

БАЗА ДАННЫХ ПРИРОДНЫХ СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ

Котов Д. А., Медведева С. Е., Родичева Э. К.

(Россия, Красноярск)

База данных по люминесцентным бактериям, поддерживаемым в коллекции Института биофизики СО РАН — один из мета-разделов базы данных по люминесцентным организмам BIOLUMBASE. Разработаны логическая схема метараздела «природные светящиеся микроорганизмы», классификация субъектов, способы представления атрибутов. База данных пополняется данными собственных исследований сотрудников коллекции, а также информацией из научной литературы. Информация из базы данных BIOLUMBASE может быть полезна в решении различных задач экологии, медицины и биотехнологии, где используются люминесцентные бактерии, люминесцентная система, выделенная из них, и lux-гены, клонированные в другие организмы. Через специализированный Web-портал пользователи смогут получать не только каталожную информацию о штаммах, но и информацию о свойствах, функциях, использовании, библиографии, делать поиск штаммов по любому набору интересующих свойств.

Введение. Уникальная коллекция морских светящихся бактерий, собранных во всех четырех океанах планеты, была создана в результате многолетних исследований морской биолуминесценции сотрудниками Института биофизики СО РАН. Сегодня в коллекции культур (КК ИБСО) содержится более 700 штаммов, она зарегистрирована в Мировом центре данных микроорганизмов (WDCM) под акронимом CCIBSO wdcм836. В последние годы, в связи с развитием геной инженерии, Коллекция ИБСО пополнилась штаммами бактерий, несущих векторы с люминесцентными генами [1].

Главными задачами Коллекции ИБСО являются сохранение и поддержание в жизнеспособном состоянии имеющегося генофонда светящихся бактерий, биохимические, биофизические, микробиологические исследования и т.д. [2–18]. Кроме этого, коллекция светящихся бактерий ИБСО служит основой для получения векторов с люминесцентными генами, для поиска продуцентов различных целевых продуктов, а также для разработки биолюминесцентных биотестов [1,19,20]. На базе коллекции культур осуществляется популяризация науки, интеграция образования и науки.

Биолюминесценция является широко используемым и удобным маркером, что открывает широкие возможности по использованию природных и генетически модифицированных микроорганизмов, несущих *lux*-гены, для решения широкого круга актуальных задач современной биологии и биотехнологии. Однако имеющаяся информация о существующих биолюминесцентных микроорганизмах, методиках их поддержания в коллекциях, особенностях экспрессии люминесценции, а также перспективы и рекомендации использования в различных целях не систематизирована и представлена в разрозненных публикациях. С другой стороны, широкое и разностороннее применение репортерных генетически модифицированных микроорганизмов, несущих *lux*-ген, ставит задачу быстрого получения информации об особенностях биолюминесцентных систем, а также о других свойствах таких микроорганизмов, которые непосредственно связаны с биолюминесценцией. Поэтому, становится весьма актуальным сбор в одном легкодоступном источнике разнообразных сведений о биолюминесцентных организмах и упорядочение информации о них чтобы предоставить исследователям во всем мире возможность эффективного использования люминесцентных организмов для своих задач.

Цель работы — проектирование доступной в глобальной сети базы данных по люминесцентным природным бактериям, в которой будет представлена полная информация о свойствах, функциях, использовании этих организмов в различных областях, сопровождаемая соответствующими библиографическими справочниками.

