

DOI 10.52368/2078-0109-2026-62-2-95-101
УДК 579.67:577.21:575.224

МОНИТОРИНГ НЕОДНОРОДНОСТИ ПОПУЛЯЦИИ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* С ПЛАЗМИДОЙ *PLACDUAL-IL-10/IL-22* ПО КОПИЙНОСТИ ПЛАЗМИД

Самойленко В.С. ORCID ID 0009-0003-8719-5946, Инютина А.В. ORCID ID 0009-0005-3291-1241
ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», г. Ставрополь, Российская Федерация

Статья посвящена оценке сегрегационной стабильности рекомбинантного штамма *Lactiplantibacillus plantarum* B-11007 с плазмидой *pLacDualIL-10/IL-22*, кодирующей цитокины IL-10 и IL-22. После 10 пассажей без селективного давления доля клеток, сохранивших плазмиду, составила 97,6% (контроль с пустым вектором — 82,1%), коэффициент вариации содержания плазмидной ДНК — 11,8% против 20,3% в контроле. Результаты подтверждают высокую генетическую стабильность конструкции, что обосновывает ее дальнейшее доклиническое изучение. **Ключевые слова:** рекомбинантные пробиотики; *Lactiplantibacillus plantarum*; плазмидный вектор *pLacDualIL-10/IL-22*; копияность плазмиды; ПЦР-верификация.

MONITORING OF THE HETEROGENEITY OF THE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* POPULATION WITH THE *PLACDUAL-IL-10/IL-22* PLASMID IN TERMS OF PLASMID COPY NUMBER

Samoylenko V.S., Inyutina A.V.

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “North-Caucasus Federal University”,
Stavropol, Russian Federation

The segregational stability of the recombinant strain *Lactiplantibacillus plantarum* B-11007 carrying the *pLacDualIL-10/IL-22* plasmid encoding the cytokines IL-10 and IL-22 was evaluated. After 10 passages without selective pressure, the proportion of cells retaining the plasmid was 97.6% (compared to 82.1% for the control with the empty vector), and the coefficient of variation for plasmid DNA content was 11.8% versus 20.3% in the control. These results confirm the high genetic stability of the construct, supporting its further preclinical evaluation. **Keywords:** recombinant probiotics; *Lactiplantibacillus plantarum*; plasmid vector *pLacDualIL-10/IL-22*; plasmid copy number; PCR verification.

Введение. Придание пробиотическим микроорганизмам дополнительных функциональных свойств открывает широкие перспективы для создания биотерапевтических препаратов нового поколения [8]. Однако практическая реализация этого подхода ограничена проблемой генетической стабильности рекомбинантных конструкций. Внесение в бактериальную клетку гетерологичной ДНК создает метаболическую нагрузку [5], что в отсутствие селективного давления может приводить к элиминации плазмид из популяции [2]. Следствием становится нарастающая гетерогенность, при которой лишь часть клеток сохраняет целевой генетический материал, что снижает предсказуемость биологического эффекта [3].

Особую остроту проблема стабильности приобретает при использовании рекомбинантных штаммов *in vivo*, в частности, в желудочно-кишечном тракте сельскохозяйственных животных [6]. Моделирование условий желудочно-кишечного тракта демонстрирует высокочастотную утрату плазмид [9] даже при сохранении жизнеспособности клеток. В отсутствие селективного давления антибиотиков [4] рекомбинантный штамм должен не только сохранять конкурентоспособность по отношению к нативной микробиоте, но и обеспечивать наследование плазмидной конструкции на протяжении поколений, достаточных для проявления терапевтического эффекта [1].

В настоящей работе объектом исследования выбран рекомбинантный штамм *Lactiplantibacillus plantarum*, предназначенный для применения в ветеринарии. Его потенциальное использование требует высокой генетической стабильности, поскольку непредсказуемая потеря плазмиды в процессе прохождения через желудочно-кишечный тракт нивелирует ожидаемый эффект, а гетерогенность популяции затрудняет стандартизацию готового продукта [7]. В синтетической биологии неоднородность экспрессии генов зачастую воспринимается как препятствие, тогда как в естественных микробных сообществах это явление способствует адаптации и выживанию. Следовательно, осознание механизмов данного феномена и возможность управления ими представляют собой необходимое условие для разработки устойчивых пробиотических систем.

Цель исследования направлена на детальное изучение гетерогенности, проявляемой популяцией рекомбинантного штамма *L. plantarum* B-11007/*pLacDualIL-10/IL-22*, в отношении

копийности плазмиды и ее сегрегационной сохранности в ходе длительного культивирования в отсутствие селективного давления.

