

**1. Важнейшие результаты научно-исследовательской деятельности в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы, полученные в Институте клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН в 2017 г.**

52. Биологическое разнообразие

1. Изучены видовой состав, морфология и филогения центрохелидных солнечников в солоноватых и соленых континентальных водах субаридной зоны России. Впервые получены данные по центрохелидам соленых рек Приэльтонья, включая *Choanocystis ebelii* – новый вид для протистофауны России. Впервые выявлены в солоноватых и соленых водах и описаны как эвригалинные пять видов центрохелид. В р. Амур (Дальний Восток) и р. Каргалка (Оренбургская область) найден новый вид центрохелид *Acanthocystis amura* n. sp., описаны его морфология, ультраструктура и молекулярная филогения. Установлены дифференциальные отличия с близкородственными видами по ультраструктуре чешуек и последовательности гена 16S рРНК. (Плотников А.О., Герасимова Е.А., ИКВС УрО РАН; Златогурский В.В., СПбГУ) \*, \*\*

*Публикации:*

Плотников А.О., Герасимова Е.А. Центрохелидные солнечники (Centrohelea, Naptista, Nastrobia) соленых и солоноватых континентальных водоемов и водотоков России // Биология внутренних вод. 2017. № 2. С. 5-13.

Zlatogursky V.V., Gerasimova E.A., Plotnikov A.O. A New Species of Centrohelid Heliozoan *Acanthocystis amura* n. sp. Isolated From Two Remote Locations in Russia // Journal of Eukaryotic Microbiology. 2017. V. 64(4). P. 434–439.

