

и лекарственной устойчивости соответственно. Это делает их перспективными для практического применения, поскольку они могут представлять собой более безопасные и менее устойчивые к антибиотикам варианты.

Литература

1. Martín R., Miquel S., Benevides L., Bridonneau C., Robert V., Hudault S., et al. Functional characterization of novel faecalibacterium prausnitzii strains isolated from healthy volunteers: A step forward in the use of *f. prausnitzii* as a next-generation probiotic. *Front. Microbiol.* 8. 2017. doi: 10.3389/fmicb.2017.01226
2. Machado D., Barbosa J.C., Domingos M., Almeida D., Andrade J.C., Freitas A.C., Gomes A.M. Revealing antimicrobial resistance profile of the novel probiotic candidate *Faecalibacterium prausnitzii* DSM 17677. *Int J Food Microbiol.* 2022 Feb 16;363:109501. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109501

Шафорост А.С., Воропаев Е.В., Зятков А.А., Осипкина О.В., Малаева Е.Г.
Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Системный анализ данных метагеномного секвенирования

Резюме

Системный анализ данных метагеномного секвенирования позволяет улучшить понимание роли микробиоты в жизнедеятельности человека в норме и патологии, повысить качество данных, которые могут быть использованы для построения персонализированных моделей микробиоты.

Ключевые слова: системный анализ, NGS, высокопроизводительное секвенирование, микробиота, персонализированная медицина

Abstract

Systemic analysis of metagenomic sequencing data allows us to improve our understanding of the role of microbiota in human life in health and disease, and to improve the quality of data, which, in the future, can be used to build personalized microbiota models.

Keywords: systemic analysis, NGS, high-throughput sequencing, microbiota, personalized medicine

Введение. Современные классические методы идентификации микроорганизмов (ПЦР и микробиологическое исследование) позволяют получить ограниченный объем информации о микробиоте исследуемого образца. Использование технологий секвенирования 2-го и 3-го поколения позволяет получать данные о качественном и количественном составе микробиоты. Для создания моделей структуры бактериального сообщества этой информации недостаточно, что делает актуальным поиск новых подходов к анализу получаемых данных с целью повышения их информативности и качества. К таковому относится системный анализ, который позволяет выявить свойства анализируемой системы за счет перекрестного анализа результатов различных методов.

Цель. Демонстрация возможностей системного анализа данных метагеномного секвенирования и перспектив использования данного подхода в персонализированной медицине.

Материалы и методы. Объектом исследования являются результаты метагеномного секвенирования образцов кала 7 пациентов с циррозом печени. Выделение ДНК проводили с помощью набора NucleoSpin DNA Stool (Macherey-Nagel), пробоподготовку образцов для секвенирования проводили согласно протоколу 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation, обогащение бактериальной матрицы выполняли согласно [1], секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq (картридж 600 циклов). Для биоинформатического анализа использовали приложения FastQC 0.12.1, preprocess16S 5.0.h, trimmomatic 0.39, DRAGEN Metagenomics Pipeline на веб-сервисе BaseSpace Sequence Hub. Для анализа характеристик выявленных бактерий использовали данные ресурсов PubMed, datapunk.net/substrata, tgw1916.net, bacdiver.dsmz.de, microbewiki.kenyon.edu.

Результаты. На основании результатов биоинформатического анализа, данных об аэробно-анаэробном статусе, патогенности и реакции на окрашивание по Граму микроорганизмов с относительной представленностью более 0,1% и/или наличием более 10 прочтений сформирован набор данных, представленный в таблице.

Фильтрация перечня выявленных видов по относительной представленности и количеству прочтений позволяет повысить качество данных для дальнейшего анализа. Высокая представленность свидетельствует о потенциальной важности вида и степени его влияния на общую функциональность микробиоты кишечника. В то время как минорные виды (<0,1%) могут быть представителями транзитной микробиоты, артефактом секвенирования или биоинформатического анализа. Таким образом, анализ представленности является инструментом верификации данных. Дополнение полученной информации данными об аэробно-анаэробном статусе, патогенности и реакции

Данные для системного анализа структуры микробиоты кишечника пациентов с циррозом печени

№ образца	Кол-во и суммарная представленность видов					Реакция на окрашивание по Граму			N патогенных и потенциально патогенных видов	Аэробно-анаэробный статус		
	Кол-во (N) видов общее	N видов >0.1% и/или 10 прочтений	Суммарная представленность >0.1% и/или 10 прочтений	N видов >1%	Суммарная представленность >1%	N Грам-положительные бактерии	N Грам-отрицательные бактерии	N Eucaryota/нет данных		N анаэробы	N аэробы	нет данных
1	173	24	97.13	7	89.99	15	6	3	1	18	4	2
2	193	48	97.41	16	88.11	20	23	5	2	37	8	3
3	210	65	96.68	15	82.16	27	28	10	5	46	10	9
4	193	37	94.89	11	83.90	13	15	9	3	18	7	12
5	195	65	95.70	19	82.33	26	27	12	4	41	11	13
6	151	34	94.99	19	86.00	17	12	5	7	16	11	7
7	139	34	95.65	20	87.25	15	12	7	7	15	10	9

на окрашивание по Граму позволяет расширить представление о характере протекающих в кишечнике пациента процессов.

Заключение. Использование вышеуказанных признаков в комплексе с результатами других исследований после соответствующей проверки позволяет получить в конечном итоге набор верифицированных данных для построения модели структуры микробиоты отдельного пациента, что является предварительной ступенью для разработки функциональной модели взаимодействия микробиоты кишечника пациента с организмом хозяина и внешними агентами.

Литература

1. Особенности пробоподготовки сложных образцов для метагеномного секвенирования на платформе Illumina Miseq / А.А. Зятков, А.С. Шафорост, О.Ю. Баранов, Е.В. Воропаев // Международная научно-практическая конференция «Молекулярная диагностика», 14–16 ноября 2023 г. – Москва, 2023. – С. 294.