

# ПРОБИОТИКИ НА ОСНОВЕ ТРАНСГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

С. А. СТАРОВОЙТОВА, О. И. СКРОЦКАЯ

Национальный университет пищевых технологий, Киев

*E-mail: svetik\_2004@mail.ru*

Получено 17.05.2012

Рассмотрены современные тенденции создания рекомбинантных микроорганизмов для получения на их основе новых эффективных биопрепаратов (пробиотиков) с расширенным спектром биологических и терапевтических свойств. Уделено внимание основным родам бактерий, перспективных для создания рекомбинантных пробиотиков, а именно: *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Escherichia*. Дана характеристика основных отечественных и зарубежных генно-модифицированных штаммов, которые уже сегодня широко используются для получения эффективных биопрепаратов. Освещены некоторые из основных направлений и методов создания генно-модифицированных штаммов, применяемых в производстве препаратов для лечения и профилактики заболеваний, при которых ранее эту группу фармацевтических средств не использовали. Обсуждаются вопросы безопасности применения пробиотиков на основе генно-модифицированных штаммов. Биопрепараты медицинского и ветеринарного назначения на основе рекомбинантных микроорганизмов с доказанной безопасностью можно направленно и эффективно применять для лечения и профилактики разнообразных заболеваний, начиная от дисбактериоза и заканчивая сердечно-сосудистыми. Эффективность лечения последних обусловлена способностью некоторых пробиотических микроорганизмов снижать уровень сывороточного холестерина в организме хозяина.

**Ключевые слова:** генно-модифицированные микроорганизмы, рекомбинантные пробиотики, бациллы, бифидобактерии, лактококки, биопрепараты.

Генетический материал микроорганизмов наиболее доступен для воздействия на него различных факторов, приводящих к структурным изменениям в бактериальном геноме. Кроме мутаций в бактериальных популяциях активно реализуются генетические рекомбинации, поскольку в состоянии «компетентности» бактериальная клетка способна поглощать из внешней среды чужеродные молекулы ДНК, используя впоследствии часть полученных генов для расширения своего метаболического потенциала и приобретения новых полезных свойств. Переносчиками молекул ДНК могут выступать бактериофаги, которые в результате трансдукции встраивают в геном бактерии-хозяина новые фрагменты ДНК, а также плазмиды, осуществляющие перенос посредством генетической рекомбинации.

Большой интерес для медицинской практики представляют данные использования генетически модифицированных микроорганизмов, перспективных для получения

препаратов-пробиотиков, обладающих максимальным спектром заданных полезных свойств. К таким свойствам относится продуцирование бактериями антибиотикоподобных и различных целевых протеинов иммунокомпетентных клеток человека, гены в которых клонированы на различных векторах и переданы в определенный штамм-носитель.

Изменчивость бактерий все чаще используют с целью конструирования генетических рекомбинантов, в том числе и пробиотических микроорганизмов с новыми полезными свойствами [1–4].

Перспективным современным направлением является создание генно-инженерных пробиотиков с применением живых бактериальных векторов для доставки гетерологических иммуногенных эпитопов совместно с доставкой цитокинов, активизирующих местный иммунитет. Насчитываются десятки рекомбинантных штаммов микроорганизмов, несущих гены, ответственные за

синтез  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -интерферонов, различных типов интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-6,  $\alpha$ -1-тимозин, гранулоцит-макрофаг-колониестимулирующий фактор), факторов некроза опухолей - $\alpha$ -, - $\beta$  и т. д. [5–9].

Преимуществом лечебно-профилактических препаратов, создаваемых на основе бактериальных векторов доставки, является простота изготовления, не требующая дорогостоящей очистки лекарственной субстанции и получения биомассы, с последующей ее сублимацией, что в свою очередь обеспечивает простоту хранения. Пероральный прием является наиболее простым и безопасным способом введения таких препаратов [1–9].

Многие исследователи отмечают, что эффективность доставки целевого протеина в организм бактериальным вектором зависит от многих факторов:

- природы бактерии-носителя;
- способа введения бактерии-носителя;
- эффективности экспрессии гетерологичных эпитопов и цитокинов в иммунологически активной форме.

Однако широкое внедрение в медицинскую практику генно-модифицированных штаммов микроорганизмов ограничено возможным непредсказуемым влиянием их на организм хозяина (человека или животного), а также на экосистемы. Некоторые исследователи считают, что это может быть связано с появлением у интродуцентов новых свойств, усиливающих их конкурентоспособность, а также нарушением равновесия экосистем [10–14]. Кроме того, активно обсуждается возможность неконтролируемого переноса рекомбинантных ДНК новым хозяевам. В то же время многие исследователи экспериментально подтвердили экологическую безопасность рекомбинантных микроорганизмов как перспективной основы эффективных бактериотерапевтических препаратов [3, 10–16].

К микроорганизмам, активно исследуемым на предмет возможности создания рекомбинантных пробиотиков, относятся бактерии родов *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Escherichia* и многие другие [1–16].

Бактерии рода *Bacillus* являются одними из наиболее перспективных для создания рекомбинантных пробиотиков благодаря их высокой антагонистической активности и удобству клонирования в них чужеродных генов про- и эукариотического происхождения. Кроме того, бактерии рода *Bacillus* не образуют биопленок на слизистых оболочках

организма хозяина, вследствие чего лишены способности бесконтрольно персистировать в его организме. При введении в организм рекомбинантного пробиотика на основе бактерий рода *Bacillus* контроль количества «чужеродного» протеина является одним из решающих факторов. Количество рекомбинантных представителей рода *Bacillus* в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), а также длительность их персистенции регулируются специально отработанными дозами и курсами применения пробиотиков [2, 17–19].

Рекомбинантный штамм *Bacillus subtilis* 2335/105 создан совместно российскими и украинскими учеными. Исходный штамм *B. subtilis* ВКПМ 2335 трансформировали плазмидой рВМВ 105, кодирующей синтез секреторного интерферона человека (таким же способом получены рекомбинантные штаммы *B. subtilis* ВКПМ В-4759, *B. subtilis* ВКПМ В-7092, *B. subtilis* УКМ В-5020). Введенная в клетку *B. subtilis* плазмидная ДНК содержит ген  $\alpha$ -2-интерферона человека, промотор экспрессии гена и сигнальный пептид  $\alpha$ -амилазы *B. amyloliquefaciens* для секреции интерферона, а также гены устойчивости к канамицину [20].

Важнейшей характеристикой рекомбинантных штаммов микроорганизмов — основы пробиотиков — является стабильность введенной плазмидной ДНК, поскольку в процессе работы возможна структурная нестабильность гибридных плазмид или их репликационная нестабильность [21–23].

Экспериментально доказано, что плаزمиды рВМВ105 стабильно сохраняются даже после многократных пересевов *Bacillus subtilis* 2335/105 на среде без канамицина. Проверку структурной стабильности плазмиды проводили выделением плазмидной ДНК из случайно отобранных клонов, устойчивых к канамицину, с помощью эндонуклеазы рестрикции *HaeIII*, а также методом гибридизации с *SlaI-HindIII*-фрагментом плазмиды, содержащей ген интерферона. Стабильность плазмидной ДНК рВМВ105 также доказана в процессе 10 последовательных пересевов *B. subtilis* 2335/105 через организм животных [24–27].

