

Поиск новых постбиотиков с использованием омиксных технологий для применения в аквакультуре

Резникова Д.^{1, 2*}, Ватлин А.¹, Марсова М.¹, Даниленко В.¹

¹ Институт Общей Генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

² Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия

* reznikova.da@phystech.edu

Ключевые слова: постбиотики; аквакультура; омиксные технологии; *Levilactobacillus brevis* 47f

Мотивация и цель: В результате сельскохозяйственной и промышленной деятельности возрастает загрязнённость водоёмов низкими дозами ксенобиотиков, которые оказывают пагубное влияние на аквакультуру [1]. В последнее время для уменьшения этого эффекта используют пробиотики и, как результат их деятельности, постбиотики.

Выбор штамма *Levilactobacillus brevis* 47f из коллекции лаборатории генетики микроорганизмов основывался на его антиоксидантных и адаптогенных свойствах, доказанных в предыдущих исследованиях [2, 3]. Целью работы было исследование возможности применения культуры как адаптогена при воздействии низких доз ксенобиотиков в аквакультуре, а также выявление потенциальных молекулярных механизмов её действия.

Методы и алгоритмы: В данном исследовании был применен мультиомиксный подход для комплексного решения поставленной задачи. Анализ дифференциальной экспрессии генов был произведён по данным RNAseq, они были проанализированы с использованием специальных программных пакетов, а сама дифференциальная экспрессия была произведена с помощью edgeR v3.42.4. Протеомный анализ белков клеточной фракции производился с помощью хроматографа Ultimate 3000 Nano LC System, соединённого с масс-спектрометром Q Exactive Plus Orbitrap посредством наноэлектроспрейного источника. Анализ протеомных данных производился с использованием Picks Studio 10.0. Метаболомный анализ экспрессируемых компонентов бактериальной клетки производился с помощью GC-MS.

Результаты: В процессе исследования был проведён комплексный анализ штамма, подверженного влиянию различных доз пластификатора бисфенол А. В результате транскриптомного анализа было выявлено изменение экспрессии ряда генов, в том числе генов транспортных белков, генов синтеза жирных кислот, транскрипционных регуляторов, генов *araA*, *araB*, *araC*, задействованных в метаболизме арабинозы и гена *oppA*, участвующего в защитных механизмах к различным стрессам. Методом хромато-масс-спектрометрии был проведён протеомный анализ штамма и его продуктов, получено изменение спектра белков на фоне стресса. Примечательным является наличие в спектре таких белков, как L-арабинозоизомеразы и субъединица Clp шаперона, которые, имея связь через биохимические пути, предположительно, участвуют в процессах адаптогенности штамма. Метаболомный анализ водной и органической фазы культуральной жидкости штамма способствовал выделению классов метаболитов, которые, вероятно, задействованы в его адаптогенных свойствах.

Выводы: Таким образом, применение омиксных технологий способствовало поиску молекулярных механизмов действия штамма *Levilactobacillus brevis* 47f и выявлению причин его адаптогенных свойств при воздействии различных доз ксенобиотиков, что является неотъемлемой частью при разработке эффективных постбиотиков.

Финансирование: Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (№ 23-16-00123).

The search for new postbiotics using omics technologies for aquaculture applications

Reznikova D.^{1, 2*}, Vatlin A.¹, Marsova M.¹, Danilenko V.¹

¹ Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Russia

* reznikova.da@phystech.edu

Key words: postbiotics; aquaculture; omics technologies; *Levilactobacillus brevis* 47f

Motivation and Aim: As a result of agricultural and industrial activities, there is increasing pollution of water bodies with low doses of xenobiotics that have detrimental effects on aquaculture [1]. Recently, probiotics and, as a result of their activities, postbiotics have been used to reduce this effect.

The selection of *Levilactobacillus brevis* 47f strain from the collection of laboratory of bacterial genetics was based on its antioxidant and adaptogenic properties proven in previous studies [2, 3]. The aim of the work was to investigate the possibility of using the culture as an adaptogen during exposure to low doses of xenobiotics in aquaculture and to identify potential molecular mechanisms of its action.

Methods and Algorithms: In this study, we applied a multi-omics approach to solve the problem in a comprehensive manner. Differential gene expression analysis was performed using RNAseq data, it was analyzed using special software packages, and differential expression itself was performed using edgeR v3.42.4. Proteomic analysis of cell fraction proteins was performed using an Ultimate 3000 Nano LC System chromatograph coupled to a Q Exactive Plus Orbitrap mass spectrometer via a nanoelectrospray source. Proteomic data were analyzed using Picks Studio 10.0. Metabolomic analysis of expressed bacterial cell components was performed using GC-MS.

Results: In the course of the study, a comprehensive analysis of the strain exposed to different doses of the plasticiser bisphenol A was carried out. Transcriptome analysis revealed changes in the expression of a number of genes, including transport protein genes, fatty acid synthesis genes, transcriptional regulators, *araA*, *araB*, *araC* genes involved in arabinose metabolism and *oppA* gene involved in defence mechanisms to various stresses. Proteomic analysis of the strain and its products was carried out by chromatography-mass spectrometry, and the change in the protein spectrum against stress was obtained. Noteworthy is the presence in the spectrum of such proteins as L-arabinose isomerase and Clp chaperone subunit, which are connected through biochemical pathways, presumably participating in the adaptogenicity processes of the strain. Metabolomic analysis of the aqueous and organic phase of the culture fluid of the

strain contributed to the identification of classes of metabolites that are probably involved in its adaptogenic properties.

Conclusion: Thus, the application of omics technologies contributed to the search for molecular mechanisms of action of *Levilactobacillus brevis* 47f strain and identification of the causes of its adaptogenic properties when exposed to different doses of xenobiotics, which is an integral part in the design of effective postbiotics.

Funding: The study is supported by a grant from the Russian Science Foundation (No. 23-16-00123).

Список литературы/References

1. Rohani M.F. Pesticides toxicity in fish: Histopathological and hemato-biochemical aspects – A review. *Emerging Contam.* 2023;9(3):100234
2. Marsova M. et al. A bioluminescent test system reveals valuable antioxidant properties of lactobacillus strains from human microbiota. *World J Microbiol Biotechnol.* 2018;34(2):27. doi 10.1007/s11274-018-2410-2
3. Olekhovich E.I. et al. The effects of *Levilactobacillus brevis* on the physiological parameters and gut microbiota composition of rats subjected to desynchronosis. *Microb Cell Fact.* 2021;20(1):226