

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

**ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ» РАН**

Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского

Институт биоинженерии

Институт биохимии им. А. Н. Баха

РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

МОО «МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО»

ТЕЗИСЫ

**X МОЛОДЕЖНОЙ ШКОЛЫ–КОНФЕРЕНЦИИ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
«АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ»**

27 — 30 ОКТЯБРЯ 2015 г.



ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
БИОТЕХНОЛОГИИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Организационный комитет конференции

Научный оргкомитет:

Гальченко Валерий Федорович, член-корр. РАН — председатель

Скрябин Константин Георгиевич, академик РАН — сопредседатель

Попов Владимир Олегович, член-корр. РАН — сопредседатель

Проф. Нильс-Коре Биркеланд, Университет Бергена, Норвегия

Д-р Ховик Паносян, Ереванский Государственный Университет, Армения

Оргкомитет:

Пименов Н. В., д. б. н. — сопредседатель

Равин Н. В., д. б. н., проф. — сопредседатель

Дзантиев Б. Б., д.б.н., проф.

Бонч-Осмоловская Е. А., д. б. н., проф.

Дедыш С. Н., д. б. н.

Мысякина И. С., д. б. н.

Хижняк Т. В., д. б. н.

Марданов А. В., д. б. н.

Камионская А. М., к. б. н.

Кубланов И. В., к. б. н.

Юсупов С. К.

Гальченко Н. В. — секретарь

Адрес оргкомитета: 117312, Москва, Проспект 60-летия Октября, д.7, корп.2. Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН.
Тел.: (499) 135-01-80, Факс: (499) 135-65-30, e-mail: natgal@inmi.ru, natgalch@gmail.com.

Спонсоры конференции:



ОГЛАВЛЕНИЕ

ВЫДЕЛЕНИЕ АЦИДОТОЛЕРАНТНЫХ *DESULFOVIBRIO* С ПОМОЩЬЮ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ В БИОРЕАКТОРЕ

Д. В. Анциферов, Т. С. Федорова, Е. А. Латыголец, А. Л. Герасимчук, А. А. Ковалева, Д. А. Ивасенко, О. В. Карначук11

СРАВНЕНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО И ДИКОГО ШТАММОВ *LISTERIA MONOCYTOGENES*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ОДНОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА

Е. И. Аксенова, О. Л. Воронина, М. С. Кунда, А. Н. Семенов, Н. Н. Рыжова14

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПЕЩЕРЫ БОЛЬШАЯ ОРЕШНАЯ

Д. В. Аксенов-Грибанов, И. В. Войцеховская, С. В. Гамаюнов, Е. С. Протасов, М. А. Тимофеев16

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКОВ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Г. П. Арапиди, Р. Х. Зиганшин, О. М. Иванова, М. С. Осетрова, П. В. Павлович, Т. М. Савельева, В. О. Шендер, С. И. Ковальчук, Н. А. Аниканов, В. М. Говорун, В. Т. Иванов19

РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА РИБОСОМНЫХ БЕЛКОВ У БАКТЕРИЙ: ПРАВИЛА И ИСКЛЮЧЕНИЯ

Л. В. Асеев, Л. С. Колединская, И. В. Бони.....20

ПРОРАСТАНИЕ СПОР МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

В СВЯЗИ С ЭКЗОГЕННЫМ ПОКОЕМ

Д. А. Бокарева, Г. А. Кочкина, Н. Е. Иванушкина, Е. П. Феофилова, И. С. Мысякина.....23

