

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.03.01 (ОКСО 020400.62) – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Бакалаврская работа

**АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТЬ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ
КОММЕНСАЛОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER*: ИЗМЕНЕНИЕ
МИКРОБИОМА И ПОВЕДЕНИЯ МУХ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ
ШТАММАМИ *ACHOLEPLASMA LAIDLAWII***

Работа завершена:

«6» мая 2020 г.

(Алексеева И.Н.)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

к. б. н., с.н.с.

«6» мая 2020 г.

(Баранова Н.Б.)

Заведующий кафедрой:

д.б.н., профессор

«6» мая 2020 г.

(Чернов В.М.)

Казань – 2020

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	8
1.1 Устойчивость бактерий к антимикробным препаратам	8
1.2 Микробиом, его влияние на организм хозяина	11
1.3 <i>Drosophila melanogaster</i> как модель исследования микробиома	14
1.4 «Вездесущая» микоплазма <i>Acholeplasma laidlawii</i> .	19
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	22
2.1 Культивирование штаммов <i>Acholeplasma laidlawii</i> на искусственных питательных средах	22
2.2 Определение численности колонииобразующих единиц <i>A. laidlawii</i> PG8	23
2.3 Культивирование <i>D. Melanogaster</i>	24
2.4 Анализ нейрофизиологических параметров	24
2.4.1 Спонтанная локомоторная (двигательная) реакция имаго дрозофилы	24
2.4.2 Анализ летальных мутаций в период эмбрионального развития дрозофилы	25
2.5 Выделение ДНК	26
2.6 Полимеразная цепная реакция	27
2.7 Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК в агарозном геле	28
2.8 Статистическая обработка данных	29
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ	30
3.1 Влияние клеток штаммов <i>A. laidlawii</i> PG8, различающихся по чувствительности к ципрофлоксацину, на репродуктивное поведение самок <i>D. melanogaster</i>	30
3.2 Сравнительный анализ времени предимагинального развития <i>D. melanogaster</i> при совместном культивировании личинок на среде с	33

клетками штаммов A. laidlawii PG8, различающихся по
чувствительности к ципрофлоксацину

- 3.3 Особенности локомоторных функций у имаго D. melanogaster при 34
совместном культивировании личинок на средах с клетками
штаммов A. laidlawii PG8, различающихся по чувствительности к
ципрофлоксацину

ВЫВОДЫ

38

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

39

ВВЕДЕНИЕ

Серьезная угроза, исходящая от антибиотикоустойчивости, обусловлена не только самой устойчивостью бактерий к антимикробным препаратам, но и ремоделированием 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. Колонизация кишечника высших организмов такими бактериями может приводить к существенным сдвигам в структуре и функции кишечного микробиома. Структурно-функциональные особенности кишечной микробиоты оказывают значительное влияние на нейрофизиологию высших организмов, так что модуляция микробиома кишечника может обуславливать значительные изменения физиологии организма хозяина. Закономерности соответствующих процессов в настоящее время интенсивно исследуются. Однако в отношении исследований, связанных с колонизацией кишечника антибиотикоустойчивыми штаммами, сделаны только первые шаги. Эти исследования выполнены главным образом в отношении человека в связи с антибиотикотерапией и, соответственно, являются не казуальными, а ассоциативными [Blaser, 2016; Yoon, Yoon, 2018; Hildebrand *et al.*, 2019].

Для проведения исследований, направленных на выяснение причинно-следственных связей, необходимы модельные эксперименты на организмах, особенности микробиоты которых позволяют наиболее точно определять микробиомный профиль и осуществлять его модуляцию. Удобной моделью в этом отношении представляется *D. melanogaster*, микробиом которой помимо вирусов содержит небольшое количество бактерий (от 5 до 30 видов) [Wong *et al.*, 2011; Broderick, Lemaitre, 2012]. При этом только пять видов всегда обнаруживаются у диких и лабораторных мух – *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus brevis*, *Acetobacter pomorum* и *Acetobacter tropicalis* [Wong *et al.*, 2011; Chandler *et al.*, 2011; Clark, Walker,

2018]. Помимо указанных микроорганизмов, насекомые являются распространенной средой обитания бесстеночных бактерий, объединенных в класс *Mollicutes*. Так, у дрозофилы обнаруживаются представители родов *Spiroplasma* и *Acholeplasma*, включая «вездесущую» микоплазму *A. laidlawii*, широко распространенную в окружающей среде, в том числе на поверхности и в тканях растений, которыми питаются насекомые [Steiner, McGarrity, 1983; Ballinger *et al.*, 2019]. Высокая степень молекулярно-генетической изученности, а также разработанность способов оценки нейрофизиологических реакций определяют возможность использования дрозофилы для исследований, направленных на выяснение закономерностей модуляции кишечной микробиоты и нейрофизиологических параметров у мух при колонизации кишечника комменсалами, различающимися по антибиотикоустойчивости и вирулентности. Такие исследования актуальны как для фундаментальных исследований механизмов взаимодействия микро- и макроорганизмов, так и практических разработок управления патогенами и патологическими процессами у высших эукариот.

В связи с этим цель данной работы — определить особенности нейрофизиологических параметров у *Drosophila melanogaster* при культивировании мух с клетками штаммов *A. laidlawii*, различающимися по чувствительности к ципрофлоксацину.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- 1) Определить влияние совместного культивирования *D. melanogaster* с клетками штаммов *A. laidlawii* PG8, различающихся по чувствительности к ципрофлоксацину, на репродуктивное поведение самок дрозофилы.
- 2) Провести сравнительный анализ времени предимагинального развития *D. melanogaster* при совместном культивировании личинок на среде с клетками штаммов *A. laidlawii* PG8, различающихся по чувствительности к ципрофлоксацину.
- 3) Определить влияние совместного культивирования личинок *D. melanogaster* на среде с клетками штаммов *A. laidlawii* PG8, различающихся

по чувствительности к ципрофлоксацину, на локомоторные функции у имаго дрозофилы.



СПРАВКА о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.Структура

Автор работы	Алексеева Ирина Николаевна
Подразделение	
Тип работы	Не указано
Название работы	Алексеева ИН
Название файла	Алексеева ИН.docx
Процент заимствования	19.26 %
Процент самоцитирования	0.00 %
Процент цитирования	1.06 %
Процент оригинальности	79.67 %
Дата проверки	18:40:32 27 мая 2020г.
Модули поиска	Модуль поиска ИПС "Адилет"; Модуль выделения библиографических записей; Сводная коллекция ЭБС; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Модуль поиска переводных заимствований по elibrary (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по интернет (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по Wiley (RuEn); Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Модуль поиска Интернет; Модуль поиска "КПФУ"; Коллекция Медицина; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирований Интернет; Коллекция Патенты; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов; Коллекция Wiley
Работу проверил	Бабынин Эдуард Викторович
ФИО проверяющего	
Дата подписи	<i>27 мая 2020</i>
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.