

შიგა-ტოქსინის მაპროდუცირებელი *E.coli*-ის კლინიკურ შტამში
ქინონის, სერინის, გლუტამატ დეკარბოქსილაზას და ფოსფოტრანსფერაზას
გენების განსხვავებული ექსპრესიის შესწავლა რეფერენსთან მიმართებაში

ანი თოდაძე

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

საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და მედიცინის ფაკულტეტი

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

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2020

განაცხადი

„ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად“.

ანი თოღაძე

ნაშრომის წარდგენის თარიღი 15.07.2020

სარჩევი

ცხრილების ჩამონათვალი.....	Error! Bookmark not defined.
სურათების ჩამონათვალი	Error! Bookmark not defined.
გრაფიკების ჩამონათვალი.....	Error! Bookmark not defined.
აბრევიატურის ჩამონათვალი	Error! Bookmark not defined.
შესავალი.....	Error! Bookmark not defined.
1. სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა	Error! Bookmark not defined.
1.1 ნაწლავის ჩხირი	Error! Bookmark not defined.
1.1.1 სეროტიპების მრავალფეროვნება და პათოგენური <i>Escherichia coli</i> -ის მახასიათებლები	Error! Bookmark not defined.
1.2 შიგა-ტოქსინი	Error! Bookmark not defined.
1.3 ცილა ინთიმინი.....	Error! Bookmark not defined.
1.4 გრძელი პოლარული ფიმბრია	Error! Bookmark not defined.
1.5 STEC O157:H7 და NON-O157 STEC	Error! Bookmark not defined.
1.6 STEC O104:H4	Error! Bookmark not defined.
1.7 შიგა-ტოქსინ მაპროდუცირებელი <i>E.coli</i> -ის სეროტიპის მრავალფეროვნება	Error!
Bookmark not defined.	
1.8 ინფიცირების წყარო და გადაცემის გზები.....	Error! Bookmark not defined.
1.9 ჰემოლიზურ-ურემიული სინდრომი	Error! Bookmark not defined.
1.10 შიგა-ტოქსინ მაპროდუცირებელი <i>E.coli</i> -ს სტატისტიკა..	Error! Bookmark not defined.
1.11 კვლევის სამიზნე გენები ფუნქციური მახასიათებლები	21
მეთოდოლოგია	
2. მეთოდოლოგია	Error! Bookmark not defined.

2.1 კვლევის ობიექტი და მეთოდები	Error! Bookmark not defined.
2.2 მიკროორგანიზმების კულტივირება	Error! Bookmark not defined.
2.3 ტოტალური რნმ-ის ესტრაქცია.....	Error! Bookmark not defined.
2.4 რნმ-ის კონცენტრაციის განსაზღვრა.....	Error! Bookmark not defined.
2.5 რნმ-ის უკუტრანსკრიფცია.....	Error! Bookmark not defined.
2.6 რაოდენობრივი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია რეალურ დროში (qRT-PCR)	Error! Bookmark not defined.
3. შედეგები.....	Error! Bookmark not defined.
3.1 ოლიგონუკლეოტიდების დიზაინი.....	Error! Bookmark not defined.
4. შედეგების სტატისტიკური ანალიზი.....	Error! Bookmark not defined.
4.1 რეალურ დროში პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით მიღებული შედეგების ანალიზი.....	Error! Bookmark not defined.
4.2 პროტეინ კინაზას (YeaG) მაკოდირებელი გენის ექსპრესიის ცვლილებები.....	Error! Bookmark not defined.
4.3 ფოსფოტრანსფერაზას ცილოვანი ოჯახი (StrA) ექსპრესიის ცვლილებები.....	Error! Bookmark not defined.
4.4 გლუტამატ დეკარბოქსილაზას (GadA) მაკოდირებელი გენის ექსპრესიის ცვლილებები	Error! Bookmark not defined.
4.5 ქინონის (WrbA) მაკოდირებელი გენის ექსპრესიის ცვლილებები	Error! Bookmark not defined.
დასკვნა.....	Error! Bookmark not defined.
ბიბლიოგრაფია.....	Error! Bookmark not defined.

აბსტრაქტი

ნაწლავის ჩხირი (*Escherichia coli*) არის თბილსისხლიანი ორგანიზმების კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის, ნორმალურ ფლორის შემადგენელი ნაწილი. თუმცა არსებობს *E. coli*-ის პათოგენური შტამები, რომლებმაც შესაძლოა გამოიწვიონ სხვადასხვა ინფექციური დაავადება ადამიანის თუ ცხოველის ორგანიზმში, ერთ-ერთი მათგანია *E. coli* (STEC), რომლის შტამებმაც შესაძლოა გამოიწვიონ სერიოზული გასტროენტერიტული დაავადებები, შესაბამისად მნიშვნელოვანია დაავადების დროული დიაგნოსტიკა და შემდგომში მკურნალობა, რიგი გართულებების თავიდან აცილების მიზნით.

