

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования

«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

Направление: 06.03.01 (ОКСО 020400.62) – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

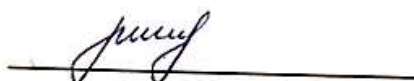
Дипломная работа

ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА

ГРИМЕЛИЗИНПОДОБНЫХ ПРОТЕИНАЗ

Работа завершена:

" 31 " 05 2019 г.



(П.С. Мишеева)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель
к.б.н., доцент

" 31 " 05 2019 г.



(А.М. Марданова)

Заведующий кафедрой
д.б.н., профессор

" 31 " 05 2019 г.



(О.Н. Ильинская)

Казань – 2019

ВВЕДЕНИЕ

Протеолитические ферменты бактерий играют важную роль в физиологии бактерий и, в том числе, способны участвовать в развитии местных поражений и, в частности, кровоизлияний, конъюнктивитов, кератитов и пневмоний [Shanks *et al.*, 2015]. Известно, что сerratии продуцирует различные протеазы, среди которых хорошо изучены внеклеточные металлопротеазы – сerratализины. Сerratализины продуцируются в наибольшем количестве клиническими изолятами. Очищенный сerratализин был использован в моделях кератита *in vivo* с кроликами и морскими свинками, и было показано, что он быстро разлагает широкий спектр структурных и сывороточных белков. Соответственно, бактериальные протеазы, такие как сerratализин, по-видимому, играют важную роль в качестве фактора вирулентности [Kida *et al.*, 2007]. Также описана внутриклеточная металлопротеаза из *Serratia grimesii* – гримелизин, способный к ограниченному расщеплению скелетно-мышечного актина [Хайтлина, 2009].

Известно, что представители родов *Serratia* и *Klebsiella* являются частыми возбудителями различных оппортунистических и нозокомиальных инфекций [Jonas *et al.*, 2004]. Так, представители данных родов могут стать причиной инфекции мочевыводящих и дыхательных путей вследствие катетеризации; диареи, пневмонии, бактериемии и др. [Calfee, 2017].

K. oxytoca и *S. grimesii* являются факультативно-анаэробными бактериями. По форме представляют собой грамотрицательные короткие толстые палочки, которые располагаются одиночно, парами или небольшими цепочками. Протеазы, выделяемые бактериями рода *Serratia*, играют важную роль в возникновении различных болезней, например, глазных инфекций. Внеклеточные протеиназы – сerratализины представляют собой цитотоксические факторы, которые способны убивать животные клетки *in vitro*. Сerratализины играют важную роль в развитии кератита, а также ослабляют иммунную систему [Shanks *et al.*, 2015]. Внутриклеточные

протеиназы типа гримелизина описаны у некоторых видов бактерий, но в настоящее время не описаны для клебсиелл.

Целью работы являлась сравнительная характеристика особенностей биосинтеза протеиназ и адгезивных свойств разных штаммов грамотрицательных бактерий.

В работе решались следующие задачи:

1) Определить динамику роста штаммов сerratий и клебсиелл на среде LB.

2) Определить влияние температуры и состава среды на уровень внеклеточной протеолитической активности штаммов.

3) Определить влияние температуры и состава среды на уровень внутриклеточной протеолитической активности.

4) Определить способность к подвижности штамма A2 при разных температурах.

5) Провести сравнительную характеристику адгезивных свойств штаммов.

ВЫВОДЫ

1) Бактерии исследуемых штаммов при росте на среде LB достигают стационарной фазы роста через 20 и 15 час культивирования соответственно.

2) Установили, что уровень внеклеточной протеолитической активности зависит от температуры культивирования бактерий. Оптимальной температурой для накопления внеклеточных протеиназ штамма A2 является 30°C и максимум достигается на 48 час роста.

3) Установили, что оптимальной температурой для биосинтеза внутриклеточной протеиназы гримелизина штамма A2 является 37°C и максимум активности достигается на 24 час роста бактерий. Биосинтез внутриклеточных протеиназ штамма клебсиеллы максимален на среде LB при 37°C на 48 час роста.

4) Установили, что штамм A2 обладает подвижностью в жидкой среде при 30°C. Повышение температуры до 37°C ингибирует подвижность бактерий. Бактерии A2 не способны к роению по поверхности твердой среды, содержащей 0.6% агара.

5) Установили, что бактерии штамма A2 обладают способностью к гемагглютинации эритроцитов морской свинки и D-манноза ингибирует гемагглютинацию, что свойственно фимбриям 1-го типа. Бактерии штамма клебсиелл не обладают способностью к агглютинации эритроцитов морской свинки, но способны к маннозорезистентной агглютинации дрожжевых клеток, что характерно для фимбрий 3-го типа.