

СОТОВЫЕ ТЕЛЕФОНЫ КАК ЗЕРКАЛО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО МИКРОБИОМА

УДК 579.8, 57.022
БАК 03.02.03

Петрова Р.Р., к.б.н., ООО "Аксиома БИО",
rp@axiomabio.com

Изучение микробиома становится все более актуальной темой биомедицинских исследований. Оригинальные эксперименты на моделях животных показали влияние микробиома на здоровье организма и риск возникновения заболеваний. Помимо собственно биологических образцов, для анализа микробиома могут быть использованы и предметы индивидуального пользования, например сотовый телефон. Его микробиом может отражать особенности микробиома хозяина и таким образом использоваться в исследовательских и диагностических целях. В статье описано исследование микробиома сотовых телефонов людей из различных географических регионов с помощью наборов Zymo Research.

Человеческое тело представляет собой супраорганизм, состоящий из человеческих и микробных компонентов, которые находятся в симбиозе друг с другом. В совокупности эти микроорганизмы, а также их генетический материал называются человеческим микробиомом. Организмы микробиома человека включают бактерии, археи, грибы, одноклеточные простейшие, а также различные гельминты и вирусы [1]. До недавнего времени ученых интересовали только те микроорганизмы, которые являлись причиной различных заболеваний, однако в 2008 году Национальным институтом здравоохранения США (НИН) был запущен масштабный мультидисциплинарный проект стоимостью 170 миллионов долларов для изучения полного человеческого микробиома (Human Microbiome Project (HMP)). В работе над проектом, продолжавшимся с 2008 по 2017 годы, приняли участие около 200 ученых из 80 исследовательских институтов. Цель проекта – изучение микробных компонентов генетического и метаболического ландшафта человека, а также их роли в нормальном функционировании организма и его предрасположенности к заболеваниям [2].

В результате исследований выявлено, что в любой момент времени в человеческом организме сосуществуют от 500 до 1000 видов бактерий, каждая из которых обладает геномом, включающим тысячи генов. При этом изменения в микробиоме, микробном метаболизме и его взаимодействии с иммунной, эндокринной и нервной системами коррелируют с широким спектром заболеваний, начиная от воспалительного заболевания кишечника и заканчивая онкологическими заболеваниями и депрессивными расстройствами [3]. Существуют веские доказательства того, что микробиом человека представляет собой гораздо

более сильный фактор предрасположенности к определенным заболеваниям, нежели генотип. В настоящее время для лечения некоторых заболеваний уже применяются методы трансплантации микробиома здорового человека. Так, трансплантация фекальной микробиоты представляет собой клиническую процедуру, при которой фекалии здорового донора вводятся пациенту с помощью колоноскопии или клизмы для лечения потенциально фатальных госпитальных инфекций, вызванных *Clostridium difficile*, колита, запоров и синдрома раздраженной толстой кишки [4].

В то же время коллекция бактерий в микробиоме может существенно варьироваться от человека к человеку (рис.1), и мало известно о том, что приводит к этим вариациям. Состав человеческого микробиома уникален для каждого человека, а различия между индивидуумами больше, чем типичные биохимические различия. Колонизация человека подавляющим большинством микробов происходит во время рождения, вскоре после него и в первые годы жизни под воздействием материнского микробиома и окружающей среды, создавая уникальную для каждого индивидуума сигнатуру. При этом микробиом человека может в определенной степени изменяться под влиянием факторов окружающей среды, структуры питания и лечения антибиотиками.

Развитие методов быстрой и воспроизводимой характеристики микробиома может способствовать разработке новых диагностических биомаркеров и терапевтических средств для лечения многих заболеваний. При этом, помимо собственно биологических образцов для анализа микробиома, могут быть использованы индивидуальные вещи человека.

