

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: 06.03.01 – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
Дипломная работа

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В
СИНТЕЗЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МОНО- И
ПОЛИМИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК

Работа завершена:

« 8 » 06 2023 г. У Закир (Закарова Н.Д.)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

к.б.н., доцент

« 8 » 06 2023 г. Тризна (Тризна Е.Ю.)

Заведующий кафедрой

д.б.н., доцент

« 8 » 06 2023 г. Каюмов (Каюмов А.Р.)

Казань – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Инфекции, вызываемые <i>Staphylococcus aureus</i>	7
1.2 Инфекции, вызываемые <i>Klebsiella pneumoniae</i>	11
1.3 Инфекции, вызываемые полимикробным сообществом.....	13
1.4 Состав биопленок и структура внеклеточного матрикса.....	15
1.4.1 Экзополисахариды	16
1.4.2 Белки.....	16
1.4.3 Внеклеточная ДНК.....	18
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	19
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	20
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	20
2.1 Антибактериальные вещества, использованные в работе	20
2.2 Бактериальные штаммы.....	20
2.3 Питательные среды	20
2.4 Условия культивирования бактерий	20
2.5 Определение минимальной подавляющей концентрации и минимальной бактерицидной концентрации	21
2.6 Окраска различных компонентов матрикса биопленок	21
2.6 Флуоресцентная микроскопия	23
2.7 Определение проницаемости внеклеточного матрикса биопленок для антибактериальных веществ [Anderl, Franclin, 2000]	23

2.8 Подсчет КОЕ [Herigstad <i>et al.</i> , 2000].....	24
2.9 Выделение РНК из бактериальных клеток с помощью набора diaGene	24
2.10 Количественная ОТ-ПЦР в реальном времени	25
2.12 Статистическая обработка результатов	26
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	27
3.1 Определение изменения чувствительности бактерий в составе моно- и полимикробных биопленок <i>S. aureus</i> и <i>K. pneumoniae</i> к антибиотикам	27
3.2 Оценка проницаемости внеклеточного матрикса для антибактериальных препаратов в составе моно- и полимикробных биопленок <i>S. aureus</i> и <i>K. pneumoniae</i>	32
3.3 Оценка качественного и количественного состава внеклеточного матрикса моно- и полимикробных биопленок <i>S. aureus</i> и <i>K. pneumoniae</i>	35
3.4 Определение уровня экспрессии генов, кодирующих структурные компоненты внеклеточного матрикса моно- и полимикробных биопленок <i>S. aureus</i> и <i>K. pneumoniae</i>	39
ВЫВОДЫ	41
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	42

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

KOE	Колонии образующая единица
BM	Питательная среда
LB	Питательная среда Лурия-Бертани
МПК	Минимальная подавляющая концентрация
FnBPA/FnBPA	Фибронектинсвязывающий белок A/B
PVL	Лейкоцидин Пантона-Валентайна
Hla	α -гемолизин
GAS	<i>Streptococcus pyogenes</i> группы A
SpA	Стафилококковый белок A
hvKP	Гипервирулентный штамм <i>Klebsiella pneumonia</i>
PNAG	Поли- β (1-6)-N-ацетилглюкозамин
PIA	Межклеточный полисахаридный адгезин
LecA/LecB	Лектины A/B
CFW	Calcofluor White
Con A	Concanavalin A
PBS	Фосфатно-солевой буфер
Pel	Экзополисахарид <i>P. aeruginosa</i>
Psl	Экзополисахарид <i>P. aeruginosa</i>

ВВЕДЕНИЕ

Биопленки являются сложным структурно-организованным трехмерным сообществом бактерий, заключенным внутри полимерного матрикса, синтезированного членами этого сообщества. Внеклеточный матрикс позволяет бактериям лучше адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды и поддерживать постоянство структуры перед различными агрессивными воздействиями, в том числе антибактериальными препаратами, иммунными реакциями организма хозяина, изменениями кислотности среды и т.д. [Eick, 2021]. В некоторых исследованиях также были показаны отличия в метаболизме планктонных клеток и клеток в составе биопленки [Kot *et al.*, 2018; Otto, 2018]. Так, у последних наблюдается повышенный синтез внеклеточных полисахаридов, изменение уровня экспрессии генов, связанных с биопленкообразованием, и снижение скорости пролиферации клеток [Sharma *et al.*, 2019].

