

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

ЛУКША
Полина Алексеевна

**ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ
БАКТЕРИЙ: СОСТАВ, ПРИМЕНЕНИЕ, СВОЙСТВА**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук, до-
цент В. А. Щетко

Минск, 2021

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа содержит 90 страниц, 24 рисунка, 15 таблиц и 60 источников литературы.

МОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ, МКБ, ПРОБИОТИКИ, ПРЕБИОТИКИ, СИНБИОТИКИ, КИСЛОТООБРАЗОВАНИЕ, СКВАШИВАЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ, АДГЕЗИЯ, ГАЛАКТОЗИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ, ПЕПТИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ

Объекты исследования: изоляты МКБ, выделенные из коровьего молока, под номерами: 1.2, 1.4, 1.6, 2.5, 2.6, 2.7, 3.1, 3.2, 3.4, 3.8.

Цель: характеристика МКБ, выделенных ранее из коровьего молока, перспективных для создания пробиотических препаратов.

Методы исследования: микробиологические (культивирование микроорганизмов, утилизация различных источников углерода, кислотообразование и сквашивающая активность), биохимические (определение пептидазной и галактозидазных активностей, MALDI-TOF масс-спектрометрия) генетические (трансформация), молекулярно-генетические (выделение ДНК, рестрикционный анализ, полимеразная цепная реакция), и информативные.

В результате проведенных исследований было установлено, что все изолированные МКБ относятся к грамположительным коккам, располагающиеся парами или короткими цепочками. По данным, полученных методом MALDI-TOF масс-спектрометрии исследуемые образцы были идентифицированы как *Lactococcus lactis*.

При изучении способности утилизировать различные источники углерода было установлено, что все штаммы способны расти на средах с: лактозой, глюкозой, сахарозой, мальтозой, галактозой и целлобиозой. Ксилозу частично утилизировали только штаммы *L. lactis* 2.7, *L. lactis* 3.1, *L. lactis* 3.2, *L. lactis* 3.4. Рамнозу не утилизировал ни один из изучаемых штаммов. При определении фагочувствительности было установлено, что штаммы *L. lactis* 2.5 и *L. lactis* 2.6 являются фагочувствительными.

Также были изучены кислотообразующая, сквашивающая активности и промышленно ценные свойства при перевивке на сухом обезжиренном молоке. На основании данных экспериментов отмечено, что штаммы *L. lactis* 2.7 и *L. lactis* 3.4 являются наиболее перспективными для дальнейшей работы.

Оба вышеперечисленных штамма проявляют способность к адгезии на полипропилене. Штамм *L. lactis* 3.4 показал высокую β -галактозидазную активность на среде с галактозой. После проведенной процедуры лиофилизации

штаммы *L. lactis* 2.7 и *L. lactis* 3.4 сохраняют свою жизнеспособность и физиолого-биохимические свойства.

В ходе дипломной работы были выделены геномные молекулы ДНК и получены последовательности генов 16S рРНК штаммов *L. lactis* 2.7 и *L. lactis* 3.4, которые были использованы при кальциевой трансформации клеток *E. coli*.

При изучении плазмидного профиля у штамма *L. lactis* 2.7 была обнаружена крупная аборигенная плазмида, однако в рамках дипломной работы не были подобраны оптимальные условия для ее выделения в большом количестве. Дальше будет вестись работа по ее выделению с последующим созданием на ее основе новых векторных конструкций.

МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі

ЛУКША
Паліна Аляксееўна

ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ МАЛОЧНАКИСЛЫХ
БАКТЕРИЙ: СОСТАВ, ПРИМЕНЕНИЕ, ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Анатацыя да дыпломнай працы

Навуковы кіраўнік:
кандыдат біялагічных навук, дацэнт
В. А. Шчатко

Мінск, 2021

АНАТАЦЫЯ

Дыпломная работа змяшчае 90 старонак, 24 малюнка, 15 табліц і 60 крыніц літаратуры.

МАЛОЧНАКІСЛЯ БАКТЭРЫЦ, МКБ, ПРАБІЁТЫКІ, ПРЕБИО-ЦІКІ, СИНБИОТИКИ, КИСЛОТООБРАЗОВАНИЕ, СКВАШИВАЮЩАЯ АКТЫЎНАСЦЬ, АДГЕЗИЯ, ГАЛАКТОЗИДАЗНАЯ АКТЫЎНАСЦЬ, ПЕПТИДАЗНАЯ АКТЫЎНАСЦЬ

Аб'екты даследавання: ізоляты МКБ, выдзеленыя з каровінага малака, пад нумарамі: 1.2, 1.4, 1.6, 2.5, 2.6, 2.7, 3.1, 3.2, 3.4, 3.8.

Мэта: характарыстыка МКБ, выдзеленых раней з каровінага малака, перспектыўных для стварэння пробиотических прэпаратаў.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя (культываванне мікраарганізмаў, утылізацыя розных крыніц вугляроду, кислотообразова-чэнне і сквашываючая актыўнасць), біяхімічныя (вызначэнне пептидазной і галактозидазных актыўнасці, MALDI-TOF мас-спектраметрыя) генетычэ-скія (трансфармацыя), малекулярна-генетычныя (вылучэнне ДНК, рэстрык-цыённы аналіз, палімеразнай ланцуговая рэакцыя), і інфарматыўныя.

У выніку праведзеных даследаванняў было ўстаноўлена, што ўсе ізаляваныя МКБ ставяцца да грамположительным коккам, размяшчаю-шыяся парамі або кароткімі ланцужкамі. Па дадзеных, атрыманых метадам MALDI-TOF мас-спектраметрыі доследныя ўзоры былі ідэнтыфікаваныя як *Lactococcus lactis*.

