

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: 06.04.01 (ОКСО 020400.62) – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская работа

ВЛИЯНИЕ ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ ФУРАНОНОВ НА  
ЭКСПРЕССИЮ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОВ У *PSEUDOMONAS*  
*AERUGINOSA*

Работа завершена:

«09» 06 2023 г.  (Гусманова Ю. Р.)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

к.б.н., доцент кафедры генетики

«13» 06 2023 г.  (Бабынин Э. В.)

Заведующий кафедрой

д.б.н., доцент

«13» 06 2023 г.  (Каюмов А. Р.)

Казань – 2023

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АГЛ – ацил-гомосерин лактон

AI-2 – аутоиндуктор-2

LB – среда Лурия-Бертани

PBS – физиологический раствор с фосфатным буфером

ПЦР – полимеразная цепная реакция (PCR)

QS – чувство кворума

QSI – ингибиторы чувства кворума

PQS – сигнал хинолона *Pseudomonas* (*Pseudomonas* quinolone signal, PQS)

QQ – ингибирование кворума (quorum quenching)

TCS – двухкомпонентная регуляторная система (Two-Component System)

IQS - интегрированный сигнал QS

## Оглавление

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ .....	2
ВВЕДЕНИЕ .....	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	8
1.1 Фураноны: строение и функции.....	8
1.2 Механизм действия фуранонов .....	9
1.2.1 Влияние фуранонов на чувство кворума (QS) .....	9
1.2.2 Бактериальные биопленки.....	12
1.2.3 Синергизм фураноновых соединений с антибиотиками.....	15
1.3 Токсичность фуранонов .....	17
1.3.1 Развитие устойчивости к фуранонам .....	19
1.4 Влияние фуранонов на транскриптом и протеом бактерий.....	20
1.4.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	21
1.5 Механизмы резистентности бактерий к бета-лактамам .....	23
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ .....	25
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	25
2.1 Используемые штаммы микроорганизмов.....	25
2.2 Питательные среды и соединения .....	25
2.3 Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК)..	26
2.4 Определение профиля антибиотикорезистентности для различных штаммов .....	27
2.5 Определение устойчивости к галогенированным производным фуранонов.....	28
2.6 Получение и определение активности бесклеточного лизата.....	28
2.7 Определение ДНК-повреждающей активности галогенированных фуранонов.....	29
2.8 Выделение РНК.....	30
2.9 Подбор праймеров для ПЦР анализа .....	30
2.10 Количественная ПЦР с обратной транскрипцией.....	32
2.11 Статистическая обработка данных .....	33
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....	34
3.1 Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК)..	34

3.2	Определение профилей антибиотикорезистентности для различных штаммов .....	34
3.3	Анализ активности лизата клеточной культуры <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	37
3.4	Определение ДНК-повреждающей активности галогенированных фуранонов.....	38
3.5	Подбор праймеров для количественной ПЦР с обратной транскрипцией .....	39
3.6	Обнаружение уровней экспрессии целевых генов.....	43
	<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	<b>45</b>
	<b>ВЫВОДЫ</b> .....	<b>46</b>
	<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ</b> .....	<b>47</b>

## ВВЕДЕНИЕ

С тех пор, как в начале 20-го века были обнаружены антибиотики, многие смертельные заболевания человека стали излечимы [Nicolaou *et al.*, 2018]. Однако, неизбирательное и чрезмерное использование антибиотиков в течение десятилетий привело к лекарственной устойчивости и появлению лекарственно-устойчивых бактериальных штаммов [Zhao *et al.*, 2020]. Проблема осложняется тем, что в последние годы на фармацевтическом рынке появилось мало новых классов противомикробных препаратов. С 1990 года было запущено только три новых класса антибиотиков, и для одного из них, оксазолионов, резистентность была выявлена вскоре после их введения [Baker *et al.*, 2018].