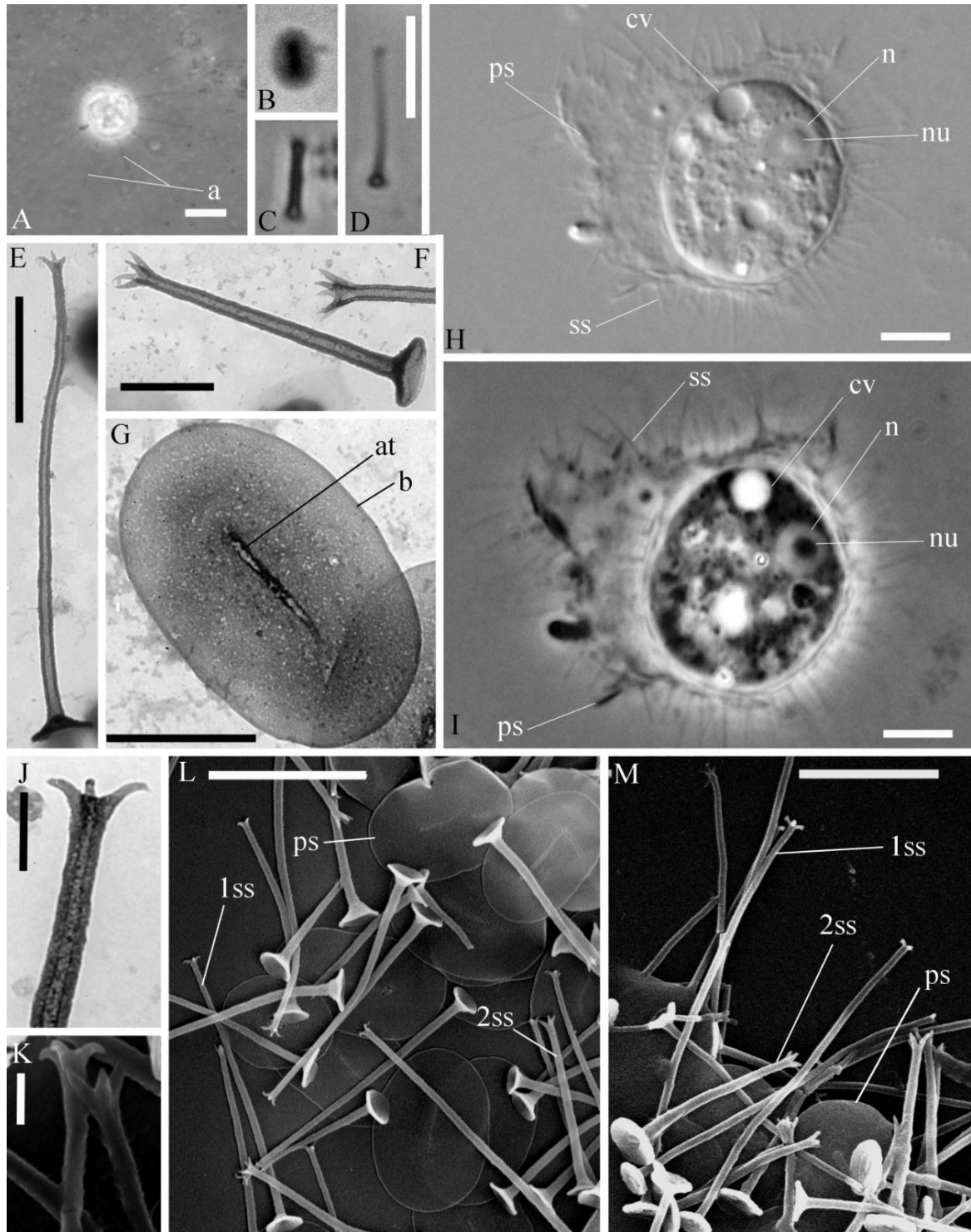


Рисунок 1. **A-L** *Acanthocystis amura* n. sp. из реки Амур. **(A)** Общий вид клетки в чашке Петри. Фазовый контраст. Аксоподии (a) обозначены стрелками. **(B)** Высушенная на воздухе пластинчатая чешуйка. Фазовый контраст. **(C)** Высушенная на воздухе радиальная чешуйка 2-го типа. Фазовый контраст. **(D)** Высушенная на воздухе радиальная чешуйка 1-го типа. Фазовый контраст. **(E)** Радиальная чешуйка 1-го типа. ТЭМ. **(F)** Радиальные чешуйки 2-го типа. ТЭМ. **(G)** Пластинчатая чешуйка. ТЭМ. Осевое утолщение (at) и электронно-плотная кайма (b) обозначены стрелками. **(H)** Общий вид клетки, придавленной покровным стеклом. Дифференционно-интерференционный контраст. Сократительная вакуоль (cv), ядро (n) со сферическим ядрышком (nu), пластинчатые чешуйки (ps) и радиальные чешуйки (ss) обозначены. **(I)** Та же клетка, фазовый контраст. Обозначения: см. выше. **(J)** Кончик радиальной чешуйки 1-го типа. ТЭМ. **(K)** Кончики радиальных чешуек 2-го типа. СЭМ. **(L)** Высушенные на воздухе чешуйки. СЭМ. Радиальные чешуйки 1-го типа (1ss) и 2-го типа (2ss), а также пластинчатые чешуйки (ps) обозначены. **(M)** *Acanthocystis* cf. *amura* из реки Каргалка. Высушенные на воздухе чешуйки. СЭМ. Обозначения: см. выше. Шкала = 10 мкм (A); 3 мкм (B-D); 1 мкм (E-G); 5 мкм (H, I); 0.2 мкм (J, K); 2 мкм (L, M).

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, инкретиннов, аутокинов.  
Клиническое применение результатов этих работ.

2. Изучено влияние метаболитов вагинальных штаммов *Corynebacterium spp.* – продуцентов биосурфактантов на рост условно-патогенных микроорганизмов, образование и развитие биопленки. Коринебактерии обладают выраженной антагонистической активностью (подавление роста и биопленкообразования, разрушение биопленок) по отношению к *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Проведено полногеномное секвенирование наиболее значимых штаммов-продуцентов биосурфактантов: *C. amycolatum* ICIS 9 и *C. amycolatum* ICIS 53. Полученные данные свидетельствуют о значении коринебактерий в колонизационной резистентности вагинального биотопа и являются перспективными для разработки пробиотических препаратов, а также для получения биосурфактанта. (Гладышева И.В., Черкасов С.В.) (ИКВС УрО РАН) \*, \*\*

