

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.03.01 – Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Дипломная работа

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МАТРИКСА
БИОПЛЕНКИ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ МОНО- И СМЕШАННЫХ
КУЛЬТУРАХ


Работа завершена:

« 5 » 06 2022 г.  (Каримова А.В.)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

к.б.н., ст. преподаватель

« 5 » 06 2022 г.  (Тризна Е.Ю.)

И.о. заведующего кафедрой

д.б.н., доцент

« 6 » 06 2022 г.  (Каюмов А.Р.)

Казань-2022

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Организация моно- и полимикробных биопленок	7
1.2 Формирование биопленок <i>Klebsiella pneumoniae</i>	11
1.3 Формирование биопленок <i>Staphylococcus aureus</i>	15
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	21
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	21
2.1 Антибактериальные вещества, использованные в работе	21
2.2 Бактериальные штаммы	21
2.3 Питательные среды.....	21
2.4 Условия культивирования бактерий.....	21
2.5 Определение минимальной подавляющей концентрации и минимальной бактерицидной концентрации.....	23
2.6 Окраска различных компонентов матрикса биопленок.....	23
2.7 Определение проницаемости внеклеточного матрикса биопленок для антибактериальных веществ [Anderl, Franclin, 2000].....	24
2.8 Выделение РНК из бактериальных клеток с помощью набора diaGene (Диаэм)	25
2.9 Количественная ОТ-ПЦР в реальном времени.....	26
2.10 Электрофорез нуклеиновых кислот	27
2.11 Статистическая обработка результатов	28
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ	29

3.1	Определение соотношения компонентов внеклеточного матрикса моно- и димикробных биопленок <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i>	29
3.2	Оценка способности антибиотиков к диффузии сквозь внеклеточный матрикс моно- и димикробных биопленок <i>S. aureus</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i>	33
3.3	Оценка экспрессии генов, кодирующих внеклеточные полисахариды, в моно- и димикробных биопленках <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i>	40
	ВЫВОДЫ	42
	СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ	43

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

QS	Чувство кворума
CFW	Calcofluor White
Con A	Concanavalin A
CPS	Капсульный полисахарид
CWA	Белки, закрепленные на клеточной стенке
PBS	Фосфатно-солевой буфер
PIA	Полисахаридный межклеточный адгезин
PNAG	Поли-N-ацетилглюкозамин
МБК	Минимальная бактерицидная концентрация
МПК	Минимальная подавляющая концентрация

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время остро стоит проблема низкой эффективности терапии инфекционных заболеваний, ассоциированных с образованием биопленок [Frieri *et al.*, 2017]. Формирование биопленки является достаточно затратным процессом в отношении ресурсов бактериальной клетки [Jayathilake *et al.*, 2017]. Несмотря на это, микроорганизмы в большинстве случаев предпочитают существовать именно в виде биопленок, так как в такой форме они становятся более устойчивы к различным неблагоприятным факторам окружающей среды [Roy *et al.*, 2018].

Значительное повышение устойчивости обусловлено, в первую очередь, наличием внеклеточного полимерного матрикса, компоненты которого продуцируют микроорганизмы [Jiang *et al.*, 2020]. Большое количество исследований продемонстрировали, что при воздействии ферментов, разрушающих компоненты матрикса, бактериальные клетки становятся более чувствительными к противомикробным препаратам [Kaplan *et al.*, 2018]. Известно, что внеклеточный матрикс маскирует ассоциированные с патогенами молекулярные паттерны (РАМР), защищая возбудителей от обнаружения и атаки иммунной системой [Le *et al.*, 2018]. Кроме этого, он может представлять физическую преграду для проникновения к клеткам молекул противомикробных препаратов. Это вызывает трудности при лечении подобных инфекций, так как в таком виде возбудители могут приобрести резистентность к терапии и иммунному ответу инфицированного организма. В конечном счете это приводит к хроническому течению заболевания рецидивирующего типа [Koo *et al.*, 2017].

Большинство бактерий, в том числе и условно-патогенных способны формировать биопленки. Было показано, что у пациентов, страдающих пневмонией, наиболее часто выделяются такие виды микроорганизмов, как *S. aureus*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Среди них около 42%

внутрибольничных изолятов были способны формировать биопленки [Pandey *et al.*, 2021]. При этом, в естественной среде обитания чаще всего формируются многовидовые сообщества, которые характеризуются иным метаболическим профилем и свойствами в отличие от их моновидовых аналогов [Harrison *et al.*, 2020]. Соответственно, изучение механизмов устойчивости бактериальных биопленок по отношению к антимикробной терапии в моно- и полимикробных сообществах является необходимостью для разработки наиболее результативных способов борьбы с такими заболеваниями [Uruen *et al.*, 2021].

Целью работы было оценить влияние изменения структуры внеклеточного матрикса в моно- и полимикробных биопленках на его проницаемость для антимикробных препаратов.

Для этого были поставлены следующие **задачи**:

- 1) Определить биохимический состав внеклеточного матрикса в моно- и полимикробных биопленках *S. aureus*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*;
- 2) Охарактеризовать проницаемость внеклеточного матрикса моно- и полимикробных биопленок *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* для антибактериальных препаратов;
- 3) Сравнить уровень экспрессии генов, участвующих в синтезе внеклеточного матрикса, в моно- и полимикробных биопленках *S. aureus* - *K. pneumoniae*.



СПРАВКА

Казанский (Приволжский) федеральный университет

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.СТРУКТУРА

Автор работы: Каримова А.В.
Самоцитирование
рассчитано для: Каримова А.В.
Название работы: Сравнительный анализ экспрессии генов матрикса биопленки в бактериальных моно- и смешанных культурах
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение:

РЕЗУЛЬТАТЫ

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

ЗАИМСТВОВАНИЯ	0.25%	ЗАИМСТВОВАНИЯ	0.25%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	98.92%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	98.92%
ЦИТИРОВАНИЯ	0.83%	ЦИТИРОВАНИЯ	0.83%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 31.05.2022

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 31.05.2022 10:47

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: 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.