

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

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.06.01 (ОКСО 020400.62) – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
Магистерская диссертация

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ И  
ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ  
БИОСУРФАКТАНТОВ *BACILLUS*

Работа завершена:

Группа 01-604

«Ф» 06 2022 г. \_\_\_\_\_ (А.И. Сиразетдинова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

к.б.н., старший преподаватель кафедры,

«Ф» 06 2022 г. \_\_\_\_\_ (Е. Ю. Тризна)

И. о. зав. кафедрой

д. б. н., доцент,

" 6 " 06 2022 г. \_\_\_\_\_ (А. Р. Каюмов)

Казань – 2022

## СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	5
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	8
1.1 Микробные биосурфактанты и потенциал их использования	8
1.2 Свойства биосурфактантов	10
1.3 Типы биосурфактантов	13
1.4 Микроорганизмы-продуценты биосурфактантов	15
1.5 Сурфактин – поверхностно-активное вещество. Биологическая активность сурфактина	16
1.5.1 Пути биосинтеза сурфактина	17
1.5.2 Пути ферментативного производства сурфактина	18
1.5.3 Применение сурфактина в биотехнологии, промышленности, сельском хозяйстве	19
Заключение	27
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b>	28
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b>	28
2.1 Объект исследования	28
2.2 Питательные среды и условия культивирования	28
2.3 Аннотация генов биосурфактантов в геноме <i>B. subtilis</i> GM5	28
2.4 Исследование динамики роста бактерий на разных средах	29
2.5 Исследование динамики изменения поверхностного натяжения среды	25
2.6 Выделение биосурфактантов из культуральной жидкости бактерий	30
2.7 Исследование антибактериальной активности биосурфактантов диско-диффузионным методом	31
2.8 Статистическая обработка результатов	31
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ</b>	32

3.1 Анализ геномных локусов, ответственных за синтез биосурфактантов	32
3.2 Исследование динамики роста <i>B. subtilis</i> GM5 на разных средах	34
3.3 Исследование динамики изменения поверхностного натяжения среды	37
3.4 Выделение биосурфактантов и исследование их антибактериальной активности	40
<b>ВЫВОДЫ</b>	43
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	44

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВССО – высокое содержание сухого остатка

ДМСО – диметилсульфоксид

МН – межфазное натяжение

НССО – низкое содержание сухого остатка

ОП – оптическая плотность

ПАВ – поверхностно-активные вещества

ПН – поверхностное натяжение

CDPS – (tRNA-dependent cyclodipeptide synthases) циклодипептидные синтазы

NRPS – (Nonribosomal peptides) нерибосомальные пептидсинтазы

PKS – (Polyketide synthase) поликетидсинтазы

ТЗPKS – (Type III PKS) поликетидсинтазы 3 типа

## ВВЕДЕНИЕ

Биосурфактанты являются одними из последних исследованных биомолекул, синтезированных микроорганизмами, и часто используются в различных отраслях сельского хозяйства, в фармацевтической промышленности в качестве сырья для смазки, смачивания, пенообразования, составов эмульсий или стабилизирующих дисперсий [Varjani, 2017].

Микробные биосурфактанты представляют собой структурно разнообразную группу поверхностно-активных молекул, продуцируемых широким спектром микроорганизмов. В настоящее время сообщалось о многочисленных микробных штаммах бактерий, грибов и дрожжей для эффективного производства биосурфактантов. Однако качество и количество биосурфактантов зависят от нескольких факторов, включая тип микроорганизма, добавки к среде, природу субстрата и различные внутренние и внешние факторы во время роста микробной культуры [Tahir, 2021]. Биосурфактанты – это амфифильные молекулы с гидрофильными и гидрофобными фрагментами, обладают поверхностно-активными свойствами. Они способны накапливаться между жидкими фазами среды, уменьшая поверхностное натяжение на поверхности и границе раздела [Singha *et al.*, 2021]. Биосурфактанты имеют ряд преимуществ над синтетическими ПАВ: низкая токсичность, биodeградация, совместимость с окружающей средой. Они обладают антимикробными, противовирусными, инсектицидными и тензиоактивными свойствами, которые потенциально полезны для сельскохозяйственной, химической, пищевой и фармацевтической промышленности [Bhatt, 2021].