Изучение биологических свойств рекомбинантного штамма *B. subtilis* 2335/105 подтвердило синтез внеклеточного  $\alpha$ -2-интерферона человека, а также высокую антагонистическую активность в отношении патогенных и условно патогенных микроорганизмов [24–29].

Интерферон, появляющийся в просвете кишечника при пероральном введении,

реализует свою биологическую активность через контактное взаимодействие с рецепторами эпителиальных клеток слизистой и иммунных клеток пейеровых бляшек. Не исключается и прямое проникновение интерферона в кровоток путем физиологического всасывания. Отмечается, что именно низкие дозы орально вводимого интерферона оказывают терапевтическое и иммуностропное действие. Принимая во внимание иницирующую позицию интерферона- $\alpha$  в цитокиновом каскаде, можно полагать, что его пероральное введение воспроизводит праймирующее действие индуцируемого в организме возбудителем эндогенного интерферона, являющегося связующим звеном между неспецифической резистентностью и антигенспецифическим иммунным ответом.

Показано, что противовирусное действие орально вводимого интерферона связано с его системным иммуномодулирующим эффектом. Адъювантный эффект орального интерферона- $\alpha$  в отношении индукции интерлейкина-12, интерлейкина-18, интерферона- $\gamma$ , необходимых для Th-1-иммунного ответа, и его способность повышать выживаемость ранних клеток памяти на антиген, являются определяющими в формировании специфического противовирусного иммунитета [1–6].

Разработка оральных лекарственных форм интерферона продиктована необходимостью защиты лекарственной субстанции от деградирующего влияния протеолитического содержимого секретов слизистой желудочно-кишечного тракта, при этом используют таблетированные, инкапсулированные и липосомальные формы. Альтернативным способом доставки интерферона к поверхности слизистой являются препараты на основе живых рекомбинантных бактерий, продуцирующих интерферон. Иммунологическая активность *B. subtilis Inf<sup>+</sup>* была показана в исследованиях на добровольцах.

По-видимому, перорально вводимые клетки рекомбинантного штамма *B. subtilis Inf<sup>+</sup>*, продвигаясь под действием перистальтики по ЖКТ, стимулируют синтез интерферона вблизи клеток-мишеней, локализирующихся в слизистой [26, 27].

Изучение биобезопасности штамма *B. subtilis Inf<sup>+</sup>* проводили совместно НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи РАМН (Москва) и НИИ биоинженерии ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» (г. Кольцово, Новосибирская обл.). На первом этапе изучали биобезопасность штамма *B. subtilis Inf<sup>+</sup>* в кишечном тракте

теплокровных с целью возможности спонтанной передачи рекомбинантной плазмиды рВМВ-105, несущей клонированные гены интерферона и маркер устойчивости к канамицину от интродуцента к бактериям нормальной микрофлоры, в качестве реципиентов были выбраны лактобактерии как представители доминирующего звена ЖКТ. Вначале были выбраны штаммы, устойчивые к канамицину. Устойчивость к канамицину широко распространена среди различных видов молочнокислых бактерий, в том числе колонизирующих ЖКТ. Ученые отмечают, что получить трансформанты лактобактерий, содержащие гибридную плазмиду рВМВ-105 (Kmr), которая контролирует синтез интерферона, удалось лишь электропорацией. Эффективность трансформации при этом составила менее 102 клеток на 1 мкг плазмидной ДНК. Полученные результаты свидетельствуют о риске «горизонтального переноса» ДНК. Однако электропорация является искусственным способом ведения гетерологичной ДНК, не имеющим ничего общего с естественными процессами переноса ДНК [6, 26, 27].

В последующих экспериментах при изучении выживаемости интродуцента, определенной в динамике после оральной аппликации штамма-продуцента с учетом времени его пребывания в ЖКТ (от момента введения до полной элиминации) путем высеивания из фекалий мышей, телят и цыплят, было показано, что клетки *B. subtilis Inf<sup>+</sup>* не приживаются в кишечнике теплокровных, а полностью элиминируются из организма в течение 2–3 дней у мышей, 4–5 дней у цыплят и 5–7 дней — у телят.

На втором этапе проводили эксперименты оценки возможности «горизонтального переноса» гетерологичной ДНК на мышах. Широкое распространение канамицинустойчивости (Kmr) среди молочнокислых бактерий, наиболее вероятных реципиентов автономной плазмидной ДНК, не позволило использовать Kmr для поиска спонтанных трансформантов.

Поэтому учеными был использован прием, заключающийся в выделении тотальной ДНК из бактерий природных популяций (представителей родов *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*) с последующим проведением полимеразной цепной реакции (ПЦР) при использовании специфических праймеров к изучаемому гену праймеров. Результаты показали отсутствие этого гена в составе тотальной ДНК возможных реципиентов [6].

Таким образом, изучение возможности горизонтальной передачи плазмидной ДНК *B. subtilis* 2335/105 *in vitro* и *in vivo* не выявило спонтанных трансформантов, что свидетельствует о невозможности передачи плазмидной ДНК от *B. subtilis* 2335/105 другим микроорганизмам — как представителям нормальной микрофлоры, так и патогенам [28, 29].

Далее были созданы модели гетеротрофных микроэкологических систем (МЭС), характеризующиеся наличием эндогенной микрофлоры, различных микроводорослей, инфузорий и дафний, состав и количество которых остается стабильным с небольшими сезонными и суточными изменениями после определенного установочного периода. Конструирование таких МЭС позволяет создать условия, максимально приближенные к естественным средам обитания. МЭС характеризуются наличием питательных субстратов, циркулирующих в виде продуктов жизнедеятельности живых сообществ. В экспериментах учеными были использованы два типа МЭС, отличающиеся длиной трофических звеньев. Изучение последствий интродукции *B. subtilis Inf<sup>+</sup>* в модельных водных экосистемах (микрокосмах) показало, что применение генетически модифицированных бактерий практически безопасно для окружающей среды как в плане распространения генов канамициноустойчивости, так и негативного влияния на водные микробиоценозы [6].

Проведена также оценка экологической безопасности *B. subtilis* 2335/105, показавшая, что в случае попадания в окружающую среду штамм не способен к длительному и бесконтрольному росту и, следовательно, к конкуренции с аборигенной микрофлорой [24–29].

Из вышеизложенного следует, что генетически модифицированные бактерии *B. subtilis Inf<sup>+</sup>* при пероральном применении синтезируют интерферон, проявляющий иммуностимулирующее, противовирусное и противоопухолевое действие. На основании результатов проведенных на теплокровных и на модели водных МЭС (микрокосмах) экспериментов полученные генно-инженерные бактерии можно отнести к экологически безопасным микроорганизмам. По своему позитивному эффекту генно-инженерные бактерии, продуцирующие интерферон человека, являются перспективными в плане использования их в качестве лечебно-профилактических препаратов-пробиотиков [6, 26, 27].