Методы. Проектирование базы данных осуществляется в технологии «Клиент/Сервер» с помощью ПО Platinum Technology ERWin 4.0 [21]. С помощью данного продукта сначала разрабатывалась логическая структура базы данных. При проектировании БД были разработаны домены, позволяющие стандартизировать внутри данной логической модели наименования атрибутов и их типы, что позволит в случае внесения изменений избежать серьезных ошибок и ускорить процесс реорганизации структуры БД. В качестве СУБД используется Sybase Adaptive Server Anywhere 6.0. Разработка прикладных программ администрирования базы данных осуществляется в Sybase Power Builder 7.0.1, позволяющем быстро и эффективно создавать профессиональные приложения для любых СУБД. Для доступа пользователей сети Internet к базе данных разрабатывается Web-портал. Установлен и работает web-сервер Microsoft Internet Information Servers 5.0 на Windows 2000 Server. Разрабатываемый Web-портал основан на технологии динамических документов, генерируемых сервером. Для работы с базой данных в сети Internet используется язык программирования PHP. Подключение к базе данных осуществляется через ODBC-драйвер SQL-сервера.

Результаты. Главной задачей при создании БД BIOLUMBASE являлось проектирование такой системы, которая была бы достаточно гибкой и позволила бы в дальнейшем включать в нее новые разделы, отражающие свойства светящихся организмов из других таксонов. Наличие биолуминесценции было выбрано как общее свойство организмов, для включения в БД. В настоящее время БД BIOLUMBASE разработана для природных (ПМ) и трансгенных (ТМ) микроорганизмов с *lux*-генами, которые образуют самостоятельные, связанные между собой метаразделы. Следует отметить, что БД светящихся микроорганизмов отражает лишь небольшую часть всего многообразия люминесцентных организмов, однако на данный момент именно бактерии наиболее широко и успешно используются в фундаментальных и прикладных исследованиях.

Коллекция культур ИБСО разрабатывает метараздел о имеющихся в ней природных морских светящихся бактериях (рис. 1). При разработке структуры базы данных учитывалась необходимость отразить все многообразие свойств и связей рассматриваемых объектов, обеспечить быстрый и удобный способ получения информации. База данных является реляционной и представляет собой систему связанных таблиц, каждая из которых описывает определенную информационную категорию (сущность), характеризуемую рядом характерных признаков (атрибутов). При установлении отношений между таблицами использовались два типа связей. Если одна дочерняя категория может относиться только к одной родительской, использовались связи типа «один ко многим». Если же каждая из двух связанных категорий может относиться более чем к одному типу другой, использовались связи «многие ко многим». Каждая таблица содержит уникальное числовое поле — идентификатор, являющееся ключевым ("Primary Key", PK). Для реализации связи типа «один ко многим» в дочернюю таблицу вводится специальное поле ("Foreign Key", FK), ссылающееся на первичное ключевое поле родительской таблицы. Связи «многие ко многим» реализуются через создание промежуточных таблиц содержащих FK родительской и дочерней таблиц.

Наиболее значимыми в метаразделе "Природные светящиеся микроорганизмы" являются информационные сущности «вид», «штамм», «люминесцентная система», «публикация», «области использования» (рис. 1), каждая из которых несет определенную функциональную информацию. Большое значение имеет подраздел, описывающий метаболические реакции светящихся бактерий. В нем характеризуются свойства, важные для определения таксономического положения штамма и его практического использования, а также отражаются основные физиолого-биохимические характеристики штаммов, данные о продукции витаминов, экзоферментов, запасных веществ, которые могут быть востребованы в биотехнологии (рис. 2).

БД, через который осуществляются связи с другими метаразделами БД BIOLUMBASE. В центральном блоке представлены многогранные сведения о люминесцентной системе светящихся бактерий (рис. 1). Феноменология, структура, кинетические характеристики, связь с общим метаболизмом клетки, влияние на люминесценцию физико-химических факторов, регуляция и контроль экспрессии *lux*-генов отражены именно в разделе "Люминесцентная система" метараздела «Природные светящиеся микроорганизмы». Свойства *lux*-систем, обусловленные метаболической активностью клеток светящихся бактерий, представлены в виде текстовой и формализованной информации, а также в схемах, диаграммах, микрофотографиях. В полях соответствующих таблиц (рис. 3) отражены присущие каждому виду и даже штамму определенные характеристики светоизлучения (таблица Lux-system bacteria), регуляции билюминесцентной системы (таблица MetabOrganization LS), что сопровождается различиями в динамике и уровне интенсивности люминесценции при росте клеток на различных субстратах (таблица Lux-system parameters). Различные характеристики *lux*-оперона, касающиеся, в первую очередь, структурной организации известных *lux*-оперонов светящихся бактерий, а также особенностей их регуляции в исходных клетках-хозяевах и в новых рекомбинантных конструкциях можно получить из раздела «Оперон» (рис. 1).