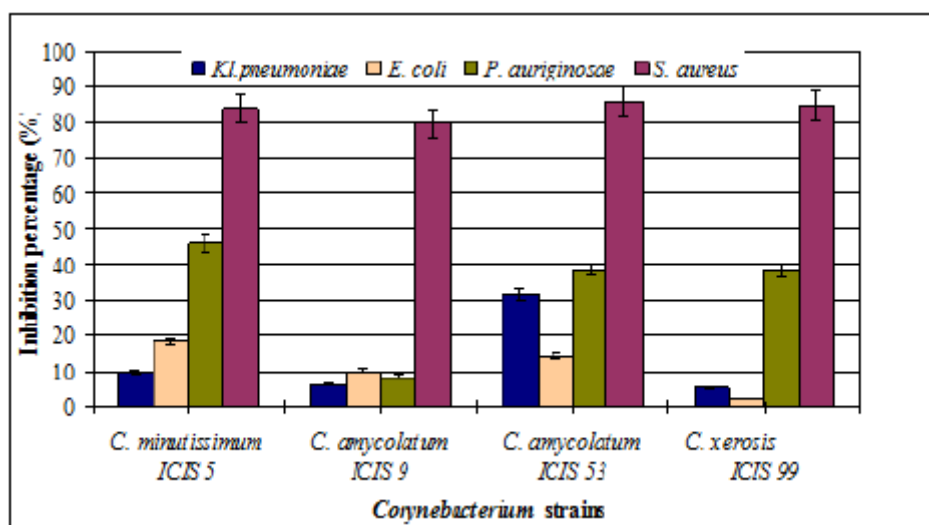


Рисунок 2. Влияние коринебактерий на биопленки бактериальных патогенов.

Публикации:

Gladysheva I.V., Cherkasov S.V., Khlopko Y.A. Antibacterial activities of metabolites from *Corynebacterium spp.* Strains isolated from the reproductive Tract of a healthy woman against human pathogenic bacteria // Int. J. Pharm. Bio Sci. 2017. 8(3): 549-556.

Gladysheva I.V., Khlopko Y.A., Cherkasov S.V. Draft genome sequence of the vaginal isolate *Corynebacterium amycolatum* ICIS 9 // Genome Announc. 2017. 5:e00975-17.

3. Улучшена технология выделения бактериоцинов энтерококков за счет оптимизации состава питательной среды и алгоритма хроматографического разделения пептидов с

антимикробной активностью из культуральной жидкости микроорганизмов. Из супернатанта штамма *E. faecium* ICIS 8 выделена бактериоциноподобная субстанция (BLIS) с уникальной первичной аминокислотной последовательностью. Это соединение обладает высокой бактерицидной активностью в отношении *L. monocytogenes* за счет нарушения целостности мембран. Взаимодействие между BLIS и поверхностью бактериальной клетки сопровождается изменением дзета-потенциала, за которым следует пермеабилзация бактериальной мембраны, что подтверждено методами флуоресцентной спектроскопии и атомно-силовой микроскопии. (Валышев А.В., Васильченко А.С.) (ИКВС УрО РАН) \*, \*\*