Бактерии рода *Bacillus* рассматриваются как эффективные микробные фабрики для крупномасштабного производства биосурфактантов [Jia *et al.*, 2020]. Однако существенным препятствием для крупномасштабного промышленного применения биосурфактантов является высокая стоимость производства. Таким образом, оптимизация состава среды и условий

культивирования является наиболее важным этапом для производства микробных метаболитов в промышленных масштабах [Santos *et al.*, 2016]. Известно, что на рост клеток бактерий и синтез биосурфактантов влияют такие параметры, как рН, температура, концентрация растворенного кислорода, степень аэрации, также источники углерода и азота в составе питательной среды [Bartal *et al.*, 2018]. К примеру, агропромышленные отходы содержат большое количество углеводов, белков, липидов и, как правило, используются в качестве корма для крупного рогатого скота или компоста и утилизируются засыпкой землей. Вместо этого их можно использовать как субстраты для рентабельной продукции микробных метаболитов – биосурфактантов [Nitschke, 2004].

Природа биосурфактантов также зависит от источника микроорганизмов и стратегий выделения; например, штамм, выделенный из загрязненного участка, считается подходящим выбором для разложения этого конкретного загрязнителя. Вероятная причина этой концепции заключается в том, что изолированный микроорганизм может использовать этот загрязнитель в качестве источника энергии или субстрата, в то время как другие микроорганизмы или микроорганизмы, не продуцирующие ПАВ, не могут выжить [Patowary, 2017]. Важную роль в формировании профиля ПАВ играют как параметры культивирования, так и генетически закодированные различия в геноме штаммов-продуцентов [Bartal *et al.*, 2018]. Гены, ответственные за биосинтез вторичных метаболитов, составляют от 5 до 8% генома *Bacillus* [Jia *et al.*, 2020]. Наиболее важными биологически активными молекулами, синтезируемыми *Bacillus*, являются нерибосомально-синтезируемые пептиды и липопептиды, поликетидные соединения, бактериоцины и сидерофоры [Harwood *et al.*, 2018].

**Целью** работы являлась оптимизация условий биосинтеза биосурфактантов *B. subtilis* GM5.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- 1) Идентификация в геноме *B. subtilis* GM5 генов, детерминирующих синтез биосурфактантов.
- 2) Изучение динамики роста штамма *B. subtilis* GM5 на разных средах и влияния температуры на прирост биомассы.
- 3) Изучение изменения поверхностного натяжения среды при росте *B. subtilis* GM5 в зависимости от состава среды и температуры культивирования.
- 4) Характеристика антибактериальной активности биосурфактантов *B. subtilis* GM5.

## СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

о результатах проверки текстового документа  
на наличие заимствований

### ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

**Автор работы:** Сиразетдинова Алина Ильгизовна  
**Самоцитирование**  
**рассчитано для:** Сиразетдинова Алина Ильгизовна  
**Название работы:** ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ И ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ БИОСУРФАКТАНТОВ *VACILLUS*  
**Тип работы:** Магистерская диссертация  
**Подразделение:** ИФМиБ

## РЕЗУЛЬТАТЫ

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

ЗАИМСТВОВАНИЯ	3.25%	ЗАИМСТВОВАНИЯ	15.86%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	69.21%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	83.45%
ЦИТИРОВАНИЯ	27.55%	ЦИТИРОВАНИЯ	0.69%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 07.06.2022

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 07.06.2022 13:51

**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 (RuEn); eLIBRARY.RU; СПС ГАРАНТ; Модуль поиска "КПФУ"; Медицина; Диссертации НББ; Перефразирования по eLIBRARY.RU; Перефразирования по Интернету; Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Патенты СССР, РФ, СНГ; СМИ России и СНГ; Шаблонные фразы; Кольцо вузов; Издательство Wiley; Переводные заимствования

**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.