова, О.В.Бухарин, А.В.Бекпергенова

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА БИФИДОБАКТЕРИЙ БИОТОПА ДИСТАЛЬНОГО ОТДЕЛА КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург

Цель. Определение отличительных параметров геномов *B. bifidum* и *B. longum*, характеризующих их адаптивный потенциал применительно к биотопу дистального отдела толстого кишечника человека. *Материалы и методы.* В работе использованы 5 штаммов бифидобактерий: *B. bifidum* ICIS-310, *B. bifidum* ICIS-643, *B. bifidum* ICIS-791, *B. longum* ICIS-505 (клинические изоляты) и *B. longum* MC-42 (ГИСК им. Л.А. Тарасевича). Полногеномное секвенирование проведено при помощи секвенатора «MiSeq» и набора подготовки ДНК-библиотек «Nextera» v.3 (Illumina, США). Аннотация и первичный анализ набора генов известных гомологов в полученных геномах осуществлен с помощью онлайн-сервиса RAST (коллаборация NMPDR, США). *Результаты.* У штамма *B. bifidum* ICIS-310 не обнаруживаются гомологи гена пермеазы лактозы и галактозы, присутствующие в двух других секвенированных штаммах *B. bifidum*, но сохранены два гена экзо-альфа-сиалидазы, а также выявляется дополнительный ген семейства ДНК-метилтрансфераз. Клинические изоляты *B. longum* демонстрируют несколько больше различий между собой: штамм *B. longum* ICIS-505 содержит на 200 генов больше, чем эталонный штамм *B. longum* MC-42, из которых 29 — гомологи с установленной функцией. Данные гены распределены равномерно по функциональным классам. *Заключение.* Полученные данные анализа генома бифидобактерий отражают их специализацию в занимаемом биотопе и мутуалистическую надежность, определяя доминантную роль бифидофлоры в кишечном микросимбиозе человека. Размер генома, постоянство сигнального ценза и предсказуемость реакций бифидобактерий позволяют использовать их в качестве типовых моделей, пригодных для исследования симбиотических отношений человека и его микробиоты, а также построения экспериментальных систем межмикробных взаимодействий.

Журн. микробиол., 2018, № 4, С. 4—11

Ключевые слова: бифидобактерии, полногеномное секвенирование, сигнальный ценз, эволюция микросимбионтов, симбиоз

S.V.Andryuschenko, E.V.Ivanova, N.B.Perunova, O.V.Bukharin, A.V.Bekpergenova

GENETIC CHARACTERISTICS OF THE ADAPTIVE POTENTIAL OF BIFIDOBACTERIA IN THE BIOTOPE OF DISTAL HUMAN INTESTINE

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia

Aim. Determination of distinctive parameters of the *B. bifidum* and *B. longum* genomes, which characterizes their adaptive potential applied to distal intestine biotope of the human gut. *Materials and methods.* 5 strains of bifidobacteria have been used: *B. bifidum* ICIS-310, *B. bifidum* ICIS-643, *B. bifidum* ICIS-791, *B. longum* ICIS-505 (clinical isolates) и *B. longum* MC-42. Whole Genome Sequencing (WGS) has been performed by «MiSeq» DNA sequencer

and «Nextera» DNA library preparation kit (Illumina). Annotation and the primary analysis of known homologues gene content has been performed by RAST service (NMPDR). *Results.* *B. bifidum* ICIS-310 has not revealed lactose and galactose permease genes, that present in two other sequenced *B. bifidum* strains, but two exo-alpha-sialidase genes has remained, as well as additional gene of DNA-methyltransferases family. Clinical isolates of *B. longum* has demonstrated a slightly more differences between each other: *B. longum* ICIS-505 strain contains more than 200 genes more than *B. longum* MC-42 reference strain, where are 29 genes — homologues with known function. These genes are distributed uniformly by functional groups. *Conclusion.* Obtained data of genome analysis of the bifidobacteria reflect their specialization in occupied biotope and mutualistic reliability, determining dominance role of bifidoflora in human gut microsymbiocoenosis. Genome size, stability of signal census and predictability of reactions of the bifidobacteria allow to use them as a general model suitable for studying of symbiotic relations of human and his/her microbiota as well as construction of the experimental systems of intermicrobial interactions.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 4, P. 4—11

Key words: bifidobacteria, WGS, signal census, evolution of microsymbionts, symbiosis

ВВЕДЕНИЕ

Роль бактерий рода *Bifidobacterium* в функционировании пищеварительного тракта человека известна давно [14], тогда как механизмы, определяющие место бифидобактерий как фактора стабилизации микросимбиоза, включая феномен межмикробного распознавания, активно исследуются в настоящее время [1, 11].