Материалы и методы исследований. В 2024–2025 гг. экспериментальная работа выполнялась на базе Геномного Центра Северо-Кавказского федерального университета, а также в бактериологической лаборатории Ставропольского государственного аграрного университета. В ходе работы была проведена оценка стабильности рекомбинантного штамма *Lactiplantibacillus plantarum* B-11007, который несет плазмиду *pLacDualL-10/IL-22*. Изучению подверглись сегрегационная и структурная устойчивость плазмидной конструкции в условиях продолжительного культивирования без применения селективного давления, а также уровень внутривидовой вариативности по количеству плазмидной ДНК.

В качестве объекта исследования использован штамм *L. plantarum* B-11007, трансформированный плазмидой *pLacDualL-10/IL-22*. Данная плаزمида содержит гены IL-10 и IL-22 под контролем конститутивных промоторов, а также селективные маркеры, обеспечивающие устойчивость к эритромицину и хлорамфениколу.

Контроль — штамм с «пустым» вектором *pLacDual*. Культуры хранили при -80°C в среде MRS с 20% глицерина.

Сегрегационную стабильность оценивали серийным пассированием в среде MRS без антибиотиков. Исходные культуры выращивали на среде MRS с антибиотиками (24 ч, 37°C , анаэробно), затем клетки отмывали PBS и ресуспендировали в среде без антибиотиков. Пассирование проводили ежедневным пересевом 1% культуры в свежую среду. После 10 пассажей (70–80 поколений) отбирали пробы на 0, 1, 3, 5, 7 и 10 пассажах.

Структурную целостность плазмиды проверяли рестрикционным анализом. Плазмидную ДНК выделяли из ночной культуры (набор GeneJET Plasmid Miniprep Kit) с дополнительным лизоцимным лизисом. Очищенную ДНК гидролизовали EcoRI, фрагменты разделяли в 1%-ном агарозном геле и сравнивали с ожидаемой рестрикционной картой.

Долю плазмидосодержащих клеток определяли колониевой ПЦР. На каждом пассаже высевали культуру на среду без антибиотиков, отбирали не менее 100 колоний, лизировали и проводили ПЦР с праймерами к гену ermB. Продукты анализировали электрофорезом, долю позитивных колоний выражали в процентах.

Относительную копиюность плазмиды оценивали методом qPCR на пассажах 5 и 10. Тотальную ДНК выделяли (DNeasy Blood & Tissue Kit), амплификацию проводили с SYBR Green I и праймерами к плазмидному гену cat и хромосомному гену rhes. Копиюность рассчитывали методом $\Delta\Delta\text{Ct}$ с нормализацией на хромосомный референс.

Внутрипопуляционное распределение плазмидной ДНК изучали с помощью флуоресцентной микроскопии с SYBR Green I. Клетки (пассажи 5 и 10) фиксировали 70%-ным этанолом, окрашивали SYBR Green I (разведение 1:100), анализировали на микроскопе Axio Imager (возбуждение 488 нм, эмиссия 522 нм). В каждом образце подсчитывали не менее 500 клеток, классифицируя их по интенсивности сигнала (яркий, сниженный, отсутствует). Гомогенность популяции оценивали по коэффициенту вариации (CV) интенсивности флуоресценции, измеренной для не менее 100 клеток на образец. Нормализацию проводили по сигналу штамма с целевой плазмидой на 5-м пассаже.

Все эксперименты выполнены в трех биологических повторностях. Статистическую обработку проводили в GraphPad Prism, различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследований. В ходе выполнения работы была проведена комплексная оценка влияния рекомбинантной вставки на стабильность поддержания плазмиды *pLacDualL-10/IL-22* в популяции *L. plantarum* B-11007 при длительном культивировании в отсутствие селективного давления. Анализ включал как определение доли плазмидосодержащих клеток, так и количественную оценку внутривидовой гетерогенности по содержанию плазмидной ДНК. Контролем служил штамм, несущий «пустой» вектор *pLacDual*, что позволяло дифференцировать эффект, связанный с присутствием целевых генов, от эффектов, обусловленных свойствами самого вектора.

Первым этапом стала оценка сегрегационной стабильности методом колониевой ПЦР с детекцией гена ermB. Динамика изменения доли ПЦР-положительных колоний в процессе пассирования представлена на рисунке 1.