Российскими учеными на основе гибридной плазмиды pVColE2 создан штамм *B. subtilis* pVColE2, способный продуцировать гибридный колицин E2, который проникает через клеточные мембраны патогенных для человека микроорганизмов родов *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Haemophilus*, *Streptococcus*, вызывая эндонуклеазную деградацию бактериальной ДНК. Гибридная плазида получена методом генной инженерии на основе плазмиды pVColE2-P9 (*Escherichia coli* BZB 2125), детерминирующей синтез колицина E2, и плазмиды pBR322 (искусственная плазида, используемая с целью клонирования генетического материала; создана в 1977 г. мексиканскими биологами Ф. Боливаром и Р. Родригесом). С использованием эндонуклеазы рестрикции *Bsplu11.2* из плазмиды pVColE2-P9 вырезан фрагмент SnaI, а из плазмиды pBR322 при помощи рестрикционного энзима *EcoR1* — сайт PstI, детерминирующий устойчивость к ампициллину. Далее фрагмент SnaI лигировали с фрагментом плазмиды pBR322 *B. subtilis*. В результате получена неконъюгативная плазида pVColE2, кодирующая синтез колицина E2. Сконструированный штамм *B. subtilis* pVColE2 можно использовать для создания пробиотиков с антибактериальными и антиоксидантными свойствами [30].

Российскими учеными создан рекомбинантный штамм *B. licheniformis* 2336/105 с помощью трансформации клеток исходного штамма *B. licheniformis* 2336 рассмотренной выше плазмидой pVMB105. Сконструированный штамм способен продуцировать  $\alpha$ -2-интерферон человека в микроаэрофильных условиях и характеризуется антагонистической активностью относительно патогенной и условно патогенной микрофлоры. Экспериментально подтверждена стабильность введенной плазмиды и безопасность рекомбинантного штамма [31].

Бактерии рода *Escherichia* способствуют гидролизу лактозы, участвуют в расщеплении протеинов и углеводов, метаболизме холестерина, жирных и желчных кислот, синтезируют витамины группы B, биотин, витамин K, никотиновую и пантотеновую кислоты, а также колицины [32].

Пробиотики колибактерин и бификол получают на основе штамма *E. coli* M17, имеющего сниженную антагонистическую активность из-за потери способности синтезировать колицин B, а также чувствительность к антибиотикам. Это послужило толчком для создания рекомбинантного штамма



*E. coli* M17/pColap, способного синтезировать колицин E1, отвечающий за его повышенную антагонистическую активность и устойчивость к ампициллину [33].

На основе плазмиды ColE1, выделенной из непатогенного штамма *E. coli* и отвечающей за синтез колицина E1, сконструирована гибридная плазида pColap. Недостатком ее является способность к мобилизации в другие клетки с помощью конъюгативных плазмид, что обусловлено наличием в ее структуре тоб-области. Используя эндонуклеазу рестрикции *BspLu1.1*, эту область полностью удалили из плазмиды ColE1. Далее с использованием эндонуклеазы рестрикции *BspH1* из вектора pUC19 вырезали фрагмент, содержащий ген *bla*, который кодирует синтез  $\beta$ -лактамазы, и лигировали его с фрагментом плазмиды ColE1. В результате была получена плазида pColap, обеспечивающая лишь умеренный уровень устойчивости к ампициллину. Трансформированный плазмидой pColap штамм *E. coli* устойчив к ампициллину при его концентрации в среде до 150 мг/л, что следует считать позитивным фактором. Если по каким-то причинам локализация этого штамма в ЖКТ пациента окажется нецелесообразной либо плазида pColap будет перенесена в другой штамм бактерий, все клетки, содержащие данную плазмиду, можно элиминировать из организма, используя высокие концентрации  $\beta$ -лактамных антибиотиков [33].

Зарубежными исследователями создан рекомбинантный штамм *E. coli* CWG308:pLNT, в который введена плазида с генами гликозилтрансферазы. В качестве доноров генов использовали *Neisseria meningitidis* и *Campylobacter jejuni*. В результате был создан штамм *E. coli*, способный синтезировать химерные липополисахариды (лакто-N-неотетрозу, ганглиозид GM<sub>1</sub>), которые могут связываться с энтеротоксинами *E. coli* и *Vibrio cholerae*. Таким образом, штамм *E. coli* CWG308:pLNT является перспективным для создания рекомбинантных токсинсвязывающих пробиотиков, эффективных при лечении и для профилактики диареи, вызванной энтеротоксигенной *E. coli* и *Vibrio cholerae* [13, 10].

Бактерии рода *Bifidobacterium*, доля которых составляет приблизительно 25% от общего количества анаэробных бактерий, преобладают в кишечнике здоровых людей. Еще в 1900 г. было доказано, что бифидобактерии являются основным компонентом кишечной микрофлоры у детей, находящих-

ся на грудном вскармливании [34]. Бифидобактерии, наряду с другими представителями нормальной кишечной микрофлоры, выполняют или регулируют многочисленные функции организма. В процессе жизнедеятельности они образуют органические кислоты, что способствует установлению нормальных значений pH кишечника, препятствует размножению патогенной, гнилостной и газообразующей микрофлоры. Бифидобактерии принимают участие в процессах энзиматического переваривания пищи, усиливая гидролиз протеинов, сбраживают углеводы, омыляют жиры, растворяют клетчатку, стимулируют перистальтику кишечника, способствуют нормальной эвакуации содержимого кишечника. Кроме того, они выполняют витаминообразующую функцию, синтезируют витамин группы В, витамин К, фолиевую и никотиновую кислоты, способствуют синтезу незаменимых аминокислот, лучшему усвоению солей кальция, витамина D, который, в свою очередь, обладает антианемическим, антирахилическим и антиаллергическим действием. Важной функцией бифидобактерий является их участие в формировании иммунологической толерантности организма. Бифидобактерии стимулируют лимфоидную ткань, синтез иммуноглобулинов, повышают активность лизоцима и способствуют уменьшению проницаемости тканевых барьеров для токсичных продуктов патогенных и условно патогенных микроорганизмов [3, 35].

Молочнокислые бактерии, в том числе и представители родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, благодаря своей безопасности для человека и широкой распространенности как в пищевой, так и в фармацевтической промышленности, давно привлекают внимание специалистов генной инженерии. Однако использованию молочнокислых бактерий в качестве объектов для клонирования препятствует слабая по сравнению с другими классическими объектами (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*) изученность их генетики и подходящих векторов клонирования. Сама процедура трансформации до недавнего времени была трудоемкой и малоэффективной.

Применение электропорации во многом способствовало развитию генной инженерии лактобактерий и лактококков, а соответственно, усовершенствованию методов клонирования. Кроме упомянутых выше молочнокислых бактерий, к той же группе принадлежат и представители родов *Leuco-*

*nostoc*, *Pediococcus*, *Micrococcus* и др. Определенная степень родства многих из указанных видов бактерий позволяет конструировать и использовать векторы на основе известных плазмид, арсенал которых достаточно широк [36].

В Японии фирмой Snow Brand Milk Products на основе двух штаммов бифидобактерий — *B. longum* M205, выделенного из тканей человека и активно снижающего уровень холестерина в крови, и *B. pseudolongumeters* BT2906 — из тканей животных, устойчивого к кислороду и кислотам, создан новый штамм бифидобактерий, который фирма планирует использовать для профилактики и лечения атеросклероза и связанных с ним заболеваний сердечно-сосудистой системы. Рекомбинантный штамм был получен скрещиванием протопластов при обработке исходных культур лизоцимом, а также протеазой и последующим хранением их в среде с раффинозой [35].