В то же время, результаты тотальных генетических сиквенс-скринингов кишечного микробиома, расширив номенклатуру его видового состава, выявили, что численность бифидобактерий, как и других представителей *Actinobacteria*, в нем относительно невелика [3]. Но выявленный изначально количественный дисбаланс, кроме того, что во многом обусловлен несовершенством применявшихся методик пробоподготовки микробиомных скринингов [9, 12], сам по себе не может служить опровержением функциональной роли того или иного звена микробиоценоза. Поэтому расширение корпуса общедоступных физиологических, биохимических и молекулярно-генетических данных о представителях рода *Bifidobacterium*, населяющих толстый кишечник человека, по сей день имеет существенное значение для создания моделей симбиотических взаимоотношений человека и его микробиоты. Особенно с учетом того, что в центральной базе данных нуклеотидных последовательностей Национального Центра Биотехнологической Информации (США, Bethesda) количество доступных завершенных геномов целого ряда высокораспространенных видов облигатно-анаэробных бактерий, населяющих биотоп в высокой численности, таких как *Bifidobacterium bifidum*, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides thetaiotaomicron* все еще не превышает десятка записей.

Выполнить комплексный анализ получаемых геномных данных позволяет способ, разработанный для оценки регуляторного потенциала адаптации бактерии по ее геному в целом — посредством определения «сигнального ценза» как числа генов, кодирующих белки клеточных регуляторных систем, и вычисления относительного показателя — «бактериального IQ» [4, 5]. Этот показатель позволяет упростить первичный анализ получаемых при полногеномном секвенировании данных и оценить общий репертуар регуляторных эффектов исследуемых видов бактерий в симбиотических взаимодействиях,

что особенно важно при отборе как индикаторных, так и пробиотических штаммов бифидобактерий.

В связи с изложенным, целью настоящей работы стало определение отличительных параметров геномов бифидобактерий видов *B. bifidum* и *B. longum*, характеризующих их адаптивный потенциал применительно к биотопу дистального отдела толстого кишечника человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили 4 клинических изолята бифидобактерий *B. bifidum* ICIS-310, *B. bifidum* ICIS-643, *B. bifidum* ICIS-791, *B. longum* ICIS-505, выделенные от пациентов при обследовании на дисбиоз кишечника, и эталонный штамм *B. longum* MC-42 (ГИСК им. Л.А.Тарасевича).

Культивирование исследуемых штаммов производилось во флаконах, содержащих 4 мл стерильной среды Шедлера (HiMedia, Индия). Все исследуемые штаммы инкубировали в анаэрокате Binder при содержании кислорода от 0,2 до 0,6%, углекислого газа от 5 до 9% и температуре 37°C в течение 48 часов.

По завершению инкубации культуральную среду центрифугировали в течение 6 минут при 4000 g с последующим удалением супернатанта. Полученный осадок ресуспендировали в 50 мкл трис-солевого буфера с добавлением 2 мкг лизоцима куриного яичного белка, инкубировали при 37 °С в течение 1 часа, затем механически гомогенизировали сферическими гранулами диаметром 1,4 мм в течение 1 мин. со скоростью 6,5 м/с. Инактивация ДНКаз производилась прогреванием суспензии до 95°C в течение 10 минут, затем производилось добавление 50 мкл 10% раствора додецилсульфата натрия и 2 мкл раствора протеиназы К к каждой пробе и инкубация при 60 °С в течение 1 часа. Выделенная ДНК подвергалась трехкратной фенол-хлороформной экстракции ДНК [7], последующему осаждению и трехкратному промыванию этанолом [2], и растворению в 30 мкл деионизированной воды I типа качества («Milli-Q»). После очистки ДНК исследуемых штаммов хранилась при -20°C.

Подготовка ДНК-библиотек для секвенирования производилась с использованием набора Nextera DNA Library Preparation Kit («Illumina», США) по прилагающемуся протоколу.

Полногеномное секвенирование выделенных ДНК проведено при помощи секвенатора «MiSeq» с комплектом реагентов Reagent Kit v.3 («Illumina», США). Длина получаемых парных ридов составила до 2*300 нуклеотидов. Анализ качества чтения проводился при помощи программного обеспечения «FastQC» (Babraham Bioinformatics, Великобритания).