Полученные данные демонстрируют, что оба штамма сохраняли высокую долю плазмидосодержащих клеток на протяжении первых пяти пассажей (более 95%). Однако к десятому пассажу различия между ними становились выраженными: для штамма с целевой конструкцией доля позитивных колоний составила $79,8 \pm 2,5\%$, тогда как для контроля этот показатель снизился до $66,2 \pm 2,8\%$.

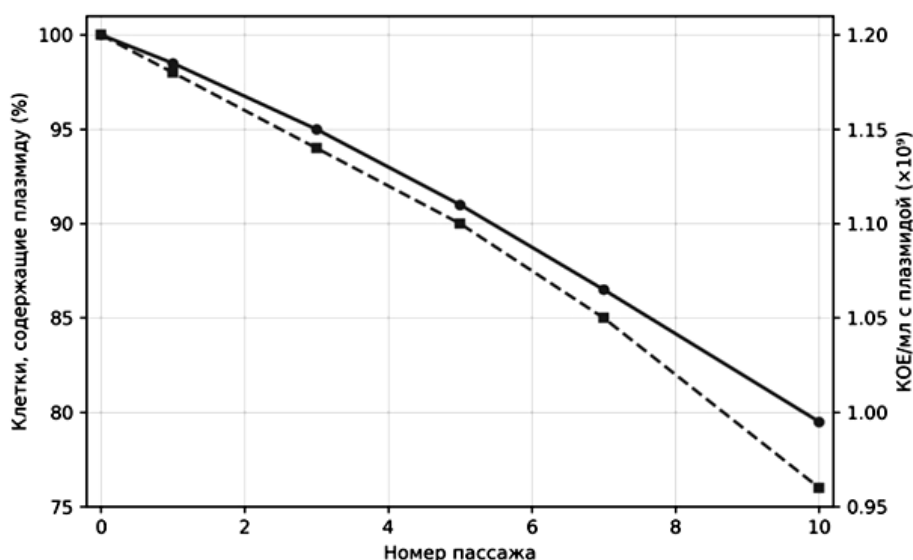


Рисунок 1 – Динамика доли ПЦР-положительных клеток штамма *L. plantarum* (B-11007) + *pLacDualIL-10/IL-22* в процессе пассирования без селективного давления

Для подтверждения структурной целостности плазмиды в процессе пассирования был проведен рестрикционный анализ гидролизатом EcoRI. На всех исследованных пассажах (0, 5, 10) как для целевой конструкции, так и для пустого вектора наблюдалась идентичная рестрикционная картина, соответствующая теоретически рассчитанным размерам фрагментов (таблица 1). Отсутствие дополнительных или измененных фрагментов указывает на то, что в ходе длительного культивирования не происходило крупных делеций, инсерций или перестроек в структуре плазмидной ДНК. Таким образом, наблюдаемое снижение доли ПЦР-положительных клеток обусловлено именно сегрегационной, а не структурной нестабильностью.

Таблица 1 – Рестрикционный анализ плазмидной ДНК, выделенной из штаммов *L. Plantarum* B-11007 на различных этапах пассирования

Пассаж	Плазмидная конструкция	Ожидаемые фрагменты (п.н.)	Наблюдаемые фрагменты (п.н.)	Соответствие
0	<i>pLacDualIL-10/IL-22</i> 3850	3850, 2100, 950	~3850, ~2100, ~950	Полное
5	<i>pLacDualIL-10/IL-22</i> 3850	3850, 2100, 950	~3850, ~2100, ~950	Полное
10	<i>pLacDual</i> (контроль)	4700, 950	~4700, ~950	Полное
0	<i>pLacDual</i> (контроль)	4700, 950	~4700, ~950	Полное
5	<i>pLacDual</i> (контроль)	4700, 950	~4700, ~950	Полное
10	<i>pLacDual</i> (контроль)	4700, 950	~4700, ~950	Полное

Дополнительно, для оценки стабильности копийности плазмиды на молекулярном уровне, на пассажах 5 и 10 была выполнена количественная ПЦР в реальном времени с нормализацией на хромосомный ген *rheS*. Результаты, представленные в таблице 2 и дополненные рисунком 2, показывают, что относительная копийность целевой плазмиды *pLacDualIL-10/IL-22* оставалась стабильной на протяжении всего эксперимента ($0,94 \pm 0,07$ отн. ед. на 10 пассаже), тогда как копийность пустого вектора к 10-му пассажу снизилась до $0,77 \pm 0,06$ отн. ед., что статистически значимо отличается от исходного уровня ($p < 0,05$). Это свидетельствует о том, что даже в клетках, сохранивших плазмиду, ее среднее содержание может варьировать, и присутствие целевой вставки способствует поддержанию более стабильного уровня репликации или более равномерного распределения копий между дочерними клетками.

