

М.В. Лахтин, В.М. Лахтин, А.В. Алешкин, С.С. Афанасьев, Ю.В. Кулакова, Е.В. Беликова,
Ю.В. Агапова

ЭКЗОПОЛИМЕРЫ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЛАКТОБАЦИЛЛ И БИФИДОБАКТЕРИЙ (НОВЫЕ ПОДХОДЫ И СВОЙСТВА)

Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского (Москва)

Обобщены результаты собственных электрофоретических и сопутствующих исследований экзополимерных соединений (ЭПС) пробиотических лактобацилл и бифидобактерий. ЭПС лактобацилл были значительно менее выражены и обладали меньшим сродством к флуоресцентному красителю, чем в ЭПС бифидобактерий. Впервые идентифицированы системы высокомолекулярных биосурфактантов лактобацилл и бифидобактерий, а также описаны варианты электрофоретических сборочных слоевых градиентов ЭПС бифидобактерий с белковым ядром в пористом гидрофильном геле. Выявлены катионные предшественники биосурфактантов. Описаны некоторые новые перспективные свойства ЭПС. Используемые подходы удобны для скрининга продуцентов ЭПС и мониторинга их потребления и деградации. Электрофорез в пористом геле может быть использован для получения сборочных градиентов ассоциатов ЭПС, (глико)протеинов и (глико)липидов.

Ключевые слова: ЭПС, пробиотики, электрофорез, флуоресценция

EXOPOLYMERS OF PROBIOTIC LACTOBACILLI AND BIFIDOBACTERIA (NEW APPROACHES AND FEATURES)

M.V. Lakhtin, V.M. Lakhtin, A.V. Aleshkin, S.S. Afanasiev, Y.V. Kulakova, Y.V. Belikova,
Y.V. Agapova

G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow

This paper summarizes the results of electrophoretic and other studies of exopolymeric substances (EPS) of probiotic lactobacilli and bifidobacteria of human origin. It finds that EPS of lactobacilli were significantly less produced and low stained with fluorescent dye compared to bifidobacterial ones. For the first time, the systems of biosurfactants of bacilli and bifidobacteria were identified. Also the pictures of physical layer EPS gradients of bifidobacteria were described for the first time. Part of EPS included cationic latent biosurfactants. Perspective features of EPS are described. The used approaches are suitable for both screening probiotic producers of EPS and monitoring EPS consumption or degradation. Electrophoresis in pore gels can be used for obtaining directed 3D gradients of EPS associated with (glyco)proteins and (glyco)lipids.

Key words: EPS, probiotics, electrophoreses, fluorescence

ВВЕДЕНИЕ

Экзополимерные соединения (ЭПС: экзополисахаридные и другие), культуральных жидкостей (КЖ) пробиотических микроорганизмов широко применяются в качестве профилактических и лечебных препаратов различной направленности. Новые подходы в исследовании ЭПС, разработанные и использованные нами, могут помочь в выявлении новых перспективных для биотехнологии свойств биополимеров [1–8].

Цель: обобщить результаты собственных исследований свойств ЭПС супернатантов (С) индустриальных штаммов пробиотических лактобацилл и бифидобактерий человека — ключевых ингредиентов широкого ряда пробиотиков.

МЕТОДЫ

Исследовали пробиотические штаммы *Lactobacillus helveticus* (*L. acidophilus*) NK1 и 100_{аш}, *L. casei/paracasei* (*L. acidophilus*) K₃III₂₄ (ингредиентные штаммы Ацилакта), *Bifidobacterium adolescentis* MC-42, *B. bifidum* № 1, *B. bifidum* X, *B. infantis*, *B. longum*, *B. breve*, *B. gallinarum* ГБ и *S. thermophilus lactis*, а также отечественные пробиотики Ацилакт, Бифидин, Бификол и Колибактерин.