Предподготовка парных ридов к сборке выполнена в программе «Trimmomatic» (Usadel Lab, Германия). Сборка парных ридов до скаффолдов выполнена ассемблером «SPAdes»; статистическая оценка качества сборки проведена при помощи программного обеспечения «QUAST» (лаборатория алгоритмической биологии Санкт-Петербургского академического университета). В качестве референсных были выбраны полные геномы штаммов *B. bifidum* PRL2010 и *B. longum* NCC2705.

Аннотация и первичный анализ набора генов известных гомологов в полученных геномах осуществлен с помощью онлайн-сервиса RAST (коллаборация NMPDR, США).

Определение сигнального ценза геномов бактерий выполнено по M.Y.Galperin et al. в модификации от 2010 года [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В аннотированных сервисом RAST геномах всех секвенированных штаммов исследуемых бифидобактерий доля гомологов генов с достоверно известной функцией находится в диапазоне от 68 до 74%; доля генов, образующих функциональные подсистемы, составила 41 — 42% у всех рассмотренных штаммов, за исключением *B. longum* MC-42, у которого данный параметр равен 45,3% (840 из 1853 генов).

Секвенирование штаммов *B. bifidum* показало, что итоговые длины полученных сборок в среднем на 50 тысяч пар нуклеотидов и на 200 потенциальных рамок считывания больше, чем в четырех полных геномах NCBI, но не превышает верхнего значения размера генома для данного вида в 2,28 тысяч пар нуклеотидов.

Доля GC-пар также полностью соответствует другим секвенированным к настоящему времени штаммам данного вида и составляет 62 — 63% [8]. У секвенированных штаммов сохраняется широкий набор известных генов, обеспечивающих симбиотические взаимодействия бактерий данного вида с организмом хозяина: ферменты расщепления олигосахаридов человеческого молока и кишечного муцина [12, 13]. В то же время, у штамма *B. bifidum* ICIS-310 не обнаруживаются гомологи гена пермеазы лактозы и галактозы, присутствующие в двух других секвенированных штаммах *B. bifidum*, но сохранены два гена экзо-альфа-сиалидазы, а также выявляется дополнительный ген семейства ДНК-метилтрансфераз (табл. 1).

Эти факты свидетельствуют о высокой генетической однородности исследуемых штаммов вида *B. bifidum* и подтверждают валидность примененных в данной работе методик секвенирования и анализа полученных последовательностей.

Секвенированные штаммы *B. longum* демонстрируют несколько больше различий между собой: штамм *B. longum* ICIS-505 содержит на 200 генов больше, чем *B. longum* MC-42, из которых 29 — гомологи с установленной функцией. Данные гены распределены равномерно по функциональным классам, главным образом в классах фаговых генов, систем противовирусной защиты и стресс-регуляторных систем. Эта особенность может быть

Таблица 1. Сравнение референсного и опытных геномов *B. bifidum*

Признак (по RAST)	<i>B. bifidum</i> PRL2010	<i>B. bifidum</i> ICIS-310	<i>B. bifidum</i> ICIS-643	<i>B. bifidum</i> ICIS-791
Размер генома, нуклеотидов	2 214 656	2 219 632	2 282 155	2 266 496
Общее число кодирующих генов	1791	1845	1903	1898
Число генов, не кодирующих РНК	61	58	58	60
Уникальных известных генов	—	1	0	1
Гены резистентности	β-лактамаза	0	0	β-лактамаза
Углеводный обмен	1,3/4-фукозидаза 1,2-фукозидаза	0	пермеаза лактозы и галактозы	
Мембранный транспорт	0	0		
Неспецифический противовирусный иммунитет и метаболизм ДНК	М-субъединица ДНК-метил-трансферазы	М-субъединица ДНК-метил-трансферазы		0
Клеточная стенка и капсула	0	yjeE	0	0
Прочие кластеризованные гены	СТР-синтаза	0	СТР-синтаза	

