



**МАТЕРИАЛЫ
ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
«ИССЛЕДОВАНИЕ ЖИВЫХ СИСТЕМ
В ПОСТГЕНОМНУЮ ЭРУ»**

DOI: <https://doi.org/10.15688/jvolsu11.2018.2.5>

UDC 004:579.852.11

LBC 28.0

**DEVELOPMENT OF AN ELECTRONIC DATABASE THE PROTEOMIC
PROFILES OF *BACILLUS ANTHRACIS* STRAINS IN DIFFERENT COMPLEX
OF PHENOTYPIC AND GENETIC CHARACTERISTICS USING BIOTYPER V. 3.0.**

Alena V. Abramovich

Stavropol Anti-plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Olga I. Tsygankova

Stavropol Anti-plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Elena A. Koteneva

Stavropol Anti-plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Aleksandr V. Kalinin

Stavropol Anti-plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. At present, the databases on strains of infectious diseases are of great information value, combining many properties of cultures, including the best information on the reliability of species identification, completeness of information on the potential pathogenicity of a particular strain and genetic markers. In the course of the study, a database of 47 strains and cultural variants of *B. Anthracis* was formed, the strains of which were isolated from different types of material in the territory of the former USSR. Proteomic profiles of the studied strains are included in the developed electronic database in the environment of the program Biotyper V. 3.0, compatible with “MALDI Biotyper” software.

Key words: proteomic profile, Bacillus anthracis strain, phenotypic and genetic characteristics.

**РАЗРАБОТКА ЭЛЕКТРОННОЙ БАЗЫ ДАННЫХ ПРОТЕОМНЫХ ПРОФИЛЕЙ
ШТАММОВ *BACILLUS ANTHRACIS* С РАЗНЫМ КОМПЛЕКСОМ
ФЕНОТИПИЧЕСКИХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК
В СРЕДЕ ПРОГРАММЫ BIOTYPER V. 3.0.**

Алёна Владимировна Абрамович

Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Российская Федерация

Ольга Ивановна Цыганкова

Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Российская Федерация

Елена Анатольевна Котенева

Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Российская Федерация

Александр Васильевич Калинин

Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Российская Федерация

Аннотация. В настоящее время большую информационную ценность представляют базы данных по штаммам возбудителей инфекционных заболеваний, объединяющие многие свойства культур, включая оптимальными по достоверности сведения о видовой идентификации, полноте информации о потенциале патогенности конкретного штамма и генетических маркерах. В ходе исследования сформирована база данных масс-спектров 47 штаммов и культуральных вариантов *B. Anthracis*, штаммы которого были выделены на территории бывшего СССР из различных видов материала. Протеомные профили изученных штаммов внесены в разработанную электронную базу данных в среде программы Biotyper v. 3.0, совместимую с программным обеспечением «MALDI Biotyper».

Ключевые слова: протеомный профиль, штамм *bacillus anthracis*, фенотипические и генетические характеристики.

Bacillus anthracis, возбудитель сибирской язвы относится ко II группе патогенности, а так же является одним из наиболее вероятных поражающих агентов при актах биотерроризма. Алгоритмы изучения штаммов возбудителей инфекционных болезней и особенно относящихся к I–II групп патогенности, выделенных в период вспышек, должны быть оптимальными по достоверности видовой идентификации, полноте информации о потенциале патогенности конкретного штамма и генетических маркерах, позволяющих предположить пути распространения инфекции. В этом плане большую информационную ценность представляют базы данных по штаммам возбудителей инфекционных заболеваний, объединяющие многие свойства культур. Все это делает необходимым накопление информации о штаммах *B. anthracis*, изучение протеомного профиля вегетативных

