

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 – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

**ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГА *PSEUDOMONAS PHAGE KA2*
ИЗ СЕМЕЙСТВА *MYOVIRIDAE***

Работа завершена:

«05» 06 2023 г.



(В.Н. Ильина)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

д.б.н., доцент

«06» 06 2023 г.



(А.Р. Каюмов)

Заведующий кафедрой

д.б.н., доцент

«14» 06 2023 г.



(А.Р. Каюмов)

Казань – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
1.2 Инфекции, вызванные <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , у пациентов с ослабленным иммунитетом	8
1.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> и хронические инфекции	10
1.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> и острые инфекции	10
1.5 Лечение инфекций, вызванных <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , β -лактамами антибиотиками	11
1.6 Лечение инфекций, вызванных <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , фторхинолонами	12
1.7 Лечение инфекций, вызванных <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , аминогликозидами	13
1.8 Лечение инфекций, вызванных <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , полимиксинами	13
1.9 Антибиотикорезистентность <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
1.10 Механизмы устойчивости <i>Pseudomonas aeruginosa</i> к антибиотикам ..	15
1.11 Бактериофаги	15
1.12 Бактериофаговая терапия	17
1.13 Преимущество фаготерапии	18
1.14 Фаготерапия в лечении бактериальных инфекций	18
1.15 Фаготерапия против инфекций, вызванных <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	19
1.16 Фаготерапия против биоплёнок, образованных <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
Заключение	21
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	22
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	22
2.1 Штаммы	22

2.2 Исследуемые соединения	22
2.3 Питательные среды и условия культивирования бактерий.....	22
2.4 Получение фаголизата	23
2.5 Получение зон лизиса.....	23
2.6 Измерение концентрации фаголизата.....	24
2.7 Выделение вирусной ДНК	24
2.8 Электрофорез ДНК.....	25
2.9 Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК)	25
2.10 Получение биоплёнок.....	26
2.11 Определение количества жизнеспособных клеток	26
2.13 Биоинформатический анализ.....	27
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.....	29
3.1 Выделение ДНК бактериофага <i>Pseudomonas</i> phage Ka2.....	29
3.2 Культурально-морфологические признаки и чувствительность бактериофага <i>Pseudomonas</i> phage Ka2 к <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
3.3 Секвенирование и анализ генома бактериофага <i>Pseudomonas</i> phage Ka2 .	34
3.4 Филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей консервативных генов	38
3.5 Оценка синергетического эффекта бактериофага <i>Pseudomonas</i> phage Ka2 с антибиотиками в отношении планктонных клетках и биоплёнки <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
ВЫВОДЫ	47
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	48

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БОЕ	Бляшкообразующая единица
ВАП	Вентилятор-ассоциированная пневмония
БВП	Внутрибольничная пневмония
ВИЧ	Вирус иммунодефицита человека
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ИМП	Инфекции мочевыводящих путей
МВ	Муковисцидоз
МЛУ	Множественная лекарственная устойчивость
ОП	Оптическая плотность
РНК	Рибонуклеиновая кислота
СПИД	Синдром приобретённого иммунного дефицита
ШЛУ	Широкая лекарственная устойчивость
SOT	Solid organ transplant – трансплантация солидных органов

ВВЕДЕНИЕ

Возрастающая проблема устойчивости к антимикробным препаратам у бактерий является серьёзной угрозой для человечества [Jamrozik, Heriot, 2022]. За 2019 год 1,2 миллиона смертей пришлось на инфекции, вызванные бактериями с устойчивостью к противомикробным препаратам (УПП) [Christopher *et al.*, 2022].

Pseudomonas aeruginosa считается одной из самых опасных условно-патогенных микроорганизмов, ассоциирующаяся с хроническими инфекциями у людей с ослабленным иммунитетом, сепсисом, раком и муковисцидозом [Rossi *et al.*, 2021; Jurado-Martin *et al.*, 2021; Cendra, Torrents, 2021]. Благодаря её способности производить различные факторы вирулентности, а также образовывать биоплёнки [Reynolds, Kollef, 2021], увеличивается распространённость штаммов с множественной лекарственной устойчивостью [Chegini *et al.*, 2020].

Исходя из этих данных, следует понимать необходимость поиска новых эффективных противомикробных препаратов. За последние 2 десятилетия было создано только 2 новых класса антибиотиков, которые действуют на грамположительные бактерии, но мало эффективны против грамотрицательных патогенов. В настоящее время большинство фармацевтических компаний не разрабатывают новые антибиотики [Taccconelli *et al.*, 2018], поэтому требуются новые подходы для лечения бактериальных инфекций, например, фаготерапия.

Бактериофаги – это вирусы бактерий, которые размножаясь внутри бактериальной клетки ведут к её гибели [McCammon *et al.*, 2023]. Преимуществами фагов по сравнению с антибиотиками является их способность быстро развиваться для нахождения новых хозяев (штаммов бактерий), низкая токсичность, разрушение бактериальных биоплёнок [Wang *et al.*, 2023]. Эти свойства дают нам понять, что фаговая терапия может стать одним из альтернативных методов лечения бактериальных инфекций.

Целью работы было охарактеризовать бактериофаг *Pseudomonas phage* Ka2 из семейства *Myoviridae* и оценить его возможность сочетанного действия с антибиотиками в планктонных клетках и биоплёнке в отношении *Pseudomonas aeruginosa*.

Для достижения поставленной цели в работе решались следующие **задачи**:

- 1) Провести сборку и аннотировать геном бактериофага *Pseudomonas phage* Ka2;
- 2) Построить филогенетические положение бактериофага *Pseudomonas phage* Ka2;
- 3) Определить литическую активность и оценить возможность сочетанного действия бактериофага *Pseudomonas phage* Ka2 с антибиотиками в отношении планктонных клетках и биоплёнки против *Pseudomonas aeruginosa*.



АНТИПЛАГИАТ
ОБНАРУЖЕНИЕ ЗАИМСТВОВАНИЙ

СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Ильина Валерия Николаевна
 Самоцитирование
 рассчитано для: Ильина Валерия Николаевна
 Название работы: Характеристика бактериофага Pseudomonas phage Ka2 из семейства Myoviridae
 Тип работы: Магистерская диссертация
 Подразделение:

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

СОВПАДЕНИЯ	7.46%	СОВПАДЕНИЯ	7.46%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	92.54%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	92.54%
ЦИТИРОВАНИЯ	0%	ЦИТИРОВАНИЯ	0%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 04.06.2023

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 04.06.2023 15:12

Структура документа: Проверенные разделы: основная часть с.1-26
 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: Каюмов Айрат Рашитович

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.