

ანტიბიოტიკორეზისტენტული *Klebsiella pneumoniae* შტამების
მიმართ აქტიური vB_Kp M1 და vB_Kp M9 ბაქტერიოფაგების დახასიათება

ლია ასკილაშვილი

სამაგისტრო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და საინჟინრო ფაკულტეტზე მოლეკულური
ბიომეცნიერებების მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნების
შესაბამისად

სიცოცხლის შემსწავლელი მეცნიერებები:
მოლეკულური ბიომეცნიერებები

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ეკატერინე თევდორაძე, ასოცირებული პროფესორი,
ილიას უნივერსიტეტი
თანახელმძღვანელი: ლეილა კვაჭაძე, ბმდ, გ.ელიავას სახელობის ბაქტერიოფაგის,
მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტი

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი
თბილისი, 2018

განაცხადი

„წარმოდგენილი სამაგისტრო ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორის მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.“

ლია ასკილაშვილი

15/06/18

აბსტრაქტი

ბაქტერიოფაგები დედამიწაზე გავრცელებული ორგანიზმების ყველაზე მრავალრიცხოვანი სახეა. ბუნებაში მათი გავრცელების არეალი ფართოა - ბაქტერიული ვირუსები არიან ყველგან, სადაც იზრდებიან ბაქტერიები. გარემოს ნიმუშებიდან შესაძლებელია პრაქტიკულად ყველა სახეობის მიკრობული უჯრედების მალიზირებელი ბაქტერიოფაგის გამოყოფა. ბაქტერიოფაგები ავლენენ მკაცრ სპეციფიურობას მასპინძელი ბაქტერიების მიმართ, მაგრამ განსხვავდებიან ლიზისური აქტივობით და მოქმედების დიაპაზონით. ყოველი ახალი ბაქტერიოფაგის კვლევას აქვს როგორც თეორიული, ისე პრაქტიკული მნიშვნელობა.

დღეისათვის მრავლობით ანტიბიოტიკო-რეზისტენტული ბაქტერიული შტამების გავრცელება სერიოზულ პრობლემას წარმოადგენს. განსაკუთრებით აღსანიშნავია გრამ-უარყოფითი მიკროორგანიზმები, მათ შორის *Klebsiella* სახეობები, რომლებიც ბოლო თაობის ანტიბიოტიკების მიმართ მაღალი ბუნებრივი და შექმნილი რეზისტენტობით ხასიათდებიან. დღეისათვის ბაქტერიოფაგების ანტიმიკრობული თვისებების პრაქტიკული გამოყენება განიხილება, როგორც ანტიბიოტიკო-თერაპიის ალტერნარტივა.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ანტიბიოტიკორეზისტენტული კლინიკური *K. pneumoniae* 1a და *K. pneumoniae* 9 შტამის მიმართ აქტიური ბაქტერიოფაგების გამოყოფა და დახასიათება. ჩვენს მიერ გამოყოფილი და შესწავლილია vB_Kp M1 და vB_Kp M9 ბაქტერიოფაგები. განსაზღვრულია მათი რეპროდუქციის ციკლის მახასიათებლები, ნუკლეოკაფსიდის მორფოლოგია და პარამეტრები, გარემოს სხვადასხვა ფაქტორის ზეგავლენა ფაგების სიცოცხლისუნარიანობაზე; დადგენილია ბაქტერიოფაგების გენომების მოლეკულური მასები, ჩატარებულია დნმ-ების შედარებითი რესტრიქციული ანალიზი და ვირიონების სტრუქტურული ცილების კვლევა; განსაზღვრულია ფაგების ანტიბაქტერიული მოქმედების სპექტრი. მიღებული შედეგების საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ გარემოს ნიმუშებიდან ჩვენს მიერ გამოყოფილია *Klebsiella pneumoniae* ბაქტერიების მიმართ აქტიური ორი, ერთმანეთისგან განსხვავებული ბაქტერიოფაგი.

