

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: 06.03.01 – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
Бакалаврская работа

ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГА *PSEUDOMONAS* PHAGE KA1
ИЗ СЕМЕЙСТВА *PODOVIRIDAE*

Работа завершена:

« 6 » 06 2023 г.  (В.Г. Палагина)

Работа допущена к защите:

Научные руководители:

д.б.н., доцент

« 8 » 06 2023 г.  (А.Р. Каюмов)

лаборант-исследователь

« 8 » 06 2023 г.  (В.Н. Ильина)

Заведующий кафедрой:

д.б.н., доцент

« 9 » 06 2023 г.  (А.Р. Каюмов)

Казань – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Актуальность исследования противомикробных препаратов в отношении <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
1.2 Характеристика вирулентности и антибиотикорезистентности <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
1.3 Характеристика бактериофагов как перспективных противомикробных агентов.....	10
1.4 Биологическая характеристика бактериофагов.....	11
1.5 Бактериофаги, заражающие род <i>Pseudomonas</i>	13
1.6 Преимущество использования бактериофагов для лечения бактериальных инфекций.....	13
1.7 Бактериофаги в синергизме с антибиотиками.....	15
1.8 Основные ограничения фаготерапии.....	16
1.9 Риск появления бактерий, устойчивых к бактериофагам.....	17
Заключение	19
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	20
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	20
2.1 Штаммы.....	20
2.2 Исследуемые соединения.....	20
2.3 Питательные среды и условия культивирования бактерий.....	20
2.5 Получение зон лизиса.....	21
2.6 Измерение концентрации фаголизата.....	21

2.7	Выделение вирусной ДНК.....	21
2.8	Электрофорез ДНК.....	22
2.9	Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК)	23
2.10	Получение биоплёнок	23
2.11	Определение количества жизнеспособных клеток.....	24
2.12	Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия	24
2.13	Биоинформатика.....	25
3	РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	26
3.1	Выделение ДНК бактериофага Ka1 для полногеномного секвенирования	26
3.2	Сборка и аннотация генома бактериофага Ka1	27
3.3	Построение филогенетического дерева на основе аминокислотных последовательностей консервативных белков бактериофага Ka1	33
3.4	Оценка потенциального синергетического эффекта бактериофага Ka1 с антибиотиками в отношении планктонных клеток и биопленки <i>P. aeruginosa</i>	38
	ВЫВОДЫ	44
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	45

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БОЕ	Бляшкообразующие единицы
БФ	Бактериофаг
ГЭБ	Гематоэнцефалический барьер
дцДНК	Двухцепочечная ДНК
дцРНК	Двухцепочечная РНК
оцДНК	Одноцепочечная ДНК
оцРНК	Одноцепочечная РНК
МЛУ	Множественная лекарственная устойчивость
МВ	Муковисцидоз
МПК	Минимальная подавляющая концентрация
ЖЦ	Жизненный цикл
ARG	Antibiotic resistance genes – гены антибиотикорезистентности
AHL	Acyl homoserine lactones – ацилгомосеринлактон
ESBL	Extended Spectrum Beta-Lactamase – расширенный спектр бета-лактамаз
SDS	Додecilсульфат натрия
LB	Питательная среда Лурия-Бертани
PBS	Phosphate buffered saline – р-р фосфатного буфера
TBE	Буфер, содержащий смесь трис базы, борной кислоты и ЭДТА
QS	Quorum Sensing – чувство кворума

ВВЕДЕНИЕ

Бактериальные инфекции являются одной из острых проблем в сфере здравоохранения. Заболеваемость ежегодно растет из-за увеличения среднего пожилого возраста населения, широкого использования биоматериалов, высоких темпов трансплантации органов и, в особенности, из-за увеличения частоты появления полирезистентных штаммов бактерий [Mielko *et al.*, 2019].

На сегодняшний день антимикробные препараты находятся практически в полной доступности для населения. К сожалению, неправильное использование антибиотиков сопровождается быстрым ростом резистентности. Кроме того, использование антибиотиков в отрасли животноводства и сельского хозяйства также способствует росту устойчивых патогенов [Wu *et al.* 2022].

Биологическое давление, создаваемое непрерывным воздействием антибиотиков, обеспечило кумулятивное приобретение резистентных признаков у патогенов, что привело к образованию бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). В особенности тяжелые инфекции вызывает *Pseudomonas aeruginosa* [Linlin *et al.* 2023].

Однако ошибочно полагать, что растущая проблема может быть решена разработкой новых противомикробных препаратов. Угроза бактериальной устойчивости всегда будет сопровождать любой антибиотик, выведенный на рынок для повсеместного пользования. Кроме того, это неминуемо приведет к высокому темпу роста расходов на здравоохранение во всем мире [Hatfull *et al.*, 2022].

Перспективным решением данной проблемы может послужить использование бактериофагов как отдельно, так и в синергизме с антибиотиками, что позволит снизить общее количество используемых антибиотиков в клинической практике [Guo *et al.*, 2020].

Основным преимуществом фагов является их специфичность к бактериям-мишеням, что значительно снижает нанесение вреда нормальной

флоре хозяина. Фаги показывают многообещающие результаты против биопленок, а также эффективны в лечении устойчивых к антибиотикам инфекций *P. aeruginosa* [Rosa *et al.*, 2021].

Помимо клинической практики, бактериофагов можно использовать для контроля и устранения бактериальных загрязнений с поверхностей пищевых продуктов [Endersen *et al.*, 2020]. Бактериофаги, специфичные для растительных бактерий, могут найти свое применение в сельском хозяйстве [Fistera *et al.*, 2019].

Перед выведением бактериофага на фармакологическое производство, важно предварительно установить его геном для понимания его биологии, а также оценить возможность совместного применения с антибиотиками как в отношении отдельных планктонных клеток, так и в отношении устойчивых биопленок.

Целью данной работы явилось охарактеризовать бактериофаг *Pseudomonas phage Ka1* и оценить целесообразность его совместного применения с антибиотиками для лечения инфекций *Pseudomonas aeruginosa*.

Для достижения поставленной цели в работе решались следующие **задачи**:

- 1) Выделить геномную ДНК бактериофага Ka1, провести полногеномное секвенирование, сборку и аннотацию генома бактериофага;
- 2) Установить филогенетическое положение бактериофага Ka1;
- 3) Охарактеризовать литический потенциал бактериофага Ka1 и оценить его синергетический эффект с антибиотиками в отношении планктонных клеток и биопленки *P. aeruginosa*.



СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ ANTIPLAGIAT.СТРУКТУРА

Автор работы: Палагина Виктория Геннадьевна
Самоцитирование
рассчитано для: Палагина Виктория Геннадьевна
Название работы: Характеристика бактериофага Pseudomonas phage Ka1 из семейства Podoviridae
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение:

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

СОВПАДЕНИЯ		11.43%	СОВПАДЕНИЯ		11.43%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		88.57%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		88.57%
ЦИТИРОВАНИЯ		0%	ЦИТИРОВАНИЯ		0%
САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 29.05.2023

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 29.05.2023 15:23

Структура документа: Проверенные разделы: основная часть с.1-25

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); Переводные заимствования издательства Wiley; eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ: аналитика; СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация; Модуль поиска "КПФУ"; Медицина; Диссертации НББ; Коллекция НБУ; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика; Перефразирования по Интернету; Перефразирования по Интернету (EN); Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; Переводные заимствования

Работу проверил: Каюмов Айрат Рашитович

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.