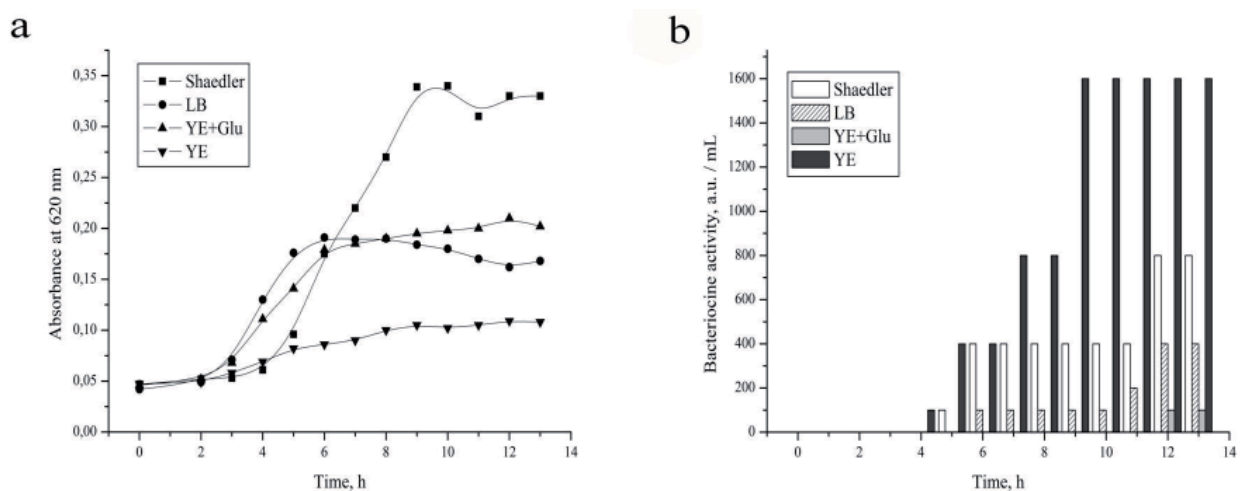


Рисунок 3. Рост (а) и продукция бактериоцинов (b) культуры *E. faecium*, выращенной на разных питательных средах.

Публикации:

Vasilchenko A.S., Rogozhin E.A., Valyshev A.V. Purification of a Novel Bacteriocin-Like Inhibitory Substance Produced by *Enterococcus faecium* ICIS 8 and Characterization of Its Mode of Action // *Microb. Drug Resist.* 2017. 23 (4): 447-456. doi: 10.1089/mdr.2016.0069.

Vasilchenko A.S., Valyshev A.V. Optimization of a culture medium composition as approach to isolation of bacteriocins // *Вестник Оренбургского государственного университета.* 2017. № 12. С. 84-89.

4. С использованием конфокальной сканирующей лазерной микроскопии установлено *in vitro* влияние бактериальных экзометаболитов на адгезию к эритроцитам и внутриэритроцитарную инвазию *Staphylococcus epidermidis*: *Corynebacterium spp.* подавляют, а *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* и *Klebsiella pneumoniae* стимулируют указанные свойства (рис.). На основе метода FISH (флуоресцентная *in situ* гибридизация) разработан протокол выявления на поверхности и внутри эритроцитов *S. aureus*, *Escherichia coli*, *K. pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* с использованием зондов,

меченных флуоресцеина изотиоцианатом, что можно использовать в диагностике септических состояний. (Щуплова Е.А.) (ИКВС УрО РАН) \*, \*\*