Очевидно, что необходимы новые стратегии борьбы с инфекциями, вызываемыми штаммами с множественной лекарственной устойчивостью [Evans *et al.*, 2019]. Одна из таких стратегий включает в себя вмешательство в механизмы резистентности патогенных бактерий путем подавления чувства кворума (QS) [Haque *et al.*, 2018]. Система чувства кворума регулирует различные клеточные процессы микроорганизмов, такие как экспрессия патогенных генов, выработка токсинов и внеклеточный синтез полисахаридов, и играет важную регуляторную роль в процессе работы эффлюксных насосов и образовании микробных биопленок [Bäuerle *et al.*, 2018].

Фураноны – это класс органических соединений, состоящих из пятичленного гетероциклического кольца фурана [Singh *et al.*, 2018]. Они находятся в везикулах на поверхности водорослей и противостоят обрастанию поверхности водорослей морскими организмами [Ren *et al.*, 2001]. Фураноны стали предметом интереса в качестве новых антимикробных средств с ростом устойчивости микробов к традиционным антибиотикам [Gómez *et al.*, 2022]. Были синтезированы различные аналоги природных галогенированных фуранонов [Husain *et al.*, 2019].

Показано, что эти соединения обладают мощной антибактериальной активностью в отношении большого числа грамположительных и

грамотрицательных бактерий [Ren *et al.*, 2004; Kayumov *et al.*, 2015]. Фураноны ингибируют образование биопленки благодаря своей сходной структуре с сигнальными молекулами бактерий N-ацил-L-гомосерин лактонами (АГЛ) [Manefield *et al.*, 1999]. Этот антимикробный механизм делает галогенированные фураноны менее склонными к развитию лекарственной устойчивости [Proctor *et al.*, 2020].

Фураноны выступают как ингибиторы QS, не влияя на жизнеспособность микроорганизмов, и, таким образом, предлагают перспективные цели для разработки новых стратегий контроля микробной колонизации поверхностей [Sharma *et al.*, 2019]. Образование биопленок обеспечивает микроорганизмам более высокую степень резистентности к антимикробным соединениям [Yin *et al.*, 2019]. Таким образом, галогенированные фураноны рассматриваются как потенциальные антибактериальные агенты. Создание библиотек новых фуранонов и изучение их на предмет степени воздействия на различные микроорганизмы имеет важное значение для общественного здравоохранения.

**Целью** данного исследования является установление механизмов действия галогенированных фуранонов на бактериальные клетки.

В соответствии с поставленной целью решались следующие **задачи**:

- 1) Установить минимальную подавляющую концентрацию (МПК) галогенированных фуранонов для *Achromobacter xylosoxidans*, *Brevibacillus laterosporus*, *Staphylococcus warneri*, *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*;
- 2) Определить профиль антибиотикорезистентности исследуемых штаммов;
- 3) Определить действие лизата *Pseudomonas aeruginosa* на экспрессию QS-контролируемых генов;
- 4) Установить ДНК-повреждающую активность галогенированных фуранонов;

- 5) Оценить экспрессию генов множественной лекарственной устойчивости и биопленкообразования *Pseudomonas aeruginosa* по результатам количественной ПЦР с обратной транскрипцией.



**АНТИПЛАГИАТ**  
ОБНАРУЖЕНИЕ ЗАИМСТВОВАНИЙ

## СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

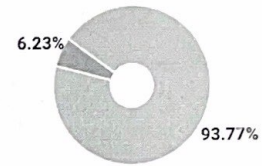
о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

### ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Гусманова Юлия Равилевна  
Самоцитирование рассчитано для: Гусманова Юлия Равилевна  
Название работы: ВКР Гусманова Ю.Р.  
Тип работы: Не указано  
Подразделение:

### РЕЗУЛЬТАТЫ

СОВПАДЕНИЯ 6.23%  
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ 93.77%  
ЦИТИРОВАНИЯ 0%  
САМОЦИТИРОВАНИЯ 0%



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 29.05.2023

Структура документа:

Проверенные разделы: основная часть с.1-33

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; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика; Перефразирования по Интернету; Перефразирования по Интернету (EN); Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; 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.