и споровых форм штаммов, отличающихся по фенотипическим свойствам и генетическим характеристикам. Описана корреляция фенотипических свойств штаммов с их MLVA и SNP генотипами, а селекция культуральных вариантов из популяций некоторых штаммов по ряду свойств приводила не только к комплексному изменению свойств, но изменению генотипа [2]. Возбудитель сибирской язвы *B. anthracis* обладает с одной стороны многими (культурально-морфологическими, биохимическими и генетическими) сходными с близкородственными характеристиками, а с другой стороны проявляет значительную внутривидовую вариабельность этих свойств. Широкое внедрение в практику лабораторной диагностики инфекционных заболеваний (идентификация возбудителя) быстрых и технологичных методов, в том числе и масс-спектрометрии, требует апроба-

ции их на наборе штаммов имеющих различия в фенотипических свойствах, наличии детерминант основных факторов патогенности и других особенностях генома. Исходя из этого, целью нашей работы послужило создание информационной базы по штаммам *B. anthracis*, включающей данные об их происхождении (источник, место и дата выделения), основных фенотипических свойствах, плазмидном составе, MLVA- и SNP-генотипах, MS-профилях.

Нами была подготовлена база данных масс-спектров 47 штаммов и культуральных вариантов *B. anthracis*. Штаммы возбудителя сибирской язвы были выделены на различных территориях бывшего СССР из различных видов материала от больных людей и животных и объектов окружающей среды, включая почву старых почвенных очагов с 1945 по 2006 годы. Культуральные варианты штаммов *B. anthracis* 228, 1CO, 140P, 14-41, 12-16 были выделены в разное время из популяций исходных штаммов в процессе многолетней лабораторной работы с ними. Критериями отбора вариантов служили различные фенотипические свойства: культурально-морфологические, капсуло- и токсинообразование, ферментативная активность, чувствительность к сибиреязвенным бактериофагам, питательные потребности, иммуногенность, вирулентность *in vitro*, которые определяли в соответствии с основными идентификационными тестами и дополнительными методами изучения культур *B. anthracis* [1].

Для генетической характеристики штаммов использовали 6 хромосомных VNTR-локусов [3] в соответствии с описанием автопов. Для определения SNP-генотипов использовали метод [4] с использованием собственных LNA-зондов и праймеров к специфичным геномным последовательностям.

Электронная база данных протеомных профилей штаммов *Bacillus anthracis* с разным комплексом фенотипических характеристик в среде программы Biotyper v. 3.0. Масс-спектры представляют собой файлы формата *.btmsp (47 файлов) и таблицу в формате Excel с данными о штаммах *Bacillus anthracis*: название штамма, источник и признак выделения культур, дату и место выделения, фенотип, плазмидный состав, MLVA генотип, SNP генотип и протеомный профиль штамма.

Формирование электронной базы данных протеомных профилей штаммов *Bacillus anthracis* с разным комплексом фенотипических характеристик в среде программы Biotyper v. 3.0, основано на следующих принципах построения:

- данные организуются в таблицу (раздел 1 «штаммы *Bacillus anthracis*»).

- каждая таблица состоит из строк (записей) и столбцов (полей);

- каждая строка таблицы (запись) включает данные об одном объекте (штамме *Bacillus anthracis*);

- каждый столбец (поле) содержит различные характеристики объектов, содержащихся в строках – атрибуты (например, дата выделения);

- все записи имеют одинаковую структуру – они состоят из полей, в которых хранятся атрибуты объекта;

- каждое поле записи содержит одну характеристику объекта и имеет строго определенный тип данных (например, текст, число, дата и т. д.);

В структуру раздела электронной базы данных протеомных профилей штаммов *B. anthracis* с разным комплексом фенотипических характеристик в среде программы Biotyper v. 3.0, входят 11 полей.

Определение принадлежности исследуемого штамма к виду *B. anthracis* проводится на основе наличия / отсутствия и интенсивности пиков, входящих в масс-спектр исследуемого штамма. Масс-спектр представляет собой визуальное (пики) и числовое (молекулярная масса) выражение результатов фрагментации белковых молекул и детекции фрагментов, образовавшихся в результате экстракции белковых молекул методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции / ионизации. Электронная база данных масс-спектров *B. anthracis*, может быть использована при индикации и идентификации культур сибиреязвенного микроба в лабораторной практике.