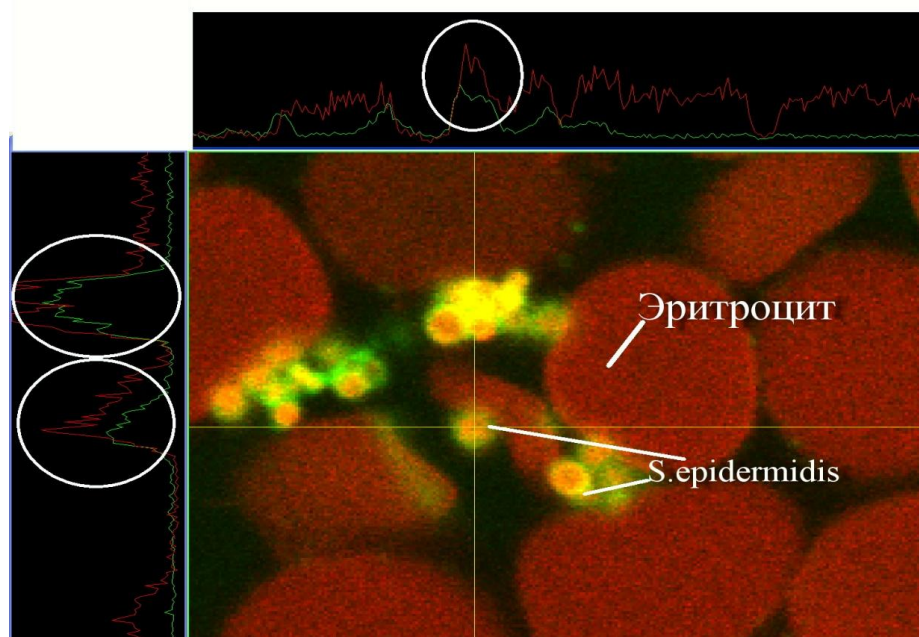


Рисунок 4. КЛСМ-изображения эритроцитов с расположенными внутри клетками *S. epidermidis*, обработанными экзометаболитами ассоцианта *S. aureus*. Клетки, светящиеся красным цветом (синий Эванса) – эритроциты, зеленым (флуоресцеинизотиоцианат) – стафилококки. Белые линии на КЛСМ-изображении соответствуют графикам флуоресцентных сигналов (слева и сверху).

#### Публикации:

Щуплова Е.А., Стадников А.А., Писцова О.Н. Влияние бактериальных экзометаболитов на процессы взаимодействия клеток *Staphylococcus epidermidis* с эритроцитами // Журнал анатомии и гистопатологии. 2017. Т. 6, № 2. С. 83-88.

Щуплова Е.А., Черкасов С.В., Плотников А.О. Применение метода FISH для выявления бактерий, локализованных на поверхности и внутри эритроцитов // Клиническая лабораторная диагностика. 2017. Т. 62, № 7. С. 431-435.

Щуплова Е.А. Роль микробов-ассоциантов в процессах взаимодействий бактерий с эритроцитами // Вестник ОГУ. 2017. №9 (209). С. 111-114.

5. В условиях биотопа толстого кишечника человека сочетанное однонаправленное влияние микробиоты и её метаболической активности на индукторы иммунитета может способствовать усилению эффектов интестинального иммунного ответа на присутствие патогена в среде. Наряду с этим доминантные микроорганизмы реализуют «хелперную» функцию посредством микробного распознавания через подавление биологических свойств патогена, способствуя его элиминации из биотопа. К защитному действию бифидофлоры также можно отнести её способность усиливать противовоспалительный

потенциал мононуклеаров и стимулировать репродукцию и адаптацию «своего» микросимбионта. В целом это может способствовать колонизации нормобиоты и поддержанию аутоотолерантности и иммунного гомеостаза в биотопе толстого кишечника. (Бухарин О.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б.) (ИКВС УрО РАН) \*, \*\*

Таблица

Иммунорегуляторный эффект метаболитов интактного и индуцированного штамма *B. bifidum* № 791 на мононуклеарные лейкоциты.

Супернатант цитокины	Контроль (спонтанная продукция ци- токинов ПМК), пг/мл	Опыт (продукция цитокинов ПМК при влиянии метаболитов культур), пг/мл			
		<i>B. bifidum</i> 791	<i>S. aureus</i> 209	<i>E. coli</i> 157	<i>L. fermentum</i> 90TC4
INF- $\gamma$	18,1 $\pm$ 1,2	9,1 $\pm$ 1,1*	18,4 $\pm$ 1,3	39,1 $\pm$ 2,0*	7,6 $\pm$ 0,2*
TNF- $\alpha$	42,0 $\pm$ 2,4	14,3 $\pm$ 0,4*	110,6 $\pm$ 5,6*	17,9 $\pm$ 0,3*	13,1 $\pm$ 1,1*
IL-6	171,0 $\pm$ 3,7	169,0 $\pm$ 4,3*	210,0 $\pm$ 3,1*	35,0 $\pm$ 2,2*	113,0 $\pm$ 4,2*
IL-17	140,5 $\pm$ 3,2	36,8 $\pm$ 3,1*	137,3 $\pm$ 2,6	148,3 $\pm$ 3,4	30,0 $\pm$ 1,3*
IL-10	50,03 $\pm$ 1,1	102,0 $\pm$ 2,5*	77,5 $\pm$ 3,4*	48,0 $\pm$ 1,6	30,3 $\pm$ 2,1*
Эффект		↓Th1, ↓Th17 / ↑Th10 Противовоспалительный эффект и иммуномодуляция (поддержание аутоотолерантности и иммунного гомеостаза)	↑Th2 Воспалительный эффект, активация гуморального иммунитета	↑Th1/↓Th2 Воспалительный эффект, активация врожденного и Т-клеточного иммунитета	↓Th1, ↓Th2, ↓Th17 Противовоспалительный эффект