Использовали растущие в обезжиренном молоке, гидролизате казеина с автолизатом дрожжей (казеин-дрожжевой среде — далее КДС) или Бифидум-среде (БС, п. Оболенск, Моск. обл.) бактерии. Из КЖ получали концентрат микрофильтрацией С через Steriflip (Millipore) и мембранной ультрафильтрацией в Centricon Plus-20 (Millipore). С помощью изоэлектрофокусирования (ИЭФ) ЭПС (более 27 кД) разделяли в пластине полиакриламидном геле (ПААГ) в градиенте pH 4–8 в присутствии мочевины (ночь, 10 °С), электрооблотивали (удаление примесей) на иммобилон-Р (Millipore). Молекулярные массы определяли электрофорезом в ПААГ в присутствии детергента в системе Леммли. Гели и блоты проявляли флуоресцентным красителем SYPRO Ruby (www.probes.com/syprodyes) Флуоресценцию регистрировали в камере BioChem System (UVP, Calif.). Анализ картин проводили с помощью программного обеспечения Labworks4. Использовали спектрофотометрические методы определения белков и ЭПС. Биосурфактанты (Б) определяли модифицированным методом Youssef et al. (2005). Антифризные свойства ЭПС исследовали в условиях длительного ИЭФ в ПААГ (ночь, 8 °С).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Рост бактерий в КДС (37°C, 18–24 ч). Проведен функционально-протеомный анализ потенциальных антимикробных белковых систем Ацилакта и составляющих его штаммов. Белки лактобацилл характеризовались присутствием наборов 8 выраженных групп, относительное содержание которых снижалась в ряду: (59–61 кД) > (200–250) > (27–28) > (49–51) > (34–36) > (18–20) > (14–16) > (11–13). Белки 21–33 кД (5–6 полос с pI 7.15–7.60) были ассоциированы (располагались в замкнутом контуре ЭПС) с (глико)липидными идентичными высокомолекулярными Б Ацилакта и NK1 (NK1 >> Ацилакт), которые маскировали эти белки (были ассоциированы с ними). С помощью ИЭФ в ПААГ идентифицированы 29 белков в составе 4-х блоков: блок-1 (pI 4.4–5.37; 7 полос); блок-2 (pI 5.37–6.10; 6 полос); блок-3 (pI 6.15–6.9; 7 полос); блок-4 (pI 7.0–8.0; 9 полос). Структура блока-1 у NK1, *B. adolescentis* MC-42 и *S. thermophilus lactis* была сходной. Два типа ЭПС (в виде совмещенных замкнутых контуров с единым центром; «двуслойных» с различной молекулярной массой; верхний слой вызывает более сильное набухание ПААГ) в блоке-4 NK1 и Ацилакта (расхождение у Ацилакта вначале верхнего слоя ЭПС с большим диаметром замкнутого контура) отсутствовали у K_3III_{24} и 100_{аш}. Клеточно-стеночные наборы белков Ацилакта и штаммов были индивидуальными (штамм-зависимыми) и локализовались в области pI 4–6 (18 полос у Ацилакта). Распределение белков у Ацилакта было сходным с NK1. Максимальные различия между Ацилакта и штаммами выявлялись при pI 6–7 на фоне установленного максимального антимикробного потенциала у Ацилакта (в сравнении с ингредиентными штаммами).

Известно, что Б действуют как альтернативные антимикробные гликолипидные агенты (детергентные кофакторы), характеризующие штамм. Были проведены скрининг и электрофоретическое определение Б. Степень действия Б (диаметры кругов просветления слоя минерального масла на поверхности воды после капельного внесения содержащего Б концентрата С) снижалась в ряду: *B. bifidum* 1 (6.0–2.8 мм, диаметры просветления) > *B. gallinarum* (5.2–3.3) > K_3III_{24} (4.2–2.7) > Ацилакт (4.0–2.8) > 100_{аш} (3.0–2.4) > *B. adolescents* MC-42 (2.8–2.5) > NK1 (2.6–1.0). Кроме того, максимально высокий уровень Б наблюдался у *S. thermophilus lactis*, высокие уровни — у *B. longum*, *B. breve*, средний — у Бификола, низкие уровни — у *B. infantis* и Колибактерина. Выявлялись различия между Б генераций штамма (на примере *B. gallinarum* ГБ). Активности Б в составе концентратов были устойчивы при хранении более года при –35 °С. С помощью электрофореза идентифицированы латентные высокомолекулярные предшественники Б, проявляющие родо- и видоспецифичность и ассоциированные с децентрализованными по отношению к круговым конфигурациям ЭПС катионными белками

