

ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА «МЕДИЦИНА БУДУЩЕГО»
 НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ СОВЕТ
 «Трансляционная медицина»

КРАТКИЙ ПАСПОРТ

комплексного проекта полного цикла (КППЦ)

<i>Наименование проекта</i>	Разработка новых биомаркеров и наборов реагентов на их основе для оценки состояния пробиотической и выборочно условно-патогенной составляющей микробиоты человека в норме и при различных патологиях
<i>Период исполнения проекта</i>	С 2014г. по 2016г.
<i>Цель и задачи проекта (с декомпозицией на ближне-, средне- и долгосрочную перспективу)</i>	<p><u>Объектом исследований</u> является кишечная и вагинальная микробиота человека в норме и патологиях: ранние стадии заболеваний - диабет второго типа, атеросклероз; бактериальный вагиноз.</p> <p><u>Предметом исследовательских работ</u> является характеристика новых функциональных биомаркеров на основе глобальной регуляторной токсин-антитоксин системы (ТАС) второго типа для бифидобактерий, лактобацилл из кишечной микробиоты, лактобацилл и гарденелл из вагинальной микробиоты, а также установление пробиотических и метаболических биомаркеров, имеющих отношение к развитию исследуемых заболеваний. Разработка базируется на комплексе биомаркеров, инновационным элементом которых являются ТАС и экспериментально доказанными – метаболические и пробиотические гены, коррелирующие с исследуемыми заболеваниями.</p> <p><u>Цель:</u> Разработка набора регуляторных, метаболических и пробиотических генов, коррелирующих с исследуемыми заболеваниями.</p> <p>Задачи, решаемые в ходе реализации проекта:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Разработка комплекса функциональных биомаркеров на основе регуляторных генов ТАС второго типа и установленных пробиотических и метаболических генов для ранней диагностики диабета второго типа, атеросклероза и бактериального вагинита. • Разработка на основе комплекса разработанных генов - штаммовых маркеров компьютерной программы для анализа международных баз данных по метагеному человека. • Разработка экспресс-методов диагностики индивидуального состава микрофлоры человека на основе предложенных генов с целью идентификации отклонений от нормы, обусловленных диабетом второго типа, атеросклерозом и бактериальным вагинитом, а также построения прогноза течения заболевания. • Полномасштабное секвенирование репрезентативного количества геномов бифидобактерий и лактобацилл, выделенных из контрольной группы людей и людей на ранних стадиях диабета второго типа, атеросклероза и бактериального вагинита. Сравнительная геномика и анализ микробиома с целью выявления уникальных функциональных генов, важных для здоровья человека. • Создание банка индивидуальных образцов кишечной и вагинальной микробиоты здоровых людей и людей на ранних стадиях диабета второго типа, атеросклероза и бактериального вагинита.
<i>Финансирование</i>	Общее финансирование на весь период проекта - 90, в том числе:

<p><i>проекта (млн.руб.)</i></p>	<p>на 2014 год – 30 на 2015 год – 30 на 2016 год – 30</p>
<p><i>Основания для инициации проекта, актуальность проекта. (не более 1 стр)</i></p>	<p>Микробиота кишечника трактуется в настоящее время как новый сателлитный орган, играющий ключевую роль в становлении и поддержании иммунитета. Нарушения в нормальной микрофлоре кишечника коррелирует с различными заболеваниями, такими как болезнь воспаленного кишечника, некротный энтероколит, диабет, ожирение, онкология, аллергия и астма. Также существуют заболевания, коррелирующие с иммунными нарушениями, опосредованными изменениями в микробиоте кишечника и других ниш человека. При дисбалансе композиции микробиоты, происходят изменения в ее структуре с резким сокращением числа полезных пробиотических бактерий родов <i>Bifidobacterium</i> и <i>Lactobacillus</i> и увеличением числа патогенных микроорганизмов. Нарушения в микробиоценозах различной локализации наступают задолго до клинических проявлений и служат предвестником отклонений от нормы и началом патологий. Поэтому необходимо проводить контроль в количественном и качественном составе не только основных филогенетических групп микробиоты ключевой пробиотической составляющей микробиоценозов. Для выявления изменений в микробиоценозах, отражающих норму и патологию, возникает необходимость в создании быстрых и эффективных современных молекулярно-генетических методов диагностики. Метаболический синдром является фактором риска, исходом которого могут быть такие опасные заболевания как:</p> <ul style="list-style-type: none"> -сахарный диабет 2-го типа, тяжелые формы ожирения, -гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз периферических кровеносных сосудов, -подагра, синдром поликистозных яичников, эректильная дисфункция (импотенция) и жировое перерождение печени. <p>Микробиологические показатели свидетельствуют о распространении дисбиоза (нарушения в составе микрофлоры) толстой кишки у больных сахарным диабетом второго типа: I степени у 62,5 % больных, II степени у 59 %. У 50-60% пациентов с СД второго типа с сопутствующим дисбиозом толстой кишки наблюдается констипационный синдром.</p> <p>Выявлено, что кишечная микрофлора пациентов с сахарным диабетом второго типа обогащена грамотрицательными бактериями, принадлежащим к родам <i>Bacteroidetes</i> и <i>Proteobacteria</i>. Липополисахариды внешней мембраны грамотрицательных бактерий известны как мощные стимуляторы воспаления.</p> <p>Выявлено, что по сравнению со здоровыми людьми, в кишечнике пациентов с заболеваниями, являющимися осложнениями атеросклероза, обитает меньше бактерий, синтезирующих соединения, обладающих противовоспалительными свойствами, такие как масляная кислота.</p> <ul style="list-style-type: none"> - В их микрофлоре содержится больше микроорганизмов, продуцирующих молекулы, запускающие воспалительные процессы, в частности, грамотрицательные бактерии, содержащие липополисахариды, известные как мощные стимуляторы воспаления. -Установлено влияние микрофлоры кишечника на процессы транспорта холестерина. Дефицит бифидобактерий и активные

	<p>гнилостные процессы в толстом кишечнике способствуют накоплению в организме холестерина путем конвертации химических соединений, содержащихся в жирной пище, в молекулы, откладывающиеся на артериальных стенках.</p> <p>Нарушения микрофлоры влагалища коррелируют с заболеваниями: бактериальным вагинозом (БВ) и аэробным вагинитом (АВ).</p> <p>- Это влияет на репродуктивную функцию женщины (воспалительные заболевания органов малого таза, повышение риска развития поздних самопроизвольных выкидышей, преждевременных родов, постабортных эндометритов и другое).</p> <p>-Нарушения микрофлоры влагалища широко распространены в российской популяции. Так, БВ регистрируется у 5-19.2% женщин, АВ – у 8.3-10% .</p>
<p><i>Ожидаемый результат (не более 3 абзацев)</i></p>	<p>Будут разработаны новые функциональные биомаркеры для метагеномного анализа пробиотического компонента микробиома человека.</p> <p>Будет разработан экспресс-метод диагностики индивидуального состава (на уровне внутривидовых и штаммовых отличий) основных пробиотических и других групп бактерий микробиоты человека с целью идентификации и коррекции нарушений для раннего выявления патологических отклонений от нормы и будут направлены на развитие превентивной персонализированной медицины.</p> <p>Будут разработаны рекомендации по созданию инновационных пробиотических фармпрепаратов(фармобиотиков).</p> <p>Будет создан Биобанк «Биоресурс микробиоты человека».</p>
<p><i>Организационные участники проекта и управление проектом</i></p>	<p>ФГБУН Институт общей генетики имени Н.И.Вавилова РАН (ИОГен РАН) http://www.vigg.ru,</p> <p>ФГУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора http://www.crie.ru,</p> <p>Биологический факультет МГУ www.bio.msu.ru ,</p> <p>ФГБУН Государственный научный центр РФ Институт медико-биологических проблем РАН (ФГБУН ГНЦ РФ ИМБП РАН) www.imbp.ru,</p> <p>ГБОУ ВПО Тверская Государственная Медицинская Академия Минздрава России (ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России) http://tvergma.ru,</p> <p>ФГБУ "Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины" Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук (ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН www.iemrams.spb.ru,</p> <p>НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН http://www.niioip.ru/</p> <p>ФГБУ «НИИ питания» РАМН http://www.ion.ru/</p> <p>ООО «ИнтерЛабСервис» www.interlabservice.ru .</p> <p>ООО «Фармбактер»</p> <p>АНО «НИЦ «Биоан» www.bioan.ru</p> <p>Распределение выполняемых работ между участниками</p> <p>- ФГБУН ИОГен РАН, ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, АНО «НИЦ «Биоан» осуществляют отбор и полногеномное секвенирование отобранных референтных штаммов, разработку функциональных биомаркеров для метагеномного анализа,</p> <p>- ФГБУН ИОГен РАН, ФГУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Кафедра генетики Биологического факультета МГУ, ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН осуществляют разработку реагентов для диагностикумов исследуемой микробиоты и их</p>

