

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ БАКТЕРИИ *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* L108 НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ХОЗЯИНА (НА МОДЕЛИ *CAENORHABDITIS ELEGANS*)

¹Челомбицкая Д.С., ²Рудой Д.В., ²Ольшевская А.В., ²Одабашян М.Ю., ²Вершинина А.В.

¹Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Ростов-на-Дону, Россия

²Донской государственной технической университет, г. Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация. В статье представлено исследование влияния пробиотической бактерии *Lactobacillus rhamnosus* L108 на экспрессию генов долголетия хозяина на модели *Caenorhabditis elegans*. В ходе исследования было установлено, что штамм *Lactobacillus rhamnosus* L108 увеличил продолжительность жизни *Caenorhabditis elegans* на 9,6 %. Также при анализе генов долголетия наблюдалось повышение уровня экспрессии генов *sir-2.1*, *skn-1* и *daf-16*, лежащих в основе регулирования консервативных сигнальных защитных путей инсулин/инсулиноподобного фактора-1 и p38 MAPK.

Ключевые слова. Пробиотики, нематоды, *Caenorhabditis elegans*, род *Lactobacillus*, старение.

INFLUENCE OF PROBIOTIC BACTERIA *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* L108 ON HOST GENE EXPRESSION (IN THE *CAENORHABDITIS ELEGANS* MODEL).

¹Chelombitskaya D.S., ²Rudoy D.V., ²Olshevskaya A.V., ²Odabashyan M.Yu., ²Vershinina A.V.

¹Southern Federal University, The Academy of Biology and Biotechnology named after D.I. Ivanovsky, Rostov-on-Don, Russian Federation

²Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. The article presents a study of the effect of the probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* L108 on the expression of host longevity genes in the *Caenorhabditis elegans* model. The study found that the *Lactobacillus rhamnosus* L108 strain increased the lifespan of *Caenorhabditis elegans* by 9.6%. Also, when analyzing longevity genes, an increase in the level of expression of the *sir-2.1*, *skn-1*, and *daf-16* genes, which underlie the regulation of conservative signaling protective pathways of insulin/insulin-like factor-1 and p38 MAPK, was observed.

Keywords. Probiotics, nematodes, *Caenorhabditis elegans*, *Lactobacillus*, *Lactobacillus rhamnosus*, aging.

В настоящее время многие исследования сосредоточены на поиске источников пищи и их компонентов, оказывающих ингибирующее действие на развитие процессов старения организма. В связи с этим, изучение пробиотических групп микроорганизмов является перспективным направлением [1]. Известно, что пробиотики оказывают благотворное влияние на здоровье хозяина через различные молекулярные механизмы защиты и обладают антиоксидантными, антимикробными и противовоспалительными свойствами. Следовательно, появляется необходимость изучения потенциальной роли пробиотиков в пролонгации жизни [1,3,6]. Изучение взаимосвязи молекулярных защитных механизмов и кишечной микрофлоры, лежащих в основе пролонгации, увеличении продолжительности жизни и предотвращении окислительного стресса требует наличие простых модельных систем [2,5].

Нематоды *Caenorhabditis elegans* являются подходящим модельным объектом для изучения взаимодействия организма хозяина с пробиотиком и исследования процессов старения в силу простоты культивирования в лабораторных условиях, прозрачности покровов, высокой продуктивности, короткого жизненного цикла и генетической прослеживаемости. [1,4] Также была обнаружена схожесть сигнальных механизмов защиты и гомологичность генов долголетия у нематод *Caenorhabditis elegans* и человека порядка 60-80%.

Цель исследования заключалась в оценке влияния пробиотической бактерии *Lactobacillus rhamnosus* L108 на продолжительность жизни нематод *Caenorhabditis elegans* и экспрессию генов

долголетия связанных с такими молекулярными путями, как инсулин / инсулиноподобный фактор роста-1 (IIS) и р38 митоген-активированная протеинкиназа (р38 MAPK).