СКРИНИНГ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ РОДА *RHODOTORULA* ПО ПРИЗНАКУ ПРОДУКЦИИ КАРОТИНОИДОВ

Н. В. Бондаревич, А. В. Кантерова, Г. И. Новик.....27

СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНЫХ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗ <i>METHYLOMICROBIUM ALCALIPHILUM</i> 20Z И <i>METHYLOSINUS TRICHOSPORIUM</i> ОВ3b	
К. А. Бочарова, О. Н. Розова, В. Н. Хмеленина, Ю. А. Троценко	30
МИКРОБНЫЕ БИОПЛЕНКИ, СФОРМИРОВАННЫЕ В АНАЭРОБНОМ ЛАБОРАТОРНОМ ПРОТОЧНОМ АНАММОКС-БИОРЕАКТОРЕ	
Е. А. Бочкова, Ю. В. Литти	32
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГЕННЫХ СТРУКТУР БЕЛКОВОЙ И ЛИПОПОЛИСАХАРИДНОЙ ПРИРОДЫ НА ПОВЕРХНОСТИ БАКТЕРИЙ <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i>	
А. А. Буданова, А. А. Широков, Л. Ю. Матора	34
ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ МЕЗОФИЛЬНЫХ АНОКСИГЕННЫХ НИТЧАТЫХ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ	
Е. И. Бурганская, М. В. Сухачева, В. А. Гайсин	36
НОВАЯ ПОЛИМОРФНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ДИОКСИДИНА: СИНТЕЗ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ	
О. И. Верная, В. П. Шабатин, А. М. Семенов, Д. И. Хватов, Т. И. Шабатина	39
<i>SPHAEROSHAETA</i> SP. NOV., СПУТНИК ПСИХРОАКТИВНОЙ МЕТАНОСАРЦИНЫ <i>METHANOSARCINA PORCELLINA</i> SP. NOV	
В. М. Верховая, А. В. Ермакова, С. Н. Паршина	40
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА СПЕЦИФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ <i>EXP1</i> В ПРОЦЕССЕ МОРФОГЕНЕЗА БАЗИДИОМИЦЕТА <i>LENTINUS EDODES</i>	
Е. П. Ветчинкина, М. А. Купряшина, С. В. Петров, В. Ю. Горшков, Ю. В. Гоголев, В. Е. Никитина	43
СУЛЬФИДОГЕННЫЕ БАКТЕРИИ ИЗ МИКРОБИОМА ДЕТЕЙ С АУТИСТИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ	
А. Л. Герасимчук, П. А. Бухтиярова, О. В. Карначук	46
ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ АЦИДОТОЛЕРАНТНЫХ И УСТОЙЧИВЫХ К МЕТАЛЛАМ <i>PENICILLIUM</i>	

Л. Б. Глухова, Е. В. Стрелкова, О. П. Иккерт, А. Л. Герасимчук, Э. Велес, О. В. Карначук.....	49
ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕРАЦИИ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА МИКРОБНЫМИ ИЗОЛЯТАМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ КРИОЛИТОЗОНЫ	
А. С. Громова, А. В. Кусакина.....	52
РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ РОДА <i>NOSTOC</i>: ЗОНАЛЬНЫЙ АСПЕКТ	
С. А. Дронова, А. Д. Темралеева	53
БАКТЕРИОРОДОПСИН: ДОСТУПЕН, ИЗУЧЕН, НЕПОНЯТЕН (РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ ОБЗОР)	
М. А. Дубинный.....	56
ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА И СТРУКТУРЫ ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ И ГЛИКОПОЛИМЕРОВ ПОВЕРХНОСТИ АССОЦИАТИВНЫХ РИЗОБАКТЕРИЙ <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> ПРИ АДАПТАЦИИ К ТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ	
С. С. Евстигнеева, Ю. П. Федоненко, С. А. Коннова	57
АНАЛИЗ МЕТАБОЛИТОВ МХА <i>PHYSCOMITRELLA PATENS</i>, ЗАРАЖЕННОГО ФИТОПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ	
Е. Д.Егорова, Г. П. Арапиди, И. А. Фесенко, А. Урбан, Р. А. Хазигалеева, А. Л. Шаварда, А. Н. Игнатов, С. В. Виноградова	60
ВЛИЯНИЕ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ НА ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МХА <i>PHYSCOMITRELLA PATENS</i>	
Е. Д. Егорова, С. В. Виноградова	62
ФИЗИОЛОГИЯ НОВОЙ ЖЕЛЕЗОВОССТАНАВЛИВАЮЩЕЙ АРХЕИ РОДА <i>PYROBACULUM</i>	
И. М. Елизаров, К. С. Заюлина, В. В. Кадников, А. А. Корженков, И. В. Кубланов, С. Н. Гаврилов.....	63
ГИДРОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ТЕРМОФИЛЬНОГО ПЛАНКТОМИЦЕТА <i>TEPIDISPHAERA MUCOSA</i>	
А. Г.Ельченинов, О. Л.Ковалева, С. В.Тошаков, Е. А.Бонч-Осмоловская, И. В.Кубланов ¹	65