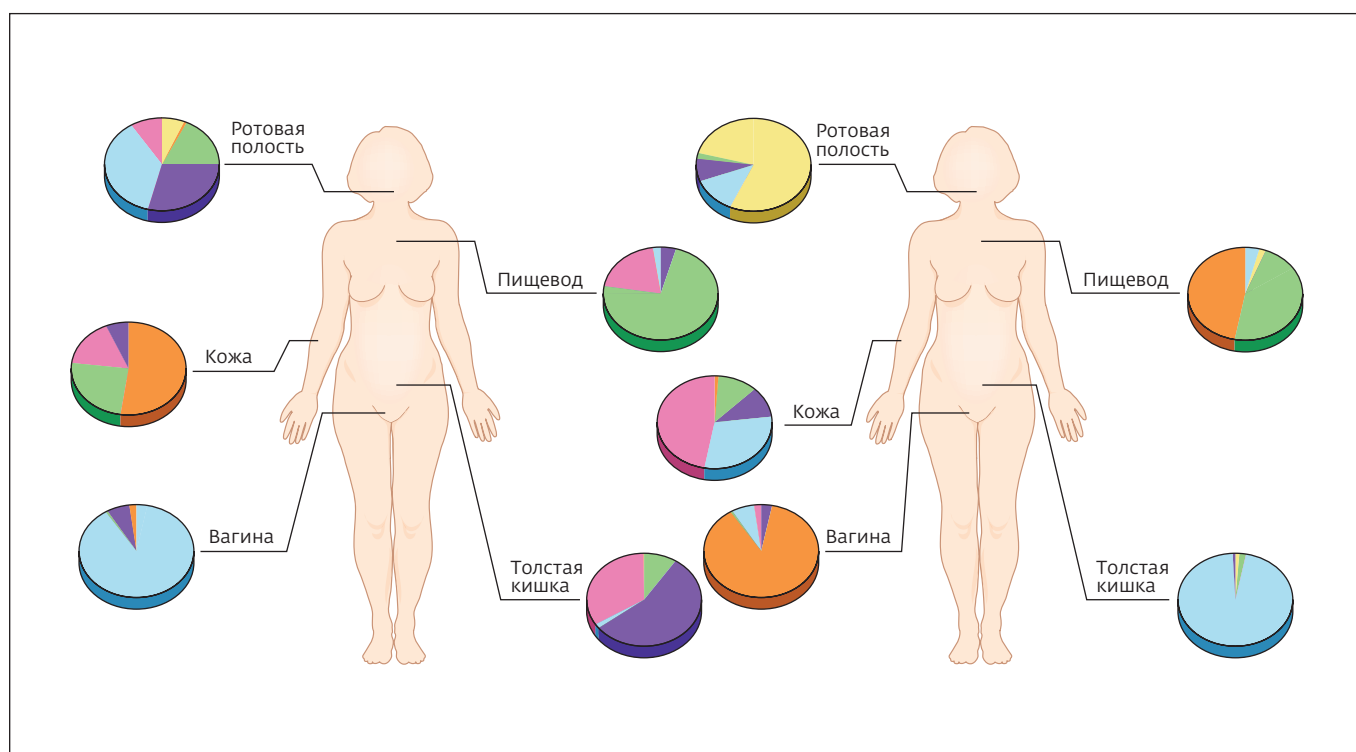


Рис.1. Микробиом в высокой степени уникален для человека. Разные виды бактерий обозначены разными цветами на диаграммах

Пожалуй, нет более распространенной личной вещи, чем сотовый телефон. Люди постоянно используют сотовую связь, разговаривают по телефону и сжимают его в руке, поэтому микробиом сотового телефона становится отражением микробиома кожи, волос, ротовой полости и ушной раковины человека. Ученые компании Zymo Research – производителя наборов для выделения и исследования нуклеиновых кислот ZymoBIOMICS изучили, какие микроорганизмы живут на сотовых телефонах и какую роль играет география пользователей в профиле распределения этих микроорганизмов [5].

Для изучения профиля микробиома применяли самый современный метод молекулярной биологии – высокопроизводительное секвенирование нового поколения (NGS, Next-gen sequencing), которое позволяет определять нуклеотидную последовательность ДНК с высокой скоростью. Это дает возможность обрабатывать массивные количества генетического материала в сжатые сроки. На основании полученных данных о нуклеотидной последовательности с помощью биоинформатики определяются геномы микроорганизмов, составляющих микробиом. Перед проведением процедуры секвенирования составляются библиотеки фрагментов генов микроорганизмов, которые может обработать высокопроизводительный секвенатор. В данной

статье применяется метод таргетного секвенирования, позволяющий прочитывать определенный интересующий участок генома, в частности, рибосомальную 16S РНК, что значительно упрощает дальнейшую обработку полученных данных.

