

Важнейшие результаты исследований, завершенных в 2015 году

51. Экология организмов и сообществ

1. При изучении ассоциативного симбиоза гидробионтов природных минерализованных озер Предуралья и Приэльтонья было выявлено 70 новых для альгофлоры Оренбуржья видовых и внутривидовых таксонов. Изолированы в чистой культуре штаммы *Dunaliella salina*. Выявленная способность к вторичному каротиногенезу (КГ) явилась определяющей для стратегии приспособления к неблагоприятным условиям среды, а сопряженный с КГ биосинтез ненасыщенных С-18 жирных кислот и нейтральных липидов снижал риск фотоокислительного повреждения в условиях комбинированного стресса (свет высокой интенсивности и высокая соленость), что определило биотехнологическую значимость новых штаммов. (Немцева Н.В., Селиванова Е.А., Яценко-Степанова Т.Н., Игнатенко М.Е.) (ИКВС УрО РАН)

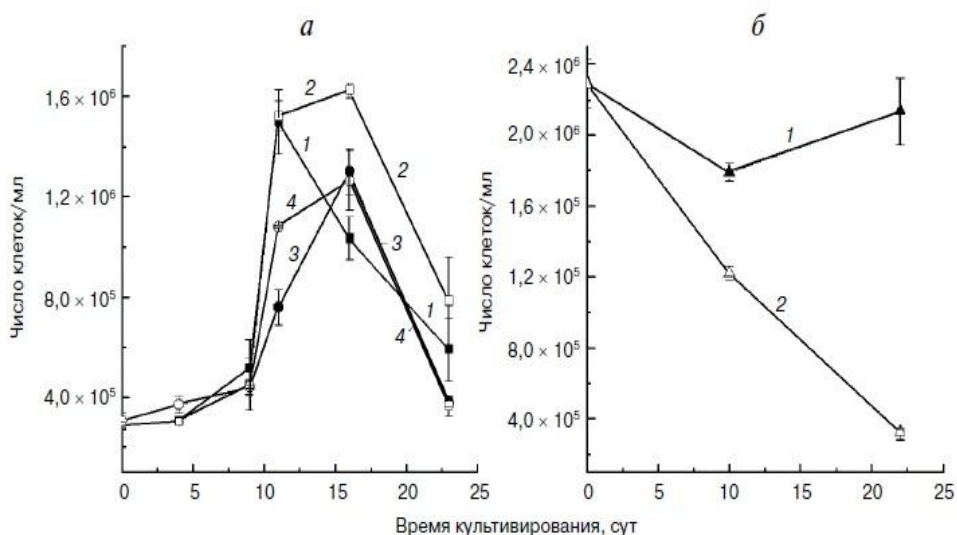


Рис. Динамика численности клеток микроводорослей *D. salina* (а) и *D. viridis* (б), культивируемых на свете высокой интенсивности на среде с концентрацией NaCl 160 (1, 3) либо 200 г/л (2, 4)

Публикации:

Соловченко А.Е., Селиванова Е.А., Чеканов К.А., Сидоров Р.А., Немцева Н.В., Лобакова Е.С. Индукция вторичного каротиногенеза у новых галофильных микроводорослей из рода *Dunaliella* (Chlorophyceae) // Биохимия, 2015, том 80, вып. 11, с. 1724 – 1730

Немцева Н.В. Гидробиоценозы – модельная система ассоциативного симбиоза // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, № 14, 2015, С. 49 – 54.

Яценко-Степанова Т.Н., Игнатенко М.Е., Селиванова Е.А., Немцева Н.В. Дополнение к альгофлоре Оренбургской области // Альгология, 2015, 25(1). С. 91 – 99.

Yatsenko-Stepanova T. N., Ignatenko M. E., Nemtseva N. V., Gorochova O. G. Autotrophic Microorganisms in River Outfalls of Lake Elton // ISSN 2079-0961, Arid Ecosystems, 2015, Vol. 5, No. 2, pp. 83–87.