Сведения, представленные в базе, дают подробную характеристику штаммов и позволяют проводить поиск корреляции между отдельными свойствами с целью выбора наиболее доступных по времени выполнения и затратности скрининговых методов, обладающих не только достоверной функцией видовой идентификации всех штаммов *B. anthracis* с различными комплексами фенотипических и ге-

нетических свойств, но и способного дифференцировать на соответствующие группы.

Из представленных в базе данных результатов исследований различными методами наиболее быстровыполнимым и требующим минимального количества материала (1 колония) является белковое профилирование методом масс-спектрометрии. Для достоверной идентификации штаммов возбудителя сибирской язвы требуется доступная база масс-спектров его штаммов, имеющих не только классический комплекс свойств, но и наиболее отклоняющиеся от проявлений различных свойств внутри вида. Это позволит убедиться в наиболее полном охвате представителей вида возможностью идентификации и выделить на этой основе группы культур с определенными биологическими особенностями.

Сравнение масс-спектров, полученных в разных лабораториях, осуществляется с использованием специального программного обеспечения – программы «MALDI Biotyper» и «FlexAnalysis» с единой базой данных. Разработанная ЭБД полностью совместима с программ-

ным обеспечением «MALDI Biotyper» и может быть экспортирована в нее для проведения достоверной видовой идентификации *B. anthracis*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методические указания МУК 4.2.2413-08 «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы». – М., 2008.
2. Фенотипические и генетические особенности культурально-морфологических вариантов *Bacillus anthracis* / О. И. Цыганкова, Е. И. Еременко, Е. А. Цыганкова, Н. П. Буравцева, А. Г. Рязанова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2008. – № 4. – С. 6–11.
3. Keim, P. Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis Reveals Genetic Relationships within *Bacillus anthracis* / P. Keim, L. B. Price, A. M. Klevytska // J. Bacteriol. – 2000. – Vol. 182. – P. 2928–2936.
4. Van Ert, M. N. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis* / M. N. Van Ert, W. R. Easterday, L. Y. Huynh // PLoS ONE. – 2007. – Vol. 2, № 5. – P. 1–10. – DOI:10.1371/journal.pone.0000461.

Information about the Authors

Alena V. Abramovich, Junior Researcher, Laboratory of Postgenomic Technologies, Stavropol Anti-plague Institute, Sovetskaya St., 13-15, 355035 Stavropol, Russian Federation, alena.abramovich.1992@yandex.ru.

Olga I. Tsygankova, Researcher, Laboratory of Postgenomic Technologies, Stavropol Anti-plague Institute, Sovetskaya St., 13-15, 355035 Stavropol, Russian Federation, stavnipchi@mail.ru.

Elena A. Koteneva, Researcher, Laboratory of Postgenomic Technologies, Stavropol Anti-plague Institute, Sovetskaya St., 13-15, 355035 Stavropol, Russian Federation, stavnipchi@mail.ru.

Aleksandr V. Kalinin, Researcher, Laboratory of Postgenomic Technologies, Stavropol Anti-plague Institute, Sovetskaya St, 13-15, 355035 Stavropol, Russian Federation, stavnipchi@mail.ru

Информация об авторах

Алёна Владимировна Абрамович, младший научный сотрудник лаборатории постгеномных технологий, Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, ул. Советская 13-15, 355035 г. Ставрополь, Российская Федерация, alena.abramovich.1992@yandex.ru.

Ольга Ивановна Цыганкова, научный сотрудник лаборатории постгеномных технологий, Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, ул. Советская 13-15, 355035 г. Ставрополь, Российская Федерация, stavnipchi@mail.ru.

Елена Анатольевна Котенева, научный сотрудник лаборатории постгеномных технологий, Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, ул. Советская 13-15, 355035 г. Ставрополь, Российская Федерация, stavnipchi@mail.ru.

Калинин Александр Васильевич, научный сотрудник лаборатории постгеномных технологий, Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, ул. Советская 13-15, 355035 г. Ставрополь, Российская Федерация, stavnipchi@mail.ru.