

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

Дипломная работа

**ВИРУЛЕНТНОСТЬ ШТАММОВ *ACHOLEPLASMA LAIDLAWN* С
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К
ЦИПРОФЛОКСАЦИНУ В ОТНОШЕНИИ РАЗНЫХ ЛИНИЙ
*DROSOPHILA MELANOGASTER***

Работа завершена:

«01» 06 2021 г. Нигматулина (Р. Р. Нигматулина)

Работа допущена к защите:

Научные руководители:

к.б.н., старший преподаватель

«01» 06 2021 г. В. В. Костенко (В. В. Костенко)

к.б.н., старший преподаватель

«02» 06 2021 г. Е. С. Медведева (Е. С. Медведева)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

«02» 06 2021г.

Чернов
Казань 2021

(В.М. Чернов)

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Генетические особенности возникновения механизмов вирулентности у микоплазм	
1.2 Адаптации микоплазм к антибактериальным препаратам	17
1.3 <i>D. melanogaster</i> как модель для изучения взаимодействий микробиоты и хозяина	20
ЭСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	30
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	30
2.1 Культивирование штаммов <i>A. laidlawii</i> PG8B и <i>A. laidlawii</i> PG8R ₁₀ на искусственных питательных средах	30
2.2 <i>Drosophila melanogaster</i> как объект исследования	31
2.3 Анализ летальных мутаций в период эмбрионального развития дрозофилы	31
2.4 Жизнеспособность тканей кишечника линий <i>Drosophila melanogaster</i>	32
2.5 Методы оценки показателей приспособленности <i>Drosophila melanogaster</i>	33
2.6 Выделение ДНК	34
2.7 Амплификация нуклеотидных последовательностей с помощью ПЦР	34
2.8 Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК в агарозном геле....	35
2.9 Метод оценки повреждения повреждения ДНК в клетках кишечника линий <i>Drosophila melanogaster</i>	35
2.9.1 Приготовление растворов	36
2.9.2. Подготовка слайдов	36
2.9.3 Лизис, электрофорез и окраска слайдов	37
2.10 Статистическая обработка данных	37
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	38
3.1. Влияние <i>A. laidlawii</i> с дифференциальной устойчивостью к цирофлоксацину на признаки приспособленности <i>Drosophila melanogaster</i> .38	
3.1.1. Влияние <i>A. laidlawii</i> с дифференциальной устойчивостью к цирофлоксацину на эмбриональное развитие линий <i>Drosophila melanogaster</i> с мутациями в генах <i>vermillion</i> и <i>scarlet</i>	40

3.1.2. Влияние <i>A. laidlawii</i> с дифференциальной устойчивостью к цирофлоксации на жизнеспособность особей линий <i>Drosophila melanogaster</i> с мутациями в генах <i>vermillion</i> и <i>scarlet</i> на предимагинальной и имагинальной стадиях развития	46
3.2. Влияние <i>A. laidlawii</i> с дифференциальной устойчивостью к цирофлоксации на признаки поведения <i>Drosophila melanogaster</i>	49
3.2.1. Влияние <i>A. laidlawii</i> с дифференциальной устойчивостью к цирофлоксации на локомоторную активность линий <i>Drosophila melanogaster</i> с мутациями в генах <i>vermillion</i> и <i>scarlet</i>	50
3.3.1. Влияние <i>A. laidlawii</i> с дифференциальной устойчивостью к цирофлоксации на жизнеспособность тканей кишечника линий <i>Drosophila melanogaster</i> с мутациями в генах <i>vermillion</i> и <i>scarlet</i>	54
3.3.2. Влияние <i>A. laidlawii</i> с дифференциальной устойчивостью к цирофлоксации на повреждение ДНК в клетках кишечника линий <i>Drosophila melanogaster</i> с мутациями в генах <i>vermillion</i> и <i>scarlet</i>	58
ВЫВОДЫ	62
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	63

ВВЕДЕНИЕ

Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам в настоящее время представляет серьёзную проблему для мирового общественного здравоохранения. Опасность антибиотикоустойчивости вызвана не только формированием механизмов устойчивости бактерий к антимикробным препаратам, но также из-за возникновения ремоделирования у резистентных штаммов генома, эпигенома и секретома, определяющим глобальное репрограммирование метаболизма и изменение патогенного потенциала микроорганизмов – возникновение новых свойств вирулентности у патогенных бактерий и появление патогенности у комменсалов. Возникновение антибиотикоустойчивости (АБУ) у бактерий, относящихся к разным классам (как грамм-отрицательных, так и грамм-положительных), связывают с особенностями их адаптации к антимикробным препаратам (АМП). В основе адаптационных механизмов бактерий к АМП лежат процессы модификации мишени антибиотика (изменение структуры белка) и ее защиты (синтез защитных белков, предотвращающих связывание антибиотика с мишенью), инактивации антибиотика (ферментативное разрушение или модификация структуры), активного выведения антибиотика из микробной клетки (эффлюкс), нарушения проницаемости оболочки микробной клетки (изменение структуры пориновых каналов при этом может приводить к формированию устойчивости к препаратам нескольких классов) (Alekshun, Levy, 2007; Blair et al., 2014).