Немцева Н.В., Яценко-Степанова Т.Н. Альгосообщество в свете концепции ассоциативного симбиоза // Современные концепции научных исследований. Сборник научных работ II международной научной конференции Евразийского Научного Объединения (г. Москва, февраль 2015). — Москва: ЕНО, 2015. С 75-77.

2. Установлено широкое распространение солнечных отряда Centrohelida в континентальных солоноватых водоемах. Выделено и изучено 3 культуры галофильных гетеролобозных амебофлагеллят, принадлежащих новым видам и родам. По результатам секвенирования 18S гена рРНК и реконструкции филогенетического дерева совместно с к.б.н. Д.В. Тихоненковым и д.б.н. А.П. Мыльниковым (Институт биологии внутренних вод РАН) установлено, что изученные изоляты расположены в базальных ветвях кластера Heterolobosea. Из соленой реки Тузлукколь (Оренбургская область) впервые выделен и охарактеризован с позиций молекулярной филогении галофильный солнечник. По результатам секвенирования 18S гена рРНК и реконструкции филогенетического дерева совместно с к.б.н. В.В. Златогурским (Санкт-Петербургский государственный университет) установлено, что изученный изолят занимает базальное положение в кластере Centrohelida, объединяясь с сиквенсами галофильных солнечных и морским представителем *Marophrys marina*. (Плотников А.О., Герасимова Е.А., Хлопко Ю.А.) (ИКВС УрО РАН)

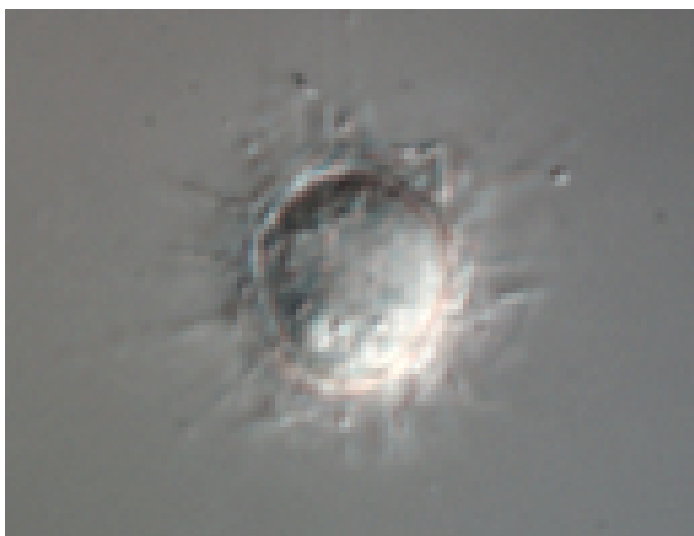


Рис. Микрофотография галофильного солнечника из соленой р. Тузлукколь (DIC-контраст).

Публикации:

1. Плотников А.О., Ермоленко (Герасимова) Е.А. Центрохелидные солнечники (Chromista, Nasrobia) Южного Предуралья // Зоологический журнал. – 2015. – Т. 94 (1). – С. 3-16.
2. Плотников А.О., Мыльников А.П., Селиванова Е.А. Морфология и жизненный цикл амебофлагелляты *Pharyngomonas* sp. (Heterolobosea, Excavata) из гипергалинного континентального озера Развал // Зоологический журнал. – 2015. – Т. 94 (2). – С. 275-286.
3. Герасимова Е.А., Плотников А.О. Разнообразие амебоидных протистов в соленых водоемах Оренбургской области // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2015. – №10. (в печати)
4. Gerasimova E.A., Plotnikov A.O. Centrohelid heliozoa from saline and brackish inland water bodies of Russia // Materials of VII European Congress of Protistology. – Sevilla (Spain), 2015. – P. 359.

5. Plotnikov A.O., Selivanova E.A., Tikhonenkov D.V. Morphology, physiology and molecular phylogeny of two new halophilic heterolobosean amoeba-flagellates // Materials of VII European Congress of Protistology. – Sevilla (Spain), 2015. – P. 358.