pI 7.2–7.6 (лактобациллярными) или pI 7.4–8 (бифидобактериальными). Положение белков в поле Б у лактобацилл (три мажорных более высокомолекулярных плюс два минорных с меньшей молекулярной массой), и у бифидобактерий (два мажорных более высокомолекулярных плюс два слегка менее выраженных, но с меньшей молекулярной массой: все превосходят по интенсивности флуоресценции лактобациллярные белки в Б) было смещено (децентрализовано) в сторону снижения молекулярной массы. Мажорные формы Б обнаруживались в интервалах 21–33 кД (плюс слабо окрашиваемая минорная форма 27–42 кД с радиусом в геле в 2.4 раза меньшим, чем у мажорной формы) или 20–28 кД (плюс в равной с мажорной формой степени окрашивания минорная форма 17–21 кД с радиусом в геле в 2.7 раза меньшим, чем у мажорной формы) в случае лактобацилл или бифидобактерий, соответственно (характер взаимодействия Б с красителем различался, что указывало на различную химическую природу Б лактобацилл и бифидобактерий). Их выраженность при разделении посредством ИЭФ в ПААГ снижалась в порядке: NK1 (2 типа ЭПС) > 100_{аш} (1 тип) > Ацилакт (преимущественно 1 тип) > K_3III_{24} (следы) > *S. thermophilus lactis* (нет). Такой ряд снижения отражал степень превращения (потребления, расходования) латентных высокомолекулярных (21–42 или 17–28 кД в случае лактобацилл или бифидобактерий, соответственно) в активные низкомолекулярные Б (смотри выше ранжированные активности Б в отношении минерального масла). Таким образом, по электрофоретическому профилю высокомолекулярных Б можно было прогнозировать биологическую активность Б.

После разделения концентратов в ПААГ антифризные свойства были максимально выражены у NK1 (белковые антифризы с pI 7.1–7.4) и 100_{аш} (не белковые антифризы с pI 7.5–8). В катионной области геля у этих штаммов были выражены ЭПС (регистрировалось набухание геля). Слабовыраженные белки, ассоциированные с Б, в случае Ацилакта не защищали содержимое пор ПААГ от кристаллообразования, а почти невидимый белок (гликопротеин) у 100_{аш} в области Б проявлял себя как отличный от NK1 компонент антифриза. После кипячения концентрата 5 мин с детергентом наблюдалась максимальная защита от кристаллообразования (вклад детергента и Б), прямо коррелирующая с выраженностью видимого белкового материала в треках лактобацилл. В целом, в области pI 4.5–8 антикристаллообразование снижалось в ряду NK1 ≥ Ацилакт >> 100_{аш}. В области расположения катионных Б встречаемость кристаллов снижалась: 100_{аш} > Ацилакт > NK1. В слабокислой области, примыкающей к Б, видимость кристаллов снижалась как 100_{аш} >> Ацилакт > NK1 (нет). В случае бифидобактерий антикристаллообразование снижалось в ряду: № 1 (нет кристаллов в треке) > MC-42 (несколько кристаллов при pI 4–5) > ГБ (слабые кристаллы при pI 7). В случае

препаратов, обработанных LiCl, антикристаллообразование снижалась в ряду: Ац (кристаллы только при pI 7–7.5; недостаточное присутствие ЭПС) > 100_{аш} (кристаллы при pI 4–7; присутствие катионных ЭПС) > NK1 (кристаллы вдоль всего трека; вклад кристаллизующихся белков слоев поверхности лактобацилл).