Считается, что резистентность к антимикробным препаратам у бактерий связана с возникновением факторов вирулентности (ФВ), которые влияют на взаимоотношения патоген-хозяин, приводя к изменению адаптационных возможностей организма и как следствие к снижению жизнеспособности последнего. Особый интерес в изучении возможных механизмов развития антибиотикорезистенности у микроорганизмов принадлежит микоплазмам,

поскольку они являются тахитеричными, пребывающими в состоянии повышенной скорости эволюции организмами, и широко распространены в биоценозах как комменсалы и патогены высших эукариот.

Уникальной средой с точки зрения эффективности распространения генов АБУ посредством ГПГ является кишечная микробиота. В связи с этим значительное внимание сегодня направлено на изучение модуляции микробиомного профиля у человека при антибиотикотерапии.

Для проведения исследований, направленных на выяснение причинно-следственных связей, необходимы модельные эксперименты на организмах, особенности микробиоты которых позволяют наиболее точно определять и модулировать ее состав. Удобной моделью в изучении взаимодействий между хозяином и отдельными видами симбиотических микроорганизмов является *Drosophila melanogaster* (Ma *et al.*, 2015), кишечник которой имеет генетическое и биохимическое сходство с кишечником млекопитающих, включая человека (Lemaitre, Miguel-Aliaga 2013; Jiang, Edgar 2012; Buchon *et al.*, 2013). В целом микробиота дрозофилы состоит из простых бактериальных сообществ, представленных *Firmicutes* (*Lactobacillaceae* и *Enterococcaceae*) и *Proteobacteria* (*Acetobactereaceae* и *Enterobactereaceae*) с пятью доминирующими видами: *Acetobacter pomorum*, *A. tropicalis*, *Lactobacillus brevis*, *L. plantarum* и *L. fructivorans* (Ryu *et al.*, 2008; Wong *et al.*, 2011). За исключением *Acetobactereaceae*, эти виды также являются комменсалами у человека (Qin *et al.*, 2010). Высокая степень молекулярно-генетической изученности, а также разработанность способов оценки генотоксичности определяют возможность использования дрозофилы для исследований, направленных на выяснение влияния колонизации кишечника *Drosophila melanogaster* факультативными комменсалами, различающимися по антибиотикоустойчивости, на нейрофизиологические параметры мух. Такие исследования актуальны как для фундаментальных исследований механизмов взаимодействия микро- и макроорганизмов, так и практических

разработок, направленных на возможность управления патогенами и коррекции патологических процессов у высших эукариот.

В связи с этим **цель** данной работы – определить особенности нейрофизиологических параметров разных линий *Drosophila melanogaster* при культивировании мух с клетками штаммов *A. laidlawii* с дифференциальной устойчивостью к ципрофлоксацину.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Определить влияние совместного культивирования *D. melanogaster* дикого типа *Canton-S* и мутантных линий *vermillion* и *scarlet* с клетками штаммов *A. laidlawii* с дифференциальной устойчивостью к ципрофлоксации на признаки репродукции дрозофилы.
2. Определить влияние совместного культивирования личинок *D. melanogaster* дикого типа *Canton-S* и мутантных линий *vermillion* и *scarlet* на среде с клетками штаммов *A. laidlawii* с дифференциальной устойчивостью к ципрофлоксации на локомоторные функции у имаго дрозофилы.
3. Провести сравнительный анализ степени повреждения тканей кишечника *D. melanogaster* у дикого типа *Canton-S* и мутантных линий *vermillion* и *scarlet* при совместном культивировании личинок на среде с клетками штаммов *A. laidlawii* с дифференциальной устойчивостью к ципрофлоксации.
4. Определить влияние совместного культивирования *D. melanogaster* с клетками штаммов *A. laidlawii* с дифференциальной устойчивостью к ципрофлоксации на частоту возникновения ДНК-повреждений в клетках кишечника у дикого типа *Canton-S* и мутантных линий *vermillion* и *scarlet*.

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Казанский (Приволжский) федеральный
университет

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Нигматулина Роза Рафаильевна

Самоцитирование

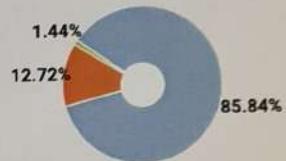
рассчитано для: Нигматулина Роза Рафаильевна

Название работы: ВКР Нигматулина Роза 2021

Тип работы: Не указано

Подразделение: ИФМИБ

РЕЗУЛЬТАТЫ



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 25.05.2021

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.
Представленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.