კვლევის მიზანს წარმოადგენს ენტეროჰემორაგიული შიგა-ტოქსინის მაპროდუცირებელი STEC *E. coli* 2087 კლინიკური შტამი, რომელიც იდენტიფიცირებული იქნა საქართველოში. აღნიშნული შტამი სამეცნიერო პროექტის ფარგლებში თავაზიანად იქნა მოწოდებული დაავადებათა კონტროლის/ლუგარის ცენტრის მიერ. სამეცნიერო კვლევის ფარგლებში ჩატარებულია STEC *E. coli* 2087 კლინიკური შტამის და *E. coli*-ის რეფერალური შტამის ATCC 25922 სრული ტრანსკრიპტომის (RNA-Seq) შედარებითი ანალიზი. RNA-Seq ანალიზის მონაცემების მიხედვით, მოხდა STEC შტამის რეფერენსთან მიმართებაში განსხვავებულად ექსპრესირებული გენების სელექცია.

RNA-Seq მონაცემები გაანალიზებული იქნა გენთა ონტოლოგიის ანალიზით (Gene Ontology-GO), რის მიხედვითაც შერჩეული იქნა რეფერენსთან მიმართებაში სარწმუნოდ განსხვავებული ექსპრესიის მქონე გენები. გამომდინარე იქიდან, რომ სრული ტრანსკრიპტომის ანალიზი (RNA_SEQ) არ ასახავს ზუსტ რაოდენობრივ მაჩვენებელს (ნიმუშების სიმწირის გამო), ამიტომ მნიშვნელოვანია განსხვავებულად ექსპრესირებული გენების დამატებითი კვლევა-ვალიდაცია ალტერნატიული მეთოდით.

კვლევის მიზანს წარმოადგენს შიგა-ტოქსინის მაპროდუცირებელი STEC *E.coli* 2087 შტამის RNA-Seq მონაცემების მიხედვით რეფერენს შტამთან მიმართებაში განსხვავებულად ექსპრესირებული ოთხი გენის - ქინონის, სერინის, გლუტამატ დეკარბოქსილაზას და ფოსფოტრანსფერაზას მაკოდირებელი გენების ექსპრესიის ცვლილებების ვალიდაცია რეალურ დროში RT-qPCR რაოდენობრივი პოლიმერაზა ჯაჭვური რეაქციის მეთოდით.

კვლევაში გამოყენებულია, როგორც სტანდარტული ბაქტერიოლოგიური მეთოდები, ასევე მოლეკულური ბიოლოგიის სხვადასხვა მეთოდი: მიკროორგანიზმების კულტივირება, საკვები არეების მომზადება, მიკრობების ბიომასიდან ტოტალური რნმ-ის ესტრაქცია, მიღებული რნმ-ის მოლეკულის კონცენტრაციის განსაზღვრა, საკვლევი გენების და მოურავი გენების პრაიმერების დიზაინი NCBI ვებგვერდით ხელმისაწვდომი primer-Blast პლატფორმით, უკუტრანსკრიფციის რეაქცია რნმ-ის ნიმუშიდან კომპლემენტარული დნმ-ის მისაღებად; რაოდენობრივი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია რეალურ დროში; RT-qPCR-ის შედეგების სტატისტიკური ანალიზი და მისი შედარებითი ანალიზი სრული ტრანსკრიპტომის ანალიზის (RNA_SEQ) შედეგებთან.

RT-qPCR-ის შედეგებმა აჩვენა, რომ ქინონის, სერინის, გლუტამატ დეკარბოქსილაზას და ფოსფოტრანსფერაზას მაკოდირებელი გენების ექსპრესია რეფერენსთან მიმართებაში მნიშვნელოვნად მომატებულია, რაც თანხვედრაში მოვიდა მთლიანი ტრანსკრიპტომის ანალიზის (RNA_SEQ) შედეგებთან. კვლევის შედეგად მიღებული მონაცემები შესაძლოა დაგვეხმაროს შიგა-ტოქსინის მაპროდუცირებელი STEC *E.coli* 2087 შტამის მეტაბოლიზმის მოლეკულური მექანიზმების უფრო დეტალურ შესწავლაში.

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