

Противовоспалительная активность штаммов *Ruthenibacterium lactatiformans*, изолированных из кишечной микробиоты человека.

Научный руководитель – Подопригора Ирина Викторовна

Дас Милана Сергеевна

Аспирант

Российский университет дружбы народов, Медицинский факультет, Москва, Россия

E-mail: 1042200036@pfur.ru

Цель исследования - оценить изменение уровня секреции клеточной культурой аденокарциномы толстого кишечника HT-29 провоспалительного цитокина IL-8 и экспрессии генов IL-8 и TLR4 под действием культуральной среды DMEM, кондиционированной бактериями *Ruthenibacterium lactatiformans*. *R. lactatiformans* (семейство Oscillospiraceae, порядок Eubacteriales) - грамположительные палочки, строгие анаэробы, изолированные из фекалий человека. В нашей работе клеточную культуру HT-29 выращивали согласно стандартному протоколу. 72-часовые культуры *R. lactatiformans* (штаммы 585-1Т; 668; 2773; 4011; 3227; 2115; 6G) использовали для приготовления кондиционированных сред (КС). Для этого в среду культивирования DMEM (глюкоза 25 мМ, 5 мМ NEPES) (Cargilorn, Германия) вносили суспензию бактерий в концентрации 10⁶ КОЕ/мл. КС инкубировали в течение 20 ч при 37°C в анаэробных условиях. Полученную таким образом КС в объеме 700 мкл вносили в лунки с культурой клеток HT-29, инкубировали 30 мин и добавляли 70 мкл раствора ЛПС *E.coli* серотип O55:B5 (Sigma, США) в концентрации 100 нг/мл (СЛПС=10нг/мл). Через 4 часа инкубации с помощью набор QIAGEN RNeasy Plus Universal Kits (Германия) из культуры клеток HT-29 выделяли тотальную РНК. кДНК синтезировали с помощью обратной транскриптазы MMLV (Евроген, Россия). Оценку экспрессии генов IL-8 и TLR4 проводили методом qRT-PCR, с использованием 5X qPCRmix-HS и соответствующих праймеров (Евроген, Россия), на приборе BIO-RAD CFX 96 (США). Для анализа результатов был применен метод 2-ΔΔCt. По истечении 20 часов инкубации клеточной культуры HT-29 были отобраны супернатанты для определения уровня секреции IL-8 методом ИФА (Вектор-Бест, Россия). В ходе работы установлено, что штаммы *R.lactatiformans* по-разному влияют на секрецию IL-8 ЛПС-стимулированной культурой клеток HT-29. В частности, штаммы *R.lactatiformans* 585-1Т и *R.lactatiformans* 2115 снижали уровень секреции IL-8 в 2,5 и 2 раза, соответственно, в сравнении с уровнем секреции IL-8 клетками HT-29, обработанными только ЛПС (р меньше 0,05 для обоих результатов). В тоже время, уровни экспрессии генов IL-8 и TLR-4 под влиянием штамма *R.lactatiformans* 585-1Т снижались в 25 и 6 раз, соответственно, а под влиянием штамма *R.lactatiformans* 2115 - в 16 и 4,5 раза, в сравнении с экспрессией этих же генов в клетках HT-29, обработанных только ЛПС (р меньше 0,05 для всех представленных результатов). Таким образом, полученные нами данные позволяют сделать заключение, что исследованные штаммы *Ruthenibacterium lactatiformans* обладают штаммоспецифичной противовоспалительной активностью.