	<p>апробацию,</p> <ul style="list-style-type: none"> - ФГБУН ГНЦ РФ ИМБП РАН. ФГУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России, ООО «ИнтерЛабСервис», ООО «Фармбактер» осуществляют сбор, характеристику и подготовку образцов кишечной, вагинальной и другой микрофлоры человека для анализа, в том числе метагеномного, - ИОГен РАН, ФГБУ «НИИ питания» РАМН, ФГУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора осуществляют изучение функции систем токсин-антитоксин, - ФГБУ «НИИ питания» РАМН осуществляет оценку безопасности и функционального потенциала (пробиотических свойств) исследуемых штаммов, - НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН РАМН осуществляет обследование и сбор образцов у лиц с бессимптомным атеросклерозом. <p>Головная организация КППЦ: ФГБУН Институт общей генетики имени Н.И.Вавилова РАН (ИОГен РАН) http://www.vigg.ru. Бизнес-партнер: ООО «ИнтерЛабСервис» www.interlabservice.ru .</p>
<p><i>Наличие Соглашения о Консорциуме</i></p>	<p>Есть Соглашение о Консорциуме Меморандум о взаимопонимании (страны ЕвразЭС) Меморандум о сотрудничестве с Food GmbH Jena Analytik-Consulting, Германия</p>
<p><i>Общий план реализации проекта, этапы проекта (не более 1,5 стр)</i></p>	<p>Проведение поиска новых генов - функциональных биомаркеров в доступных, аннотированных геномах бифидобактерий, лактобацилл и <i>G.vaginalis</i> с использованием современных биоинформатических подходов (базы данных NCBI и других, поисковых программ) и создание своей базы данных по генам - биомаркерам.</p> <p>Подбор и создание библиотеки уникальных праймеров к отобранным генам - функциональным биомаркерам.</p> <p>Отбор проб кишечного и вагинального содержимого от здоровых людей (референтная группа) и от людей на ранней стадии развития определенных патологий (опытная группа).</p> <p>Создание биобанка «Биоресурс микробиоты российского человека».</p> <p>Проведение масштабных эпидемиологических исследований, направленных на установление видового/штаммового состава пробиотической составляющей кишечной и вагинальной микробиоты человека при норме и патологиях, условно-патогенной флоры влагалища у здоровых женщин и пациенток с БВ/АВ.</p> <p>Полногеномное секвенирование штаммов <i>G.vaginalis</i>, полученных от здоровых женщин и пациенток с рецидивирующим БВ.</p> <p>Полногеномное секвенирование наиболее значимых штаммов бифидобактерий, лактобацилл, выделенных из здоровых и больных людей.</p> <p>Верификация обнаруженных полиморфизмов ТАС генов и других отобранных генов- биомаркеров с состоянием здоровья человека и создание моделей на основе этих генов для выявления, прогнозирования и коррекции нарушений в кишечной микробиоте людей.</p> <p>Разработка методики (на основе ПЦР, ПЦР в реальном времени) и набора</p>