Рост в обезжиренном молоке (этап образования сгустка С). Наблюдались штамм-типизируемые картины флуоресценции. В КЖ штаммов NK1, K₃III₂₄ и 100_{аш} идентифицированы 36 групп белков в составе 4-х блоков: 1 (pI 4.0–5.4; 12 полос), 2 (pI 5.4–6.1; 9 полос), 3 (pI 6.1–6.9; 8 полос) и 4 (pI 7.0–8.0; не менее 7 полос). В случае K₃III₂₄ блоки (как и в условиях роста в КДС) характеризовались увеличенной протяженностью вдоль градиента pH и уреженностью полос. Ацилакт характеризовался суммированным набором белков штаммов, а в условиях роста в КДС — максимальным их протезолизом. NK1 и Ацилакт имели сходную структуру блока-4 (в условиях роста в КДС высокомолекулярные Б этого блока расходовались, особенно у Ацилакта). При росте в различных средах 100_{аш} проявлял промежуточную выраженность блоков 3 и 4. Блок-2 был наименее выраженным у МС-42. В случае *B. bifidum* № 1 выраженность блоков снижалась в ряду 1 >> 3 > 2 > 4. Картины полос блоков 1, 2 и 3 *B. bifidum* № 1 дополняли таковые штамма МС-42. Белковые наборы блока-1 штаммов № 1, K₃III₂₄ и 100_{аш} также были взаимодополняемыми (возможно взаимное донорство компонентов при конструировании пробиотических смесей). В случаях K₃III₂₄ и Ацилакта выявлялся тип деградированного ЭПС с повышенными значениями pI , не обнаруживаемый в условиях роста в КДС. По-видимому, это — результат действия деполимеризующих факторов с молекулярной массой ниже 27 кД (то есть ЭПС-дестабилизирующие факторы могут быть устранены на этапе мембранной ультрафильтрации).

Рост бифидобактерий в БС. Наблюдалось штамм-типизируемое распределение около 40 флуоресцирующих белковых полос в составе 15 субблоков 4 главных блоков: сильно кислого — 1 (3 субблока), средне- и слабокислого — 2 (по 3 субблока) и 3 (3 субблока) и катионного — 4 (3 субблока). Ку-масси R-250, хотя и выявлял большое число белков, но устранял их видимую сблоченность белковую и индивидуальность штаммов. Белковые картины были взаимодополняемыми. В случае *B. bifidum* X и *B. gallinarum* все блоки были выраженными и протяженными (значительные различия между блоками 2 и 3). Родовые и видовые признаки выявлялись в блоке-4 (его более или менее щелочной области, соответственно) — наиболее устойчивом к протеолизу блоке. Блок-4 позволял судить о способности штамма продуцировать ЭПС в интервале pI 7-9 (особенно в случаях *B. bifidum* X, *B. bifidum* № 1, *B. infantis* и *B. gallinarum*). Присутствие ЭПС (как коллоидобразующих и антифризных заполнителей пор сорбентов) приводило к набуханию геля, повышению его криопротекторных свойств.

Бифидин и Бификол характеризовались преимущественно выраженным блоком-2 или 1, соответственно. У Бификола блоки 3 и 4 выявлялись лишь как следовые (выявляемые лишь при специальном редактировании флуоресцентных образов; блоки содержали по 3 субблока с различающимся относительным содержанием). Отсутствие блока-4 коррелировало с отсутствием ЭПС. У бифидобактерий, в отличие от лактобацилл (выявляются белки с pI 3.7), отсутствовали в блоке-1 белки с pI около 4. Наблюдалось преимущественное и устойчивое во времени флуоресцентное окрашивание компонентов КЖ бифидобактерий, в отличие от более ранней и более кратковременной флуоресценции компонентов КЖ лактобацилл. Результаты указывают на дополнительный вклад ассоциатов ЭПС с белками в общую флуоресценцию разделенных посредством ИЭФ в ПААГ компонентов и подтверждают наличие в них дополнительных хромофоров.

