

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего  
образования «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет»  
Институт фундаментальной медицины и биологии  
Кафедра микробиологии

Направление подготовки (специальность): 06.04.01 – Биология

Профиль (магистерская программа): Микробиология и вирусология

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ  
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ КЛИНИЧЕСКИХ  
ИЗОЛЯТОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ  
ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЧЕПОЛОВОГО ТРАКТА

Обучающийся 2 курса

группы 01-240-2



Егоров А.А.

Научный руководитель

д-р биол. наук, профессор



Шарипова М.Р.

Консультант

младший научный сотрудник



Пудова Д.С.

Заведующий кафедрой микробиологии

д-р биол. наук, профессор



Ильинская О.Н.

Казань – 2024

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	7
1.1 Характеристика вида <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	7
1.1.1 Факторы вирулентности <i>P. aeruginosa</i> .....	8
1.1.2 Антибиотикорезистентность <i>P. aeruginosa</i> .....	13
1.2 Особенности геномной структуры <i>P. aeruginosa</i> .....	16
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b> .....	23
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b> .....	23
2.1 Бактериальные штаммы и группы геномов .....	23
2.2 Выделение геномной ДНК и секвенирование .....	25
2.3 Сборка геномов.....	26
2.4 Филогенетический анализ .....	26
2.5 Аннотация геномов .....	26
2.6 Сравнительный анализ геномов двух групп клинических изолятов	27
2.7 Анализ ортологичных кластеров белков.....	27
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b> .....	29
3.1 Сборка геномов и филогенетический анализ штаммов <i>P. aeruginosa</i> РА18 и РА23.....	29
3.2 Аннотация и поиск генов факторов вирулентности в геномах штаммов <i>P. aeruginosa</i> РА18 и РА23 .....	31
3.3 Сравнение групп штаммов <i>P. aeruginosa</i> , выделенных из пациентов с инфекциями мочевыводящих и дыхательных путей .....	35
3.4 Анализ пангенома двух групп штаммов <i>P. aeruginosa</i> , выделенных от пациентов с инфекциями мочевыводящих и дыхательных путей .....	41

<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>45</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....</b>	<b>47</b>

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время *Pseudomonas aeruginosa* является распространенным грамотрицательным внутрибольничным патогеном, представляющим серьезную угрозу здоровью пациентов, особенно лицам с ослабленным иммунитетом. Высокая способность к адаптации этих бактерий к различным условиям среды существенно повышает риск развития хронических инфекций у пациентов. Приспособляемость и гибкость патогена обеспечиваются обширным количеством факторов вирулентности, которыми он располагает. Наличие множества механизмов антибиотикорезистентности у синегнойной палочки часто приводит к развитию феномена множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). Понимание сложности механизмов резистентности и их взаимодействия в популяции *P. aeruginosa* имеет первостепенное значение для разработки целенаправленных терапевтических средств, особенно в контексте штаммов МЛУ. Помимо широкого спектра механизмов антибиотикорезистентности, важными, для бактерий *P. aeruginosa*, факторами патогенности являются поверхностные структуры и системы секреции экзотоксинов. Данные структуры также являются мишенями при разработке лекарственных препаратов для борьбы с синегнойной палочкой.

Для лучшего понимания генетической изменчивости и механизмов устойчивости бактериальных штаммов к внешним факторам окружающей среды необходимо проводить исследования на геномном уровне. Они предоставляют ценную информацию об организации и структуре геномов патогенов, которая может помочь в разработке новых лекарств и/или разработке новых стратегий лечения и диагностики синегнойной палочки.

Целью работы было провести сравнительный биоинформатический анализ геномов клинических изолятов *P. aeruginosa* PA18 и PA23, выделенных от пациентов с инфекциями мочевыводящих путей.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. Сборка геномов и филогенетический анализ изолятов PA18 и PA23.
2. Аннотация и поиск генов факторов вирулентности в геномах штаммов *P. aeruginosa* PA18 и PA23.
3. Сравнение групп штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с инфекциями мочевыводящих и дыхательных путей.
4. Анализ пангенома двух групп штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с инфекциями мочевыводящих и дыхательных путей.

## ВЫВОДЫ

1) По результатам секвенирования геномы штаммов *P. aeruginosa* PA18 и *P. aeruginosa* PA23 собраны в 70 и 175 скаффолдов соответственно и депонированы в базу данных NCBI под номерами NZ\_JAQRBF000000000 и NZ\_JAQRBG000000000. Филогенетический анализ по гену 16S рРНК показал принадлежность штаммов к виду *P. aeruginosa*.

2) Аннотация и поиск генов факторов вирулентности в геномах штаммов *P. aeruginosa* PA18 и PA23 показали наличие генов, кодирующих белки, связанные с подвижностью, гены протеаз, уреаз, сурфактантов, сидерофоров и факторы антифагоцитоза. Поиск мобильных генетических элементов показал наличие в геноме штамма PA18 10, а в геноме PA23 — 5 профаговых областей.

3) Сравнительный анализ геномов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с инфекциями дыхательных и мочевыделительных путей, показал отсутствие четких различий по наличию генов устойчивости к противомикробным препаратам. В геномах уропатогенных штаммов обнаружено больше генов устойчивости к антибиотикам (более 9 генов), чем в геномах штаммов возбудителей инфекций дыхательных путей. Установлен кластер из 4 типов генов, наличие которых свойственно для обеих групп. Эти гены включали *fosA*, *catB7*, *blaPAO* и *aph(3')*-IIb. При проведении ANI-анализа и поиска генов *exo* была установлена четкая корреляция между составом генома и степенью патогенности штаммов.

4) Сравнительный пангеномный анализ штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с инфекциями дыхательных и мочевыводящих путей, позволил идентифицировать 4.292 белков, которые характерны для 46 обеих групп бактерий. Штаммы, полученные от пациентов с инфекциями дыхательных путей, обладали 645 уникальными белок-кодирующими последовательностями. В то время как штаммы, вызывающие инфекции

мочевыделительной системы, несли 339 уникальных белок-кодирующих последовательностей.