Для проведения исследования собирали мазки с мобильных телефонов пользователей из разных стран, используя реактив ДНК/РНК Shield (Zymo Research, R1106). ДНК каждого образца была выделена с использованием набора для выделения ДНК микробиома ZymoBIOMICS (D4301) в соответствии с протоколом. Таргетное секвенирование парных прочтений проводили против V3-4-участка гена рибосомальной РНК бактериальной 16S рРНК с использованием целевого набора праймеров ZymoBIOMICS: V3-4. Библиотека для секвенирования была подготовлена с использованием метода ZymoBIOMICS Targeted Sequencing. Библиотеки ампликонов были очищены с помощью набора Select-a-Size DNA Clean & Concentrator (Zymo Research, D4080) с выделением фрагментов ≥ 200 пар оснований, а затем количественно определены и нормализованы. Окончательная библиотека была просеквенирована на Illumina MiSeq с использованием MiSeq Reagent Kit V3 (600 циклов). Секвенирование выполнялось с помощью 15%-ной контрольной библиотеки PhiX.

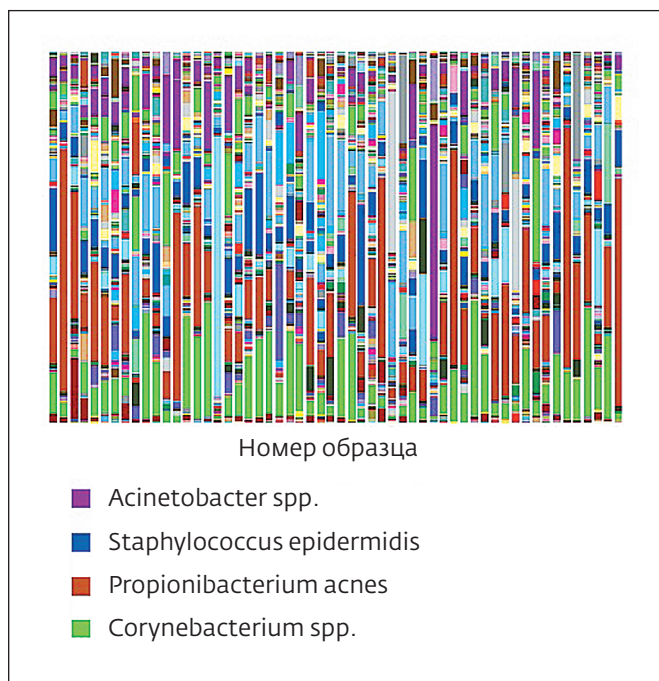


Рис.2. Количество таксонов бактериальных видов, идентифицированных с использованием таргетного секвенирования 16S рРНК в мазках с мобильных телефонов

Профили видов бактерий, идентифицированных в образцах, а также их относительное количество существенно варьировались от пробы к пробе (рис.2). Тем не менее в каждом исследуемом образце мобильного телефона обнаруживались три вида бактерий: *Propionibacterium*

acnes, *Staphylococcus epidermidis* и один вид бактерии рода *Acinetobacter*. Кроме того, в каждом образце, за исключением одного мазка с мобильного телефона жителя Канады, были обнаружены бактерии рода *Corynebacterium*. Все перечисленные выше четыре вида бактерий характерны для нормальной микрофлоры кожи человека [6].

На рис.3 показано распределение основных родов бактерий в образцах по географическим континентам. Несмотря на близкий качественный состав микробиома в различных участках земного шара, заметны различия в относительном содержании основных родов бактерий.

- Бактерии рода *Corynebacterium* идентифицированы в сходных количествах в образцах из Африки и Южной Америки и значительно превышают содержание этих бактерий в образцах из Азии и Европы и, особенно, из Северной Америки.
- Среднее относительное количество бактерий рода *Propionibacterium* намного меньше в образцах из Африки, чем в образцах с любого другого континента.
- Относительное распространение бактерий родов *Paracoccus* и *Acinetobacter* в Азии и Европе выше, чем на других континентах.
- Бактерий из рода *Pseudomonas* обнаруживали чаще всего на мобильных телефонах людей, проживающих в Северной Америке.

