

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 - биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Дипломная работа

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ *STREPTOCOCCUS SP.* И  
ОЦЕНКА ПОДАВЛЕНИЯ ИХ РОСТА И ОБРАЗОВАНИЯ  
БИОПЛЕНКИ ИННОВАЦИОННЫМИ БИОПРЕПАРАТАМИ

Работа завершена:

" 31 " 05 2021 г.



(Мельник А.П.)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

к.б.н., доцент кафедры генетики

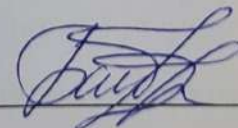
" 01 " 06. 2021 г.



(Каюмов А.Р.)

инженер кафедры генетики

" 01 " 06. 2021 г.



(Байдамшина Д.Р.)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

" 02 " 06 2021 г.



(Чернов В.М.)

Казань-2021

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	4
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	7
1.1 Обмен веществ в бактериальных биопленках полости рта .....	7
1.2 Стадии образования биопленок полости рта.....	10
1.3 Внутренние и внешние факторы, влияющие на стабильность биопленки ротовой полости .....	12
1.4 Устойчивость биопленок к антибиотикам.....	14
1.5 Способы борьбы с биопленками, образованными клетками стрептококков .....	15
<b>Заключение</b> .....	19
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b> .....	20
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b> .....	20
2.1 Штаммы.....	20
2.2 Исследуемые соединения .....	20
2.3 Питательные среды .....	20
2.4 Условия культивирования бактерий .....	20
2.5 Выделение геномной ДНК [Sambrook <i>et al.</i> , 1989] .....	20
2.6 Полимеразная цепная реакция (ПЦР) .....	21
2.7 Электрофорез ДНК.....	21
2.8 Электрофорез белков в денатурирующих условиях.....	22
2.9 Окрашивание белковых гелей нитратом серебром.....	22
2.10 Очистка ДНК из агарозного геля.....	22
2.11 Секвенирование ДНК.....	23
2.12 Биоинформатика.....	23
2.13 Идентификация изолятов на масс-спектрометре .....	23
2.14 Определение МПК исследуемых веществ.....	23
2.15 Определение МПК исследуемых веществ в резазуриновом тесте.....	24
2.16 Определение МБПК исследуемых веществ.....	25
2.17 Оценка жизнеспособности клеток с помощью МТТ-теста.....	26

<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ.....</b>	<b>27</b>
3.1 Выделение и идентификация изолятов <i>Streptococcus sp.</i> .....	27
3.2 Возможность подавления роста биопленок <i>Streptococcus sp.</i> ферментным комплексом Luctatol® .....	30
3.3 Подавление роста биопленок изолятов <i>Streptococcus sp.</i> бактериальными лизатами в комплексе с протеолитическими ферментами ..	33
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>48</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....</b>	<b>49</b>



## ВВЕДЕНИЕ

Микрофлора полости рта представляет собой совокупность представителей различных таксономических групп микроорганизмов. Можно выделить две формы их существования в ротовой полости – свободно плавающие или же планктонные клетки и устойчивые полимикробные сообщества – биопленки [Flemming, Wingender, 2010].

Бактериальные биопленки – поверхностно ассоциированные сообщества микроорганизмов, заключенных в полимерный матрикс, который они же и продуцируют. В состав этих выделений входят белки, нуклеотиды и полисахариды [Petrova, Sauer, 2016]. Микроорганизмы в составе биопленок вступают в тесные молекулярные, физические и метаболические взаимодействия, что в свою очередь влияет на их количество, патогенность и устойчивость к различным биопрепаратам [Побожьева, Копецкий, 2012].

Площадь поверхности зубов, десен являются потенциальными местами колонизации широкого круга ранних и поздних колонизаторов. Представители рода *Streptococcus spp.* являются первичными колонизаторами и составляют 60-90% от всех видов бактерий, находящихся на поверхности зубов в течение первых четырех часов после профессиональной чистки [Lyte, 2014]. Также, к пионерным организмам относят представителей родов *Actinomyces sp.*, *Carnocytophaga sp.*, *Eikenella sp.*, *Haemophilus sp.*, *Prevotella sp.*, *Propionibacterium sp.* и *Veillonella sp.* [Kolenbrander *et al.*, 2002].

Первичные колонизаторы способны к коадгезии, или сцеплению только с определенными видами других ранних колонизаторов и практически не взаимодействуют с представителями вторичных колонизаторов. *Fusobacterium nucleatum* представляет собой промежуточное звено в процессе образования биопленки, поскольку способен связываться как с первичными, так и с вторичными колонизаторами [Kolenbrander *et al.*, 1989]. К поздним колонизаторам относят представителей рода *Treponema sp.*, а также *Tannerella forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [Sandra Soriab *et al.*, 2019].

Стрептококки проявляют высокую внутривидовую и межродовую коагрегацию, что дает им возможность связывания других бактерий между собой и активно участвовать в формировании первичной зубной бляшки, а в последствии зубного камня и кариеса [Kolenbrander, *et al.*, 2002].

Таким образом, подавление роста и образования биопленки стрептококками – первичными колонизаторами поверхности зуба является перспективным подходом к замедлению образования зубного налета и предотвратить развитие кариеса.

**Целью** работы было установление возможности подавления роста биопленок изолятов *Streptococcus sp.* различными инновационными биопрепаратами.

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

- 1) Выделить и идентифицировать изоляты *Streptococcus sp.*;
- 2) Установить возможность подавления роста биопленок *Streptococcus sp.* ферментным комплексом Luctatol;
- 3) Установить возможность подавления роста биопленок *Streptococcus sp.* бактериальными лизатами в комплексе с протеолитическими ферментами.



**АНТИПЛАГИАТ**  
ТВОРИТЕ СОБСТВЕННЫМ УМОМ

## СПРАВКА

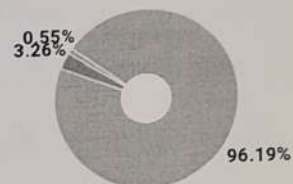
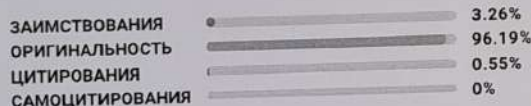
о результатах проверки текстового документа  
на наличие заимствований

Казанский (Приволжский) федеральный  
университет

### ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ ANTIPLAGIAT.СТРУКТУРА

Автор работы: Мельник Анастасия Павловна  
Самоцитирование  
рассчитано для: Мельник Анастасия Павловна  
Название работы: Мельник (антиплагиат)  
Тип работы: Не указано  
Подразделение:

### РЕЗУЛЬТАТЫ



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 20.05.2021

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.