Раздел "Публикации" представляет собой обширную библиографическую базу данных и включает ссылки на разнообразные источники литературы по свойствам и областям использования микроорганизмов с *lux*-генами, выделенной из них люминесцентной системы и т.д., в том числе полученных сотрудниками ИБФ СО РАН. В нее включены некоторые расширенные публикации (аннотированные ссылки и статьи в pdf-формате), Web-ссылки на соответствующие ресурсы глобальной сети, в том числе и на Web-страницы мировых коллекций микроорганизмов и векторов.

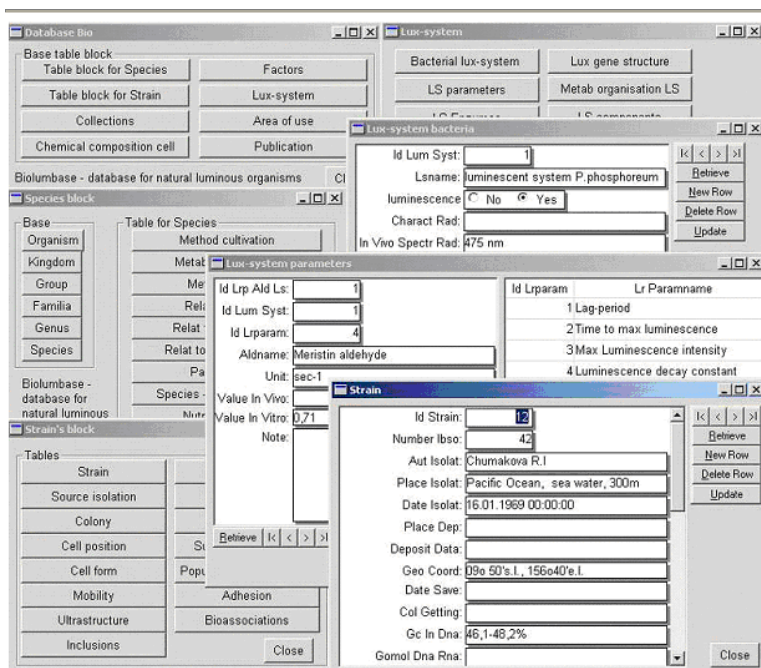


Рис. 3. Примеры нескольких основных рабочих таблиц БД (“Database Bio”, “Species block”, “Strain’s block”, “Strain”, “Lux-system”, “Lux-system parameters”) и представление в них информации о светящихся природных бактериях

Для доступа к базе данных, обслуживания пользователей и обработки их запросов, в Коллекции культур установлен и работает мощный компьютер-сервер, подключенный к сети Internet. На сервере находится база данных и ее сервер, Web-сервер и Web-портал. Web-портал разрабатывается с использованием технологии динамических документов, генерируемых сервером на запросы пользователей. Для работы с базой данных через Web используется интерпретируемый язык программирования PHP.

Когда основная работа по разработке Web-портала будет закончена, пользователь сможет получать обширную информацию о светящихся организмах. Web-портал будет

содержать гибкую систему поиска информации, возможность генерации бланков и отчетов, а также возможность обмена информацией между информационными системами других коллекций культур, в том числе и иностранными.