Проблема повышенного уровня холестерина в сыворотке и поиск лекарственных препаратов для его снижения весьма актуальны для современной медицины, поскольку он является одним из главных факторов риска развития ишемической болезни сердца, атеросклероза, гипертонии, опухолей пищеварительного тракта и других заболеваний. В современной клинической практике основными методами коррекции повышенного уровня холестерина в сыворотке крови (гиперхолестеринемии, холестеролоза) являются препараты, блокирующие активность энзима гидроксиметилглутарат-СoА-редуктазы (ГМГ-СoА-редуктаза), — статины (симвастатин, ловастатин, флувастатин, аторвастатин, розувастатин и т. д.), или угнетающие абсорбцию холестерина и стиролов в кишечнике (энзетемиб) [37, 38]. К сожалению, все гипохолестеринемические лекарственные препараты (снижающие уровень сывороточного холестерина) дорогостоящие и обладают рядом побочных эффектов, прежде всего гепатотоксичностью, а также вызывают расстройства пищеварительной и дыхательной, центральной и периферической нервной систем, увеличение массы тела и др. [37–41].

Во многих экспериментальных исследованиях, в том числе и наших, показано, что молочнокислые бактерии способны снижать уровень холестерина сыворотки [42–50]. Способность отдельных штаммов представителей нормальной микрофлоры ассимилировать и преципитировать деконъюгированные желчные кислоты, так же как

и разрушать, связывать и ассимилировать холестерол, лежит в основе их гипохолестеролемической активности [37–42].

Нами была экспериментально показана высокая гипохолестеролемическая (холестеразная [43]) активность, т. е. способность снижать уровень сывороточного холестерина, высокопробиотических штаммов бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* в опытах *in vitro* (в культуральной среде) и *in vivo* (на модели экспериментальной гиперхолестеролемии у мышей) [45, 46, 48–50]. Для установления способности молочнокислых бактерий снижать уровень холестерина в опытах *in vivo* разработан метод моделирования гиперхолестеролемии у мышей [51–53]. Изучение холестеразной активности молочнокислых бактерий позволило разместить их по проявлению гипохолестеролемического действия в следующий ряд: *Lactobacillus casei* > *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* > *Lactobacillus acidophilus* > *Bifidobacterium longum* > *Bifidobacterium bifidum*. Также экспериментально нами было доказано, что различные штаммы лакто- и бифидобактерий способны усиливать свои полезные свойства при их комбинации друг с другом в различных соотношениях. Гипохолестеролемическая активность исследованных штаммов и их композиций в опытах *in vitro* составила 7,6–62% (таблица), а в опытах *in vivo* колебалась в пределах 40–78% (рисунок), т. е. независимо от породы, возраста, пола, массы тела мышей и схемы введения пробиотика. В дальнейшем планируется увеличить подобную активность более детальной отработкой схем, доз введения, подбором комбинаций штаммов и их соотношения, а также методами генной инженерии. Таким образом, отобранные культуры молочнокислых бактерий с высокой гипохолестеролемической активностью в перспективе могут быть использованы в качестве основы для создания пробиотиков, снижающих уровень сывороточного холестерина. Пробиотики, содержащие холестеролассимилирующие штаммы молочнокислых бактерий, могут рационально дополнить комплексную терапию больных сердечно-сосудистыми, онкологическими и другими заболеваниями.

Бактерии рода *Lactococcus* не являются типичными представителями микроорганизмов ЖКТ человека, тем не менее пробиотики на их основе толерантны к действию желчи и способны угнетать развитие болезнетворных энтерококков. Некоторые виды

лактококков способны выживать в желудке, но не образуют колонии. Они лизируются в двенадцатиперстной кишке, освобождая при этом большое количество энзимов.

Лактококки продуцируют ряд бактериоцинов, угнетающих рост патогенных и условно патогенных микроорганизмов возбудителей острых кишечных инфекций. Низин, один из бактериоцинов лактококков, эффективен против грампозитивных бактерий, в том числе рода *Clostridium*, диплококцин — против золотистого стафилококка, а также известны лактострепцин, лактококцин и др. Доказано, что лактококки способны угнетать размножение таких микроорганизмов, как *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli* и *Clostridium difficile*.

Все это свидетельствует об актуальности создания рекомбинантных лактококков с улучшенными биологическими свойствами. Сегодня известен ряд пробиотиков в состав которых входят лактококки: Апибакт, Пролакт, Пролам, Симбилакт, Симбиотик, Симбитер и многие другие [3].

Нидерландские исследователи, используя методы генной инженерии, создали рекомбинантный штамм *Lactococcus lactis* MG 1363. В геном этого штамма введены структурные гены про- и эукариотов, детерминирующие синтез следующих веществ (нг/мл): протеин А *S. aureus* — 1500; стрептавидин *Streptomyces avidinii* — 3000; интерлейкины (ИЛ) мыши: ИЛ-2 — 100, ИЛ-4 — 3, ИЛ-6 — 100, ИЛ-10 — 100; человека: ИЛ-2 — 50, ИЛ-6 — 100, ИЛ-10 — 20; фактор некроза опухолей (ФНО) мыши: 55 кДа ФНО — 50, 75 кДа, ФНО — 10. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* доказана высокая эффективность пробиотика на основе *L. lactis* MG 1363 при лечении болезни Крона и язвенного колита [53–55].

