

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

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРПРОДУКЦИИ МАЛОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО  
ШОКА ИВРА *ACHOLEPLASMA LAIDLAWII* РЕКОМБИНАТНЫМИ  
ШТАММАМИ *ESCHERICHIA COLI* НА ТЕРМОТОЛЕРАНТНОСТЬ  
БАКТЕРИЙ И ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ В УСЛОВИЯХ  
ТЕПЛООВОГО ШОКА

Работа завершена:

«01» 06 2021 г.



(Д.А. Живайкина)

Работа допущена к защите:

Научные руководители:

д.б.н., доцент кафедры генетики

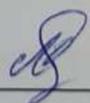
«01» 06 2021 г.



(А.Р. Каюмов)

м.н.с.

«02» 06 2021 г.



(Л.С. Чернова)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

«02» 06 2021 г.



(В.М. Чернов)

Казань 2021

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	7
1.1 Малые белки теплового шока .....	7
1.2 Характеристика малых белков теплового шока.....	7
1.3 Механизм шаперонной активности мБТШ <i>in vivo</i> .....	9
1.4 Роль малых белков теплового шока у представителей класса <i>Mollicutes</i> .....	12
1.5 Малый белок теплового шока IbpA <i>Acholeplasma laidlawii</i> .....	13
1.6 Бактериальные биопленки у различных микроорганизмов .....	15
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	18
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b> .....	19
<b>2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b> .....	19
2.1 Штаммы и плазмиды.....	19
2.2 Питательные среды и условия культивирования бактерий .....	19
2.3 Трансформация клеток <i>E. coli</i> .....	19
2.4 Гиперпродукция белков в клетках <i>E. coli</i> и получение клеточных экстрактов.....	20
2.5 Электрофорез белков в денатурирующих условиях.....	20
2.6 Окрашивание белковых гелей кумасси синим.....	21
2.7 Оценка жизнеспособности клеток с помощью МТТ-теста.....	21
2.8 Оценка метаболической активности клеток в резазуриновом тесте .....	22
2.9 Выращивание бактериальных биопленок.....	22

2.10 Окрашивание бактериальных биопленок кристаллическим фиолетовым.....	23
<b>3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.....</b>	<b>24</b>
3.1 Оценка влияния гиперпродукции малого белка теплового шока IbpA <i>Acholeplasma laidlawii</i> на термотолерантность клеток <i>E. coli</i> .....	24
3.2 Исследование способности штаммов с нефизиологическим содержанием малых белков теплового шока образовывать биопленку в условиях температурного стресса .....	28
3.3 Выявление влияния N- и C- концевых функциональных мотивов малого белка теплового шока IbpA <i>Acholeplasma laidlawii</i> на формирование бактериальной биопленки клетками <i>E. coli</i> .....	30
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>33</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....</b>	<b>34</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Малые белки теплового шока (мБТШ) являются молекулярными шаперонами, которые предотвращают необратимую агрегацию белков клетки при неблагоприятных условиях среды [Park *et al.*, 2015]. Один из представителей класса *Mollicutes* – *Acholeplasma laidlawii* (фитопатогенная микоплазма) – представляет большой интерес для науки, так как является единственным организмом, который может существовать вне организма - хозяина. Также данная микоплазма способна выживать в различных условиях среды, несмотря на то, что у нее найден только один ген мБТШ – IbpA (AлbpA) [Jiao *et al.*, 2005]. Было обнаружено, что при тепловом стрессе количество мБТШ IbpA составляет до 7% от общего числа белков в клетке, что, предположительно является основным фактором, позволяющим *Acholeplasma laidlawii* адаптироваться к высоким температурам [Vishnyakov, 2011].

Показано, что БТШ из риса повышают устойчивость клеток *E. coli* к 30-минутному воздействию высокой температуры до 47,5 °C [Yeh C H, 1997]. Соответственно, был выдвинуто предположение, что мБТШ IbpA *A. laidlawii* может оказывать такой же эффект на клетки *E. coli*.

Кроме того, как и все представители класса *Mollicutes*, *A. laidlawii* обладает способностью к образованию бактериальной биопленки – одного из способов закрепления микроорганизмов на питательной среде [Kaper *et al.* 2004]. Бактериальные биопленки обладают особой устойчивостью к противомикробным препаратам и антисептикам, а также они достаточно устойчивы к иммунным механизмам организма-хозяина [D. Lebeaux *et al.*, 2013]. Зачастую образование бактериальной биопленки какими-либо микробными сообществами зависит от нескольких факторов: образуемые клеткой полисахариды, цитоплазматическая мембрана микроорганизмов, субстрат, на котором существует такое сообщество – все это прямо или косвенно влияет на устойчивость биопленки к воздействию различных условий среды [Hadjifrangiskou M. *et al.*, 2013].

Образование колониями *A. laidlawii* такого защитного механизма способствует большей выживаемости данной бактерии в организме-хозяине [Разин С. 1978].

Целью данной работы являлось выявление способности гиперэкспрессии малого белка теплового шока IbpA *Acholeplasma laidlawii* в клетках *E. coli* повышать толерантность бактерий к высоким температурам.

В работе решались следующие задачи:

- 1) Оценить влияние гиперпродукции белка теплового шока IbpA *Acholeplasma laidlawii* на термотолерантность клеток *E. coli*;
- 2) Исследовать способность штаммов с нефизиологическим содержанием малых белков теплового шока образовывать биопленку в условиях температурного стресса;
- 3) Выявить влияние N- и C- концевых функциональных мотивов малого белка теплового шока IbpA *Acholeplasma laidlawii* на формирование бактериальной биопленки клетками *E. coli*.



**АНТИПЛАГИАТ**  
ТВОРИТЕ СОБСТВЕННЫМ УМОМ

## СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

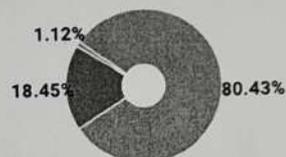
о результатах проверки текстового документа  
на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Живайкина Дарья Андреевна  
Самоцитирование  
рассчитано для: Живайкина Дарья Андреевна  
Название работы: ВКР Живайкиной Дарьи Андреевны  
Тип работы: Не указано  
Подразделение:

### РЕЗУЛЬТАТЫ

ЗАИМСТВОВАНИЯ	18.45%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	80.43%
ЦИТИРОВАНИЯ	1.12%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%



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.  
Предоставленная информация не подлежит использованию  
в коммерческих целях.