ЭПС располагались, главным образом, в блоке-4. Потребление и/или деградация ЭПС (*B. breve* > *B. longum* > *B. infantis*) шла в направлении от менее катионных (как более нестабильных; продуцируемые в повышенном количестве ЭПС *B. infantis* сорбировались на стеклянный электрод и сильно замедляли время установки pH при измерении на pH-метре) к более катионным (с повышенной стабильностью). Исчезновение ЭПС сопровождалось исчезновением капельно-видных катионных белковых ассоциатов внутри контуров ЭПС и указывало на присутствие в белковых ассоциатах еще одного типа ЭПС. Процесс элиминации ЭПС начинался с нарушения менее катионного замкнутого контура (как в случаях *B. infantis*, *B. gallinarum*) с образованием перемещающейся (по мере усиления процесса разрушения ЭПС) в направлении к катоду неровной разрыхленной границы ЭПС (как в случаях *B. longum*, *B. breve*). Процесс видимой деградации полимеров носил либо тотальный характер (разрушение белков и ЭПС по всему треку в интервале pH 4–8, что отражало действие гидролаз разных типов; оценка гидролиза как максимального в случае *B. breve*; возможность мониторинга гидролазного потенциала препаратов с вкладом эндогликаназ, гликоамидаз, протеиназ, эстераз и прочих ЭПС-деполимераз), либо строго ограничивался элиминацией белковых полос (по всему треку, как в случае *B. bifidum* № 1 (пример устойчивости хранения ЭПС бифидобактерий благодаря отсутствию ЭПС-деполимераз); возможность мониторинга протеиназ, в том числе в отношении блоков, субблоков и отдельных белковых полос, подобно сравнительному анализу действия протеиназ растущих в КДС лактобацилл в отношении белков блоков 1 и 2).

Катионные белки и их ассоциаты, наборы типов ЭПС перспективны в типировании пробиотических бактерий (особенно, бифидобактерий) и их смешанных культур. На это указывают результаты ИЭФ в ПААГ в щелочной области, ЭПС

бифидобактерий в блоке-4 защищают важные для типирования наборы белков от деградации). В катионном блоке-4 бифидобактерий выявлялись 2 области ЭПС. Первая зона ЭПС располагалась ближе к нейтральному pH (видны 4 субтипа ЭПС у *B. bifidum* № 1 и 3 субтипа ЭПС у *B. infantis*, как совмещенные замкнутые контуры [«контур-в-контуре»] с единым «белковым» центром. Слои (различающихся) ЭПС были организованы градиентно в направлении сборки от условного центра — каплевидного ассоциатного белка в толще ПААГ. Эти ЭПС потреблялись (начиная с наружного слоя) в процессе пролонгированного роста (или деградировали при хранении С) вместе с катионными белковыми каплевидными ассоциатами. Вторая зона ЭПС была более удаленной от нейтрального pH. В этой зоне ЭПС были представлены 2 субтипами у всех тестируемых видов бифидобактерий в виде совмещенных замкнутых контуров. Выявлялся тонкослойный ЭПС отличающегося типа, примыкающий к каплевидному белковому ассоциату и полностью резистентный к красителю. ЭПС второй зоны вместе с катионными белковыми каплевидными ассоциатами к деградации характеризовались максимальной устойчивостью к флуоресцентному красителю. Каплевидные белковые ассоциаты (менее выраженные и с меньшим относительным содержанием в С) обнаруживались и в других блоках (преимущественно в 3-м и между 1-м и 2-м).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен мониторинг разделенных ЭПС и белков С (до 40 групп в рамках: молекулярная масса более 27 кД, рI 4–8) бифидобактерий и лактобацилл, позволяющий ранжирование относительного содержания компонентов в КЖ. Выявлены системы Б, дополняющие друг друга в случае лактобацилл и бифидобактерий. Разработанные подходы позволяют оценивать образование, распад или потребления ЭПС (в том числе Б) и включающих ЭПС белковых ассоциатов. Результаты важны для диагностической и прогностической оценки биополимеров и их комплексов, секретомного анализа полимеров в микрообразцах и микрокультурах. Предлагаемые подходы важны для скрининга типов ЭПС, их ассоциатов и способов сборки для более полной оценки антимикробного потенциала пробиотиков. Полученные результаты являются базовыми для прогнозирования (есть соответствующие алгоритмы) новых синбиотических комбинаций пробиотических штаммов микроорганизмов (на примере лактобацилл и бифидобактерий) в сочетании с безмикробными высокомолекулярными про/пребиотическими компонентами (в том числе ЭПС и Б, ассоциатами ЭПС с белками). Пополнение картин разделенных высокомолекулярных компонентов КЖ штаммов и смешанных культур является ключевым для конструирования пробиотиков (оценка взаимного донорства важных