ძირითადი საძიებო სიტყვები: ბაქტერიოფაგი, რეპროდუქცია, ვირიონი, დნმ, *Klebsiella pneumoniae*, ანტიბიოტიკორეზისტენტობა, ფაგომგრძნობელობა.

სარჩევი

განაცხადი.....	ii
აბსტრაქტი.....	iii
აბრევიატურების ჩამონათვალი.....	vi
სურათების ჩამონათვალი	vii
გრაფიკების ჩამონათვალი	viii
შესავალი.....	1
I ლიტერატურის მიმოხილვა	4
1. ბაქტერიოფაგების ზოგადი დახასიათება.....	4
1.2 ბაქტერიული ვირუსების კლასიფიკაცია	6
1.3 ბინალური სიმეტრიის მქონე ბაქტერიული ვირუსების მორფოლოგიური და ფუნქციონალური ორგანიზაცია.....	9
1.4 ბაქტერიოფაგის გამრავლების ლითიური ციკლი.....	12
2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> ბაქტერიების ზოგადი დახასიათება.....	13
3. ფაგოთერაპია.....	17
II მეთოდები.....	19
2.1 ბაქტერიოფაგების გამოყოფა გარემოს ნიმუშებიდან.....	19
2.2 ბაქტერიოფაგის პრეპარატის მომზადება და კონცენტრირება	20
2.3 ბაქტერიოფაგების ლიზისური სტაბილობის შეფასება.....	21
2.4 ბაქტერიოფაგის რეპროდუქციის პროცესის მახასიათებლების დადგენა	21
2.5 გარემო ფაქტორების მიმართ ფაგების მგრძნობელობის განსაზღვრა.....	22
2.6 ფაგის ვირიონის მორფოლოგია.....	23
2.7 ფაგური დნმ-ის გელ-ელექტროფორეზი პულსირებად ველში (PFGE).....	23

2.8 ცილების ელექტოროფორეზი SDS-პოლიაკრილამიდის გელში (SDS-PAGE).....	24
2.9 ვირუსული დნმ-ის ექსტრაქცია ფენოლური დეპროტეინიზაციის მეთოდით.....	25
2.10 ბაქტერიოფაგის დნმ-ის რესტრიქციული ანალიზი.....	26
2.11 ბაქტერიული შტამები და მათი იდენტიფიცირება.....	27
2.12 ბაქტერიების ანტიბიოტიკო-მგრძობელობის განსაზღვრა.....	28
2.13 ბაქტერიოფაგების ლითიური აქტივობის და მოქმედების სპექტრის განსაზღვრა.....	28
III შედეგები და მათი განხილვა	29
3.1 <i>K.pneumoniae 1a</i> და <i>K.pneumoniae 9</i> შტამების მიმართ აქტიური ბაქტერიოფაგების გამოყოფა.....	30
3.2 <i>vB_Kp M1</i> და <i>vB_Kp M9</i> ფაგების გამრავლების ლითიური ციკლის პარამეტრები.....	31
3.3 ბაქტერიოფაგების მგრძობელობა გარემო ფაქტორების მიმართ.....	34
3.4 ბაქტერიოფაგების ინტაქტური ვირიონის მორფოლოგია	36
3.5 ბაქტერიოფაგების სტრუქტურული ცილების SDS-PAGE ანალიზი	38
3.6 <i>vB_Kp M1</i> და <i>vB_Kp M9</i> ფაგების გენომების მოლეკულური მასები.....	39
3.7 <i>vB_Kp M1</i> და <i>vB_Kp M9</i> ბაქტერიოფაგების დნმ-ის რესტრიქციული ანალიზი.....	40
3.8 ბაქტერიული შტამების კულტივირება და მათი ანტიბიოტიკომგრძობელობა	42
3.9 <i>vB_Kp M1</i> და <i>vB_Kp M9</i> ბაქტერიოფაგების ლითიური აქტივობა.....	45
დასკვნა	46
გამოყენებული ლიტერატურა:.....	47