

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: 06.04.01-Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

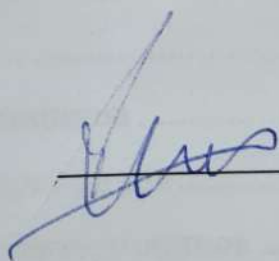
Магистерская диссертация

**ОЧИСТКА И ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ АНТИМИКРОБНЫХ  
ПЕПТИДОВ, ПРОДУЦИРУЕМЫХ НОВЫМИ ШТАММАМИ**

***LACTOBACILLUS***

Работа завершена:

«6» 05 2020 г.



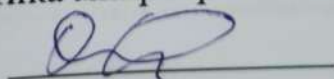
(Наит Яхиа Монир)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

М.н.с. НИЛ Молекулярная генетика микроорганизмов

«6» 05 2020 г.



(Г.Д. Ожегов)

д.б.н., доцент кафедры генетики

«6» 05 2020 г.

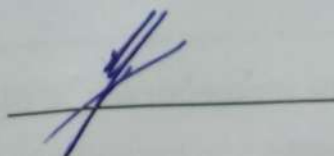


(А.Р. Каюмов)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

«6» 05 2020 г.



(В.М. Чернов)

Казань-2020

## СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ .....	5
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>7</b>
1.1 Молочнокислые бактерии.....	7
1.1.1 Определение .....	7
1.1.2 Экология молочнокислых бактерий.....	7
1.1.3 Классификация молочнокислых бактерий.....	8
1.1.4 Характеристика бактерий <i>Lactobacillus</i> .....	10
1.2 Технологические свойства молочно-кислых бактерий.....	11
1.3 Антибактериальные агенты, вырабатываемые молочно-кислыми бактериями .....	12
1.3.1 Органические кислоты .....	13
1.3.2 Образование перекиси водорода .....	13
1.3.3 Биосинтез антибиотиков.....	13
1.4 Бактериоцины.....	14
1.4.1 Определение бактериоцинов .....	15
1.4.2 Классификация бактериоцинов .....	15
1.4.3 Механизм действия бактериоцинов .....	18
1.5 Оптимизация производства бактериоцина .....	19
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ АСТЬ.....</b>	<b>20</b>
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....</b>	<b>20</b>
2.1 Штаммы .....	20
2.2 Питательные среды .....	20
2.3 Условия культивирования бактерий .....	20
2.4 Методы выделения бактериоцинов.....	21
2.5 Методы работы с ДНК.....	21
2.5.1 Выделение геномной ДНК лактобацилл методом фенол-хлороформной экстракции .....	22

2.5.2 Выделение плазмидной ДНК с помощью GeneJET Plasmid Miniprep .....	22
2.5.3 Полимеразная цепная реакция (ПЦР) .....	23
2.5.4 Рестрикция ДНК.....	23
2.5.5 Реакция Гибсона.....	24
2.5.6 Электрофорез ДНК.....	24
2.5.7 Выделение ДНК из агарозного геля.....	25
2.5.8 Трансформация клеток <i>E. coli</i> .....	25
2.5.9 Секвенирование.....	26
2.6 Биоинформатические методы.....	26
2.6.1 Сборка и аннотация генома .....	26
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ .....</b>	<b>28</b>
3.1 Характеристика антагонистической активности штамма <i>L. fermentum</i> AG8 и установление природы антибактериальных компонентов .....	28
3.2 Установление последовательности генома <i>L. fermentum</i> AG8, сборка и аннотация.....	29
3.3 Идентификация генов <i>L. fermentum</i> AG8, ответственных за синтез антибактериальных компонентов .....	31
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>34</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....</b>	<b>35</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Молочнокислые бактерии – это большая бактериальная группа, систематика которой регулярно обновляется с накоплением новых данных молекулярной биологии [Federighi, 2005]. Они представляют собой группу разнородных видов, общим признаком которых является производство молочной кислоты. Они принадлежат к различным родам, таким как *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, стрептококки, *Aerococcus*, *Vagococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus* и *Carnobacterium*.

Они используются в молочной промышленности, а также в процессе ферментации многих других пищевых продуктов, способствуя созданию текстуры, вкуса пищи, появлению ароматических соединений [Tabak et Bensoltan, 2011], а также обеспечивают бактериологическую безопасность пищевых продуктов. Так, ферментация продуктов приводит к улучшению технологических и органолептических свойств (вкус и текстура) и подавлению гнилостной флоры и патогенных микроорганизмов [O'Sullivan et al., 2002]. Эти свойства обеспечиваются за счет биосинтеза различных метаболитов с антимикробной активностью, таких как органические кислоты, перекись водорода и бактериоцины [Dortuet, Thonart, 2009; Moraes et al., 2010].

Интерес к бактериоцинам молочнокислых бактерий основан на наличии у них широкого спектра антимикробной активности. Также стоит отметить их безопасность по отношению к здоровью человека, так как они не токсичны для эукариотических клеток и восприимчивы к протезам, а значит, биodeградебельны и не аккумулируются в организме. Данные противомикробные пептиды, как правило, селективно воздействуют на определенные патогенные микроорганизмы, при этом не подавляя нормальную микрофлору человека. Эти биологически активные вещества так же проявляют высокую устойчивость к изменению pH и термической

обработке. Учитывая все вышеперечисленные характеристики, бактериоцины представляются привлекательным вариантом замены химических консервантов [Dortuet, Thonart, 2009].

В НИЛ Молекулярная генетика микроорганизмов были ранее выделены ряд молочнокислых бактерий, обладающих антагонистической активностью в отношении условно-патогенных микроорганизмов.

**Цель работы** – полногеномное секвенирование штамма *Lactobacillus fermentum* AG8, продуцирующего антимикробные пептиды, подавляющие рост *Pseudomonas aeruginosa* и идентификация потенциальных генов данных пептидов.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

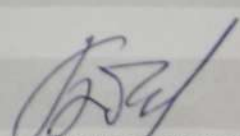
- 1) Характеристика антагонистической активности штамма *Lactobacillus fermentum* AG8
- 2) Выделение активной фракции метаболитов, установление природы антибактериальных компонентов
- 3) Установление последовательности генома *L. fermentum* AG8, сборка и аннотация.
- 4) Идентификация генов *L. fermentum* AG8, ответственных за синтез антибактериальных компонентов
- 5) Клонирование гена антимикробного пептида *L. fermentum* AG8 в плазмиду pet15b



# СПРАВКА

## о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе  
Антиплагиат.Структура

Автор работы	Наит Яхиа Монир
Подразделение	кафедра генетики
Тип работы	Дипломная работа
Название работы	ВКР Наит Яхиа Монир
Название файла	конечный диплом Наит Яхиа Монир anti.docx
Процент заимствования	7.13 %
Процент самоцитирования	0.00 %
Процент цитирования	0.93 %
Процент оригинальности	91.94 %
Дата проверки	09:35:50 04 июня 2020г.
Модули поиска	Модуль поиска ИПС "Адилет"; Модуль выделения библиографических записей; Сводная коллекция ЭБС; Модуль поиска "Интернет Плюс"; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Модуль поиска переводных заимствований по eLibrary (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по интернет (EnRu); Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Модуль поиска "КПФУ"; Коллекция Медицина; Диссертации и авторефераты НББ; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирований Интернет; Коллекция Патенты; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов
Работу проверил	Каюмов Айрат Рашитович ФИО проверяющего
Дата подписи	4.6.20  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.