64. Изучение роли в гомеостазе у человека и животных интеграции механизмов деятельности систем пищеварения, дыхания, кровообращения и выделения, участие в регуляции функций этих систем медиаторов, гормонов, инкретинов, аутокидов. Клиническое применение результатов этих работ.

3. Первичная дискриминация «чужеродного материала» бифидобактериями – инициальный этап последующего «сигналинга» в регуляции иммунного гомеостаза хозяина. Дальнейшие этапы регуляции осуществляются активацией дендритных клеток непосредственно бифидобактериями, их метаболитами с последующим влиянием на дифференцировку наивных CD4+ Т- лимфоцитов в сторону регуляторных лимфоцитов и поддержанием оптимального цитокинового баланса кишечного биотопа человека. (Бухарин О.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б., Чайникова И.Н.) (ИКВС УрО РАН)

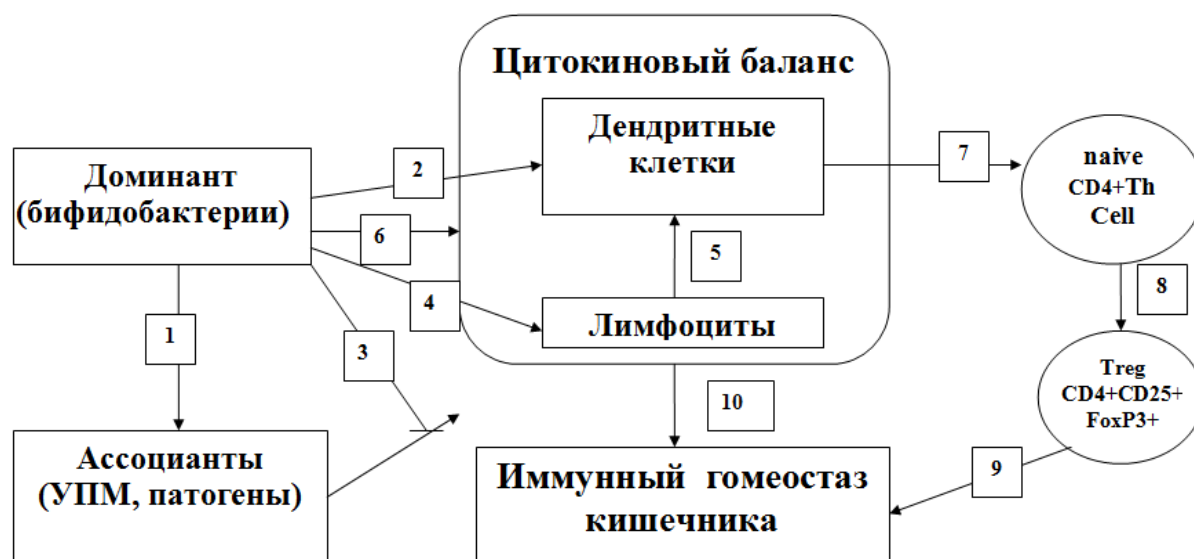


Рис. Инфектологические механизмы сигналинга в регуляции иммунного гомеостаза кишечника человека.

Пояснения к рисунку: Бифидобактерии (ББ) осуществляют первичный отбор микросимбионтов на «свои и чужие» (на рис. – цифра 1). Сигналы, получаемые от ББ дендритными клетками (ДК) (2), являются приоритетными в сравнении с таковыми от ассоциативной микробиоты (3). ББ посредством метаболитов воздействует и на лимфоциты (4), цитокины которых влияют на ДК (на рис. – 5). Формирование цитокинового баланса определяется и количественными изменениями уровня цитокинов при прямом контакте ББ и их метаболитов с цитокинами (антицитокиновая активность) (6). ДК направляют дифференцировку и созревание наивных CD4+ Т-лимфоцитов (7) по пути образования регуляторных Т-клеток (8), контролирующей формирование иммунного гомеостаза биотопа толстого кишечника человека (9) вкпе с цитокиновым балансом (на рис. - 10).

Публикации:

1. Бухарин О.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б., Чайникова И.Н. Роль бифидобактерий в формировании иммунного гомеостаза человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2015. № 6, С. 98 - 104.