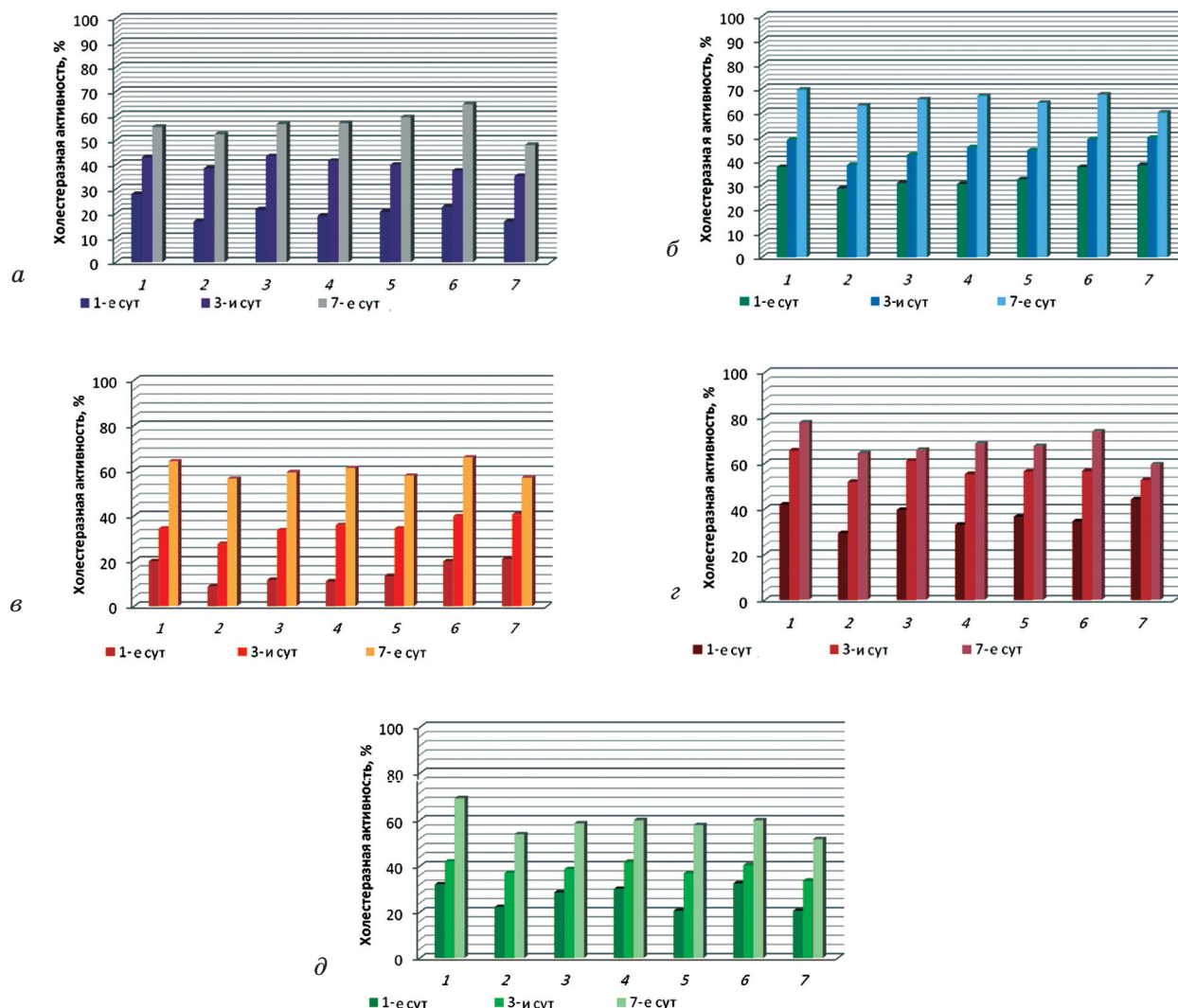
Использование пробиотиков является перспективным направлением целевой иммунокоррекции. Известно, что они влияют на факторы врожденного и приобретенного иммунитета, в первую очередь на клетки фагоцитарной системы, которые предоставляют антиген Т- и В-лимфоцитам в процессе развития специфического иммунного ответа на патоген.

#### Холестеразная активность молочнокислых бактерий *in vitro* [46, 50]

| Композиция   | Соотношение штаммов | t <sup>1</sup> , ч | ХА <sup>2</sup> , %        |
|--|---------------------|--------------------|----------------------------|
| <i>L. casei</i> IMB B-7280: <i>L. bulgaricus</i> IMB B-7281: <i>L. acidophilus</i> IMB B-7279: <i>B. longum</i> VK-2: <i>B. bifidum</i> VK-1 | 1:1:1:1             | 18<br>24           | 28,17±0,01*<br>38,03±0,02* |
| <i>L. casei</i> IMB B-7280: <i>L. bulgaricus</i> IMB B-7281  | 1:1                 | 18<br>24           | 33,80±0,03<br>73,24±0,37   |
| <i>B. longum</i> VK-2: <i>B. bifidum</i> VK-1  | 1:1                 | 18<br>24           | 54,23±0,28*<br>68,87±0,36* |
| <i>L. casei</i> IMB B-7280: <i>B. bifidum</i> VK-1   | 1:1                 | 18<br>24           | 49,30±0,21*<br>52,82±0,23* |
| <i>L. bulgaricus</i> IMB B-7281: <i>B. longum</i> VK-2   | 1:1                 | 18<br>24           | 14,79±0,21*<br>23,15±0,03* |
| <i>L. casei</i> IMB B-7280: <i>B. longum</i> VK-2  | 1:1                 | 18<br>24           | 43,94±0,08*<br>57,75±0,18* |
| <i>L. acidophilus</i> IMB B-7279: <i>L. casei</i> IMB B-7280   | 1:1                 | 18<br>24           | 32,88±0,19*<br>64,92±0,07* |
| <i>L. acidophilus</i> IMB B-7279: <i>L. bulgaricus</i> IMB B-7281  | 1:1                 | 18<br>24           | 20,15±0,11*<br>26,78±0,26* |
| <i>L. acidophilus</i> IMB B-7279: <i>B. longum</i> VK-2  | 1:1                 | 18<br>24           | 18,92±0,25*<br>20,11±0,15* |
| <i>L. acidophilus</i> IMB B-7279: <i>B. bifidum</i> VK-1   | 1:1                 | 18<br>24           | 12,07±0,08*<br>16,16±0,22* |
| <i>L. bulgaricus</i> IMB B-7281: <i>B. bifidum</i> VK-1  | 1:1                 | 18<br>24           | 0<br>0                     |

Примечания. t<sup>1</sup> — время культивирования, ч; ХА<sup>2</sup> — холестеразная активность, % от контроля (контроль — 100%: активность контрольного штамма или концентрация введенного мышам холестерина);

\* —  $P < 0,05$  относительно *L. casei* IMB B-7280: *L. bulgaricus* IMB B-7281.



**Зависимость холестеразной активности молочнокислых бактерий и их композиций от времени наблюдения ( $P < 0,05$ ) [50]:**

*а* — для мышей массой 18–20 г при лечебной схеме введения пробиотических культур; *б* — для мышей массой 16–18 г — лечебная схема введения; *в* — для самцов линии Balb возрастом 2,5 мес — профилактическая схема введения; *г* — для самцов линии Balb возрастом 3 мес — профилактическая схема введения. 1 — *L. acidophilus* IMB B-7279; 2 — *L. casei* IMB B-7280; 3 — *L. acidophilus* IMB B-7279+*L. casei* IMB B-7280; 4 — *B. bifidum* VK-1; 5 — *B. longum* VK-2; 6 — *B. bifidum* VK-1+*B. longum* VK-2; 7 — *L. casei* IMB B-7280+*L. bulgaricus* IMB B-7281

Пробиотические микроорганизмы, обладающие иммуномодулирующими свойствами, влияют на синтез различных опозиционных цитокинов — про- и противовоспалительных, а также цитокинов Th1- и Th2-типа. От баланса этих цитокинов непосредственно зависит кооперативное взаимодействие между различными типами иммунных клеток, а также между патогенами и клетками макроорганизма, определяющее характер развития иммунного ответа и завершения патологического процесса. Важнейшим механизмом действия пробиотиков является

изменение продукции ряда иммунорегуляторных цитокинов, особенно интерферонов, отвечающих за формирование клеточного звена иммунитета, а следовательно, и за эффективность развития иммунного ответа при инфекционных, онкологических заболеваниях и др. Интерфероны выполняют важную контрольно-регуляторную функцию в сохранении гомеостаза организма, поскольку им свойственна противовирусная, иммуномодулирующая, противовоспалительная, антибактериальная и антипролиферативная активность. Поэтому



создание новых штаммов пробиотических бактерий, которые влияют на продуцирование различных цитокинов, а соответственно и на иммунный ответ в целом, является актуальной проблемой [54–58].