Таблица 2 – Относительная копийность плазмид в клетках *L. plantarum* B-11007 по данным qPCR (нормализовано на пассаж 5)

Пассаж	Плазмидная конструкция	Относительная копийность (отн. ед.)
5	<i>pLacDualIL-10/IL-22</i>	$1,00 \pm 0,08$
10	<i>pLacDualIL-10/IL-22</i>	$0,94 \pm 0,07$
5	<i>pLacDual</i> (контроль)	$1,00 \pm 0,09$
10	<i>pLacDual</i> (контроль)	$0,77 \pm 0,06^*$

Примечание. * - различия с пассажем 5 статистически значимы ($p < 0,05$).

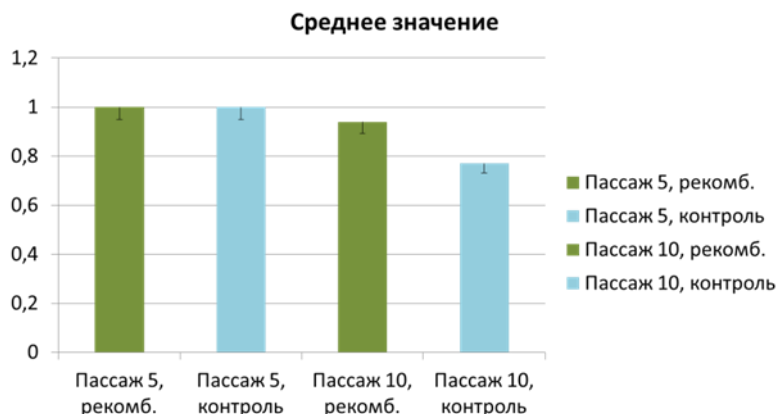


Рисунок 2 – Относительная копийность плазмид в клетках *L. plantarum* B-11007 после 5 и 10 пассажей в среде без антибиотиков

*Примечания: относительную копийность определяли методом qPCR с нормализацией на хромосомный ген pheS. Значения на пассаже 5 для каждого штамма приняты за 1,00. Представлены средние значения и стандартные отклонения (SD) (n=3). * – p < 0,05 по сравнению со значением контрольного штамма на пассаже 5.*

Наиболее информативные данные о внутривидовой гетерогенности были получены методом флуоресцентной микроскопии с окрашиванием SYBR Green I. Визуальный анализ препаратов выявил отчетливые различия: популяция штамма, несущего целевую плазмиду, характеризовалась высокой однородностью флуоресцентного сигнала, тогда как в контроле присутствовало заметное количество клеток со сниженной интенсивностью свечения или полностью его лишенных (рисунок 3).

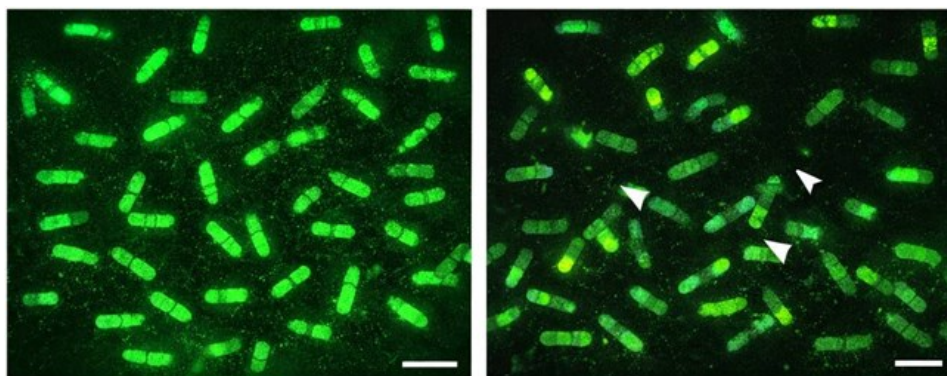


Рисунок 3 – Флуоресцентная микроскопия внутривидового распределения

Количественный анализ не менее 500 клеток на образец подтвердил эти наблюдения. На рисунке 4 представлено распределение клеток по категориям в зависимости от интенсивности сигнала. Видно, что доля клеток с равномерным ярким сигналом у рекомбинантного штамма после 10 пассажей составила 97,6%, что лишь незначительно уступало показателю на пятом пассаже (98,4%). В контрольной популяции этот показатель снизился с 89,7% до 82,1%, при этом доля слабосигнальных и полностью негативных клеток возросла более чем в два раза.