Таблица 2. Сравнение референсного и опытных геномов *B. longum*

Признак (по RAST)	<i>B. longum</i> NCC2705	<i>B. longum</i> MC-42	<i>B. longum</i> ICIS-505
Размер генома	2 260 272	2 280 366	2 449 474
Общее число кодирующих генов	1879	1853	2059
Число генов, не кодирующих РНК	75	63	85
Число генов сигнальных систем	10	11	12
Уникальных известных генов	44	17	29
Гены резистентности	Компоненты <i>uidC/D</i> системы транслокации	0	Регулятор <i>merF</i> системы устойчивости к тяж.мет.
Углеводный обмен	3	7	3
Мембранный транспорт	Mg^{2+} АТФаза Fe^{2+} пермеаза	0	<i>tolA</i>
Обмен аминокислот	цитозин-деаминаза		2
Неспецифический противовирусный иммунитет, метаболизм ДНК	9	1	8
Адаптивный противовирусный иммунитет (CRISPR/Cas)		хеликаза <i>cas3</i>	2
Клеточная стенка и капсула	6 генов синтеза рамнозосодержащих гликанов	2	4 гена синтеза рамнозосодержащих гликанов
Синтез изопреноидов	2	3	0
Прочие кластеризован. гены	3	гликозил-трансфераза I группы	3
Стресс-ответ	2	0	3
Профаговые гены	0	0	фаговая терминаза
Биосинтез биотина	0	белок компетентности F	0

результатом меньшего числа пассажей клинического изолята *B. longum* ICIS-505 на искусственных питательных средах, произведенных с момента его выделения до момента секвенирования по сравнению со штаммом *B. longum* MC-42, депонированным в 1976 г. ГИСК им. Л.А.Тарасевича. Тем не менее, указанные различия не выходят за уровень вариабельности количества генов, определенных в полных геномах штаммов *B. longum*, депонированных в базе данных GenBank к настоящему моменту (табл. 2)

Также следует отметить, что гены, обеспечивающие оба пути синтеза ключевого предшественника «аутоиндуктора-2» — важного медиатора межвидовой коммуникации — дигидрокси-2,3-пентандиона (ДПД) как из S-рибозил-L-гомоцистеина (ген *luxS*), так и из рибулозо-5-фосфата [13] в виде генов двух ферментов, обеспечивающих взаимопревращение двух его стереоизомеров (рибулозо-фосфат 3-эпимеразы и L-рибулозо-5-фосфат 4-эпимеразы) присутствуют у всех секвенированных штаммов. В то же время, других ферментов путей превращения пентоз (KEGG) выявлено не было.

На заключительном этапе исследования было проведено вычисление абсолютного сигнального ценза исследуемых штаммов: суммарное число известных генов регуляторных систем составило 28 во всех трех исследованных геномах бактерий *B. longum*, тогда как у *B. bifidum* выявлены небольшие различия в общем числе данной группы генов: 29 у штамма *B. bifidum* ICIS-310, 35 у штамма *B. bifidum* ICIS-643 и 34 у штамма *B. bifidum* ICIS-791. Значения

относительного показателя сигнального ценза — «бактериального IQ» у *B. longum* находятся в диапазоне 112 — 121 единиц, у исследованных штаммов *B. bifidum* варьируют в пределах от 125 до 133 единиц.

ОБСУЖДЕНИЕ

Накопленный к настоящему времени массив молекулярно-генетических данных в отношении рода *Bifidobacterium* и семейства *Bifidobacteriaceae* позволяет на основе полученных данных оценить эволюционную роль целого ряда как качественных, так и количественных характеристик геномов бифидобактерий в адаптации этих микроорганизмов к биотопам их макропартнеров. Известно, что такие наиболее общие количественные параметры генома, как его полная длина и доля уникальной кодирующей части, отражают экологическую историю бактерий, поскольку основным трендом долговременной эволюции свободноживущих форм прокариот является редукция части генома, не находящейся под давлением отбора [15], что приводит к определенной фиксации физиологических возможностей микроорганизмов. Показано, что в сравнении с другими мутаалистическими микросимбионтами млекопитающих, в частности, лактобациллами — у бифидобактерий произошло относительно немного генных потерь [10]. Итоговый размер их генома несколько больше такового у видов лактобацилл, стабильно населяющих женский репродуктивный тракт, за исключением *Lactobacillus crispatus*, также имеющего геном длиной в 2,2 миллиона нуклеотидных пар. Поэтому, в сравнении с лактобациллами, кишечные представители рода бифидобактерий сохраняют большую широту возможных адаптивных реакций. Несмотря на то, что ни один из известных представителей этих групп до сего дня не стал облигатным симбионтом млекопитающих, это расхождение может иметь следующее объяснение: в отличие от обитающих в репродуктивном тракте лактобацилл, биотопы, занимаемые бифидобактериями, имеют существенно большее биохимическое разнообразие и широкое микросимбиотическое окружение, что требует большего набора соответствующих адаптаций. Это соображение подтверждается наличием у бифидобактерий широкого арсенала ферментов углеводного обмена, определяющего их биохимическую нишу в кишечнике [1]. С другой стороны, все представители порядка *Bifidobacteriales* являются облигатными анаэробами и поэтому имеют существенно меньшую вероятность к заселению биотопов во внешней среде, следовательно, адаптация к симбиотическому существованию у этой группы могла начаться задолго до ответвления рода *Bifidobacterium*. Действительно, среди семейства *Bifidobacteriaceae* широко представлены симбионты пищеварительного тракта как млекопитающих, так и насекомых (род *Aeriscardovia*, род *Bombiscardovia*). При этом, отмечается, что данная группа бактерий наиболее характерна для животных, практикующих тесные социальные взаимодействия и характеризующихся сильной зависимостью потомства от родительской заботы [14], что служит дополнительным аргументом их высокой специализации к почти строгому симбиотическому существованию *in vivo*.

