

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Специальность: 06.04.01 (ОКСО 020400.62) – генетика

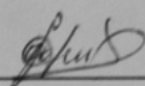
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская работа

**ПРОТЕОГЕНОМНОЕ И СЕКРЕТОМНОЕ
ПРОФИЛИРОВАНИЕ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩЕГО
ШТАММА *TSUKAMURELLA TYROSINOSOLVENS* PS2 И
ОЦЕНКА ЕГО БЕЗОПАСНОСТИ**

Работа завершена:

" 7 " июня 2018 г.



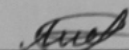
(В.А. Романова)

Работа допущена к защите:

Научные руководители:

м.н.с.

" 7 " июня 2018 г.



(А.В. Лайков)

к.б.н., ассистент кафедры генетики

" 7 " июня 2018 г.

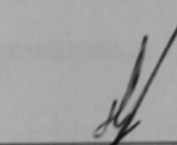


(Т.В. Григорьева)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

" 7 " июня 2018 г.



(В.М. Чернов)

Казань- 2018

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	7
1.1 Алифатические углеводороды в окружающей среде и их деструкция	7
1.1.1 Алканы.....	7
1.1.2 Деструкция алканов	9
1.2 Бактерии класса <i>Actinobacteria</i> – деструкторы углеводов	12
1.3 Биобезопасность углеводородокисляющих бактерий.....	14
1.4 Бактериальные системы секреции и их вклад в вирулентность.....	18
1.4.1 Общие пути секреции белков бактериями.....	18
1.4.2 Секреция белков у грамположительных бактерий.....	23
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	28
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	28
2.1 Объект исследования	28
2.1.1 Выбор субстрата.....	28
2.2 Геномный анализ штамма бактерии <i>Tsukamurella tyrosinosolvans</i> PS2..	28
2.3 Протеомный анализ штамма бактерии <i>Tsukamurella tyrosinosolvans</i> PS2 в различных условиях культивирования	29
2.3.1 Пробоподготовка.....	29
2.3.2 Определение концентрации белка методом Бредфорда	29
2.3.3 Анализ белков методом двумерного электрофореза (2D)	30

2.3.4	Окраска серебром.....	31
2.3.5	Трипсинолиз в геле	31
2.3.6	Анализ на масс-спектрометре.....	32
2.3.7	Качественный (тотальный) протеомный клеточный анализ LC/MS	32
2.4	Качественный (тотальный) протеомный анализ культуральной жидкости LC/MS	34
2.4.1	Осаждение белков культуральной жидкости	34
2.6	Оценка безопасности штамма PS2	34
3	РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	36
3.1	Характеристика штамма бактерии <i>Tsukamurella tyrosinosolvans</i> PS2	36
3.2	Геномный анализ штамма бактерии <i>T. tyrosinosolvans</i> PS2	37
3.2.1	Гены, участвующие в окислении алифатических углеводов	38
3.3	Качественный (тотальный) протеомный клеточный анализ штамма бактерии <i>T. tyrosinosolvans</i> PS2 в различных условиях культивирования...	39
3.4	Качественный (тотальный) протеомный анализ культуральной жидкости штамма бактерии <i>T. tyrosinosolvans</i> PS2 в различных условиях культивирования	48
3.5	Оценка безопасности штамма бактерии <i>T. tyrosinosolvans</i> PS2.....	62
3.5.1	Внутривидового сравнение трех штаммов	62
3.5.2	Межвидовое и межродовое сравнение.....	66
	ВЫВОДЫ	70
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	71

ВВЕДЕНИЕ

В связи с тем, что сырая нефть является главным сырьем для существования мировой экономики и промышленного роста, объемы ее разведки и добычи постоянно увеличиваются, что в свою очередь приводит к увеличению сопутствующего загрязнения окружающей среды. Для исправления сложившейся ситуации, разработаны многочисленные методы очистки загрязненных объектов окружающей среды от нефти и продуктов ее переработки.

Особое место занимают биологические методы с использованием углеводородокисляющих бактерий. Постоянно ведется поиск новых микроорганизмов, обладающих повышенной окисляющей активностью. Среди них в последнее время активно изучаются представители класса *Actinobacteria*, обладающие широкими метаболическими возможностями, например, такими как утилизация различных классов углеводов [Anandan *et al.*, 2016].

Актинобактерии являются многообещающей группой микроорганизмов, используемых для утилизации нефтяных загрязнений и биоремедиации окружающей среды [Polti *et al.*, 2014]. Однако, среди описанных представителей данного класса бактерий встречаются условно-патогенные штаммы, способные выживать как в неблагоприятной окружающей среде, так и в организме хозяина, благодаря наличию универсальных факторов устойчивости.

Вопрос о безопасности применения условно-патогенных штаммов бактерий в биоремедиации загрязненных участков окружающей среды по сей день остается открытым [Rojo, 2009]. Разработаны методы, которые позволяют на молекулярном уровне изучить физиологию деструкторов

углеводородов, метаболизм и влияние окружающей среды. Это стало возможным благодаря внедрению нового оборудования, методов анализа в область биоремедиации и интеграции омиксных технологий в экологических исследованиях.

Исходя из вышеописанного, целью данной работы стало - охарактеризовать протеомный и секретомный ответ углеводородокисляющего штамма Актинобактерий *Tsukamurella tyrosinosolvans* PS2 на различные источники углерода и оценить его безопасность через геномное профилирование.

В данной работе решались следующие задачи:

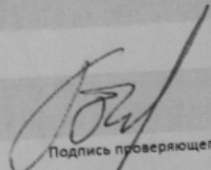
- 1) Провести поиск генов, входящих в системы первичной атаки алкановой цепи в геноме штамма PS2;
- 2) Определить изменения белкового профиля штамма PS2 при различных условиях культивирования;
- 3) Описать тотальный секретом бактерии вида *T. tyrosinosolvans*; провести распределение белков по функциональным категориям;
- 4) Оценить безопасность штамма PS2 через протеогеномное профилирование факторов патогенности.



СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы	Романова Валерия Александровна
Факультет, кафедра, номер группы	ИФМиБ, кафедра генетики, группа 01-640-1
Тип работы	Магистерская диссертация
Название работы	Протеогеномное и секретомное профилирование углеводородоксиляющего штамма Tsukamurella tyrosinosolvens PS2 и оценка его безопасности
Название файла	Антиплагиат Романова В.А..docx
Процент заимствования	10,71%
Процент цитирования	0,62%
Процент оригинальности	88,68%
Дата проверки	14:38:48 02 июня 2018г.
Модули поиска	Кольцо вузов; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Модуль поиска перефразирований Интернет; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Коллекция Медицина; Модуль поиска "КПФУ"; Модуль поиска Интернет; Коллекция ГЭОТАР; Коллекция ГАРАНТ; Коллекция Библиотека МГМУ им. Сеченова; Коллекция eLIBRARY.RU; Модуль поиска переводных заимствований; Цитирование; Коллекция РГБ; Сводная коллекция ЭБС
Работу проверил	Бабынин Эдуард Викторович 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.