

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

Направление: 06.03.01 – биология

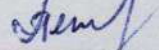
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
РОЛЬ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СИГМА-ФАКТОРА RPOS В  
СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ *PESTOBACTERIUM ATROSEPTICUM*  
SCRI1043

Студент 4 курса

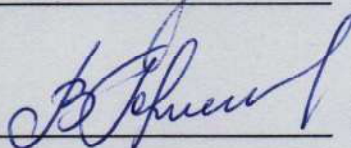
« 6 » мая 2020 г.  (К.Д. Александрова)

Научные руководители


к.б.н., с.н.с.

« 6 » мая 2020 г.  (О. Е. Петрова)

к.б.н., н.с.

« 6 » мая 2020 г.  (В. Ю. Горшков)

к.б.н., доцент

« 6 » мая 2020 г.  (А. Р. Каюмов)

Заведующий кафедрой:

д.б.н., профессор

« 6 » мая 2020 г.  (В. М. Чернов)

Казань – 2020

## СОДЕРЖАНИЕ

|  |    |
|--|----|
| <b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....  | 4  |
| <b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....  | 6  |
| 1.1 Стрессовый ответ у бактерий .....  | 6  |
| 1.2 RpoS-зависимая устойчивость бактерий.....  | 8  |
| 1.2.1 Общие представления об RpoS и RpoS-регулируемых генах.....   | 8  |
| 1.2.3 Регуляция уровня сигма-фактора RpoS в бактериальной клетке. ....   | 13 |
| 1.2.4 Роль сигма-фактора RpoS в формировании устойчивости .....  | 16 |
| 1.3 RpoS-независимая устойчивость бактерий.....  | 20 |
| <b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b> .....  | 31 |
| 2.1 Культивирование <i>P. atrosepticum</i> .....   | 31 |
| 2.2 Получение голодающих культур <i>P. atrosepticum</i> SCRI1043.....  | 31 |
| 2.3 Оценка титра культивируемых клеток <i>P. atrosepticum</i> SCRI1043.....  | 31 |
| 2.4 Анализ перекрестной устойчивости клеток.....   | 32 |
| 2.5 Выделение РНК и синтез кДНК при помощи реакции обратной транскрипции .....   | 32 |
| 2.6 Конструирование праймеров .....  | 33 |
| 2.7 Полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР РВ) .....  | 34 |
| 2.8 Определение уровня экспрессии генов <i>P. atrosepticum</i> SCRI1043 .....  | 34 |
| <b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b> .....   | 35 |
| 3.1 Анализ экспрессии гена <i>rpoS</i> у бактерии <i>P. atrosepticum</i> в условиях голодания по углероду или азоту .....  | 35 |
| 3.2 Устойчивость бактерий дикого и мутантного $\Delta rpoS$ штаммов <i>P. atrosepticum</i> к голоданию.....                | 39 |
| 3.3 Перекрестная (множественная) устойчивость клеток <i>P. atrosepticum</i> при голодании по различным макроэлементам..... | 40 |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>ВЫВОДЫ .....</b>                           | <b>48</b> |
| <b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....</b> | <b>49</b> |

## ВВЕДЕНИЕ

Устойчивость микроорганизмов к различным стрессовым факторам является одной из наиболее серьезных угроз для здоровья человека, продовольственной безопасности и экономического развития. В настоящее время устойчивость микроорганизмов к антибиотикам возрастает до угрожающе высоких уровней во всем мире. Кроме устойчивости к антибиотикам, угрозой представляет устойчивость бактерий к термической обработке и повышенному давлению, применяемым для стерилизации пищевой продукции. В связи с этим, проблема формирования стрессоустойчивости бактерий имеет как фундаментальное, так и прикладное значение.

Одним из ключевых регуляторов адаптивных реакций у бактерий считается альтернативный сигма-фактор RpoS. Этот транскрипционный регулятор – основополагающее звено в цепи большинства ответных реакций на различные стрессоры. Кроме того, RpoS считается ключевым компонентом, индуцирующим формирование так называемой перекрестной устойчивости. Эта форма устойчивости формируется при действии первичного стрессора и выражается в приобретении клетками резистентности к множеству вторичных стрессовых факторов. Относительно недавно были описаны особые адаптивные реакции бактерий, которые не зависят от действия RpoS, но при этом приводят к формированию перекрестной устойчивости. Молекулярные события, происходящие при реализации таких адаптивных реакций, остаются неисследованными.

На примере пектолитических фитопатогенных бактерий *Pectobacterium atrosepticum* было продемонстрировано способность микроорганизмов реализовывать разные типы адаптивных реакций в зависимости от плотности популяции и исходного физиологического состояния в момент стрессового воздействия (экспоненциальный рост или логарифмическая стадия роста), а также от типа стрессора, в том числе при

голодании по разных элементам (углероду и азоту) (Gorshkov *et al.*, 2010; Petrova *et al.*, 2014; Petrova *et al.*, 2016). Однако зависит ли реализация этих реакций от действия RpoS – неизвестно.

В связи этим, **цель настоящей работы** – выяснение роли гена *rpoS* в формировании устойчивости клеток *Pectobacterium atrosepticum* к голоданию по углероду и азоту, а также перекрестной устойчивости.

В соответствии с целью были поставлены следующие **задачи**:


1. Проанализировать динамику экспрессии гена *rpoS* в голодающих по углероду или азоту культурах *Pectobacterium atrosepticum*, инокулированных клетками разного физиологического статуса (логарифмической и ранней стационарной фаз роста).
2. Определить динамику титра КОЕ в растущих и голодающих по углероду либо азоту культурах дикого типа и *rpoS*-дефицитного штамма *Pectobacterium atrosepticum*.
3. Сравнить перекрестную устойчивость клеток дикого типа и *rpoS*-дефицитного штамма *Pectobacterium atrosepticum* к различным стрессорам при азотном и углеродном голодании.



## СПРАВКА

### о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

#### Проверка выполнена в системе Антиплагиат.Структура

|                         |  |
|-------------------------|--|
| Автор работы            | Александрова Ксения Денисовна  |
| Подразделение           |  |
| Тип работы              | Не указано   |
| Название работы         | Роль альтернативного сигма-фактора RpoS в стрессоустойчивости <i>Pectobacterium atrosepticum</i> SCRI1043  |
| Название файла          | антиплагиат ВКР.docx   |
| Процент заимствования   | 2.06 %   |
| Процент самоцитирования | 0.00 %   |
| Процент цитирования     | 0.60 %   |
| Процент оригинальности  | 97.33 %  |
| Дата проверки           | 13:55:42 17 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<br>ФИО проверяющего  |
| Дата подписи            | 17.05.2020<br><br>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.