2. Бухарин О.В., Перунова Н.Б., Иванова Е.В. Бифидофлора при ассоциативном симбиозе человека. Екатеринбург: УрО РАН, 2014. 212 с.

4. При исследовании факторов антагонизма бактерий выделен и охарактеризован новый энтероцин – антимикробный пептид, продуцируемый бактериями рода *Enterococcus*. С использованием биофизических методов и биолюминесцентного анализа впервые описано действие бактериоцина на грамотрицательные микроорганизмы. Показано, что данный энтероцин вызывает повреждения клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий (рис.) (Валышев А.В., Васильченко А.С.) (ИКВС УрО РАН)

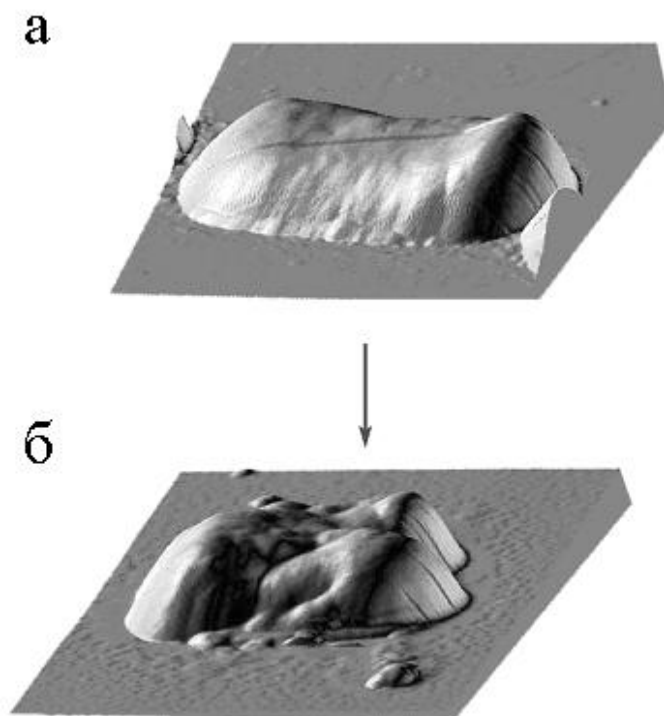


Рис. Изменение поверхности клеток листерий при воздействии энтероцина энтерококков, выявленное методом атомно-силовой микроскопии.

Публикации:

1. Васильченко А.С., Рогожин Е.А., Валышев А.В. Биологическая активность антимикробных пептидов *Enterococcus faecium* // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2015. № 4. С. 22-26.

2. Vasilchenko A.S., Rogozhin E.A., Valyshev A.V. Antimicrobial peptides from plants and microbes: the mode of action investigated by microscopy techniques // Multinational Congress on Microscopy, Eger, Hungary, 2015, pp. 200-201.

5. Проведена оценка влияния белка межклеточного матрикса – фибронектина на адгезивную способность микроорганизмов репродуктивного тракта женщин. Выявлено усиление адгезивной способности лактобацилл и коринебактерий к вагинальным эпителиоцитам, обработанным фибронектином. Разработан способ усиления адгезии бактерий к вагинальным эпителиоцитам, который может быть использован для различных биотехнологических и медицинских целей, в том числе для колонизации пробиотическими штаммами вагинального биотопа с целью лечения дисбиотических и воспалительных состояний репродуктивного тракта женщин, а также для создания моделей инфекционного процесса. Получено положительное решение о выдаче патента на изобретение. (Гладышева И.В., Черкасов С.В., Бухарин О.В.) (ИКВС УрО РАН)

