

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 – генетика

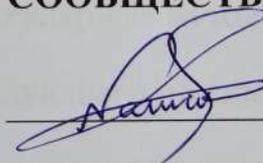
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Дипломная работа

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА ЖЕЛУДКА ЧЕЛОВЕКА

Работа завершена:

" 06 " 06 20 19 г.



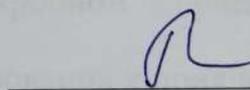
(Н.Р. Сакр)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

к.б.н., н.с.

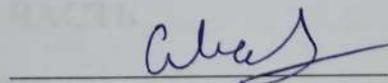
" 06 " 06 20 19 г.



(Т.В. Григорьева)

к.б.н., н.с.

" 06 " 06 20 19 г.

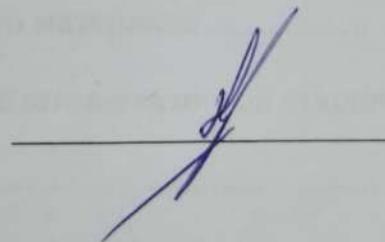


(С.Ю. Маланин)

Заведующий кафедрой

д.н., профессор

" 06 " 06 20 19 г.



(В.М. Чернов)

Казань–2019

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Микробиота Желудка	7
1.1.1 Анатомия желудка	8
1.1.2 Микробная флора желудка	9
1.1.3 Факторы влияют на состав желудочной микробиоты	11
1.1.4 эукариоты в кишечнике человека	13
1.2 Методы изучения состава микробиоты	15
1.2.1 Традиционные молекулярные методики изучения микробиоты.....	15
1.2.2 Секвенирование следующего поколения (NGS)	17
1.2.3 Применение секвенирования следующего поколения.....	23
1.2.4 Метагеномика и микробиом человека.....	25
1.2.5 От данных секвенирования к прикладным исследованиям	26
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	28
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	28
2.1 Образцы биологического материала.....	28
2.2 Выделение ДНК из биоптатов слизистой оболочки желудка	28
2.3 ДНК электрофорез	29
2.4 Секвенирование ДНК	29
2.5 Анализ метагеномных данных.....	33

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	3
3.1 Выделение ДНК	3
3.2 Подготовка библиотек ДНК.....	3
3.3 Метагеномный состав слизистой оболочки желудка человека анализ	3
3.3.1 Шотган секвенирование	3
3.3.2 Метагеномный состав слизистой желудка человека.....	3
ВЫВОДЫ	4
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	4

И-рукал – Иллюстрация рукал

IMG – Integrated Microbial Genomes

NCBI – next generation sequencing

КОН – Клонно-обратная селекция

ГА-буфер – триацетатный буфер

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день человек считается суперорганизмом, состоящим из клеток и симбиотических микроорганизмов, хотя количество микроорганизмов, колонизирующих организм человека, в 10 раз превышает количество собственных клеток организма человека, а количество генов микроорганизмов только в кишечнике человека в 150 раз превышает количество составляющих генома человека [Zhu *et al.*, 2010]. Таким образом, для получения полной картины причинно-следственных связей возникновения заболеваний человека исследования должны включать микробиом.

В течение многих лет желудок считался стерильным органом из-за желудочных выделений соляной кислоты и протеолитического фермента пепсина [ModlinSachs, 2004]. После открытия *Helicobacter pylori* в 1983 году желудок перестал считаться стерильной средой. Тем не менее, микробиота, которая находится в желудке, не была полностью идентифицирована, и фокус ранее был главным образом на желудочном патогене *H. pylori*. В последнее время в желудке человека наблюдается микробное сообщество, отличное от *H. pylori*, так называемая микробиота желудка человека, наряду с самим *H. pylori*. Однако, распространение и роль бактерии в желудке человека остается в значительной степени неизвестны.

В 2000 году редакторы журнала "Science" предсказали, что «исследования микробиома человека станут новой горячей темой во всем мире» [Lederberg J., 2000]. В 2007 году национальный институт здравоохранения США (НИЗ) запустил проект «Микробиом человека» [Turnbaugh *et al.*, 2007].

Количество информации о микробиоме желудка человека неустанно растет, но большая часть известных данных часто основаны на культурально-зависимых подходах или моделях животных [Khosravi Y. *et al.*, 2014; Majlessi *et*

al., 2017]. Появление метагеномики произвело революцию в микробиологии, внедрив независимые от культивирования методы оценки и эксплуатации микробных сообществ, присутствующих в сложных экосистемах. Использование методов секвенирования следующего поколения для метагеномики выявило сложный желудочный микробиом, который может взаимодействовать друг с другом и с хозяином и играть важную роль в здоровье и возникновению заболеваний у людей.

Все работы по изучению метагенома желудка были основаны на определении последовательностей гена 16S рРНК, что, с одной стороны, позволяло охарактеризовать бактериальный состав слизистой оболочки желудка, с другой же стороны ограничивало исследования, поскольку анализ проводился только по одному гену, не позволяющему полностью оценить биоразнообразие.

Целью настоящей работы является изучение видового разнообразия прокариотических и эукариотических организмов слизистой оболочки желудка человека с помощью шотган метагеномного секвенирования.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Выделение ДНК из образцов слизистой оболочки желудка и подготовка ДНК-библиотек.
2. Определение последовательностей выделенной ДНК с помощью шотган секвенирования.
3. Проведение метагеномного анализа состава слизистой оболочки желудка и определение его биоразнообразия.



СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы	Сакр Навар Риад
Подразделение	
Тип работы	Магистерская диссертация
Название работы	Магистерская диссертация-Сакр.docx
Название файла	Магистерская диссертация-Сакр.docx
Процент заимствования	4,28%
Процент цитирования	1,35%
Процент оригинальности	94,37%
Дата проверки	09:17:14 06 июня 2019г.
Модули поиска	Сводная коллекция ЭБС; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Модуль поиска Интернет; Модуль поиска "КПФУ"; Коллекция Медицина; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирований Интернет; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов
Работу проверил	Бабынин Эдуард Викторович ФИО проверяющего

Дата подписи
06.06.19



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.