Для статистической характеристики гомогенности популяции был рассчитан коэффициент вариации интенсивности флуоресценции. У штамма с плазмидой *pLacDualIL-10/IL-22 CV* составил 11,8%, что в 1,7 раза ниже, чем у контрольного штамма (20,3%). Столь выраженное различие является прямым доказательством того, что присутствие целевых генов IL-10 и IL-22 способствует формированию и поддержанию более однородной популяции по признаку содержания плазмидной ДНК. Нормализованная средняя интенсивность флуоресценции, отражающая среднюю копийность плазмиды на клетку, также была выше у рекомбинантного штамма (100% против 82% в контроле), что коррелирует с данными qPCR.

Анализируя экспериментальные данные, можно заключить, что повышенная устойчивость рекомбинантной плазмидной конструкции (по сравнению с пустым вектором), вероятно, объясняется совокупностью причин. Как известно, определяющую роль в надежном наследовании плазмид играют определенные нуклеотидные мотивы, которые обеспечивают взаимодействие с партнерскими белками и образование комплексов в области локуса, отвечающего за стабильность.

В данном случае встраивание кодирующих последовательностей IL-10 и IL-22, вероятно, привело к изменению вторичной конформации плазмидной ДНК либо к возникновению дополнительных участков связывания для белков, задействованных в процессах репликации и сегрегации, что интенсифицировало протекание этих процессов. Помимо этого, трехмерная упаковка и временные взаимодействия плазмидных копий внутри бактериальной клетки способны заметно влиять на неравномерность их расхождения по дочерним клеткам. Таким образом, присутствие добавочных фрагментов ДНК могло изменить характер подобных взаимодействий, обеспечив более гомогенное распределение плазмид при делении.

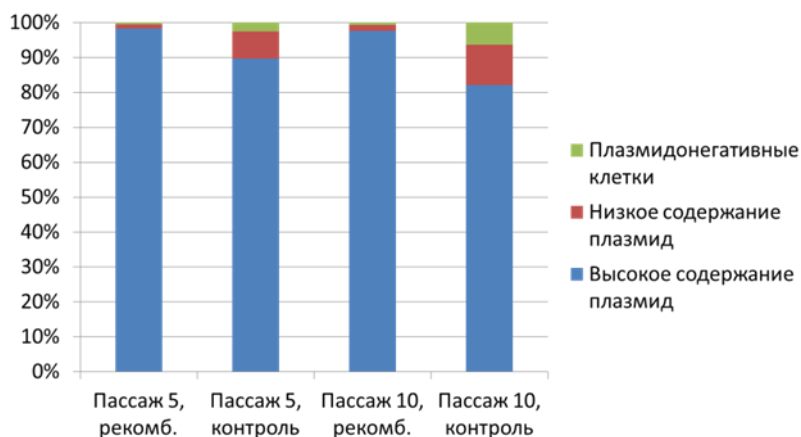


Рисунок 4 – Распределение клеток *L. plantarum* B-11007 по уровню флуоресценции после окрашивания SYBR Green I

Примечания: представлены средние доли клеток с высоким, сниженным и нулевым уровнем сигнала (содержанием плазмидной ДНК) после 5 и 10 пассажей в среде без антибиотиков. Для каждого образца подсчитывали не менее 500 клеток. IL-10/22 – штамм с плазмидой pLacDualIL-10/IL-22, контроль – штамм с пустым вектором pLacDual.

Кроме того, не следует исключать вероятность того, что продукция гетерологичных полипептидов (IL-10 и IL-22) формирует специфическую селективную нагрузку, при которой клетки, элиминировавшие плазмиду, не обретают столь выраженного преимущества в темпах пролиферации по сравнению с ситуацией использования «молчащего» вектора. Известно, что в ряде случаев присутствие плазмиды способно обеспечивать клетке неочевидные метаболические выгоды, проявляющиеся лишь при определенных условиях. Также допустимо, что сама нуклеотидная последовательность встраиваемого фрагмента содержит локусы, усиливающие стабильность плазмиды на этапе репликации (например, дополнительные точки инициации). Разные линии бактерий могут заметно различаться по способности сохранять плазмидные конструкции, что свидетельствует о существенной роли специфических взаимодействий между плазмидой и бактериальной клеткой-хозяином. В любом случае, явление стабилизации плазмиды за счет гетерологичной вставки ДНК требует специального дальнейшего изучения, поскольку оно создает предпосылки для разработки более устойчивых векторов.