Бактерии рода *Alloicoccus* были идентифицированы в большинстве образцов сотовых телефонов, принадлежащих людям из стран Северной и Южной Америки, в половине образцов, полученных из стран

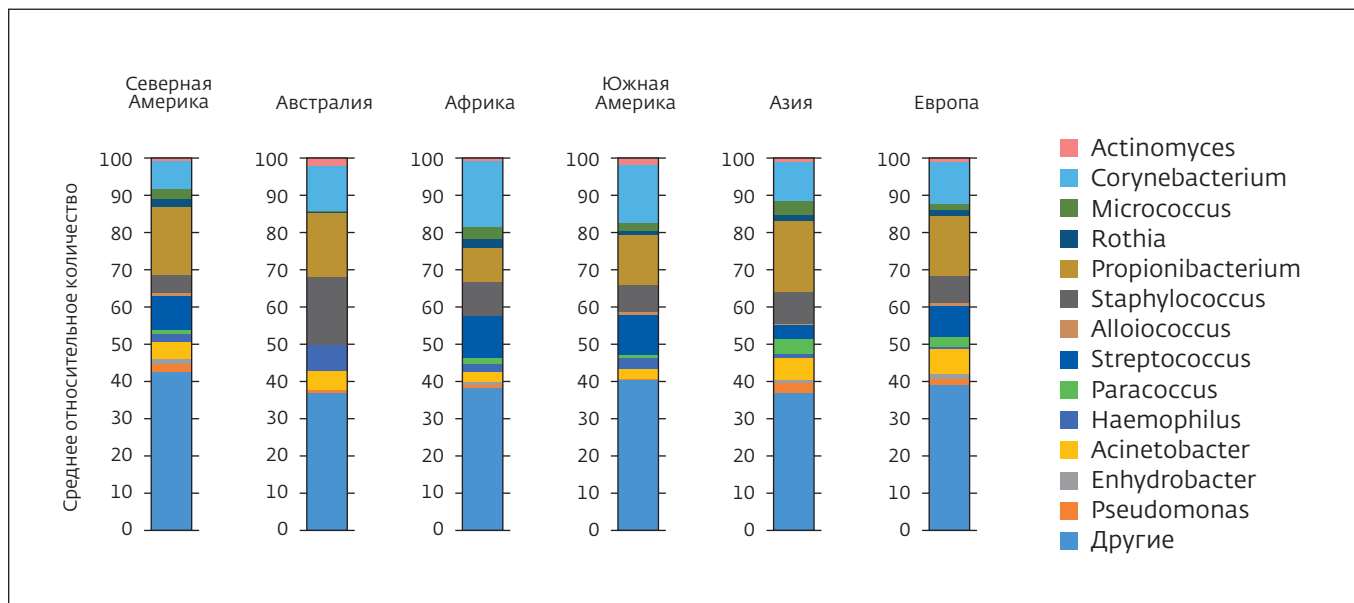


Рис.3. Средняя относительная численность 13 отобранных бактериальных родов в мазках с мобильного телефона, распределение по мировым континентам