В ходе экспериментальной работы нами выявлены и запатентованы пробиотические штаммы молочнокислых бактерий, характеризующиеся высокими иммунологическими показателями, а именно *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ИМВ-В-7281 — активатор фагоцитов [59], *Lactobacillus casei* ИМВ-В-7280 — индуктор «позднего» интерферона и активатор макрофагов [60], а также *Lactobacillus acidophilus* ИМВ-В-7279 — индуктор эндогенного интерферона 1-го типа [61]. Каждый из запатентованных штаммов проявил достаточно высокую соответствующую иммуномодулирующую активность, но для достижения более высоких показателей в дальнейшем планируется провести работы по селекции, а также генной модификации

изученных штаммов молочнокислых бактерий. Конечным этапом работы должно стать создание продуктов функционального назначения и лечебно-профилактических медицинских препаратов на основе полученных пробиотических штаммов с высокими иммуномодулирующими свойствами.

Приведенные в работе данные свидетельствуют об актуальности создания рекомбинантных штаммов микроорганизмов с расширенным спектром биологических свойств. Бактериотерапевтические препараты медицинского и ветеринарного назначения на основе рекомбинантных микроорганизмов с доказанной безопасностью целесообразно применять для лечения и профилактики разнообразных заболеваний, начиная от дисбактериоза и заканчивая сердечно-сосудистыми (благодаря способности некоторых пробиотических микроорганизмов снижать уровень сывороточного холестерина).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Сорокулова И. Б., Белявская В. А., Масычева В. И., Смирнов В. В. Рекомбинантные пробиотики: проблемы и перспективы использования в медицине и ветеринарии // Вестн. Рос. АМН. — 1997. — № 3. — С. 46–49.
2. Сорокулова И. Б. Теоретичне обґрунтування і практика застосування бактерій роду *Bacillus* для конструювання нових пробіотиків: Автореф. дис. ... докт. біол. наук: 03.00.07. / Інститут мікробіології і вірусології НАНУ, 1999. — 37 с.
3. Янковский Д. С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. — К.: Эксперт ЛТД, 2005. — 362 с.
4. Рыбчин В. Н. Основы генетической инженерии. — СПб: ГТУ, 2002. — 522 с.
5. Пат. № 26068 UA, 5 МПК А61К35/74, С12N1/21. Профілактичний біопрепарат субалін / В. В. Смірнов, С. Р. Резник, І. Б. Сорокулова, Л. С. Сахдахчієв, В. А. Петренко, А. А. Ільчов, В. А. Белявська, І. В. Тимофеев. — Заявл. 07.07.1993; Опубл. 30.04.99, Бюл № 2.
6. Белявская В. А., Кашперова Т. А., Бондаренко В. М. и др. Экспериментальная оценка биобезопасности генно-инженерных бактерий на модели штамма *Bacillus subtilis*, продуцирующего интерферон // Микробиол. журн. — 2001. — № 2. — С. 16–20.
7. Попова Л. Ю., Каргатова Т. В., Максимова Е. Е., Белявская В. А. Адаптация штамма *Bacillus subtilis*, содержащего рекомбинантную плазмиду с геном интерферона- $\alpha 2$  человека, к разным условиям существования // Микробиология. — 1997. — Т. 66, № 6. — С. 761–766.
8. Смирнов В. В., Сорокулова И. Б., Пинчук И. В. Бактерии рода *Bacillus* — перспективный источник биологически активных веществ // Микробиол. журн. — 2001. — Т. 63, № 1. — С. 72–79.
9. Пат. № 2172343 RU, 5 МПК С12N1/20, А61К35/74, С12N1/20, С12R1:10. Штамм бактерий *Bacillus licheniformis*, обладающий антивирусной и антибактериальной активностью / В. А. Белявская, И. Б. Сорокулова, Н. Г. Ромашова, Т. А. Кашперова, В. И. Масычева, А. А. Ильичев, С. Н. Щелкунов, Н. К. Данилюк, А. Е. Нестеров, Л. С. Сахдахчиев, В. В. Смирнов, В. А. Петренко, В. Н. Красных. — Заявл. 30.06.1998; Опубл. 20.08.2001.
10. Paton A. W., Jennings M. P., Morona R. et al. Recombinant Probiotics for Treatment and Prevention of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Diarrhea // Gastroenterology. — 2005. — V. 128 (Issue Suppl. 5). — P. 1219–1228.
11. Focareta A., Paton J. C., Morona R. et al. Recombinant Probiotic for Treatment and Prevention of Cholera // Ibid. — 2006. — V. 130 (Issue Suppl. 6). — P. 1688–1695.
12. Berlec A., Struketj B. Novel applications of recombinant lactic acid bacteria in therapy and in metabolic engineering // Rec. Patents Biotechnol. — 2009. — V. 3. — P. 77–87.
13. D'Silva I. Recombinant Technology and Probiotics // Int. J. Engin. Technol. — 2011. — V. 3 (Issue Suppl. 4). — P. 288–293.
14. Mercenier A., Pavan S., Pot B. Probiotics as biotherapeutic agents: present knowledge and future prospects // Cur. Pharmaceut. Design. — 2002. — V. 8. — P. 99–110.