СУЛЬФИДОГЕННЫЕ БАКТЕРИИ ИЗ МИКРОБИОМА ДЕТЕЙ С АУТИСТИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ

А. Л. Герасимчук, П. А. Бухтиярова, О. В. Карначук

Томский государственный университет, Томск, Россия

Причины развития аутизма и аутистических расстройств до сих пор остаются невыясненными. Показано, что аутизм связан с проявлением ряда расстройств желудочно-кишечного тракта (Valicenti-McDermott et al., 2006; Molloy, Manning-Courtney, 2003; Nikolov et al., 2009; Ming et al., 2008; Adams et al., 2006). Часто с кишечными расстройствами связано присутствие сульфатредуцирующих и сульфидогенных микроорганизмов (СРБ) (Goldstein et al., 2003; Loubinoux et al., 2000; Loubinoux et al., 2003). Возможное участие сульфидогенов в этиологии различных заболеваний связывают с цитотоксическим действием сероводорода, являющегося конечным продуктом жизнедеятельности этих микроорганизмов. Химически высокорреакционный сероводород может также реагировать с доступными ионами металлов с образованием сульфидов металлов, обладающих чрезвычайно низкой константой растворимости, тем самым вызывая дефицит доступных металлов в организме. Известно, что при аутизме и синдроме Аспергера наблюдается дефицит биодоступного железа. Кроме того, у больных с этими патологиями различными методами было показано повышенное содержание сульфидогенов в микробиоме (Finegold et al. 2012). Нельзя исключить тот факт, что присутствие СРБ может быть связано со снижением содержания биодоступных металлов в кишечнике и развитием патологий. В связи с этим, целью исследования было изучение разнообразия накопительных культур сульфидогенов, полученных из проб фекалий детей с расстройствами аутистического спектра.

Образцы фекалий были получены от пяти доноров, которыми являлись дети в возрасте от 4 до 11 лет, пациенты научно-исследовательского института психического здоровья СО РАМН (Томск). Биоматериал был перенесен в 200-мл флаконы со стерильной средой Видделя с лактатом в качестве органического субстрата (Widdel, Back, 1992). Анаэробные условия создавали, доливая 200-мл флаконы питательной средой доверху. Культивирование проводили при 37 °С. Полученные накопительные культуры были условно обозначены АУТ+. Контролем служили накопительные культуры (АУТ-), полученные по той же методике из фекалий пяти детей 3-7 лет, не страдающих аутистическими расстройствами. Разнообразие культивируемых фенотипов анализировали путем амплификации фрагмента гена 16S рНК из культур АУТ+ и АУТ-

с последующим разделением методом денатурирующего градиентного гелевого электрофореза (ДГГЭ).

Появление сульфида во всех накопительных культурах АУТ+, определяемое визуально по почернению среды, происходило через 1-2 недели. Это превышало скорость сульфидогенеза в культурах АУТ, где первые следы появления H_2S наблюдали не ранее чем через 1 месяц от начала культивирования. Визуальные признаки образования сульфида были обнаружены во всех накопительных культурах АУТ+ и двух культурах АУТ-. При микроскопировании накопительных культур АУТ+ наблюдали большое количество клеток разной морфологии, в то время как в культурах АУТ- доминировали вибрионы. Сравнение ДГГЭ-профилей показывает большее число флотипов в накопительных культурах АУТ+ по сравнению с контрольными культурами АУТ-. Обнаруженные в культурах АУТ+ флотипы относились к *Verrucomicrobia*, *Deltaproteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Lentisphaerae* и *Firmicutes*. Флотипы *Firmicutes*, большинство из которых близки разным представителям рода *Clostridium* (87-97 % сходства фрагментов гена 16S рНК размером 316-52 п.о.), доминировали среди обнаруженных последовательностей и были выявлены в четырех из пяти культур АУТ+. Обнаруженные представители *Lentisphaerae* и *Verrucomicrobia*, представленные единичными флотипами, показали близкое родство с анаэробными кишечными бактериями, для которых не сообщалось о способности к сульфидогенезу. Среди обнаруженных представителей *Bacteroidetes* выявлен флотип *Alistipes finegoldii* (99% сходства), который может вызывать бактериемию (Manimunda et al., 2007).