	<p>реагентов для оценки состояния кишечной и вагинальной микробиоты человека в норме и при различных патологиях.</p> <p>С использованием технологий секвенирования нового поколения (HiSeq 2000 Illumina, Roche 454) проведение мультилокусного секвенирования ДНК образцов для метагеномного анализа кишечной и вагинальной микробиоты человека – видовой и штаммовой идентификации бактерий.</p> <p>Разработка нового технологического подхода к оценке состояния кишечной и вагинальной микробиоты на основе отобранных биомаркеров.</p> <p>Разработка рекомендаций по созданию инновационных пробиотических фармпрепаратов, направленных на лечение конкретных заболеваний, основанных на штаммах лактобацилл и бифидобактерий, выявленных только у здоровых людей.</p> <p>Для проведения экспериментальных работ привлекаются сторонние организации.</p> <p><u>Объект (объекты) исследования:</u> кишечная микробиота (состав кишечного содержимого) от 100 здоровых людей (референтная группа), от 100 людей на ранней стадии развития диабета второго типа (опытная группа); от 50 человек без атеросклеротических изменений (референтная группа), от 50 человек с утолщенной сосудистой стенкой (высокая предрасположенность к атеросклерозу), от 50 человек с атеросклеротическими бляшками (выраженный атеросклероз) (опытная группа), отобранная по определенным критериям, подобранным к конкретному заболеванию.</p> <p>Образцы вагинального содержимого от 100 пациенток с рецидивирующим БВ/АВ (опытная группа), а также от 100 здоровых женщин без БВ в анамнезе (референтная группа).</p> <p><u>Этап 1. Проведение поиска новых генов-функциональных биомаркеров бифидобактерий, лактобацилл, <i>G.vaginalis</i>.</u></p> <p><u>Этап 2. Создание биобанка «Биоресурс микробиоты российского человека».</u></p> <p><u>Этап 3. Мультилокусное секвенирование образцов ДНК из кишечной микробиоты для видовой и штаммовой характеристики содержащихся в ней лактобацилл и бифидобактерий.</u></p> <p><u>Этап 4. Мультилокусное секвенирование образцов ДНК из вагинальной микробиоты для видовой и штаммовой характеристики содержащихся в ней лактобацилл и бифидобактерий, а также для описания патогенных и непатогенных штаммов <i>G.vaginalis</i>.</u></p> <p><u>Этап 5. Разработка методических протоколов и рекомендаций для определения состава кишечной и вагинальной микробиоты здоровых и больных людей.</u></p> <p><u>Этап 6. Разработка рекомендаций по созданию инновационных пробиотических фармпрепаратов.</u></p>
Базовые инновации	В лаборатории Генетики микроорганизмов отдела генетических основ Института Общей Генетики им.Н.И.Вавилова РАН

<p><i>проекта - описание конкретных продуктов, которые будут получены в результате реализации КППЦ (не более 0,5 стр)</i></p>	<p>(http://www.vigg.ru/, http://www.rnbs.ru/) в последние годы проводится изучение сравнительной генетики и геномики пробиотических бактерий, а именно бифидобактерий и лактобацилл. В лаборатории за непродолжительный период достигнуты успехи в изучении генетических особенностей российских пробиотических культур. Приоритетными являются исследования ключевых адаптивных генов: генов систем токсин-антитоксин; генов сигнальных систем протеинкиназ (серин-треонинового и гистидинового типа); генов, кодирующие белки WhiB типа, которые являются регуляторами транскрипции, вовлеченными в адаптацию клеток бифидобактерий к стрессовым условиям. Эти адаптивные гены ранее практически не изучались, экспериментальных данных об их структуре и функциях в мировой литературе нет. Исследуются также гены, непосредственно вовлеченные в проявление бифидобактериями и лактобациллами пробиотических свойств: гены утилизации сахаров, гены синтеза бактериоцинов, гены синтеза экзополисахаридов, гены устойчивости к антибиотикам, а также гены коммуникации с клетками кишечника человека. В лаборатории проводится биоинформационный анализ геномов бифидобактерий и лактобацилл. Составлены генетические паспорта на ключевые гены. Разработаны методы для быстрого скрининга бифидобактерий и лактобацилл с использованием современных молекулярно генетических подходов, которые позволяют идентифицировать бактерии до уровня вида. Собрана коллекция пробиотических штаммов лактобацилл и бифидобактерий (более 200 штаммов). Разработана новая концепция создания фармпрепаратов на основе пробиотических бактерий. На базе ИОГен РАН, в первую очередь отдела генетических основ биотехнологий и отдела вычислительной системной биологии создана кафедра Биоинформатики МФТИ.</p>
<p><i>Конкурентные преимущества результатов проекта (не более 0,5 стр)</i></p>	<p>Предлагается новый методический подход на основе штаммоспецифической экспресс-диагностики ключевых пробиотических бактерий для отслеживания динамики пробиотического биоценоза у людей. Будут разработаны новые биомаркеры генетической адаптации бифидобактерий и лактобацилл на основе стресс-адаптивных генов системы токсин-антитоксин, в первую очередь MazE/F и RelB/E типов,, изменения сигнатуры этих генов до и после возникновения патологий. Будут разработаны новые наборы реагентов для диагностики нарушений в микробиоте различной локализации (кишечник, вагина), в состав которых будут входить уникальные праймеры и флуоресцентно-меченные (ФМ) гибридизационные зонды для определения штаммового и видового, разнообразия бактерий в норме и патологии, что позволит проводить раннюю диагностику заболеваний. Впервые реализован новый подход создания фармакопробиотиков, включающий полногеномное секвенирование и аннотацию входящих в состав препаратов штаммов, полный спектр иммуномодулирующей активности штаммов.</p>
<p><i>Формирование образа будущего (не более 0,5 стр)</i></p>	<p>Создание банка референтных российских штаммов лактобацилл и бифидобактерий с полномасштабным геномным и метаболомным анализом, а также создание паспортизированного банка индивидуальных образцов микробиоты здоровых людей и с патологиями, что послужит основой для разработок научного подхода в создании новых методов диагностики различных заболеваний.</p> <p>Разработка нового метода диагностики позволит осуществлять гибкий подход к каждому пациенту, обеспечивая возможность выбора тех</p>