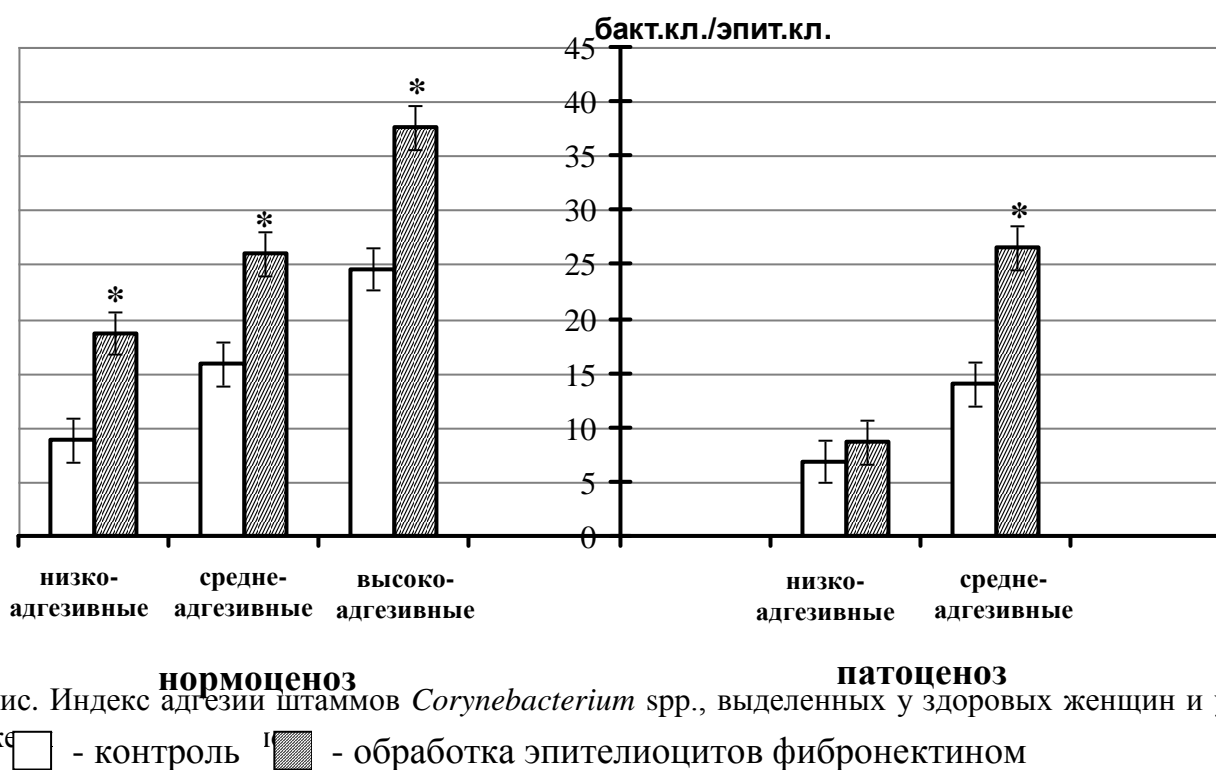


Рис. Индекс адгезии штаммов *Corynebacterium* spp., выделенных у здоровых женщин и у жё - контроль - обработка эпителиоцитов фибронектином

Публикации:

Официальный бюллетень федеральной службы по интеллектуальной собственности (Роспатент), № 31 – 2015, 10.11.2015. Заявка № 2014117850. Авторы: И.В. Гладышева, С.В. Черкасов, О.В. Бухарин

6. Установлен новый механизм колонизационной резистентности репродуктивного тракта женщин, основанный на симбиотических взаимодействиях нормофлоры и вагинальных эпителиоцитов. Результатом этих взаимодействий является стимуляция роста H₂O₂-продуцирующих лактобацилл, увеличение продукции эпителиоцитами антимикробных факторов, а также повышение антибактериальной активности факторов врожденного иммунитета лизоцима и лактоферрина. (Сгибнев А.В., Кремлева Е.А.) (ИКВС УрО РАН)