функциональных полимеров и их сочетаний). Перспективным направлением дальнейшего изучения новых высокомолекулярных компонентов пробиотиков являются выявленные нами дополнительные качества содержащих ЭПС концентратов бифидобактерий и лактобацилл, важные для биотехнологии и медицины: способности «разрыхлять» биоосадки, «тромбировать» наружные поры гидрофобных полимеров, «размягчать» полистирол, стимулировать рост пробиотических массивов, осуществлять направленные деградацию и лизис биопленок патогенов, препятствовать продуцированию микроорганизмами факторов вирулентности, кофункционировать с защитными системами человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белковый состав в сочетании с экзополисахаридами культуральных жидкостей бифидобактерий человека / В.М. Лахтин [и др.] // Современные технологии обеспечения биологической безопасности : сб. материалов конф. — Оболенск, 2011. — С. 284–287.
2. Высокомолекулярные биосурфактанты грамположительных бактерий человека / В.М. Лахтин [и др.] // Клин. лаб. диагностика. — 2010. — № 9. — С. 37–38.
3. Карты протеома культуральных жидкостей производственных штаммов пробиотических бактерий человека / В.М. Лахтин [и др.] // Сб. материалов конф. «Современные технологии обеспечения биологической безопасности». — Оболенск, 2011. — С. 287–290.
4. Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии / В.М. Лахтин [и др.] // Вестник РАМН. — 2008. — № 4. — С. 50–55.
5. Оценка деградации бактериальных препаратов с помощью двухпараметровой pH-метрии и электрофореза на примере пробиотических бифидобактерий и лактобацилл человека / В.М. Лахтин [и др.] // Современные достижения биотехнологии : сб. материалов конф., г. Ставрополь, 21–23 июня, 2011. Часть 2. Раздел «Биологически активные добавки». — М.: НОУ «Образовательный НТЦ молочной промышленности», 2011. — С. 51–52.
6. Преимущества пробиотического консорциума «Ацилакт» в сравнении с ингредиентными штаммами с использованием алгоритма ранжирования качеств / В.М. Лахтин [и др.] // Materiały VIII Międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji «Naukowa przestrzeń Europy — 2012» Volume 32. — P. 50–57 (Nauk biologicznych.: Przemysł. Nauka i studia. ISBN 978-966-8736-05-6).
7. Ранжирование качеств производственных ингредиентных пробиотических штаммов бифидобактерий и лактобацилл человека для прогнозирования новых пробиотических формул / В.М. Лахтин [и др.] // Современные достижения биотехнологии : сб. материалов конференции, г. Ставрополь, 21–23 июня, 2011. Часть 2. Раздел

«Биологически активные добавки». — М.: НОУ «Образовательный научно-технический центр молочной промышленности», 2011. — С. 49—51.

8. Стратегические аспекты конструирования пробиотиков будущего / В.М. Лахтин [и др.] // Вестник РАМН. — 2008. — № 2. — С. 33—44.

Сведения об авторах

Лахтин Михаил Владимирович — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора (Россия, 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, тел. (495) 708-02-62, e-mail: info@gabrich.com)

Лахтин Владимир Михайлович — доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Россия (125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, тел. (495) 708-02-62, e-mail: info@gabrich.com)

Алешкин Андрей Владимирович — доктор медицинских наук, заведующий лабораторией клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора (Россия, 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, тел. (495) 708-02-62, e-mail: info@gabrich.com)

Афанасьев Станислав Степанович — заслуженный деятель науки РФ, профессор, доктор медицинских наук, заместитель директора ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора (Россия, 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, тел. (495) 708-02-62, e-mail: info@gabrich.com)

Кулакова Юлия Владимировна — научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора (Россия, 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, тел. (495) 708-02-62, e-mail: info@gabrich.com)

Беликова Евгения Викторовна — младший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора (Россия, 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, тел. (495) 708-02-62, e-mail: info@gabrich.com)

Агапова Юлия Владимировна — младший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора (Россия, 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, тел. (495) 708-02-62, e-mail: info@gabrich.com)