Таким образом, комплексное применение нескольких независимых подходов (включая колониальную ПЦР, рестрикционный анализ, количественную ПЦР и флуоресцентную микроскопию) позволяет сделать обоснованный вывод о том, что плаزمида *pLacDualIL-10/IL-22* характеризуется высокой сегрегационной и структурной устойчивостью в клетках штамма *L. plantarum* B-11007. Даже после 70–80 циклов деления — временного интервала, сопоставимого с продолжительностью промышленного культивирования или курса пробиотической терапии, — популяция остается в значительной степени гомогенной по уровню содержания плазмидной ДНК. Данный факт служит обязательным (хотя и недостаточным) основанием для перехода к доклиническим испытаниям. В то же время обнаруженные отличия от контрольного вектора с очевидностью демонстрируют необходимость эмпирического подбора оптимальной пары «штамм – плазмид», поскольку даже незначительные модификации генетической конструкции способны кардинально менять ее поведение внутри микробной популяции. Уровень продукции гетерологичных белков и обусловленная им метаболическая нагрузка могут радикально влиять как на жизнеспособность бактериальных клеток, так и на сохранность генетических конструкций — фактор, который обязательно следует принимать во внимание при конструировании рекомбинантных штаммов, предназначенных для практического использования.

Закключение. По итогам выполнения экспериментальной части работы было установлено, что

рекомбинантная плазмида *pLacDuallL-10/IL-22* демонстрирует высокий уровень сегрегационной и структурной устойчивости в бактериальных клетках *Lactiplantibacillus plantarum B-11007*. С применением колониевой ПЦР выявлено, что по прошествии 10 циклов пересева (что соответствует 70–80 генерациям) доля клеток, сохранивших плазмиду, достигает 79,8%, что статистически значительно превышает соответствующий показатель для контрольного вектора без вставки (66,2%). Рестрикционный анализ подтвердил отсутствие каких-либо структурных нарушений в плазмидной ДНК на всех этапах культивирования; данные количественной ПЦР, в свою очередь, зафиксировали неизменность относительного числа копий исследуемой плазмиды, тогда как в контроле этот параметр достоверно снижался. Метод флуоресцентной микроскопии позволил обнаружить гомогенизирующее влияние целевого фрагмента: у рекомбинантного штамма после 10 пассажей доля клеток с высокой концентрацией плазмидной ДНК составила 97,6%, а коэффициент вариации интенсивности флуоресцентного сигнала оказался в 1,7 раза ниже, чем в варианте с пустым вектором. Совокупность полученных результатов указывает на то, что интеграция последовательностей IL-10 и IL-22 не только не нарушает стабильность плазмиды, но и способствует формированию более однородной популяции по содержанию внехромосомной ДНК. Таким образом, разработанная конструкция *pLacDuallL-10/IL-22* может рассматриваться в качестве генетически стабильной основы для создания пробиотического препарата с иммуномодулирующими свойствами, что обосновывает целесообразность ее дальнейшего доклинического изучения.

Conclusion. Based on the results of the experimental phase, it was established that the recombinant plasmid *pLacDuallL-10/IL-22* demonstrates a high level of segregational and structural stability in bacterial cells of *Lactiplantibacillus plantarum B-11007*. Using colony PCR, it was found that after 10 subculture cycles (corresponding to 70–80 generations), the proportion of cells retaining the plasmid reaches 79.8%, which is statistically significantly higher than the corresponding value for the control vector without the insert (66.2%). Restriction analysis confirmed the absence of any structural abnormalities in the plasmid DNA at all stages of cultivation; quantitative PCR data, in turn, recorded the unchanged relative copy number of the target plasmid, whereas this parameter significantly decreased in the control. Fluorescence microscopy revealed a homogenizing effect of the target fragment: in the recombinant strain after 10 passages, the proportion of cells with a high concentration of plasmid DNA was 97.6%, and the coefficient of variation of the fluorescence signal intensity was 1.7 times lower than in the variant with the empty vector. The totality of the obtained results indicates that the integration of the IL-10 and IL-22 sequences does not disrupt plasmid stability but rather contributes to the formation of a more uniform population in terms of extrachromosomal DNA content. Thus, the developed construct *pLacDuallL-10/IL-22* can be considered a genetically stable basis for creating a probiotic preparation with immunomodulatory properties, which substantiates the feasibility of its further preclinical study.