Материалом для проведения молекулярно-генетического анализа служили нематоды *Caenorhabditis elegans*. Выделение тотальной РНК нематод производили с использованием коммерческого набора «РНК ЭКСТРАН» (Синтол, Россия). Пробиотик *Lactobacillus rhamnosus* L108 был выделен из традиционных молочных продуктов и предоставлен из коллекции лаборатории экспериментального мутагенеза Академии биологии и биотехнологий им. Д. И. Ивановского.

В анализе экспрессии генов долголетия использовали гены *sir-2.1*, *skn-1* и *daf-16*, имеющие ортологи у высших млекопитающих, в частности и у человека, и осуществляющие регуляцию инсулин/инсулиноподобного фактора-1 и р38-MAPK киназного молекулярных консервативных путей защиты.

На рисунке 1 изображены результаты экспрессии исследуемых генов *sir-2.1*, *skn-1* и *daf-16* после 1-ого, 3-х и 7-ми суток кормления пробиотиком *Lactobacillus rhamnosus* L108.

При анализе дожития нематод *C. elegans* на среде со стандартным газонем *E. coli* OP50 и на газоне с пробиотиком *L. rhamnosus* L108 было установлено, что кормление *L. rhamnosus* L108 увеличивает продолжительность жизни нематод *C. elegans* на 9,6% ($p < 0,05$).

Анализ экспрессии исследуемых генов *sir-2.1*, *skn-1* и *daf-16* проводился по трём временным промежуткам: после 1-ого, 3-х и 7-ми суток кормления *L. rhamnosus* L108. Было выявлено повышение уровня экспрессии гена *sir-2.1* после 1 дня кормления пробиотиком на 9%, после 3-х дней - на 34 %. После 7-ми дней уровень экспрессии гена *sir-2.1* значительно снизился на 43,6 % ($p < 0,05$). По данным литературы ген *sir-2.1* активируется в условиях ограниченной калорийности, что подтверждает наличие антиоксидантных свойств штамма *L. rhamnosus* L108. [8]

Экспрессия гена *skn-1* увеличивалась экспоненциально на всех трёх временных промежутках на 43 %, 109 % и 184 % ($p < 0,05$).

Анализ данных экспрессии гена *daf-16* показал увеличение уровня экспрессии на 0,2 % после суточного кормления пробиотиком, 7,2 % после 3-х дней и 8,5 % после 7-ми дней ($p < 0,05$).

