

შიგა - ტოქსინის შემცველი *E. Coli*-ისათვის სპეციფიკურ გენტა ექსპრესიის შესწავლა

მარიამ მოციქულაშვილი

*სამაგისტრო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტში
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და მედიცინის ფაკულტეტზე მოლეკულური
ბიოლოგიის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნის შესაბამისად*

სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა სამაგისტრო პროგრამა

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ეკატერინე თევდორაძე, ასოცირებული პროფესორი

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2019

განცხადება

”როგორც სამაგისტრო ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ გამოსაქვეყნებელ ან უკვე გამოქვეყნებულ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.”

მარიამ მოციქულაშვილი

სარჩევი

I აბსტრაქტი.....	iii
II აბრევიატურის ჩამონათვალი.....	v
III ცხრილების ჩამონათვალი.....	vii
IV სურათების ჩამონათვალი.....	viii
V შესავალი.....	1
VI ლიტერატურის მიმოხილვა	4
6.1 ნაწლავის ჩხირი (<i>Escherichia coli</i>)	4
6.2 შიგა ტოქსინი.....	6
6.3 შიგა-ტოქსინის მაპროდუცირებელი <i>E.Coli</i>	7
6.4 პათოგენური <i>Escherichia coli</i> -ს კულტივაციის მახასიათებლები	8
6.5 STEC-ის რისკ-ფაქტორები და სიმპტომები	9
6.6 სეროტიპების მრავალფეროვნება, ვირუსული ფაქტორები და სეროპათოტიპების კონცეფცია.....	9
6.6.1 STEC O157:H7 და NON-O157 STEC.....	11
6.6.2 ინთიმინი - როგორც ძირითადი კოლონიზაციის ფაქტორი STEC -ის შტამებისთვის.....	12
6.6.3 გრძელი პოლარული ფიმბრია	13
6.6.4 STEC O104 : H4.....	14
6.7 შიგა - ტოქსინის მაპროდუცირებელი <i>E.Coli</i> ადამიანებში	16
VII მეთოდოლოგია	18
7.1 კვლევის ობიექტი და მეთოდები	18
7.2 ბაქტერიების კულტივირება.....	18
7.3 რნმ-ის გამოყოფა (ექსტრაქცია).....	19

7.4 რნმ-ის კონცენტრაციის განსაზღვრა ნანოდროფზე.....	20
7.5 რნმ-ის უკუტრანსკრიფცია	21
7.6 რაოდენობრივი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია რეალურ დროში (qRT-PCR).....	24
VIII შედეგები	26
8.1 ოლიგონუკლეოტიდების დიზაინი	27
IX სტატისტიკური ანალიზი	28
9.1 აღდეჰიდ დეჰიდროგენაზა B (aldB)	29
9.2 მაგნეზიუმ ტრანსპორტერი (mgtA)	30
9.3 ჰიდროპეროქსიდაზა HP11(III) (კატალაზა)	31
X დასკვნა.....	33

I აბსტრაქტი

ნაწლავის ჩხირი (*Escherichia coli*) წარმოადგენს ადამიანისა და ცხოველის საჭმლის მომნელებელი სისტემის ნაწლავურ მიკრობიოტას. პათოგენური ნაწლავის ჩხირი საფრთხეს წარმოადგენს ჯანმრთელობისათვის. მათ შორისაა, შიგა ტოქსინის მაპროდუცირებელი *E.Coli* (STEC), რომელიც წარმოადგენს გასტეროენტერიტული დაავადებების ძირითად გამომწვევს. შიგა-ტოქსინის მაპროდუცირებელი *E.coli*-ის (STEC) შესწავლა უმნიშვნელოვანეს წინაპირობას წარმოადგენს მისგან გამოწვეული დაავადებების დროული დიაგნოსტიკისა და მკურნალობაში.

კვლევის სამიზნეს წარმოადგენს შიგა ტოქსინის მაპროდუცირებელი *E.Coli*-ის პათოგენური ბაქტერიული შტამი STEC 2087, რომელიც კლინიკური მასალიდან იქნა გამოყოფილი საქართველოში. საკვლევი ბაქტერიული შტამის STEC 2087 სრული ტრანსკრიპტომის ანალიზის (ე.წ. RNA_SEQ) საპილოტო კვლევის საფუძველზე რეფერენს შტამთან შედარებით განსხვავებული ექსპრესიის მქონე 25 სპეციფიკური გენიდან შერჩეული იქნა ოთხი სპეციფიკური გენი: HUS2011_2127, HUS2011_5063, HUS2011_4282, HUS2011_5076. კვლევის მიზანს წარმოადგენს სრული ტრანსკრიპტომის ანალიზის მიხედვით შერჩეული გენების ექსპრესიის ცვლილებების ვალიდაცია რაოდენობრივი პოლიმერაზა ჯაჭვური რეაქციით რეალურ დროში (qRT-PCR), ეს უკანასკნელი კი ტრანსკრიპტომის ანალიზის ალტერნატიულ მიდგომას წარმოადგენს.

კვლევაში გამოყენებული იქნა, როგორც კლასიკური მიკრობიოლოგიური, ასევე, თანამედროვე მოლეკულურ-ბიოლოგიური მეთოდები: მიკროორგანიზმების საკულტივაციო საკვები არეების მომზადება, ბაქტერიული უჯრედებიდან ტოტალური რნმ-ის გამოყოფა, *E.Coli* 2087-ის სპეციფიკური გენების და მოურავი გენების (Housekeeping genes) პრაიმერების დიზაინის შერჩევა, ბაქტერიული ტოტალური რნმ-ის უკუტრანსკრიფცია კ-დნმ-ის მისაღებად, რაოდენობრივი პოლიმერაზული ჯაჭვური

რეაქცია რეალურ დროში (qRT-PCR). მონაცემები დამუშავებული იქნა სტატისტიკური მეთოდებით: ANOVA და ტ-ტესტი.

კვლევის მონაცემებმა აჩვენა, რომ მთლიანი ტრანსკრიპტომის მიხედვით განსხვავებულად ექსპრესირებულ შერჩეულ 4 გენს შორის qRT-PCR-ით 3 გენის (HUS2011_2127, HUS2011_5063, HUS2011_4282) ექსპრესია რეფერენსთან მიმართებაში მნიშვნელოვნად გაიზარდა, რაც თანხვედრაში მოვიდა მთლიანი ტრანსკრიპტომის ანალიზის შედეგებთან. ხოლო განსხვავებული შედეგი გამოვლინდა HUS2011_5076 გენისათვის, რაც დამატებით კვლევას საჭიროებს. მიღებულმა ცოდნამ შესაძლოა გარკვეული როლი ითამაშოს შიგა-ტოქსინის მაპროდუცირებელი ბაქტერიული შტამის STEC 2087-ის ტოქსინის მაკოდირებელი გენების ექსპრესიის შესწავლაზე.

საკვანძო სიტყვები : ნაწლავის ჩხირი (*Escherichia coli*), შიგა-ტოქსინის მაპროდუცირებელი *E.Coli* (STEC).