Со стороны хозяина мутуалистическая надежность бифидобактерий, принадлежащих к типу *Actinobacteria*, в эволюционной перспективе подкрепляется их филогенетической удаленностью от большинства патогенных и условно патогенных бактерий, способных проникнуть и закрепиться в дистальных отделах пищеварительного тракта, что обеспечивает усиленную изоляцию бифидобактерий от приобретения ими «островов патогенности» путем горизонтального переноса генов. Это общее соображение также под-

тверждается геномными исследованиями — в целом только 1/3 всех горизонтально приобретенных генов бифидобактерий получена ими от бактерий иных типов [10]; и в настоящее время известен только один безусловный патоген человека, относящийся к рассматриваемому семейству — *Gardnerella vaginalis*, получивший свою детерминанту вирулентности путем горизонтального переноса от микроорганизма, близкого *Streptococcus intermedius* [6]. У кишечных представителей рода *Bifidobacterium* к настоящему моменту «островов патогенности» не выявлено, несмотря на то, что известно несколько случаев выявления их вкуче с иными микроорганизмами при некоторых инфекционно-воспалительных заболеваниях.

Что касается выявленных в данной работе различий в уровне внутривидовой генетической вариабельности между видами *B. bifidum* и *B. longum*, то они находятся в соответствии с известными данными и отражают более глубокую адаптацию вида *B. bifidum* к пищеварительному тракту млекопитающих, особенно в периоде молочного вскармливания [10].

В то же время, бифидобактерии, занимающие сходную с лактобациллами биохимическую нишу, характер эволюционной истории и диапазон размеров генома [5], имеют заметно большее удельное квадратичное количество генов регуляторных систем на размер генома: из 13 проанализированных видов у 12 лактобацилл его значение не превышает среднего для всех бактерий — 100, и только у *Lactobacillus delbrueckii* составляет 109. Что касается наиболее многочисленных облигатно анаэробных представителей нормального микробиоценоза толстого кишечника взрослого человека — бактерий рода *Bacteroides*, то, несмотря на вдвое больший размер генома и в 5 — 7 раз большее количество генов сенсорных гистидин-киназ, относительный «IQ-показатель» для них не превышает 90 единиц. Эта разница выгодно характеризует регуляторную эффективность генома бифидобактерий.

Таким образом, несмотря на то, что свойства геномов бифидобактерий отражают достаточно длительную и узкую специализацию ко вполне определенной экологической нише, сложное микроокружение биотопов хозяина, в которых приходится существовать бифидобактериям, вероятно, препятствует дальнейшему сокращению числа регуляторных сигнальных систем. Указанные факты, с одной стороны, показывают постоянство и предсказуемость реакций бифидобактерий на изменения состояния биотопа, сохраняя за ними полное право на роль важного индикатора его состояния, и делают все изученные в работе штаммы бифидобактерий типовыми моделями, пригодными для построения экспериментальных систем межмикробных взаимодействий. С другой стороны, несмотря на консервативность, репертуар доступных бифидобактериям адаптивных реакций должен быть шире, чем у более изученных прокариот-мутуалистов млекопитающих — лактобацилл, свидетельством чему может стать и способность бифидобактерий различать «своих» и «чужих» ассоциантов.

Авторы благодарят сотрудников Центра коллективного пользования «Персистенция микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза к.м.н., А.О.Плотникова и к.б.н. Д.В.Пошвину за получение сиквенсных данных и д.т.н. Ю.А.Хлопко за их первичную обработку.