Список литературы.

1. Genetic Entanglement Enables Ultrastable Biocontainment in the Mammalian Gut / G. W. Foo, A. S. Uruthirapathy, C. Q. Zhang [et al.] // *ACS Synth Biol.* – 2025. – Vol. 14(9). – P. 3696-3708. doi: 10.1021/acssynbio.5c00412.
2. Segregational instability of multicopy plasmids: A population genetics approach / J. C. R. Hernandez-Beltran, V. Miró Pina, A. Siri-Jégousse [et al.] // *Ecol Evol.* – 2022. – Vol. 12(12). – e9469. doi: 10.1002/ece3.9469.
3. Kumar, S. Engineering plasmid copy number heterogeneity for dynamic microbial adaptation / S. Kumar, A. Lezia, J. Hasty // *Nat Microbiol.* – 2024. – Vol. 9(8). – P. 2173–2184. doi: 10.1038/s41564-024-01706-w.
4. Evolutionary model for the unequal segregation of high copy plasmids / K. Münch, R. Münch, R. Biedendieck [et al.] // *PLoS Comput Biol.* – 2019. – Vol. 15(3). – e1006724. doi: 10.1371/journal.pcbi.1006724.
5. Oftadeh, O. Genome-scale models of metabolism and expression predict the metabolic burden of recombinant protein expression / O. Oftadeh, V. Hatzimanikatis // *Metab Eng.* – 2024. – Vol. 84. – P. 109–116. doi: 10.1016/j.ymben.2024.06.005.
6. Sağlam, H. Plasmid stability of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains in artificial gastric juice, at elevated temperature, and in the presence of novobiocin and acriflavine / H. Sağlam, A. G. Karahan // *Arch Microbiol.* – 2021. – Vol. 203(1). – P. 183–191. doi: 10.1007/s00203-020-02017-4.
7. Sánchez-Romero, M. A. Copy Number Heterogeneity in the Virulence Plasmid of *Salmonella enterica* / M. A. Sánchez-Romero, A. Mérida-Floriano, J. Casadesús // *Front Microbiol.* – 2020. – Vol. 4 (11). – P. 599931. doi: 10.3389/fmicb.2020.599931.
8. Toshimitsu, T. Development of a lactic acid bacteria strain that suppresses chronic inflammation and improves glucose and lipid metabolism / T. Toshimitsu // *Biosci Microbiota Food Health.* – 2023. – Vol. 42(1). – P. 3–7. doi: 10.12938/bmfh.2022-054.
9. The insertion of the inverted repeat of an insertion sequence (IS) element from *Lactocaseibacillus rhamnosus* changes the host range and stability of pGK12, a shuttle vector for lactic acid bacteria / Z. Xie, Y.-S. Jin, T. R. Klaenhammer, M. J. Miller // *Appl Environ Microbiol.* – 2025. – Vol. 91(4). – e0190824. doi: 10.1128/aem.01908-24.

References.

1. Genetic Entanglement Enables Ultrastable Biocontainment in the Mammalian Gut / G. W. Foo, A. S. Uruthirapathy, C. Q. Zhang [et al.] // *ACS Synth Biol.* – 2025. – Vol. 14(9). – P. 3696-3708. doi: 10.1021/acssynbio.5c00412.