Пры вывучэнні здольнасці ўтылізаваць раз-асабістыя крыніцы вугляроду было ўстаноўлена, што ўсе штамы здольныя расці на асяроддзях з: лактозой, глюкозай, цукрозай, мальтозу, галактозой і цэлабіёзу. Ксілозы ўтылізавалі толькі штамы *L. lactis* 2.7, *L. lactis* 3.1, *L. lactis* 3.2, *L. lactis* 3.4. Рамнозу не ўтылізаваны ні адзін з якія вывучаюцца штамаў. Пры вызначэнні фагочувствительности было ўстаноўлена, што штамы *L. lactis* 2.5 і *L. lactis* 2.6 з'яўляюцца фагочувствительнымі.

Таксама былі вывучаны кислотообразующая, сквашываючая актыўнасці і прамыслова каштоўныя ўласцівасці пры перевивке на сухім абястлушчаным моло-цы. На падставе дадзеных эксперыментаў адзначана, што штамы *L. lactis* 2.7 і *L. lactis* 3.4 з'яўляюцца найбольш перспектыўнымі для далейшай працы.

Абодва вышэйпералічаных штаму праяўляюць здольнасць да адгезіі на поліпрапілене. Штам *L. lactis* 3.4 паказаў высокую β -галактозидазную актыўнасць на асяроддзі з галактозой. Пасля праведзенай працэдуры ліофілізацыі штамы *L. lactis* 2.7 і *L. lactis* 3.4 захоўваюць сваю жыццяздольнасць і фізіёлага-біяхімічныя ўласцівасці.

У ходзе дыпломнай працы былі вылучаныя геномныя малекулы ДНК і атрыманы паслядоўнасці генаў 16S рРНК штамаў *L. lactis* 2.7 і *L. lactis* 3.4, якія былі выкарыстаныя пры кальцыевай трансфармацыі клетак *E. coli*.

Пры вывучэнні плазміднага профілю ў штаму *L. lactis* 2.7 была выяўленая буйная аборыгенная плазміда, аднак у рамках дыпломнай працы не былі падабраны аптымальныя ўмовы для яе вылучэння ў вялікай колькасці. Далей будзе весціся праца па яе вылучэнні з наступным з будынкам на яе аснове новых вектарных канструкцый.

MINISTRY OF EDUCATION REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
BIOLOGICAL FACULTY
Microbiology department

LUKSHA
Polina Alekseevna

**PROBIOTIC PREPARATS BASED ON LACTIC ACID BACTERIA: COM-
POSITION, APPLICATION, PROPERTIES**

Annotation for the graduate work

Scientific surepvisor:
candidate of biological sciences, associ-
ate professor V. A. Shetko

Minsk, 2021
ABSTRACT

The thesis contains 90 pages, 24 pictures, 15 tables and 60 sources of literature. LACTIC ACID BACTERIA, ICD, PROBIOTICS, PREBIOTICS, SYNBIOTICS, ACID FORMATION, FERMENTATION ACTIVITY, ADHESION, GALACTOSIDASE ACTIVITY, PEPTIDASE ACTIVITY

Objects of research: ICD isolates from cow's milk, numbered: 1.2, 1.4, 1.6, 2.5, 2.6, 2.7, 3.1, 3.2, 3.4, 3.8.

Objective: to characterize the ICD previously isolated from cow's milk, promising for the creation of probiotic drugs.

Methods of research: microbiological (cultivation of microorganisms, utilization of various carbon sources, acid formation and fermentation activity), biochemical (determination of peptidase and galactosidase activities, MALDI-TOF mass spectrometry), genetic (transformation), molecular genetic (DNA isolation, restriction analysis, polymerase chain reaction), and informative.

As a result of the conducted studies, it was found that all isolated ICDs belong to Gram-positive cocci, located in pairs or short chains. According to the data obtained by MALDI-TOF mass spectrometry, the studied samples were identified as *Lactococcus lactis*. When studying the ability to utilize various carbon sources, it was found that all strains are able to grow on media with: lactose, glucose, sucrose, maltose, galactose and cellobiose. Xylose was utilized only by *L. lactis* 2.7, *L. lactis* 3.1, *L. lactis* 3.2, and *L. lactis* 3.4 strains. Rhamnose was not utilized by any of the studied strains. When determining the phage sensitivity, it was found that the strains of *L. lactis* 2.5 and *L. lactis* 2.6 are phage-sensitive.

The acid-forming, fermenting activity and industrially valuable properties were also studied when reseeded on skimmed milk powder. Based on the experimental data, it was noted that the *L. lactis* 2.7 and *L. lactis* 3.4 strains are the most promising for further work.

Both of the above strains exhibit the ability to adhere to polypropylene. The *L. lactis* 3.4 strain showed high beta-galactosidase activity on a medium with galactose. After the lyophilization procedure, the *L. lactis* 2.7 and *L. lactis* 3.4 strains retain their viability and physiological and biochemical properties.

In the course of the thesis, genomic DNA molecules were isolated and the 16S rRNA gene sequences of the *L. lactis* 2.7 and *L. lactis* 3.4 strains were obtained, which were used in the calcium transformation of *E. coli* cells.

When studying the plasmid profile of the *L. lactis* 2.7 strain, a large native plasmid was found, but the optimal conditions for its isolation in large quantities

were not selected in the framework of the thesis. Further work will be carried out on its allocation, followed by the creation of new vector structures based on it.