

Влияния спор *B. subtilis* GM5 на экспрессию генов в тканях слепого кишечника цыплят-бройлеров

Научный руководитель – Марданова Айслу Миркасымовна

Николаева Анастасия Александровна

Студент (магистр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия

E-mail: azazel1212@rambler.ru

Здоровье желудочно-кишечного тракта цыплят-бройлеров играет важную роль в повышении продуктивности сельскохозяйственных птиц. Пробиотики влияют на метаболизм, пищеварение и формирование иммунной системы птиц. Установлено влияние пробиотиков на основе разных штаммов *Bacillus* на иммунные параметры и регуляцию экспрессии белков плотного контакта (клаудина (CLDN1), адгезивного белка JAM2, белка цитоплазматической пластинки ZO1), поддерживающих целостность эпителиального барьера и регулирующих парацеллюлярную проницаемость кишечника. Также большое значение для метаболизма и защиты клеток кишечника имеет муцин - основной компонент слизи, представляющий собой гликопротеин с высокополимерной белковой структурой.

Целью работы являлась оценка влияния пробиотической добавки на основе спор *B. subtilis* GM5 на экспрессию генов CLDN1, JAM2, ZO1, ответственных за синтез белков плотного контакта, и гена MUC2 в тканях слепого кишечника цыплят-бройлеров.

Модельные эксперименты на цыплятах-бройлерах кросса Ross-308 были проведены в условиях фермерского хозяйства «Лачен». Из 1 суточных цыплят были сформированы 2 группы: контрольная (n=30), получавшая полнорационный комбикорм, опытная (n=30) -комбикорм с добавлением суспензии спор штамма GM5 в концентрации 1×10^7 КОЕ/г. Образцы ткани слепого кишечника длиной примерно 3 см были отобраны от 35 суточных цыплят-бройлеров (по три цыпленка из каждой группы). Содержимое слепого кишечника удаляли, образцы ткани промывали в PBS буфере и хранили в реагенте для стабилизации ДНК/РНК при -80°C . Из образцов ткани РНК была выделена с использованием реагента TRIzol. Концентрацию выделенной РНК оценивали с помощью Nanodrop 2000. Для измерения уровня экспрессии генов был использован метод количественной ОТ-ПЦР с использованием коммерческого набора OneTub RT-PCR SYBR и системы ПЦР в реальном времени (Bio-Rad iCycler). Уровни отдельных транскриптов были нормализованы по сравнению с уровнем экспрессии гена бета-актина (ACTB). Относительная экспрессия гена рассчитана с помощью алгоритма $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$, а количество гена-мишени - по формуле $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$.

В тканях слепого кишечника цыплят опытной группы уровень экспрессии гена адгезивного белка JAM2 повышался в 8.4 раза, а гена клаудина-1 (CLDN1) снижался в 4.8 раз относительно контроля ($p < 0.05$). У цыплят опытной группы уровень экспрессии белка цитоплазматической пластинки ZO1 не имел достоверных отличий относительно цыплят контрольной группы. Также показали, что экспрессия гена основного секреторного муцина (MUC2) была на одном уровне в тканях слепого кишечника цыплят опытной и контрольной групп. Таким образом, установлено, что добавление пробиотика *B. subtilis* GM5 в рацион цыплят-бройлеров Ross 308 приводит к изменению уровня экспрессии генов, ответственных за синтез белков плотного контакта в клетках слепого кишечника.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 20-34-90130.