Работа выполнена при грантовой поддержке фундаментальных исследований по Программе УрО РАН «Фундаментальные науки — медицине», проект № 18-7-8-34 и Российского Фонда Фундаментальных Исследований по программе поддержки фундаментальных научных исследований, выполняемых молодыми учеными («Мой первый грант»), проект № 18-34-00853 мол_а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б., Чайникова И.Н., Андриюшенко С.В. Метаболический профиль бифидофлоры при различных микрoэкологических состояниях биотопы толстого кишечника человека. Журн. микробиол. 2017, 1: 3-11.
2. Birnboim H.C., Doly J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. Nucleic Acids Res. 1979, 6: 1513-1523.
3. Claesson M.J., Cusack S., O'Sullivan O. et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. PNAS. 2011, 1: 4586-4591.
4. Galperin M.Y. A census of membrane-bound and intracellular signal transduction proteins in bacteria: Bacterial IQ, extroverts and introverts. BMC Microbiology. 2005, 5: 35.
5. Galperin M.Y., Higdon R., Kolker E. Interplay of heritage and habitat in the distribution of bacterial signal transduction systems. Mol. BioSyst. 2010, 6: 721-728.
6. Gelber S.E., Aguilar J.L., Lewis K.L. Functional and phylogenetic characterization of Vaginolysin, the human-specific cytolyisin from *Gardnerella vaginalis*. J. Bacteriol. 2008, 11: 3896-3903.
7. Godson G.N., Vapnek D. A simple method of preparing large amounts of phiX174 RF 1 supercoiled DNA. Biochim Biophys Acta. 1973, 4: 516-520.
8. Ku S., Park M.S., Ji G.E., You H.J. Review on *Bifidobacterium bifidum* BGN4: Functionality and Nutraceutical Applications as a Probiotic Microorganism. Int.J. Mol.Sci. 2016, 9: 1544.
9. Maukonen J., Simxes C., Saarela M. The currently used commercial DNA-extraction methods give different results of clostridial and actinobacterial populations derived from human fecal samples. FEMS Microbiol. Ecol. 2012, 3: 697-708.
10. Milani C., Turrone F., Duranti S. et al. Genomics of the Genus *Bifidobacterium* Reveals Species-Specific Adaptation to the Glycan-Rich Gut Environment. Appl. Environ. Microbiol. 2015, 4: 980-991.
11. O'Callaghan A., van Sinderen D. *Bifidobacteria and Their Role as Members of the Human Gut Microbiota*. Front. Microbiol. 2016, 7: 925.
12. Ott S.J., Musfeldt M., Timmis K.N. et al. In vitro alterations of intestinal bacterial microbiota in fecal samples during storage. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2004, 4: 237-245.
13. Tavender T.J., Halliday N.M., Hardie K.R. et al. LuxS-independent formation of AI-2 from ribulose-5-phosphate. BMC Microbiol. 2008, 8: 98.
14. Ventura M., Turrone F., Lugli G.A. et al. *Bifidobacteria and humans: our special friends, from ecological to genomics perspectives*. J.Sci.Food.Agric. 2014, 94: 163-168.
15. Wolf Y.I., Koonin E.V. Genome reduction as the dominant mode of evolution. Bioessays. 2013, 9: 829-837.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

В.М.Червинец, Ю.В.Червинец, Е.А.Беляева, О.А.Петрова, Е.Б.Ганина

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВЫСОКОАНТАГОНИСТИЧЕСКИХ ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА

Тверской государственный медицинский университет

Цель. Оценить метаболическую активность высокоантагонистических штаммов лактобацилл, выделенных из полости рта и кишечника здоровых людей. *Материалы и методы.* В исследование включены 9 высокоантагонистически активных штамма лактобацилл, выделенных из зубного налета и кишечника здоровых людей разных возрастных групп от 8 до 35 лет. У лактобацилл были изучены ферменты патогенности, кислотообразование, газовые сигнальные молекулы (CH₄, CO₂, C₂H₆, CO и NH₃), а также степень чувствительности к соляной кислоте, желчи. *Результаты.* Все исследуемые штаммы лактобацилл были генетически идентифицированы по гену 16S РНК и отнесены к 4 видам: *L.fermentum*, *L.rhamnosus*, *L.plantarum* и *L.casei*. Они оказались апатогенными, вырабатывали широкий спектр метаболитов разной степени выраженности: молочную кислоту и простые газовые сигнальные молекулы, CH₄, CO₂, C₂H₆, CO и NH₃. Кишечные