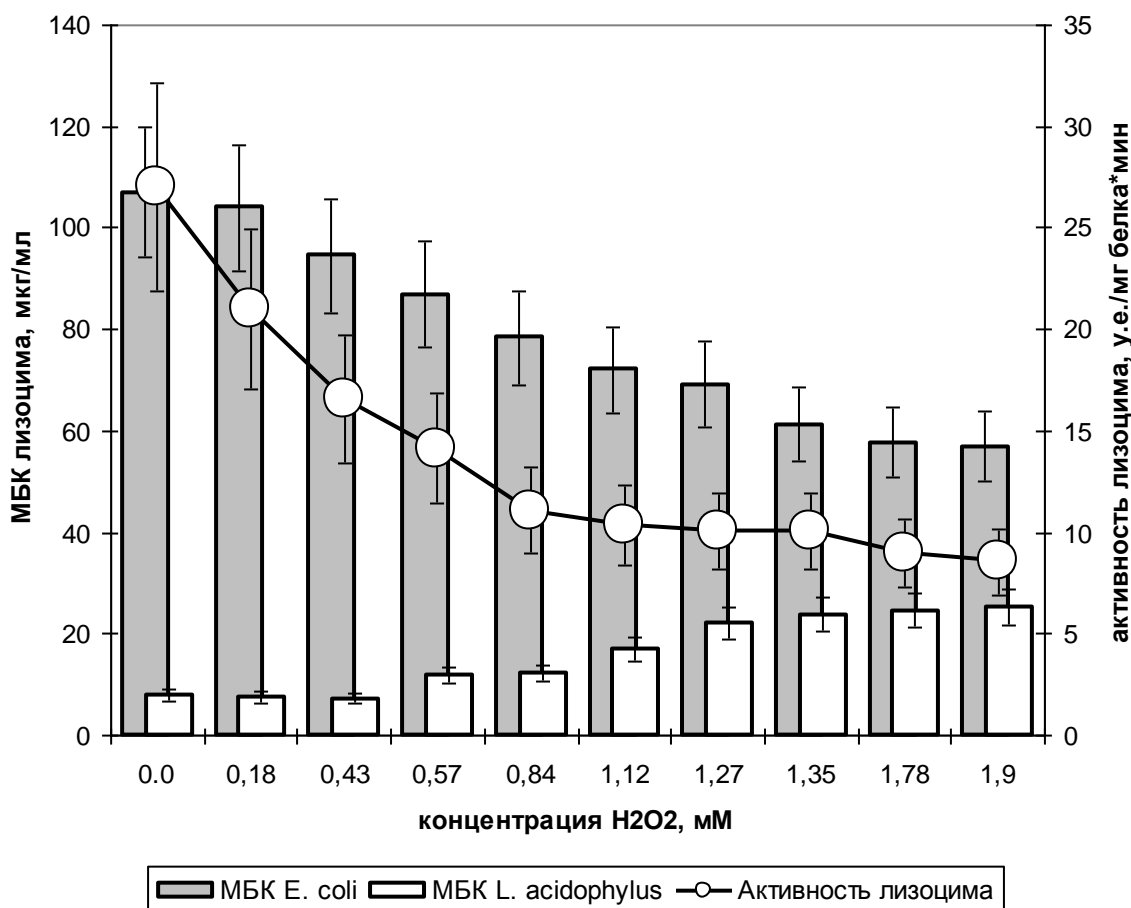


Рис. Изменения ферментативной и бактерицидной активности яичного лизоцима под влиянием метаболитов лактобацилл, продуцирующих пероксид водорода

Публикации:

Sgibnev A.V., Kremleva E.A. Vaginal Protection by H₂O₂-Producing Lactobacilli //Jundishapur J Microbiol. 2015;8(10):e22913

7. На модели экспериментальной генерализованной инфекции у мышей, вызванной *S. epidermidis* и *Escherichia coli*, с применением электронной и лазерной конфокальной сканирующей микроскопии было установлено, что наиболее часто внутри эритроцитов выявлялись микроорганизмы, обладающие выраженной антигемоглобиновой активностью, реже – гемолитической активностью ($p < 0,05$). Внутриэритроцитарная инвазия микроорганизмов с антигемоглобиновой активностью является патогенетическим звеном в развитии анемии у подопытных животных (рисунок) при внутривенном инфицировании (рис.). (Щуплова Е.А., Фадеев С.Б.) (ИКВС УрО РАН)