2. Segregational instability of multicopy plasmids: A population genetics approach / J. C. R. Hernandez-Beltran, V. Miró Pina, A. Siri-Jégousse [et al.] // *Ecol Evol.* – 2022. – Vol. 12(12). – e9469. doi: 10.1002/ece3.9469.
3. Kumar, S. Engineering plasmid copy number heterogeneity for dynamic microbial adaptation / S. Kumar, A. Lezia, J. Hasty // *Nat Microbiol.* – 2024. – Vol. 9(8). – P. 2173–2184. doi: 10.1038/s41564-024-01706-w.
4. Evolutionary model for the unequal segregation of high copy plasmids / K. Münch, R. Münch, R. Biedendieck [et al.] // *PLoS Comput Biol.* – 2019. – Vol. 15(3). – e1006724. doi: 10.1371/journal.pcbi.1006724.
5. Oftadeh, O. Genome-scale models of metabolism and expression predict the metabolic burden of recombinant protein expression / O. Oftadeh, V. Hatzimanikatis // *Metab Eng.* – 2024. – Vol. 84. – P. 109–116. doi: 10.1016/j.ymben.2024.06.005.
6. Sağlam, H. Plasmid stability of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains in artificial gastric juice, at elevated temperature, and in the presence of novobiocin and acriflavine / H. Sağlam, A. G. Karahan // *Arch Microbiol.* – 2021. – Vol. 203(1). – P. 183–191. doi: 10.1007/s00203-020-02017-4.
7. Sánchez-Romero, M. A. Copy Number Heterogeneity in the Virulence Plasmid of *Salmonella enterica* / M. A. Sánchez-Romero, A. Mérida-Floriano, J. Casadesús // *Front Microbiol.* – 2020. – Vol. 4 (11). – P. 599931. doi: 10.3389/fmicb.2020.599931.
8. Toshimitsu, T. Development of a lactic acid bacteria strain that suppresses chronic inflammation and improves glucose and lipid metabolism / T. Toshimitsu // *Biosci Microbiota Food Health.* – 2023. – Vol. 42(1). – P. 3–7. doi: 10.12938/bmfh.2022-054.
9. The insertion of the inverted repeat of an insertion sequence (IS) element from *Lactocaseibacillus rhamnosus* changes the host range and stability of pGK12, a shuttle vector for lactic acid bacteria / Z. Xie, Y.-S. Jin, T. R. Klaenhammer, M. J. Miller // *Appl Environ Microbiol.* – 2025. – Vol. 91(4). – e0190824. doi: 10.1128/aem.01908-24.

Поступила в редакцию 22.03.2026.

DOI 10.52368/2078-0109-2026-62-2-101-107

УДК 619:616.151:636.92

ПРИМЕНЕНИЕ ФУЛЛЕРЕНОЛА КАК РАДИОПРОТЕКТОРА ПРИ ТРИТИЕВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ КРОЛИКОВ

Федотова А.С. ORCID ID 0000-0003-1630-2444, Жигарев А.А. ORCID ID 0000-0002-6611-1999

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет»,
г. Красноярск, Российская Федерация

Статья посвящена оценке радиопротекторных свойств фуллеренолов при тритиевом воздействии. Фуллеренолы влияют на процессы окисления и восстановления в клетке. В работе оценено изменение гематологических показателей, лейкоцитарного профиля периферической крови кроликов (возраст $7 \pm 0,3$, вес $4 \pm 0,5$ кг) при коррекции тритиевого воздействия (63 мГр) фуллеренолом. В работе установлено, что использование фуллеренола на 8-е сутки нормализует гематологические показатели и лейкоцитарный профиль периферической крови, установлено при использовании фуллеренола в концентрации 1×10^{-11} г/л. **Ключевые слова:** тритий, радиопротекторы, фуллеренол, гематологические показатели, фагоцитоз, здоровье животных, продуктивность

USE OF FULLERENOL AS A RADIOPROTECTOR FOR TRITIUM EXPOSURE IN RABBITS

Fedotova A.S., Zhigarev A.A.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Krasnoyarsk State Agrarian University",
Krasnoyarsk, Russian Federation

This work evaluates the radioprotective properties of fullerlenols within the tritium exposure. Fullerlenols possesses its impact on the redox processes in cells. The study evaluates changes in hematological parameters and the leukocytic profile of the peripheral blood of rabbits (age $7 \pm 0,3$, body weight $4 \pm 0,5$ kg) after correcting tritium exposure (63 mGy) with fullerlenol. As a result of the study, it was found that the use of fullerlenol on the 8th day normalizes hematological parameters and the leukocyte profile of the peripheral blood, as determined when using fullerlenol at a concentration of 1×10^{-11} g/L. **Keywords:** tritium, radioprotectors, fullerlenol, hematological parameters, phagocytosis, animal health, productivity.

Введение. Радиационный фон биогеоценоза, агробиоценоза формируется естественными (природными) и техногенными (искусственными) источниками ионизирующего излучения. Природная радиация, постоянно находящаяся в биосфере, поглощенная доза от природных источников не зависит от деятельности человека. Природные источники – это космическое излучение, естественные радионуклиды, находящиеся в атмосфере, гидросфере, литосфере и в организмах различной организации. Одним из серьезных источников природных изотопов является процесс добычи урана, при горной разработке изотопов урана в окружающей среде увеличивается количество природных радионуклидов, которые являются источником дополнительного облучения.