

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Специальность: 06.04.01 – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
Магистерская диссертация

**ОЦЕНКА ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА
ЛАКТОБАЦИЛЛ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ
*DROSOPHILA MELANOGASTER***

Работа завершена:

«7» 05 2021 г. Кашикова (М.С. Казакова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

к.б.н., ст. преподаватель

«7» 05 2021 г. Влеп (В.В. Костенко)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

«7» 05 2021 г. Чернов (В.М. Чернов)

Казань – 2021

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Бактерии рода <i>Lactobacillus</i> их характеристика и пробиотические свойства.....	7
1.2 Антагонистическая и пробиотическая активность бактерий рода <i>Lactobacillus</i>	11
1.3 <i>Drosophila melanogaster</i> как экспериментальный объект	17
1.4. <i>Drosophila melanogaster</i> в исследованиях генотоксикологии	23
1.4.1 Подходы и методы, используемые в изучении генотоксикологии на модели <i>D. melanogaster</i>	26
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	36
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	39
2.1 Материал исследования.....	39
2.2 Дизайн исследования	40
2.3 Цитоморфометрический анализ пищеварительной системы дрозофил .	40
2.4 Анализ летальных мутаций в период эмбрионального и предимагинального развития дрозофилы.....	40
2.5 Анализ фертильности (плодовитость, жизнеспособность) дрозофилы.....	42
2.6 Анализ двигательной активности имаго <i>D. melanogaster</i>	43
2.7 Метод оценки повреждения ДНК в клетках кишечника личинок <i>Drosophila melanogaster</i>	43
2.8 Метод оценки генотоксичности в системе SMARTтест.....	44
2.9 Статистическая обработка результатов.....	45
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	47

3.1	Верификация поступления бактерий, добавленных в среду для культивирования личинок дрозофил, в пищеварительный тракт мух.....	47
3.2	Характеристика признаков приспособленности <i>D. melanogaster</i> при совместном культивировании с клетками штаммов <i>L. plantarum</i> на фоне модельных патогенных микроорганизмов в пищеварительной системе.....	50
3.2.1.	Влияние совместного культивирования <i>D. melanogaster</i> с клетками штаммов <i>L. plantarum</i> на фоне модельных патогенных микроорганизмов в пищеварительной системе на яйцепродукцию.....	51
3.2.2	Влияние совместного культивирования <i>D. melanogaster</i> с клетками штаммов <i>L. plantarum</i> на фоне модельных патогенных микроорганизмов в пищеварительной системе на эмбриональную гибель потомства.....	53
3.2.3	Влияние совместного культивирования <i>D. melanogaster</i> с клетками штаммов <i>L. plantarum</i> на фоне модельных патогенных микроорганизмов в пищеварительной системе на жизнеспособность на стадии метаморфоза.....	55
3.2.4	Влияние совместного культивирования <i>D. melanogaster</i> с клетками штаммов <i>L. plantarum</i> на фоне модельных патогенных микроорганизмов в пищеварительной системе на жизнеспособность имаго.....	57
3.3.	Анализ поведения <i>D. melanogaster</i> при совместном культивировании с клетками штаммов <i>L. plantarum</i> на фоне модельных патогенных микроорганизмов в пищеварительной системе.....	58
3.4	Анализ лактобацилл на фоне модельных патогенных микроорганизмов в пищеварительной системе <i>D. melanogaster</i> с помощью тестов ДНК-кометы и SMART-тест.....	61
	Заключение.....	64
	ВЫВОДЫ	70
	СПИСОКИ СПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	71

ВВЕДЕНИЕ

Пробиотики являются живыми микроорганизмами, которые при назначении в адекватном количестве оказывают положительное влияние на здоровье организма. В течение последнего десятилетия уделяется большое внимание пробиотикам, поскольку установлено, что они являются эффективным средством в борьбе с некоторыми инфекциями и расстройствами в организме человека, такие как синдром раздраженного кишечника, воспалительное заболевание кишечника и диарея, вызванная антибиотиками, могут быть спровоцированы недостаточной или нарушенной микрофлорой кишечника [Socol, *et al.*, 2010]. Таким образом, пробиотики все чаще используются в пищевой промышленности. Молочнокислые бактерии, особенно *Lactobacillus*, являются часто используемыми микроорганизмами в качестве пробиотиков из-за восприятия, что они являются желательными членами кишечной микрофлоры. Растущий интерес к пробиотикам привел к тому, что многие предполагаемые пробиотические продукты поступают на рынок без проведения исследований пробиотических свойств штаммов, что приводит к проблемам непостоянной эффективности продуктов. Поскольку свойства пробиотика зависят от штамма, качество продуктов тесно связано с отдельными штаммами в продуктах. Таким образом, они должны быть правильно идентифицированы, а их пробиотические свойства должным образом изучены. Однако в нескольких исследованиях сообщалось о неправильной идентификации или неправильной маркировке пробиотических видов или о присутствии неуказанных видов во многих коммерческих пробиотических продуктах [Leory and De Vuyst, 2004].

