

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Казанский (Приволжский) Федеральный Университет»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии


Направление подготовки: 06.03.01 – Биология

Профиль подготовки: Микробиология и вирусология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ МЕТАБОЛИТОВ ШТАММА
NOCARDIA MANGYAENSIS H1

Студент 4 курса
группы 01-802

"30" мая 2022 г.

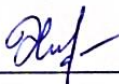


(Беркутова Е. С.)

Научный руководитель

к.б.н., доцент

"30" мая 2022 г.



(Хиляс И. В.)

Заведующий кафедрой
микробиологии

д.б.н., профессор

"30" мая 2022 г.



(Ильинская О.Н.)

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Общая характеристика рода <i>Nocardia</i> .	7
1.2 Таксономия рода <i>Nocardia</i> .	9
1.2.1 История таксономии рода <i>Nocardia</i> .	10
1.3. Идентификация представителей рода <i>Nocardia</i> .	11
1.3.1. Идентификация нокардий с помощью секвенирования последовательности гена 16S рРНК.	12
1.3.2. Идентификация нокардий с помощью мультилокусного анализа (MLSA) последовательностей консервативных генов.	14
1.3.3. Идентификация <i>Nocardia</i> spp при помощи метода MALDI-TOF масс-спектрометрии (MS).	16
1.4 Продукция биологических веществ	18
1.4.1. Сидерофоры	18
1.4.2. Пути биосинтеза сидерофоров.	20
1.5 Свойства бактериальных сидерофоров.	23
1.5.1 Антиоксидантная активность сидерофоров	25
1.5.2 Антибиотическая активность сидерофоров	26
1.5.3 Сидеромицины	27
1.6 Применение сидерофоров в медицине	29
1.7 Применение сидерофоров в биоремедиации окружающей среды	30
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	32
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	32
2.1 Выделение бактериального штамма и условия культивирования	32
2.2 Выделение бактериальной геномной ДНК	32
2.3 Амплификация генов 16S рРНК и генов домашнего хозяйства	33

2.4 Идентификация и филогенетический анализ штамма Н1	34
2.5 Калориметрическое определение сидерофоров, продуцируемых <i>Nocardia mangyaensis</i> Н1	34
2.6 Экстракция метаболитов <i>N. mangyaensis</i> Н1 из жидкой среды для проведения ВЭЖХ анализа	35
2.7 Исследование различных свойств метаболитов штамма <i>N. mangyaensis</i> Н1	35
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	37
3.1 Таксономическая принадлежность <i>N. mangyaensis</i> Н1	37
3.2 Продукция сидерофоров штаммом <i>N. mangyaensis</i> Н1.	37
3.3 Свойства метаболитов штамма <i>N. mangyaensis</i> Н1	40
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	44
ВЫВОДЫ	45
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	46

ВВЕДЕНИЕ

Одними из наиболее интересных представителей филума *Actinobacteria* являются бактерии рода *Nocardia*, которые обладают различными морфологическими особенностями, включая формирование фрагментирующих гиф и короткоцепочечных спор, четкое распределение арабинозы и галактозы и наличие циклических менахинонов в клеточной стенке. Нокардии встречаются в различных экологических нишах благодаря высокой метаболической активности и адаптации к стрессовым факторам.

Многочисленные исследования различных видов нокардий в основном сосредоточены на их характеристике и таксономической классификации. Нокардии способны вызывать широкий спектр инфекционных заболеваний, как у людей, так и у животных [Luo *et al.*, 2014]. В тоже время, многие виды нокардий нашли широкое применение в процессе биоремедиации территорий, загрязненных алифатическими и ароматическими углеводородами, природными и синтетическими полимерами, а также другими широко распространенными токсикантами [Luo *et al.*, 2014].

Последние десятилетия, представители рода *Nocardia* все чаще характеризуются как продуценты биологически активных метаболитов, обладающих антимикробными, противоопухолевыми и антиоксидантными свойствами [Luo *et al.*, 2014]. Синтез широкого спектра вторичных метаболитов обусловлен наличием в геноме бактерий нерибосомальных пептидных и поликетидных синтетаз. Среди вторичных метаболитов особое положение занимают сидерофоры – низкомолекулярные соединения, способные связывать ионы трехвалентного железа. Сидерофоры выполняют не только функцию доставки железа в клетку из окружающей среды, а также обеспечивают защиту бактериальных клеток от окислительного стресса и токсичных металлов, обладают антимикробными свойствами и выполняют функции сигнальных молекул.

Целью настоящей работы явилось изучение свойств метаболитов штамма *Nocardia mangyaensis* H1 - продуцента сидерофоров.

В ходе данной работы решались следующие задачи:

- 1) Установить таксономическую принадлежность штамма H1, выделенного из минерала гидромагнетита (Халиловский массив, Оренбургская область), с помощью мультилокусного анализа нуклеотидных последовательностей консервативных генов (MLSA).
- 2) Исследовать продукцию сидерофоров штамма *Nocardia mangyaensis* H1 калориметрическим методом анализа.
- 3) Изучить свойства сидерофоров штамма *N. mangyaensis* H1.

ВЫВОДЫ

1) Штамм Н1, выделенный из минерала гидромагнетита (Халиловский массив, Оренбургская область), был идентифицирован как *Nocardia mangyaensis*.

2) Исследование продукции сидерофоров штаммом *N. mangyaensis* Н1 показало, что максимальное количество сидерофоров катехолового типа (16 μM) образуется на 72ч, а гидроксаматового типа (88 μM) на 96ч роста в жидкой минимальной среде в железodefицитных условиях.

3) В ходе исследования активностей метаболитов, полученных после 72ч роста штамма *N. mangyaensis* Н1 в отсутствие железа, антимикробная активность не была выявлена, однако достоверно была показана антиоксидантная и металл связывающая активности ВЭЖХ-очищенных фракций.