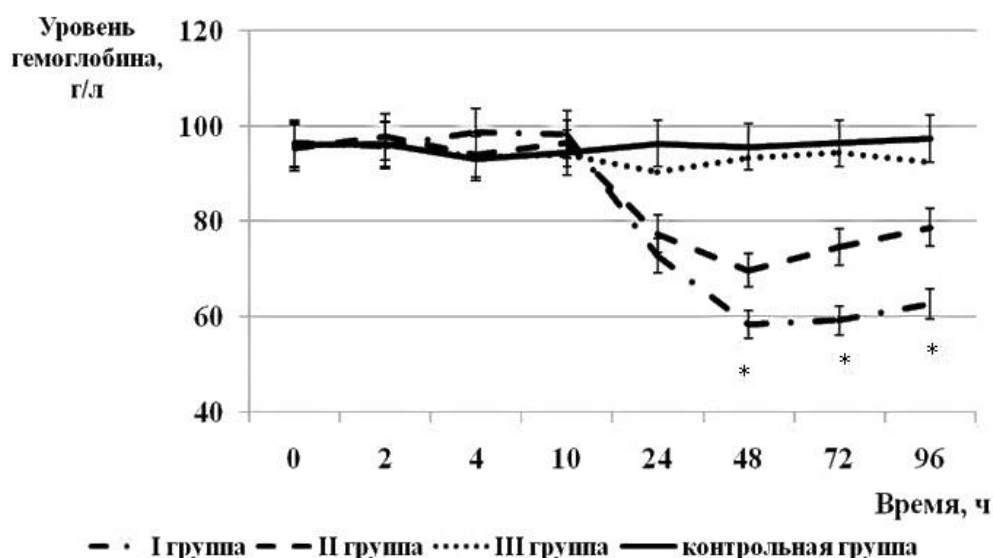


Рис. Изменение уровня гемоглобина крови подопытных животных при инфицировании штаммами с высокой антигемоглобиновой активностью (1-я группа), с выраженной способностью к гемолизу (2-я группа) и с низкими показателями антигемоглобиновой и гемолитической активностей в сравнении с контрольной группой.
Примечание: * - $p < 0,05$ при сравнении показателей первой группы с остальными.

Публикации:

1. Щуплова Е.А., Стадников А.А., Фадеев С.Б. Оценка роли биологических свойств *Staphylococcus epidermidis* во внутриэритроцитарной инвазии и изменении активности каталазы и супероксиддисмутазы эритроцитов при экспериментальной генерализованной инфекции // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 159, №1. С. 79-82.

2. Щуплова Е.А., Фадеев С.Б., Бухарин О.В. Внутриэритроцитарная инвазия штаммов *Escherichia coli* с различным уровнем антигемоглобиновой активности в эксперименте // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2015. №4. С.40-44.

8. В монографии «Хирургическая инфекция мягких тканей (клинико-микробиологический аспект)» представлены результаты многолетнего изучения этой патологии с позиций инфекционной симбиологии. Показана связь биологических свойств бактериальных патогенов, межмикробных симбиотических взаимоотношений с изменением видового состава возбудителей, происходящим в направлении *Streptococcus spp.* → *Staphylococcus spp.* → *Enterobacteriaceae spp.* → *Pseudomonas spp.*, особенностями клиники заболевания, развитием осложнений. Предложены подходы к повышению эффективности диагностики и лечения хирургических инфекций мягких тканей. (Фадеев С.Б., Бухарин О.В.) (ИКВС УрО РАН)

Публикации:

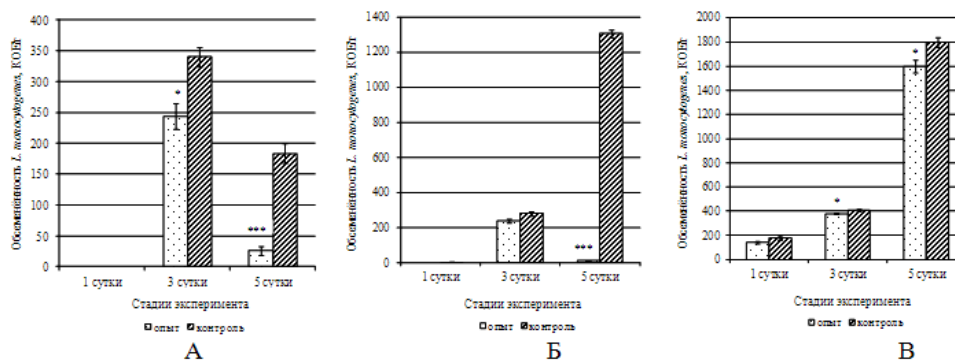
Тарасенко В.С., Фадеев С.Б., Бухарин О.В. Хирургическая инфекция мягких тканей (клинико-микробиологический аспект) - Екатеринбург: УрО РАН, 2015.- 180с.

9. С использованием оригинальной схемы очистки тромбоденсина из кислотного экстракта тромбоцитов методами жидкостной хроматографии высокого давления впервые выделены природные антимикробные пептиды из тромбоцитов кур. Применение атомно-силовой микроскопии, флуоресцентной спектроскопии и биолюминесцентного анализа позволило расшифровать механизм их действия на микроорганизмы, заключающийся в нарушении структурной организации клеточной стенки и энергетического метаболизма клетки бактерий. Полученные данные могут быть использованы при разработке нового класса антибактериальных препаратов. (Сычева М.В., Васильченко А.С., Пешкова Ю.И., Карташова О.Л.) (ИКВС УрО РАН)

Публикации:

1. Сычева М.В., Рогожин Е.А., Пашкова Т.М., Пешкова Ю.И. Регуляция антилизосимной активности бактерий антимикробными пептидами из тромбоцитов кур // Российский иммунологический журнал. 2015. № 2(1). С.704-705.
2. Сычева М.В., Пешкова Ю.И., Васильченко А.С., Карташова О.Л., Рогожин Е.А. Изучение биологических эффектов антимикробных пептидов из тромбоцитов кур методом атомно-силовой микроскопии // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2015. № 5. С.198-200.
3. Сычева М.В., Пешкова Ю.И., Карташова О.Л. Изучение влияния антимикробных пептидов из тромбоцитов кур методом биолюминесцентного анализа // Вестник ветеринарии. 2015. № 4.

10. На основании комплексной оценки фенотипических и генетических характеристик энтерококков, выделенных из кишечника здоровых животных, отобран штамм *Enterococcus faecium*, обладающий генетическими детерминантами бактериоциногении (*entA*, *entP*, *bac31*, *entL50A*, *entL50B*), выраженным антагонистическим эффектом в отношении листерий и не имеющий факторов вирулентности. Установлена способность данного штамма снижать летальность животных и микробную обсеменённость внутренних органов (селезенка, печень, кишечник и его содержимое) при экспериментальной листериозной инфекции у морских свинок (рис.), что может быть использовано для разработки нового препарата – пробиотика (решение о выдаче патента на изобретение по заявке № 2014145033/10(072575) от 29.06.2015). (Сычева М.В., Пашкова Т.М., Карташова О.Л.) (ИКВС УрО РАН)



Примечание: * – достоверность различий уровня обсеменённости листериями внутренних органов морских свинок в опытной и контрольной группе животных – ($p < 0,05$); *** – ($p < 0,001$).

Рисунок 1 – Микробная обсеменённость *L. monocytogenes* VIMHA 004 внутренних органов морских свинок опытной и контрольной групп: А – селезёнка, Б – печень, В – кишечник и его содержимое

Публикации:

- Щепитова Н.Е., Пашкова Т.М., Собянин К.А., Сычева М.В. Антилистериозная активность *Enterococcus faecium* EF79OSAU *in vivo*. Российский иммунологический журнал. 2015. № 2(1). С.714-716.
- Сычева М.В., Карташова О.Л., Щепитова Н.Е. Штамм бактерий *Enterococcus faecium*, обладающий антагонистической активностью в отношении бактерий рода *Listeria* и вида *Enterococcus faecalis*. Решение о выдаче патента на изобретение по заявке № 2014145033/10(072575) от 29.06.2015.