Заключение. БД “BIOLUMBASE” представляет единую систему, давая возможность быстрого перехода между логически связанными объектами, а также отбора объектов и их групп по тем или иным признакам. Разработанная структура БД позволяет хранить и отображать разнообразную информацию о содержащихся объектах, формализованную, текстовую и графическую информацию, а также документы, созданные другими приложениями. Вводимые в БД иллюстративные материалы наглядно демонстрируют их основные важные для исследователей свойства. Предусматривается возможность быстрого доступа для получения информации относительно любого интересующего атрибута, и также областей использования природных люминесцентных микроорганизмов. Созданы библиографические справочники, включающие ссылки на разнообразные источники литературы по свойствам и областям использования микроорганизмов с *lux*-генами, выделенной из них люминесцентной системы, векторов и т.д. Информация по природным светящимся микроорганизмам содержит описание 140 таксономических, морфологических, физиолого-биохимических характеристик и хранится в таблицах соответствующих разделов БД (рис. 2.), а информация об особенностях функционирования люминесцентной системы — в таблицах центрального блока (рис. 1). Метараздел БД по светящимся природным микроорганизмам уже сейчас содержит информацию о 6 типовых видах и 20 штаммах природных светящихся бактерий и может быть полезен для потребителей самых разных сфер деятельности. Связь БД BIOLUMBASE с другими базами данных может быть осуществлена (при необходимости) самим пользователем через предусмотренные в структуре БД ссылки на адреса в сети Internet и литературные источники. Вся информация, содержащаяся в базе данных, а также электронный вариант «Каталога культур светящихся бактерий» доступны через Web-портал коллекции ИБСО в Internet ([http://www.ibp.ru/collection; http://bl.ibp.ru](http://www.ibp.ru/collection;http://bl.ibp.ru)).

Работа выполнена при поддержке проекта №38 программы фундаментальных исследований СО РАН.

Список литературы:

1. Родичева Э.К., Выдрякова Г.А., Медведева С.Е. Каталог культур светящихся бактерий. — Новосибирск: Наука, 1997. 125с.
2. Гительзон И.И., Родичева Э.К., Медведева С.Е. и др. Светящиеся бактерии. — Новосибирск: Наука, 1984. 275с.
3. Гительзон И.И., Воробьева Т.И. Светящиеся бактерии из кишечника рыб, обитающих в Индийском океане. // Микробиология. 1986. Т.55. №3. С.507–510.
4. Гительзон И.И., Воробьева Т.И. Светящиеся бактерии, ассоциированные с бентосными организмами // Микробиология. 1988. Т.57. №5. С.847–853.
5. Протопопов А.И., Могильная О.А., Киселева Е.В., Медведева С.Е., Пузырь А.П. Иммуноцитохимическая визуализация α-цепей люциферазы на структурах нуклеоида светящихся бактерий // Биоорганическая химия. 1989. Т.15. №6. С.836–838.
6. Могильная О.А., Киселева Е.В., Медведева С.Е., Пузырь А.П. Иммуноэлектронно-микроскопическая локализация гистоноподобных белков в хроматине светящихся бактерий // ДАН СССР. 1990. Т.314. №3. С.726–730.
7. Примакова Г.А., Кузнецов А.М. Планктонные светящиеся бактерии коралловых рифов Индийского океана и Южно-китайского моря // Микробиология. 1990. Т.59. №5. С.912–920.
8. Выдрякова Г.А., Кузнецов А.М., Примакова Г.А., Чугаева Ю.В., Фиш А.М. Люминесцентные бактерии — симбионты и комменсалы светящихся и несветящихся представителей морской фауны Индийского океана // Микробиология. 1995. Т.64. №5. С.692–695.
9. Выдрякова Г.А., Чугаева Ю.В., Тюлькова Н.А. Трансформация биополимеров светящимися бактериями // Сибирский экологический журнал. 2002. №2. С.137–144.
10. Тюлькова Н.А., Сандалова Т.П. Сравнительное исследование влияния температуры на бактериальные люциферазы // Биохимия. 1996. Т.61. Вып.2. С.205–213.
11. Родичева Э.К., Медведева С.Е., Выдрякова Г.А., Чугаева Ю.В., Кузнецов А.М. Сохранение генофонда и перспективы использования специализированной коллекции светящихся бактерий института биофизики СО РАН // Прикладная биохим. и микробиол. 1998. Т.34. №1. С.75–82.