15. Nakayama A., Ando K., Kawamura K. Efficient secretion of the authentic mature human growth hormone by *Bacillus subtilis* // J. Biotechnol. — 1988. — V. 8. — P. 123–134.
16. Kneifel W., Salminen S. Probiotics and Health Claims. — Wiley-Blackwell, 2011. — 360 p.
17. Сорокулова И. Б., Белявская В. А., Масычева В. И., Смирнов В. В. Рекомбинантные пробиотики: проблемы и перспективы использования для медицины и ветеринарии // Вестн. РАМН. — 1997. — № 3. — С. 46–49.
18. Sorokulova I. Preclinical testing in the development of probiotics: a regulatory perspective with *Bacillus* strains as an example // Clin. Infect. Dis. — 2008. — V. 46 (Issue Suppl. 2). — P. S92–S96.
19. Sorokulova I. B., Reva O. N., Smirnov V. V. et al. Genetic diversity and involvement in bread spoilage of *Bacillus* strains isolated from flour and rony bread // Lett. Appl. Microbiol. — 2003. — V. 37. — P. 169–173.
20. Пат. № 1839459 RU, 5 МПК C12N1/21. Штамм бактерий *Bacillus subtilis*, обладающий антивирусной и антибактериальной активностью / В. В. Смирнов, В. А. Белявская, А. А. Ильичев, В. А. Петренко, И. В. Тимофеев, А. Е. Нетесов, С. Р. Резник, И. Б. Сорокулова. — Оpubл. 23.06.1994.
21. Титок М. А. Плазмиды грамположительных бактерий. — Минск: БГУ, 2004. — 130 с.
22. Филонов А. Е., Боронин А. М. Стабильность плазмид и конкуренция плазмидсодержащих и бесплазмидных штаммов в условиях непрерывного культивирования // Антибиот. химиотер. — 1990. — Т. 35, № 5. — С. 46–50.
23. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия. — Новосибирск: Изд-во Сиб. ун-та, 2004. — 496 с.
24. Сорокулова И. Б. Изучение безопасности и реактогенности нового пробиотика субалина для добровольцев // Микробиол. журн. — 1998. — Т. 60, № 1. — С. 43–46.
25. Сорокулова И. Б., Рыбалко С. Л., Руденко А. А. и др. Пробиотик субалин — принципиально новый подход к лечению бактериальных и вирусных инфекций. — К., 2006. — 36 с.
26. Чердынцева Н. В., Литвяков Н. В., Белявская В. А., Смольянинов Е. С. Влияние рекомбинантного пробиотика субалина на функциональную активность иммунокомпетентных клеток // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1999. — Т. 127, № 1. — С. 67–70.
27. Чудновская Н. В., Рыбалко С. Л., Сорокулова И. Б. и др. Антивирусная активность пробиотиков из бацилл // Доп. НАН України. — 1995. — № 2. — С. 124–126.
28. Пат. № 2035185 RU, 5 МПК A61K35/66. Профилактический биопрепарат субалин / В. В. Смирнов, С. Р. Резник, И. Б. Сорокулова, Л. С. Сандахчиев, В. А. Петренко, А. А. Ильичев, В. Н. Белявская, И. В. Тимофеев. — Заявл. 31.01.1992; Оpubл. 20.05.1995, Бюл. № 14.
29. Пат. № 2159625 RU, 5 МПК A61K35/66. Пробиотический препарат комплексного действия / В. А. Белявская, Т. А. Каширерова, И. Б. Сорокулова, В. В. Смирнов, А. А. Ильичев, А. Н. Панин, Н. И. Малик, Л. С. Сандахчиев. — Оpubл. 27.11.2000.
30. Пат. № 2188233 RU, 5 МПК C12N1/21, A61K35/74, C12N1/21, C12R1:125. Штамм бактерий *Bacillus subtilis* pVcolE2 — продуцент гибридного колицина E2, используемый для получения ветеринарного препарата / М. А. Аязмов. — Заявл. 30.01.2000; Оpubл. 27.08.2002.
31. Пат. № 2142287 RU, 5 МПК A61K35/74, C12N1/20, C12N1/20, C12R1:07, C12R1:10, C12R1:125. Штаммы бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, используемые в качестве компонентов препарата против вирусных и бактериальных инфекций, и препарат на основе этих штаммов / С. Н. Щелкунов, В. А. Петренко, О. И. Рязанкина, В. Е. Репин, И. С. Андреева, А. А. Ильичев, В. А. Белявская, Л. С. Сандахчиев, О. И. Серпинский, Г. Ф. Сиволобова, А. Н. Синяков, Н. Г. Перминова, И. В. Тимофеев, А. И. Лемяк, Г. А. Ноздрин, Л. П. Катковский, Н. К. Данилюк, В. И. Масычева. — Заявл. 16.12.1997; Оpubл. 10.12.1999.
32. Барановский А. Ю., Кондрашина Э. А. Дисбактериоз кишечника. — СПб.: Питер, 2007. — 240 с.
33. Пат. № 2144954 RU, 5 МПК C12N1/21, A61K35/74. Штамм бактерий *Escherichia coli* M 17/pColap, используемый для получения пробиотического препарата / В. А. Лившиц, В. Л. Чеснокова, В. В. Алешин, Е. В. Сокурено, М. В. Далин, Э. Г. Крайцов, В. А. Быков. — Заявл. 15.04.1998; Оpubл. 27.01.2000, Бюл. № 13.
34. Хавкин А. И. Микробиоценоз кишечника и иммунитет // РМЖ. — 2003. — Т. 11, № 3. — С. 122–126.
35. Шендеров Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т. 3. Пробиотики и функциональное питание. — М.: Издательство «ГРАНТЪ», 2001. — 288 с.
36. Бондаренко В. М., Белявская В. А. Клонирование и экспрессия генов молочнокислых бактерий // Журн. микробиол. — 2000. — № 2. — С. 67–73.
37. Пат. 2388479 РФ, 5 МПК A61K35/74, A61P3/06. Способ коррекции гиперхолестеринемии / М. Р. Йсаев, Г. Н. Тукумбетова, В. А. Баталин, В. И. Никитенко, А. М. Чевычалов, Ю. В. Горячая, А. В. Андреев, О. А. Каширская, М. В. Баталина, С. Б. Борисюк. — Оpubл. 10.05.2010.
38. Мосійчук С. М., Хоменко М. Б., Михайлова Т. С. та ін. Пробиотики: можливість застосуван-