Биопленки играют значительную роль в различных аспектах современной жизни. Так, бактерии в составе биопленок взаимодействуют с ризобиями и способствуют повышению плодородия бобовых культур [Rico *et al.*, 2011]. Другим положительным аспектом биопленок является то, что они могут предотвращать колонизацию органов и тканей человека патогенными микроорганизмами [Dufour *et al.*, 2012]. Вместе с этим они могут являться причиной многих хронических инфекционных заболеваний, а также вызывать коррозию металла, порчу воды и продуктов питания [Mystkowska *et al.*, 2018; Ripolles-Avila *et al.*, 2018].

Высокая устойчивость биопленок к антибактериальным препаратам связана, в первую очередь, с образованием внеклеточного матрикса, биохимический состав которого зависит от вида бактерий, образующих биопленку, их фазы роста и условий среды [Hobley *et al.*, 2015]. Поэтому поиск альтернативных способов борьбы с бактериальными биопленками является актуальной темой современных исследований. Так, было установлено, что воздействие ферментами, способствующими распаду компонентов матрикса,

нарушает прочную структуру биопленки и, как следствие, приводит к повышению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [Ciofu *et al.*, 2022].

Помимо моновидовых биопленок в природе бактерии также способны образовывать смешанные сообщества, внутри которых поддерживается синергизм или антагонизм между микроорганизмами [Sartini *et al.*, 2021]. Сообщается, что для коинфекций, вызванных смешанной биопленкой, характерна большая вирулентность по сравнению с моноинфекциями [Orazi and O'Toole, 2019]. Обусловлено это повышением резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, значительными изменениями метаболического профиля микроорганизмов и уровня экспрессии генов, участвующих в формировании внеклеточного матрикса биопленок [Bottery *et al.*, 2021]. Поэтому изучение структуры биопленок, их количественного и качественного состава является перспективой в разработке новых методов лечения инфекционных заболеваний [Kranjec *et al.*, 2021].

Целью работы явилась сравнительная характеристика структуры, биохимического состава и проницаемости матрикса моно- и двувидовых биопленок *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*.

Для этого решались следующие **задачи**:

- 1) Оценить чувствительность *S. aureus* и *K. pneumoniae* в составе моно- и полимикробных биопленок к антибактериальным препаратам;
- 2) Сравнить проницаемость антибиотиков различного спектра действия в отношении моно- и полимикробных биопленок *S. aureus* и *K. pneumoniae*;
- 3) Определить состав внеклеточного матрикса в моно- и полимикробных биопленках *S. aureus* и *K. pneumoniae*;
- 4) Определить уровень экспрессии генов, кодирующих структурные компоненты внеклеточного матрикса моно- и полимикробных биопленок *S. aureus* и *K. pneumoniae*.

СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Закарова Наргиза Дамировна
Самоцитирование
рассчитано для: Закарова Наргиза Дамировна
Название работы: Особенности экспрессии генов, участвующих в синтезе внеклеточного матрикса моно- и полимикробных биопленок
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение:

РЕЗУЛЬТАТЫ

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

СОВПАДЕНИЯ	0%	СОВПАДЕНИЯ	0%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	99.69%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	99.69%
ЦИТИРОВАНИЯ	0.31%	ЦИТИРОВАНИЯ	0.31%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 29.05.2023

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 29.05.2023 12:56

Структура документа: Проверенные разделы: основная часть с.1-24
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.