12. Illarionov B.A., Blinov V.M., Donchenko A.P., Protopopova M.V., Karginov V.A., Mertvetsov N.P., Gitelson J.I. Isolation of bioluminescence functions from *Photobacterium leiognathi*: Analysis of luxA, luxB, luxG and neighboring genes // *Gene*. 1990. V.86. №1. P.89–94.
13. Sandalova T., Lindqvist Y. Three-dimensional model of the - subunit of bacterial luciferase // *Proteins: structure, function, and genetics*. 1995. V.23. P.241–255.
14. Vydryakova G.A., Kuznetsov A.M. Free-living and associated luminous bacteria. / *Bioluminescence and Chemiluminescence. Proceedings of 9-th International Symposium 1996*. Ed. by Hastings J.W., Kricka L.J., Stanley P.E. — Great Britain, 1996. P.127–129.
15. Medvedeva S.E. Transfer of xenobiotics through cell membranes of luminous bacteria // *Luminescence*. 1999. V.14. №5. P.267–270.
16. Gitelson J.I., Vydryakova G.A., Kuznetsov A.M., Rodicheva EK, Medvedeva S.E., Chugaeva Yu.V. Luminous bacteria culture collection IBSO: natural biodiversity and applied aspects // 11th Intern. Symp. *Biolum&Chemilum*. 2000. Wiley&Sun. P.63–67.
17. Rodicheva E.K., Medvedeva S.E., Tyulkova N.A., Kotov D.A., Kuznetsov A.M., Sukovataya I.E. Bacterial bioluminescent system as visuelle indicator of metabolic and biocatalytic processes / In: Lima, N. and Smith, D. (eds) *Biological Resouce Centres and the Use of Microbes — XXII ECCO Meeting Proceedings Book*, Micoteca da Universidade do Minho, Braga. 2003. P.57–68.
18. Medvedeva S.E., Kotov D.A., Rodicheva E.K. Database on properties of natural luminous microorganisms / In: Lima, N. and Smith, D. (eds) *Biological Resouce Centres and the Use of Microbes — XXII ECCO Meeting Proceedings Book*, Micoteca da Universidade do Minho, Braga. 2003. P.347–356.
19. Бондарь В.С., Высоцкий Е.С., Заворуев В.В., Межевикин В.В., Райбекас А.А. Получение препарата бактериальной люциферазы для биолуминесцентного анализа // *Прикл. биохимия и микробиология*. 1988. Т.24. №6. С.745–753.
20. Kuznetsov A.M., Rodicheva E.K., Medvedeva S.E. Analysis of river water by bioluminescent biotests // *Luminescence*. 1999. V.14. №5. P.263–265.
21. Маклаков С.В. ВРwin и ERwin. CASE-средства разработки информационных систем. — М.: ДИАЛОГ-МИФИ, 2000. 256с.

THE DATABASE OF NATIVE LUMINESCENT BACTERIA

Kotov D. A., Medvedeva S. E., Rodicheva E. K.

(Russia, Krasnoyarsk)

The database on luminous bacteria stored in Culture Collection IBSO is one of metasections of database on luminous organisms BIOLUMBASE. The design of the logic scheme of metasection "Natural luminous microorganisms" was carried out, the classification of subjects and ways of representation of attributes are produced. The database on the luminescent bacteria, replenishes with the data of own researches of employees of the collection, and also the information from various scientific publications. The database will collect comprehensive information on luminous bacteria, luminescent system selected from them and lux-genes cloned in others organisms that can be useful for application in ecology, medicine and biotechnology. Through By the specialized Web-portal users will receive catalogue information about strains, as well as the information about properties, functions, application, bibliography references, and also to make search of strains on any set of properties.