Оценка пробиотических свойств микроорганизмов – одна из актуальных задач медико-биологических исследований, которая направлена на поиск новых штаммов, обладающих потенциальной антагонистической

активностью в отношении патогенов. Перспективными бактериями в этом отношении могут служить представители рода *Lactobacillus*, антагонистическая активность которых определяется способностью синтезировать различные биологически активные вещества, [Redanzetal, 2018] которые ингибируют жизнедеятельность конкурентных микроорганизмов, а также способные образовывать биопленки и коагрегировать друг с другом или с другими микроорганизмами [Parolin *et al.*, 2015; Bravo *et al.*, 2019]. Поэтому актуальным представляется изучение не только антагонизма лактобацилл, но и их пробиотических свойств в системе *in vivo* [He *et al.*, 2017].

Удобной моделью в изучении влияния микроорганизмов является *Drosophila melanogaster*. Простота культивирования, небольшие размеры, высокая плодовитость позволяют использовать дрозофил как модельные объекты для изучения пробиотических свойств лактобацилл [Fernandez-Morenoetal.,2007]. Так же кишечник *Drosophila melanogaster* имеет генетическое и биохимическое сходство с кишечником млекопитающих, включая человека [Fast *et al.*, 2018]. Кроме того, микробиота дрозофилы состоит из простых бактериальных сообществ, представленных *Firmicutes* (*Lactobacillaceae* и *Enterococcaceae*) и *Proteobacteria* (*Acetobacteraceae* и *Enterobacteraceae*) с пятью доминирующими видами: *Acetobacter pomorum*, *A. tropicalis*, *Lactobacillus brevis*, *L. plantarum* и *L. fructivorans*. За исключением *Acetobacteraceae*, эти виды также являются комменсалами у человека.

В связи с этим **цель** работы – определить пробиотический потенциал клеток штаммов *L. plantarum* 8PA3 и *L. plantarum* AG10 на модели *in vivo* *Drosophila melanogaster*.

В соответствии поставленной цели решаются следующие **задачи**:

1) Установить поступление исследуемых бактерий в пищеварительный тракт дрозofil при их добавлении в среду для культивирования личинок мух;

2) Исследовать параметры приспособленности *D. melanogaster* при культивировании лактобацилл на фоне модельных патогенных микроорганизмов в пищеварительной системе;

3) Оценить поведенческие реакции *D. melanogaster* при культивировании лактобацилл на фоне модельных патогенных микроорганизмов в пищеварительной системе;

4) Определить пробиотический потенциал лактобацилл на фоне модельных патогенных микроорганизмов в пищеварительной системе *D. melanogaster* с помощью тестов ДНК-кометы и SMART-тест.



АНТИПЛАГИАТ
ТВОРИТЕ СОБСТВЕННЫМ УМОМ

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

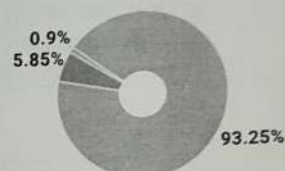
Казанский (Приволжский) федеральный
университет

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Казакова Маргарита Сергеевна
Самоцитирование
рассчитано для: Казакова Маргарита Сергеевна
Название работы: Казакова_ВКР
Тип работы: Магистерская диссертация
Подразделение: Институт фундаментальной медицины и биологии

РЕЗУЛЬТАТЫ

ЗАИМСТВОВАНИЯ	5.85%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	93.25%
ЦИТИРОВАНИЯ	0.9%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 17.05.2021

Модули поиска: ИПС Адилет; Библиография; Сводная коллекция ЭБС; Интернет Плюс; Сводная коллекция РГБ; Цитирование; Переводные заимствования (RuEn); Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu); Переводные заимствования по Интернету (EnRu); eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ; Модуль поиска "КПФУ"; Медицина; Диссертации НББ; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по Интернету; Патенты СССР, РФ, СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Переводные заимствования

Работу проверил: Бабынин Эдуард Викторович
ФИО проверяющего

Дата подписи: _____

Подпись проверяющего



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.