Интерес представляет дельтапротеобактериальный флотип, родственник *Bilophila wadsworthia*. Эта бактерия относится к нормальной флоре кишечника, а также часто выделяется из клинических образцов, связанных с различными инфекциями и близкородственна СРБ рода *Desulfovibrio* (Baron et al., 1992). Хотя *Bilophila wadsworthia* не относят к СРБ, она имеет гены ключевого фермента процесса восстановления сульфатов - диссимиляционной бисульфитредуктазы (Laue et al., 2001) и способна восстанавливать сульфаты с образованием сульфидов (Laue et al., 1997).

Хотя ДГГЭ-анализ не выявил представителей классических СРБ, из накопительной культуры АУТ5+ была выделена чистая культура, последовательность гена 16S рНК которой показала 100 % сходства с сульфатредуцирующей бактерией *Desulfovibrio desulfuricans* Ser-2, впервые выделенной из анаэробного реактора, содержащего сточные воды пивоваренного производства (Diaz et al., 2010). Штамм способен ферментировать серин в отсутствие внешнего акцептора электрона с образованием ацетата в качестве основного метаболита. *Desulfovibrio desulfuricans* являются компонентами микрофлоры

пищевого тракта человека. Считается, что эти микроорганизмы играют роль в патогенезе таких заболеваний кишечника, как неспецифический язвенный колит и болезнь Крона (Gibson et al., 1991; Florin et al., 1990). На патогенность этих микроорганизмов может оказывать влияние один из клеточных компонентов наружной мембраны грамотрицательных бактерий, эндотоксин, представляющий собой гетерополимер липополисахарид, биологическая активность которого определяется его структурой (Lodowska et al., 2012). Еще одним организмом, не выявленным методом ДГГЭ-анализа, но выделенным при культивировании, является бактерия отдела *Firmicutes*, родственная анаэробной сахаролитической *Christensenella minuta* штамм YIT 12065 (99 % сходства последовательности длиной 440 п.о.), выделенной из фекалий человека (Morotomi et al., 2012). Культура представлена палочкообразными клетками, характеризуется замедленным ростом и образованием визуальных признаков образования сульфида в процессе культивирования. *Christensenella minuta* составляют примерно 1 % от всех микроорганизмов, обитающих в кишечнике здоровых людей. Имеются исследования, доказывающие, что увеличение числа этих бактерий до 10 % микробиоты кишечника у некоторых млекопитающих и у человека препятствует их ожирению (Goodrich et al., 2014).

Филотипы накопительных культур АУТ-, которые удалось секвенировать, показали родство с представителями *Deltaproteobacteria* (99 % сходства с *Desulfovibrio vulgaris* DP4) и *Firmicutes* (100 % сходства с *Clostridium glycolicum* Nesulana6 из минеральных отложений геотермальной станции и 99 % с *Clostridium disporicum* NML 05A027 из абсцесса брюшной полости человека), однако представлены отличающимися от обнаруженных в культурах АУТ+ видами.

Таким образом, полученные филотипы были родственны последовательностям организмов, выделенных из фекалий и клинических образцов. Хотя получение накопительных культур позволило создать селективные условия для развития преобладающих форм СРБ, многие обнаруженные филотипы принадлежали бактериям, не связанным с процессами восстановления сульфата. Однако среди филотипов обнаружен представитель *Akkermansia muciniphila*, бактерии, способствующей высвобождению сульфата в ходе брожения муцина (Derrien et al., 2004). Образующийся сульфат может служить акцептором для роста СРБ. Результаты исследований показали присутствие большого числа филотипов *Clostridium* и *Desulfovibrio desulfuricans*. Ранее была показана корреляция аутизма с преобладанием некоторых видов *Clostridium* (Finegold et al., 2010, 2012) и *Desulfovibrio* (Finegold, 2011). Обнаруженное нами микробное разнообразие соответствует описанным в литературе данным.

Исследование было поддержано грантом РФФИ 14-04-31724 мол_a