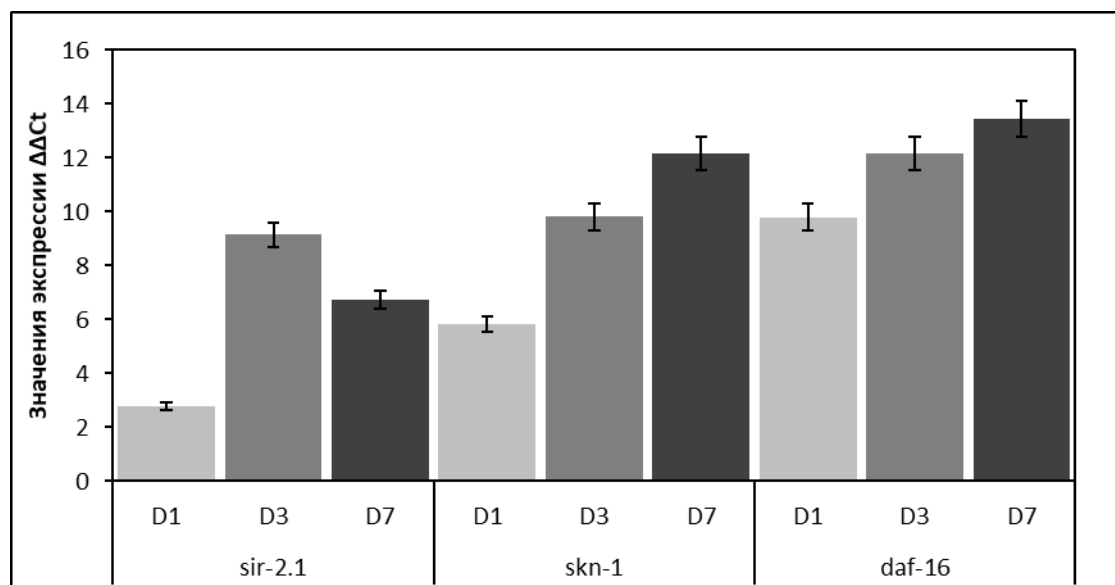


Рисунок 1 - Гистограмма по данным относительной экспрессии генов *sir-2.1*, *skn-1* и *daf-16* после кормления нематод *C. elegans* пробиотиком *Lactobacillus rhamnosus* L108.

Примечание: отображены уровни экспрессии исследуемых генов *C. elegans* после 1-ого (D1), 3-х (D3) и 7-ми (D7) суток употребления *L. rhamnosus* L108.

По результатам проведённых исследований было установлено, что штамм *Lactobacillus rhamnosus* L108 увеличивает продолжительность жизни нематод на 9,6%. Было выявлено положительное влияние *Lactobacillus rhamnosus* L108 на экспрессию генов долголетия *sir-2.1*, *skn-1* и *daf-16*. Наличие экспрессии генов *sir-2.1* и *daf-16* свидетельствует о включении инсулин/инсулиноподобного фактора-1 сигнального пути, а с ним потенциальное увеличение продолжительности нематод *C. elegans*. Наибольший уровень экспрессии наблюдался у гена *skn-1*, лежащий в основе регулирования р38 MAPK киназного механизма защиты организма.

По данным литературы активация вышеперечисленных сигнальных путей лежит в основе регулирования процессов старения и детоксикации, гомеостаза, липидного и белкового обмена и иммунного ответа. [7]

Список использованных источников

1. Roselli M. et al. *Caenorhabditis elegans* and probiotics interactions from a longevity perspective // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – V. 20, №. 20. – P. 5020.
2. Tan K. et al. *Pediococcus acidilactici* P25 protected *caenorhabditis elegans* against enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 infection and transcriptomic analysis of its potential mechanisms // *BioMed research international*. – 2020. – V. 2020.
3. Dilberger B. et al. Mitochondrial oxidative stress impairs energy metabolism and reduces stress resistance and longevity of *C. elegans* // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2019. – V. 2019.
4. Kumar A. et al. A potential probiotic *Lactobacillus plantarum* JBC5 improves longevity and healthy aging by modulating antioxidative, innate immunity and serotonin-signaling pathways in *Caenorhabditis elegans* // *Antioxidants*. – 2022. – V. 11, №. 2. – P. 268.
5. Dinić M. et al. Probiotic-mediated p38 MAPK immune signaling prolongs the survival of *Caenorhabditis elegans* exposed to pathogenic bacteria // *Scientific reports*. – 2021. – V. 11, №. 1. – P. 1-10.
6. Zanni E. et al. Combination of metabolomic and proteomic analysis revealed different features among *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* and *lactis* strains while in vivo testing in the model organism *Caenorhabditis elegans* highlighted probiotic properties // *Frontiers in microbiology*. – 2017. – V. 8. – P. 1206.
7. Braeckman B. P., Vanfleteren J. R. Genetic control of longevity in *C. elegans* // *Experimental Gerontology*. – 2007. – V. 42, №. 1-2. – P. 90-98.
8. Kaletsky R., Murphy C. T. The role of insulin/IGF-like signaling in *C. elegans* longevity and aging // *Disease models & mechanisms*. – 2010. – V. 3, №. 7-8. – P. 415-419.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках госзадания (Южный федеральный университет, проект № 0852-2020-0029); Работа выполнена в рамках соглашения о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации от 01.06.2022 г. №075-15-2022-1045 и исследование выполнено при поддержке гранта в рамках конкурса «Наука-2030».