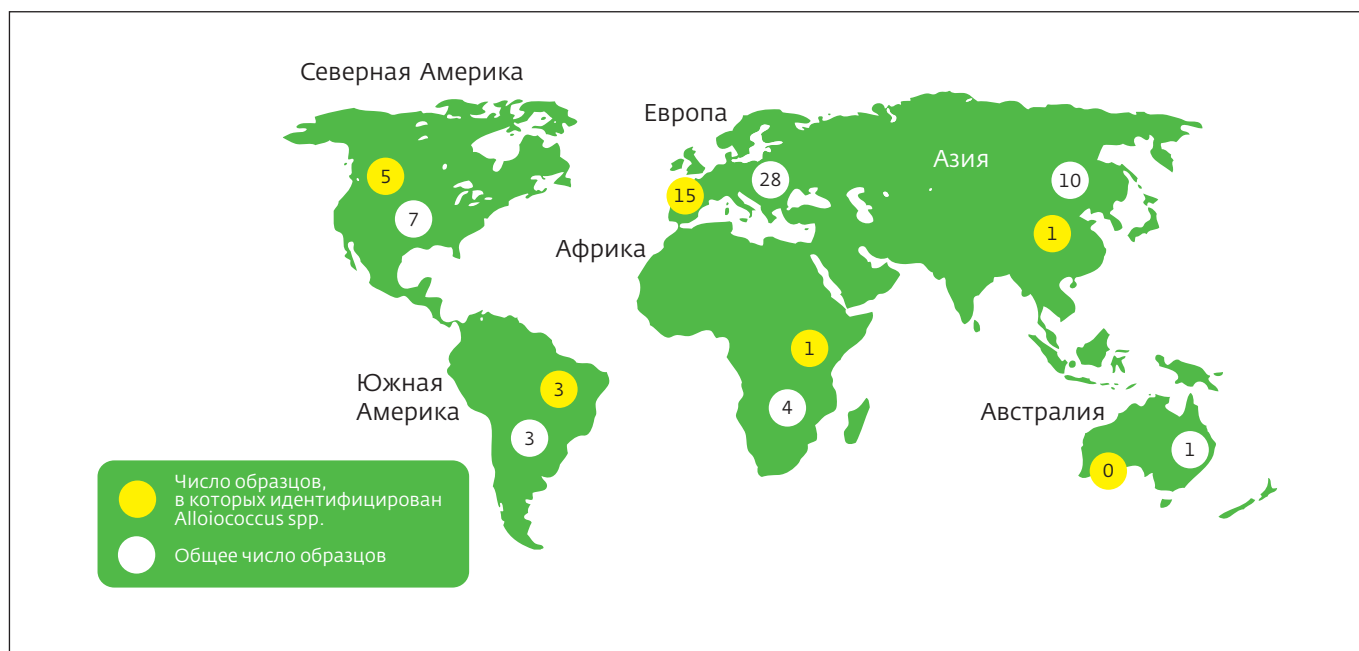


Рис.4. Количество образцов, в которых были идентифицированы бактерии рода *Alloioococcus* spp.

Европы, но отсутствовали в большинстве образцов из Австралии, Африки и Азии (рис.4). Таким образом, бактерии из рода *Alloioococcus* более распространены в нормальной микрофлоре людей, живущих в странах Западного полушария. В настоящее время известен только один вид бактерий из рода *Alloioococcus*, впервые выделенный из жидкости среднего уха человека. Первоначально этот вид считался патогенным организмом, однако новые исследования показали, что эти микроорганизмы могут быть синантропными бактериями в человеческой микрофлоре [7].

Кроме бактерий, которые обычно связаны с человеческой микрофлорой, были выделены некоторые несвойственные человеку микроорганизмы. Так, в одиннадцати образцах были обнаружены бактерии *Corynebacterium variabile*, а в семи образцах – *Pseudomonas fragi*. *Corynebacterium variabile* является частью сложной микрофлоры на поверхности созревающих сыров и способствует развитию их вкусовых и текстурных свойств [8], а *Pseudomonas fragi* часто встречается как бактерия порчи в молочных и мясных продуктах. Возможно, эти бактерии попали в образцы из-за того, что пользователи мобильных телефонов употребляли пищу, включающую сыры или мясо, незадолго до эксперимента.

Результаты исследования показали, что микробиом сотового телефона в значительной степени может характеризовать особенности микробиома пользователя и, таким образом, использоваться в исследовательских и диагностических целях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Hamady M., Fraser-Liggett C., Knight R., Gordon J.I. The human microbiome project: exploring the microbial part of ourselves in a changing world // Nature. 2007. Vol. 449. P. 804. doi:10.1038/nature06244
2. NIH Human Microbiome Project <https://hmpdacc.org/hmp/>
3. Gilbert J.A., Blaser M.J., Caporaso J.G., Jansson J.K., Lynch S.V., Knight R. Current understanding of the human microbiome // Nature Medicine. 2018. Vol. 24. P. 392. doi:10.1038/nm.4517
4. Gianotti R.J., Moss A.C. Fecal Microbiota Transplantation: From *Clostridium difficile* to Inflammatory Bowel Disease // Gastroenterol Hepatol (NY). 2017. Vol. 13(4). P. 209.
5. Science for Fun: The Microbiome of International Cellphones // Peanuts. A Biotechnical Newsletter. 2017. Vol. 14, No. 2. P. 56.
6. Davis C.P. Normal Flora. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7617/>
7. Tano K. et al. *Alloioococcus* otitidis – Otitis media pathogen or normal bacterial flora? // Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Ser C: Immunology. 2008. Vol. 116. P. 785–90. doi.org/10.1111/j.1600-0463.2008.01003.x.
8. Schröder J., Maus I., Trost E., Tauch A. Complete genome sequence of *Corynebacterium variabile* DSM 44702 isolated from the surface of smear-ripened cheeses and insights into cheese ripening and flavor generation // BMC Genomics. 2011. Vol. 12. P. 545. doi: 10.1186/1471-2164-12-545.