	<p>микроорганизмов, которые имеют отношения к развитию клинической картины у конкретного человека.</p>
<p><i>Потенциальный рынок результатов проекта (не более 0,5 стр)</i></p>	<p>Проект соответствует приоритетному направлению развития науки, технологий и техники в Российской Федерации «Медицина и фармацевтика». В проекте будут реализованы следующие критические технологии: Биомедицинские и ветеринарные технологии; Геномные, протеомные и постгеномные технологии; Технологии снижения потерь от социально значимых заболеваний.</p> <p>Молекулярная диагностика для предиктивной и персонализированной медицины. Сфера применения: предиктивная и персонализированная медицина, фармацевтика, основа для формирования персонализированного криобанка микробиоты человека</p>
<p><i>Оценка социально-экономических эффектов, которые будут получены в результате реализации КППЦ. (не более 0,5 стр)</i></p>	<p>Основным эффектом от реализации КППЦ будет ускорение определения различных заболеваний человека: иммунных, онкогенных и других. Ряд заболеваний, таких как синдром воспаленного кишечника, неспецифический язвенный колит, некротизирующий энтероколит, диабет II типа, ожирение, аллергия и др., коррелируют с иммунными нарушениями, опосредованными изменениями в составе микробиоты кишечника человека. Создание иммунобиологических препаратов - фармакобиотиков, созданных на основе пробиотических штаммов в комплексной терапии с уже существующими препаратами позволяет подавить воспалительные процессы посредством изменения профиля цитокинов (ингибирование провоспалительных, индукция противовоспалительных цитокинов).</p>
<p><i>Меры регулирования, которые должны быть реализованы для внедрения разработки (продуктов) (законодательное, техническое, госзаказ, подготовка кадров, другие) (не более 0,5 стр)</i></p>	<p>Предполагается получить госзаказ, который предоставит возможность для дальнейшего успешного развития. Так же планируется провести подготовку кадров для достижения наиболее высоких конечных результатов и для обеспечения эффективной работы. Необходимо получить поддержку Правительства на создание Центр Биоресурсов Человека (ЦБЧ). В настоящее время головная организация подготовила проект доклинических исследований «Доклинические исследования отечественных инновационных лекарственных препаратов».</p>
<p><i>Организация, должность, ФИО, тел., эл. адрес контактного лица</i></p>	<p>ФГБУН Институт общей генетики имени Н.И.Вавилова РАН (ИОГен РАН) www.vigg.ru. Профессор, д.б.н, зав. отделом ИОГен РАН Даниленко Валерий Николаевич</p> <p>Москва, 119991, ГСП-1, ул.Губкина, д.3 Тел.: (499)135-3056; Тел./Факс: (499)135-4194; danilenk@rutenia.ru</p>