- ня при гіперхолестеринемії // Укр. мед. часоп. — 2006. — № 2 (52). — С. 10–23.
39. *Liong M. T., Shah N. P.* Roles of probiotics and prebiotics on cholesterol: The hypothesized mechanisms // *Nutrafoods*. — 2005. — V. 4. — P. 45–57.
  40. *Chralampopoulos D., Rastall R. A.* Prebotics and Probiotics Science and Technology. — UK: Springer, 2009. — 1265 p.
  41. *Nguyen T. D., Kang J. H., Lee M. S.* Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects // *Int. J. Food Microbiol.* — 2007. — V. 113. — P. 358–361.
  42. *Ямборка Г. В., Малюкнова В. І., Петросьняц А. П.* Здатність бактерій роду *Lactobacillus* вилучати холестерин із живильного середовища // *Вісн. Одес. нац. ун-ту.* — 2004. — Т. 9, Вип. 1. — С. 249–256.
  43. *Кігель Н. Ф., Романовська О. М., Науменко О. В.* Дослідження *in vitro* холестеразної активності лакто- і біфідобактерій як критерій відбору пробіотичних штамів // *Вісн. агр. науки.* — 2002. — № 8. — С. 59–62.
  44. *Коваленко Н. К., Касумова С. А., Мучник Ф. В.* Скрининг штаммов молочнокислих бактерій, що мають гіпохолестеринемічну активність, і їх практичне використання // *Мікробіол. журн.* — 2004. — Т. 66, № 3. — С. 33–42.
  45. *Старовойтова С. О., Орябінська Л. Б., Горчаков В. Ю.* Гіпохолестеринемічна та протеолітична активність лактобактерій *in vitro* // *Довкілля і здоров'я.* — 2007. — № 4 (43). — С. 68–71.
  46. *Starovoitova S., Kishko K., Lazarenko L. et al.* Cholesteraze activity of new lacto- and bifidobacteria strains *in vitro* // *Наук. вісн. Ужгор. ун-ту. Сер. Біол.* — 2010. — Вип. 27. — С. 1–4.
  47. *Buck M. L., Gilliland S. E.* Comparison of freshly isolated strains of *Lactobacillus acidophilus* of human origin for ability to assimilate cholesterol during growth // *J. Dairy Sci.* — 1994. — V. 77, N 10. — P. 2925–2933.
  48. *Старовойтова С. А., Лазаренко Л. Н., Авдеева Л. В. и др.* Поиск штаммов бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* перспективных для создания пробиотиков // *Наук. вісн. Ужг. ун-ту. Сер. Біол.* — 2009. — Вип. 26. — С. 216–219.
  49. *Старовойтова С. О.* Розробка композиції поліштамового пробіотику на основі бактерій роду *Lactobacillus*: Автореф. дис. ... канд. біол. наук: спец. 03.00.20 «Біотехнологія» / НАН України; Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного. — К., 2008. — 21 с.
  50. *Starovoitova S. A., Babenko L. P., Timoshok N. A. et al.* Cholesterol-lowering activity of lactic acid bacteria probiotic strains *in vivo* // *Мікробіол. журн.* — 2012. — Т. 74, № 3. — С. 78–84.
  51. *Пат. 61954 UA, МКІ А61К39/02.* Спосіб моделювання гіперхолестеринемії у мишей / *М. Я. Співак, С. О. Старовойтова* — Заявл. 08.12.2010; Опубл. 10.08.2011, Бюл. № 15.
  52. *Старовойтова С. А., Бабенко Л. П., Шинкаренко Л. Н. и др.* Разработка модели экспериментальной гиперхолестеринемии у мышей // *Біол. сист.* — 2011. — Т. 3, Вип. 2. — С. 21–23.
  53. *Remaut E., Braat H., Vandenbroucke K. et al.* Clinical potential of *Lactococcus lactis* mediated delivery of human interleukin-10 and trefoil factors // *Biosci. Microflora.* — 2006. — V. 25. — P. 81–97.
  54. *Steidler L., Neiryneck S., Huyghebaert N. et al.* Biological containment of genetically modified *Lactococcus lactis* for intestinal delivery of human interleukin 10 // *Nat. Biotechnol.* — 2003. — V. 21. — P. 785–789.
  55. *Vandenbroucke K., Hans W., Van Huysse J. et al.* Active delivery of trefoil factors by genetically modified *Lactococcus lactis* prevents and heals acute colitis in mice // *Gastroenterology.* — 2004. — V. 127. — P. 502–513.
  56. *Старовойтова С. О., Тимошок Н. О., Співак М. Я., Горчаков В. Ю.* Інтерферогенна активність лактобактерій // *Імунол. алергол.* — 2007. — № 4. — С. 24–27.
  57. *Старовойтова С. О., Тимошок Н. О., Горчаков В. Ю., Співак М. Я.* Імунодолюючі властивості бактерій роду *Lactobacillus* // *Мікробіол. журн.* — 2009. — Т. 71, № 3. — С. 41–47.
  58. *Пат. 67205 UA, МПК С12N 1/20.* Поліштамова бактеріальна субстанція з пробіотичними властивостями / *С. О. Старовойтова, Л. Б. Орябінська, В. Ю. Горчаков, О. М. Дуган.* — Заявл. 30.06.2011; Опубл. 10.02.2012, Бюл. № 3.
  59. *Пат. 92983 UA, 5 МПК С12N1/20, С12R1/225, А61P37/02.* Штам *Lactobacillus delbruckii subsp. bulgaricus* ІМВ-В-7281 — активатор фагоцитів / *М. Я. Співак, В. С. Підгорський, Л. М. Шинкаренко, Л. М. Лазаренко, Н. О. Тимошок, В. Ю. Горчаков, С. О. Старовойтова.* — Заявл. 13.07.2009; Опубл. 11.10.2010, Бюл. № 19.
  60. *Пат. 93133 UA, 5 МПК С12N1/20, С12R1/245, А61P37/02.* Штам *Lactobacillus casei* ІМВ-В-7280 — індуктор «пізнього» інтерферону та активатор макрофагів / *М. Я. Співак, Л. М. Шинкаренко, В. С. Підгорський, В. Ю. Горчаков, С. О. Старовойтова, Л. М. Лазаренко, Н. О. Тимошок.* — Заявл. 03.07.2009; Опубл. 11.10.2010, Бюл. № 19.
  61. *Пат. 93132 UA, 5 МПК С12N1/20, С12R1/23, А61К35/74.* Штам *Lactobacillus acidophilus* ІМВ-В-7279 — індуктор ендогенного інтерферону І типу / *М. Я. Співак, В. С. Підгорський, Л. М. Шинкаренко, В. Ю. Горчаков, С. О. Старовойтова, Л. М. Лазаренко, Н. О. Тимошок.* — Заявл. 03.07.2009; Опубл. 11.10.2010, Бюл. № 19.



**ПРОБІОТИКИ НА ОСНОВІ  
ТРАНСГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ**

*С. А. Старовойтова  
О. І. Скроцька*

Національний університет  
харчових технологій, Київ

*E-mail: svetik\_2004@mail.ru*

Розглянуто сучасні тенденції створення рекомбінантних мікроорганізмів для одержання на їх основі нових ефективних біопрепаратів (пробіотиків) з розширеним спектром біологічних та терапевтичних властивостей. Придлено увагу основним родам бактерій, перспективних для створення рекомбінантних пробіотиків, а саме: *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Escherichia*. Подано характеристику основних вітчизняних і зарубіжних генно-модифікованих штамів, які вже сьогодні широко використовують для одержання ефективних біопрепаратів. Висвітлено деякі з основних напрямів і методів створення генно-модифікованих штамів, які застосовують у виробництві препаратів для лікування і профілактики захворювань, за яких раніше цю групу фармацевтичних засобів не використовували. Придлено увагу питанню безпеки застосування пробіотиків на основі генно-модифікованих штамів. Біопрепарати медичного та ветеринарного призначення на основі рекомбінантних мікроорганізмів з доведеною безпекою можна спрямовано й ефективно застосовувати для лікування і профілактики різноманітних захворювань, починаючи від дисбактеріозу і закінчуючи серцево-судинними захворюваннями. Ефективність лікування останніх зумовлена здатністю деяких пробіотичних мікроорганізмів знижувати рівень сироваткового холестеролу в організмі господаря.

**Ключові слова:** генно-модифіковані мікроорганізми, рекомбінантні пробіотики, бацили, біфідобактерії, лактококи, біопрепарати.

**PROBIOTICS BASED ON TRANSGENIC  
MICROORGANISMS**

*S. A. Starovoitova  
O. I. Skrotska*

National University  
of Food Technologies, Kyiv

*E-mail: svetik\_2004@mail.ru*

Modern tendencies of recombinant microorganisms creation for obtaining on their basis a new effective biopreparations (probiotics) with wider spectrum of biological and therapeutic properties were considered. A lot of attention was focused on the main genera of perspective bacteria for creation of recombinant probiotics particularly: *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Escherichia*. The main created Ukrainian and foreign gene-modified strains, that are widely used today in creation of effective recombinant biopreparations were characterized. Some fundamental directions and methods of gene-modified strains obtaining, which are used in getting effective biopreparations that used for therapy and prophylactic illness were reported, under which this group of pharmaceutical drugs were not used earlier. The safety matters of probiotics using on basis of gene-modified strains were examined. Medical and veterinary biopreparations on basis of recombinant microorganisms could be used directly and effectively for therapy and prophylaxis of different illness, beginning from disbacteriosis up to cardiovascular diseases. It is related with some probiotic microorganisms ability for lowering of serum cholesterol at the host organism.

**Key words:** gene-modified microorganisms, recombinant probiotics, bacilli, bifidobacteria, lactococci, biopreparations.