

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

Направление: 06.03.01 – Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
Бакалаврская работа
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВНЕКЛЕТОЧНОГО
МАТРИКСА МОНО- И ДВУВИДОВЫХ БИОПЛЕНОК


Работа завершена:

«14» 06 2023 г.  (Салихова А.Р.)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

д.б.н., заведующий кафедрой генетики

«14» 06 2023 г.  (Каюмов А.Р.)

Заведующий кафедрой

д.б.н., доцент

«14» 06 2023 г.  (Каюмов А.Р.)

Казань-2023

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Основные характеристики <i>Staphylococcus aureus</i>	7
1.2 Основные характеристики <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
1.3 Полимикробные биопленки как основная форма существования бактерий	12
1.4 Различные подходы в противомикробной терапии	16
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	20
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	20
2.1 Антибактериальные вещества, использованные в работе	20
2.2 Бактериальные штаммы	20
2.3 Питательные среды	20
2.4 Условия культивирования бактерий.....	20
2.5 Окраска различных компонентов матрикса биопленок	21
2.6 Определение минимальной подавляющей концентрации и минимальной бактерицидной концентрации	23
2.7 Определение проницаемости внеклеточного матрикса биопленок для антибактериальных веществ [Anderl, Franclin, 2000]	23
2.8 Подсчет КОЕ [Herigstad <i>et al.</i> , 2000].....	24
2.9 Выделение РНК из бактериальных клеток с помощью набора diaGene (Диаэм).....	25
2.10 Количественная ОТ-ПЦР в реальном времени	25
2.11 Электрофорез нуклеиновых кислот.....	26
2.12 Статистическая обработка результатов	27

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ.....	28
3.1 Определение количества жизнеспособных клеток в составе моно- и двувидовых биопленок <i>S. aureus</i> и <i>P. aeruginosa</i> в присутствии различных антибиотиков.....	28
3.2 Оценка проницаемости внеклеточного матрикса моно- и полимикробных биопленок <i>S. aureus</i> и <i>P. aeruginosa</i> для антибактериальных препаратов	30
3.3 Определение биохимического состава внеклеточного матрикса в моно- и полимикробных биопленках <i>S. aureus</i> и <i>P. aeruginosa</i>	32
3.4 Оценка уровня экспрессии генов, участвующих в синтезе внеклеточного матрикса биопленок <i>P. aeruginosa</i> в присутствии культуральной жидкости <i>S. aureus</i>	36
ВЫВОДЫ	39
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ	40

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ОП	Оптическая плотность
QS	Чувство кворума
BB1	Буфер с хаотропными агентами
BM	Основная среда
CFW	Calcofluor White
Con A	Concanavalin A
DEPC	Диэтилпиروкарбонат
LB	Питательная среда Лурия-Бертани
PBS	Фосфатно-солевой буфер
TBE	Трис-боратный буфер
WB1	Буфер для промывки 1

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день быстрый рост числа бактериальных патогенов, устойчивых к различным группам антибиотиков, представляет глобальную проблему распространения инфекционных заболеваний во всём мире [Pawlak *et al.*, 2022]. Одной из причин устойчивости к противомикробным препаратам является способность бактерий формировать биопленки [Cascioferro *et al.*, 2021]. Биопленки – это сообщество микроорганизмов одного или нескольких видов, взаимодействующих друг с другом и погруженных в продуцируемый ими матрикс, состоящий из белков, полисахаридов и нуклеотидов в разных соотношениях. Матрикс биопленки обеспечивает бактериям толерантность к неблагоприятным условиям среды, а также ограничивает доступ антимикробных препаратов к клеткам бактерий, что влечет за собой возникновение трудноизлечимых инфекций [Blackman *et al.*, 2021]. Формирование биопленок нередко можно наблюдать на медицинских устройствах, кожных покровах и дыхательных путях.

Способность к образованию биопленки наблюдается как у грамположительных, так и у грамотрицательных бактерий. При этом чаще всего формируются сложные сообщества, состоящие из нескольких микроорганизмов одновременно. В составе полимикробной биопленки изменяется метаболический профиль бактерий, состав внеклеточного матрикса, и как следствие, ответ бактерий на противомикробную терапию. На данный момент одними из наиболее распространенных условных патогенов, способных формировать двувидовые биопленки и проявлять устойчивость ко многим антибиотикам являются бактерии *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* [Mar Cendra *et al.*, 2021]. Показано, что в составе двувидовой биопленки чувствительность данных бактерий к антибиотикам изменяется [Trizna *et al.*, 2020]. Поэтому исследование межбактериальных взаимодействий в смешанном сообществе, а также их ответ на противомикробную терапию является актуальной задачей,

поскольку это позволит проводить правильный подбор лекарственных препаратов, обладающих максимальной эффективностью при лечении инфекций, вызванных смешанными биопленками этих видов.

Целью работы было охарактеризовать структуру моно- и двувидовых биопленок *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, а также чувствительность бактерий в них к антимикробным препаратам.

Для этого решались следующие **задачи**

- 1) Оценить эффективность антибиотиков в отношении бактерий в составе моно- и смешанного сообществ *S. aureus* – *P. aeruginosa*.
- 2) Определить проницаемость одновидовых и двувидовых биопленок *S. aureus* – *P. aeruginosa* для различных антимикробных препаратов.
- 3) Охарактеризовать изменения структуры и состава моно- и двувидовых биопленок *S. aureus* – *P. aeruginosa*.
- 4) Оценить влияние метаболитов *S. aureus* на уровень экспрессии генов, ответственных за продукцию основных полисахаридных компонентов внеклеточного матрикса биопленки *P. aeruginosa*.

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Казанский (Приволжский) федеральный
университет

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Салихова Алина Рустемовна
Самоцитирование
рассчитано для: Салихова Алина Рустемовна
Название работы: Сравнительная характеристика внеклеточного матрикса моно- и двувидовых биопленок
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение:

РЕЗУЛЬТАТЫ

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

СОВПАДЕНИЯ	2.91%	СОВПАДЕНИЯ	2.91%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	97.09%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	97.09%
ЦИТИРОВАНИЯ	0%	ЦИТИРОВАНИЯ	0%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 27.05.2023

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 27.05.2023 19:30

Структура документа: Проверенные разделы: основная часть с.1-21
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; Перефразирование по eLIBRARY.RU; Перефразирование по СПС ГАРАНТ: аналитика; Перефразирование по Интернету; Перефразирование по Интернету (EN); Перефразирование 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.