ESBL მაპროდუცურებელ *E.coli*-ის ცხიმოვანი მჟავების მეტაბოლიზმში ჩართული მანოლინ-CoA ტრანსაცილაზას და 3R-ჰიდროქსიმირისტოლ დეჰიდრატაზას მაკოდირებელი გენების განსხვავებული ექსპრესიის შესწავლა ქიმიოთერაპიის პირობებში

დიმიტრი მინდიაშვილი

პროგრამა/ფაკულტეტი: სიცოცხლის შემსწავლელი მეცნიერებები: მოლეკულური ბიომეცნიერებები

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ეკატერინე თევდორაძე, ასოცირებული პროფესორი, სიცოცხლის შემსწავლელი მეცნიერებათა დოქტორი

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2024

განაცხადი

”როგორც წარდგენილი ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.”

დიმიტრი მინდიაშვილი

15.06.2024

აბსტრაქტი

ბიოლოგიისა და მედიცინის კონტექსტში ანტიბიოტიკორეზისტენტობა გულისხმობს მიკროორგანიზმების უნარს, რათა გადარჩნენ და გამრავლდნენ მიუხედავად მათზე ანტიბიოტიკების ბაქტერიციდული ან ბაქტერიოსტატიკური ზემოქმედებისა. ეს ნიშნავს, რომ ბაქტერიებმა შეიმუშავეს გარკვეული მექანიზმები ანტიბიოტიკების მოქმედებით მოსალოდნელი განადგურებისგან თავის დასაცავად, ეს კი ანტიბიოტიკების ანტიბაქტერიულ აქტივობას მკვეთრად ასუსტებს, მათ არაეფექტურს ან სრულიად უსარგებლოს ხდის. სწორედ, ამ მექანიზმის ერთ-ერთ კერძო მაგალითს წარმოადგენს ESBL მაპროდუცირებელი შტამი *(Escherihia coli).* ESBL წარმოადგენს ბეტა-ლაქტამაზას ფერმენტის ტიპს, რომელსაც შეუძლია გამოიწვიოს ბეტა-ლაქტამური ანტიბიოტიკების ფართო სპექტრის სტრუქტურული დეგრადაცია. ეს ნიშნავს, რომ ბაქტერიული ინფექციების სამკურნალო პრაქტიკაში გამოყენებული ანტიბიოტიკები არ იმუშავებს ESBL-ის გამომწვევი ბაქტერიების წინააღმდეგ.

კვლევის მიზანს წარმოადგენს RNA-SEQ მონაცემების საფუძველზე გამოვლენილი და სარწმუნოდ განსხვავებული, ცხიმოვანი მჟავების მეტაბოლიზმში ჩართული ორი გენის (malonyl-CoA-[acyl-carrier-protein] transacylase, Uniprotsp|A0A0A8KDX2 და (3R)-hydroxymyristol acyl carrier protein dehydratase, Uniprotsp|C3TPH7) ექსპრესიის ცვლილების შესწავლა ანტიბიოტიკიან არეში. დაკვირვება მიმდინარეობდა ESBL მაპროდუცირებელ Escherichia coli 1917 და რეფერენს *Escherichia coli* ATCC 25922 შტამებს შორის. მონაცემების ვალიდაცია განხორციელდა რაოდენობრივი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით რეალურ დროის რეჟიმში RT-qPCR. კვლევისათვის შეირჩა ბეტა-ლაქტამაზის მაპროდუცირებელი *E-coli* (ESBL1917)-ის შტამი და რეფერენს *Escherichia coli* ATCC 25922. მათი კულტივირება მოხდა ანტიბიოტიკიან და უანტიბიოტიკო საკვებ არეებზე. გამოყოფილი იქნა ტოტალური რნმ და ცხიმოვანი მჟავების მეტაბოლიზმში მონაწილე გენებისათვის შემუშავდა და შეიქმნა პრაიმერების დიზაინი. პრაიმერის დიზაინი ასევე შერჩეული იქნა ე.წ. ,,ჰაუსკიპერისათვის“, რომელიც ერთნაირად ექსპრესირებს

ანტიბიოტიკიან და უანტიბიოტიკო პირობებში. დიზაინების შერჩევის შემდეგ განხორციელდა რნმ-ის უკუტრანსკრიფცია, ბოლო ეტაპზე კი ჩატარდა პჯრ რეალურ დროში კ-დნმ-ის მისაღებად.

კვლევის შედეგებით დადგინდა, რომ qRT-PCR-ით მიღებული მონაცემები ემთხვევა RNA-SEQ მონაცემებს, რომელიც ამტკიცებს შერჩეული გენების როლის აქტუალობასა და მნიშვნელობას ანტიბიოტიკორეზისტენტობის განვითარებაში. მიღებული შედეგები შესაძლოა გამოყენებული იქნას სხვადასხვა ბაქტერიული პათოგენების საწინააღმდეგო ეფექტიანი ანტიმიკრობული პრეპარატების შემუშავებისათვის.

საკვანძო სიტყვები: ESBL მაპროდუცირებელი *Escherihia coli*, ანტიბიოტიკორეზისტენტობა, ცხიმოვანი მჟავები.

Abstract

In the context of biology and medicine, antibiotic resistance refers to the ability of microorganisms to survive and reproduction despite the bactericidal or bacteriostatic effects of antibiotics on them. This means that bacteria have developed certain mechanisms to protect themselves from the expected destruction by the action of antibiotics, and this dramatically weakens the antibacterial activity of antibiotics, making them ineffective or completely useless. One particular example of this mechanism is ESBL-producing strain *(Escherichia coli).* ESBL is a type of beta-lactamase enzyme that can cause structural degradation of a wide range of beta-lactam antibiotics. This means that antibiotics commonly used to treat bacterial infections will not work against ESBL-causing bacteria.

The aim of the study is to investigate the expression changes of reliably different two genes (malonyl-CoA-[acyl-carrier-protein]transacylase,Uniprotsp|A0A0A8KDX2 and (3R)-hydroxymyristol acyl carrier protein dehydratase, Uniprotsp|C3TPH7) identified on the basis of RNA-SEQ data and involved in fatty acid metabolism in the antibiotic media. ESBL was monitored between the producing *Escherichia coli* 1917 and the reference *Escherichia coli* ATCC 25922 strains. Data validation was carried out using quantitative real-time polymerase chain reaction RT-qPCR. The strain of B-lactamase producing E. coli (ESBL1917) and the reference *Escherichia coli* ATCC 25922 were selected for the research. They were cultivated in the media with and without antibiotics. Total RNA was isolated. A design of primers was developed and created for genes involved in fatty acid metabolism. The design of the primer was also selected for "housekeeper," which expresses itself equally under antibiotic and non-antibiotic conditions. After the selection of designs, reverse transcription of RNA was performed, and finally, real-time PCR was performed to obtain k-DNA. The results of the study revealed that the data obtained by qRT-PCR coincide with the RNA-SEQ data, which proves the relevance and importance of the role of selected genes in the development of antibiotic resistance. The obtained results may be used for the development of effective antimicrobial drugs against various bacterial pathogens.

Keywords: ESBL-producing *Escherichia coli*, Antibiotic resistance, fatty acids.