

**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 (специальность): 06.04.01 – Биология

Профиль (специализация, магистерская программа): Микробиология и вирусология

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
БИОАКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ С ПРОТИВОМИКРОБНЫМ
ПОТЕНЦИАЛОМ ИЗ МОДЕЛЬНЫХ БРИОФИТОВ**

Обучающийся 2 курса
группы 01-140-2



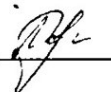
С. М. Джабраилова

Научный руководитель
д-р биол. наук, профессор



М.Р. Шарипова

Научный руководитель
канд. биол. наук, старший научный сотрудник



Л.Р. Валеева

Заведующий кафедрой микробиологии
д-р биол. наук, профессор



О.Н. Ильинская

Казань – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|-----------|
| ВВЕДЕНИЕ | 5 |
| 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ | 7 |
| 1.1 Растения – продуценты биоактивных соединений | 7 |
| 1.1.2 Многообразие вторичных метаболитов растений: функции в росте и развитии | 8 |
| 1.1.3 Растительный секретом: состав и функциональные свойства..... | 11 |
| 1.2 Бриофиты как источник уникальных метаболитов..... | 16 |
| 1.2.1 Бриофиты – колонизаторы неблагоприятных экониш и новые модельные объекты | 16 |
| 1.2.2 Вторичные метаболиты бриофитов | 18 |
| 1.3 Биопрепараты на основе растительных метаболитов..... | 22 |
| 1.3.1 Растения как основа для создания новых препаратов для медицины..... | 22 |
| 1.3.3 Проблема антибиотикорезистентности и пути ее решения с использованием растительных препаратов..... | 25 |
| Заключение | 29 |
| ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ | 30 |
| 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ | 30 |
| 2.1 Растения <i>C. purpureus</i> | 30 |
| 2.2 Получение внеклеточных метаболитов..... | 30 |
| 2.3 Выделение активной фракции внеклеточных метаболитов..... | 31 |
| 2.4 Оценка антибактериальной активности | 31 |
| 2.4.1 Диско-диффузионный метод | 32 |
| 2.4.2 Минимальная ингибирующая концентрация | 32 |
| 2.5 Оценка цитотоксичности | 33 |
| 2.6 Определение содержания фенольных соединений в экссудате..... | 34 |
| 2.7 Определение содержания флавоноидов в экссудате | 35 |
| 2.8 Масс-спектрометрический анализ низкомолекулярных соединений (LC-MS/MS) | 35 |
| 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ | 37 |

| | |
|--|-----------|
| 3.1 Оценка антибактериальной активности неочищенных внеклеточных метаболитов <i>C. purpureus</i> | 37 |
| 3.2 Определение стабильности внеклеточных соединений <i>C. purpureus</i> | 41 |
| 3.3 Оценка антибактериальной активности низкомолекулярной фракции внеклеточных метаболитов <i>C. purpureus</i> | 45 |
| 3.4 Оценка минимальной ингибирующей концентрации..... | 48 |
| 3.5 Оценка цитотоксичности | 50 |
| 3.6 Масс-спектрометрический анализ низкомолекулярных соединений (LC-MS/MS) | 57 |
| Заключение | 60 |
| ВЫВОДЫ | 61 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ | 62 |

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день одной из наиболее значимых глобальных угроз здравоохранению является растущее число патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, устойчивых к существующим антибиотикам. В связи с этим возрастает актуальность расширения спектра терапевтических антибактериальных соединений, в частности за счет идентификации новых биоактивных метаболитов природного происхождения. В связи с этим, одним из перспективных источников новых биологически активных веществ являются растения – продуценты большого числа уникальных вторичных метаболитов, обладающих антибактериальной, противогрибковой, противовирусной, антиоксидантной и противоопухолевой активностью. Особый интерес в качестве источников новых биоактивных метаболитов представляют бриофиты – эволюционно древняя группа наземных растений, включающая мхи, печеночники и антоцеротовые мхи. Несмотря на то, что бриофиты относительно просто устроены, им удалось адаптироваться к различным климатическим условиям и тесному сосуществованию с различными микроорганизмами, что, в том числе, обусловлено синтезом разнообразных вторичных метаболитов, участвующих в защите клеток и тканей, передаче внутриклеточных сигналов и сигналов во внешнюю среду. Так, мох *Ceratodon purpureus* способен выдерживать крайне широкие температурные колебания, воздействие высокого уровня ультрафиолетового излучения, а также расти на почвах, загрязненных тяжелыми металлами. Исследования экстрактов бриофитов позволили обнаружить множество уникальных соединений, в том числе с антибактериальной и антимикотической активностью. Однако свойства секретируемых метаболитов бриофитов, в частности, модельных видов, остаются малоизученными, несмотря на то, что именно внеклеточные метаболиты у растений способны выполнять функции внутривидовой и межвидовой коммуникации, а также защиты от фитопатогенов. Кроме того, несомненно

преимущества секретируемых соединений для дальнейших исследований как с точки зрения простоты очистки, так и стабильности.

Целью данной работы являлось определение антибактериальной активности секретируемых метаболитов модельного мха *Ceratodon purpureus*.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1) Идентификация антибактериальной активности секретируемых метаболитов бриофита *Ceratodon purpureus* линий R40 и GG1;

2) Определение содержания фенолов, флаваноидов и белков во внеклеточных экссудатах бриофитов;

3) Получение фракций низкомолекулярных соединений из экссудатов бриофитов;

4) Оценка антибактериального и цитотоксического действия полученных фракций;

Метаболомный анализ низкомолекулярных фракций экссудатов.

ВЫВОДЫ

- 1) Показано, что обе линии мха *Ceratodon purpureus* R40 и GG1 продуцируют внеклеточные метаболиты с антибактериальной активностью.
- 2) Внеклеточные экссудаты мха *Ceratodon purpureus* характеризуются высоким содержанием фенолов.
- 3) Получены активные фракции низкомолекулярных соединений из экссудатов мха *Ceratodon purpureus* R40 и GG1.
- 4) Показано, что полученные фракции обладают ингибирующей активностью в отношении бактерий грамположительного морфотипа *Staphylococcus aureus*, а также цитотоксической активностью по отношению к нормальным и опухолевым клеточным линиям.
- 5) Анализ секретомы мха *Ceratodon purpureus* R40 показал наличие 8 соединений, обладающих прямыми или непрямыми протекторными функциями, в том числе за счет регуляции индуцируемой системной резистентности. В секретоме обнаружено соединение альфа-бисаболол, обладающее цитотоксическим действием в отношении нормальных и опухолевых клеточных линий.