Примечание: \* - наличие различий между показателями спонтанной продукции цитокинов ПМК (контроль) и индуцированной супернатантами тест-культур (опыт), при  $p < 0,05$ .

#### Публикации:

Бухарин О.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б. Регуляция иммунного гомеостаза кишечника человека метаболитами бифидобактерий в условиях микробного распознавания // Журн. микробиол. 2017. № 3. С. 12-18.

6. В результате анализа комплекса гено- и фенотипических признаков у штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных из раневого дефекта и носовой полости у больных с синдромом диабетической стопы, установлено, что в этих биотопах у конкретного пациента могут встречаться как одна, так и несколько (до 4-х) клоновых линий *S. aureus*, отличающихся друг от друга по антибиотикограммам, экспрессии факторов персистенции (био пленкообразование, антилизоцимная активность) и наличию генетических маркеров патогенности (*sdr*, *ssp*, *spa*, *clfA*, *clfB*). Полученные данные использованы для создания компьютерной программы геноидентификации (по комбинации генов *sdr*-локуса) потенциально патогенных изолятов *S. aureus* в носовой полости больных с синдромом диабетической стопы, что служит обоснованием проведения пациентам санационных мероприятий, направленных на профилактику реинфицирования раневого дефекта после его хирургической обработки, а также для разработки способа выбора эффективных

антибиотиков при лечении гнойных осложнений синдрома диабетической стопы (Заявка на выдачу Патента РФ на изобретение № 2017127604/15), применение которых позволяет в 2 раза уменьшить число случаев высоких ампутаций конечностей (13,3 против 26,7%) и в 1,7 раза (на 11,8 дней) сократить продолжительность лечения больных с данной патологией. (Гриценко В.А., Карташова О.Л., Пашкова Т.М.) (ИКВС УрО РАН) \*, \*\*

*Публикации:*

Абрамзон О.М., Пашкова Т.М., Карташова О.Л., Попова Л.П., Жирнова А.С. Генетические детерминанты патогенности *Staphylococcus aureus*, выделенных у бактерионосителей и больных. Материалы XI съезда Всероссийского научно-практического Общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов «Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения». Москва, 2017: С. 418.

Гриценко В.А., Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Курлаев П.П., Мавзютов А.Р., Владимирова А.А. Гены *sdr*: распространенность среди изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных из различных биотопов тела человека. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2017-1/Articles/VAG-2017-1.pdf>).

Гриценко В.А., Мавзютов А.Р., Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Хлопко Ю.А., Попова Л.П. «Дифференциация резидентных и транзитных штаммов *Staphylococcus aureus* по генетическим маркерам – Sa-Genes – v 1.00». Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2017617653 от 11.07.2017.

Курлаев П.П., Гриценко В.А., Белозерцева Ю.П. Выбор антибиотика для лечения больных с гнойными осложнениями синдрома диабетической стопы. Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы диагностики, лечения и профилактики синдрома диабетической стопы». Казань, 2017: 85-91.

Курлаев П.П., Гриценко В.А., Белозерцева Ю.П. Стратегия антибактериальной терапии гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы. В сборнике научных трудов 3 научно-практического конгресса «Сахарный диабет и хирургические инфекции». Москва, 2016: 95-97.

Курлаев П.П., Белозерцева Ю.П., Гриценко В.А. Способ выбора антибиотика или комбинации антибиотиков для лечения гнойных осложнений синдрома диабетической стопы. Заявка на выдачу Патента РФ на изобретение № 2017127604/15(047633) от 03.08.2017.