

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

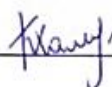
Направление подготовки: 06.03.01 – Биология

Профиль подготовки: Микробиология и вирусология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ  
*MORGANELLA MORGANII*

Студент 4 курса  
группы 01-805

"1" июня 2022 г.



(Халиуллова Г.И)

Научный руководитель  
д.б.н., профессор,

"1" июня 2022 г.



(Марданова А.М)

Заведующий кафедрой  
микробиологии  
д.б.н., профессор

"1" июня 2022 г.



(Ильинская О.Н.)

Казань – 2022

## СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	4
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	6
1.1 Характеристика вида <i>Morganella morgani</i>	6
1.2 Инфекции, вызываемые <i>Morganella morganii</i>	7
1.3 Подвижность бактерий	10
1.4 Биопленки как факторы вирулентности	14
1.5 Гемолитическая активность	16
1.6 Заключение	19
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b>	20
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b>	20
2.1 Объекты исследования	20
2.2 Питательные среды и условия культивирования	20
2.3 Определение влияния температуры и мочевины на рост <i>M. morganii</i>	20
2.4 Определение плавающей подвижности и роения бактерий	21
2.5 Определение способности формировать биопленки	21
2.6 Выявление гемолитической активности	22
2.7 Выделение ДНК	22
2.8 Полимеразная цепная реакция	22
2.9 Выделение РНК	23
2.10 Обратная транскрипция	24
2.11 Биоинформатический анализ и статистическая обработка данных	24
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ</b>	26
3.1 Влияние мочевины и температуры культивирования на рост штаммов <i>M. morganii</i>	26
3.2 Определение плавающей подвижности и способности к роению штаммов <i>M. morganii</i>	28
3.3 Влияния температуры и состава среды на способность образовывать биопленки	32

3.4	Определение гемолитической активности штаммов <i>M. morgani</i>	34
3.5	Идентификация гена гемолизина в геномах штаммов <i>M. morgani</i>	35
3.6	Биоинформатический анализ локуса с геном гемолизина	36
3.7	Определение экспрессии гена гемолизина <i>M. morgani</i>	38
	<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	41
	<b>ВЫВОДЫ</b>	42
	<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	43

## ВВЕДЕНИЕ

Рост числа редких оппортунистических инфекций, вызываемых *Morganella morganii* вызывает тревогу во всем мире [Shi *et al.*, 2022]. Это связано с тем, что с каждым годом увеличивается число штаммов с широкой лекарственной устойчивостью [Liu *et al.*, 2016].

*M. morganii* представляет собой грамотрицательную, факультативную анаэробную палочку, обитающую в нормальной микробиоте кишечника человека и животных [Zaric *et al.*, 2021]. Несмотря на это, она является условно-патогенным микроорганизмом, который вызывает различные инфекции, такие как инфекции мочевыводящих путей (ИМП), раневые инфекции, абсцесс, сепсис, которые иногда заканчиваются летальным исходом [Liu *et al.*, 2016].

При изучении генома *M. morganii* было обнаружено, что факторы вирулентности включают липополисахариды, фимбриальные адгезины, гемолизины, протеазы, уреазы, железосвязывающие белки, а также систему секреции типа III (T3SS) [Chenal *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2016]. Способность к адгезии играет важную роль в колонизации *M. morganii*, а также во взаимодействии патогена с клетками хозяина, и именно адгезия является первой ступенью при биопленкообразовании [Wang *et al.*, 2022].

Способность к синтезу уреазы возникла, как адаптация к окружающей среде. Уреаза способствует росту бактерий и образованию биопленок, что и объясняет распространённость ИМП, вызванных именно *M. morganii* [Murray *et al.*, 2021]. В последнее время ИМП являются одними из наиболее распространенных инфекционных заболеваний во всем мире, вызывая около 150 миллионов случаев в год [Shi *et al.*, 2022]. ИМП является одной из наиболее частых нозокомиальных инфекций, и в особенности представляет опасность для людей пожилого возраста, пациентов с обширными травмами, нуждающихся в мочевых катетерах, и для беременных женщин [Hayward *et al.*, 2022].

На фоне вышесказанного *M. morganii* становится все более важным патогеном. Инфекции, *M. morganii*, вызывают особую эпидемиологическую тревогу из-за растущей антибиотикорезистентности, особенно к бета-лактамам антибиотикам. Несмотря на то, что *M. morganii* не является типичным возбудителем оппортунистических заболеваний, им не стоит пренебрегать и упускать из виду [Liu *et al.*, 2016].

**Целью** работы являлась характеристика экспрессии факторов вирулентности штаммов *Morganella morganii*.

В работе решались следующие **задачи**:

- 1) Определить влияние мочевины и температуры культивирования на рост штаммов *M. morganii* MM1 и MM190.
- 2) Охарактеризовать плавающую подвижности и способность к роению штаммов *M. morganii*
- 3) Охарактеризовать влияние температуры и состава среды на способность штаммов *M. morganii* образовывать биопленки
- 4) Охарактеризовать гемолитическую активность штаммов *M. morganii*, идентифицировать ген  $\alpha$ -токсина в геномах штаммов *M. morganii*, провести биоинформатический анализ геномного локуса  $\alpha$ -токсина и изучить особенности его экспрессии.

## ВЫВОДЫ

1) Штаммы *Morganella morganii* MM 1 и MM 190 различаются по динамике роста на среде LB и оптимальной температурой для накопления биомассы является 30 °С. Повышение температуры культивирования и добавление в среду 2% мочевины подавляют рост обоих штаммов примерно в 2 раза.

2) Штамм MM 1 способен к эффективной плавающей подвижности при температурах 30 °С и 37 °С, тогда как штамм MM 190 менее подвижен при 30 °С, а повышение температуры до 37 °С практически полностью ингибирует подвижность бактерий. 2% мочевины в среде культивирования в разной степени ингибирует подвижность обоих штаммов

3) Оба штамма способны образовывать биопленки лучше на среде LB, по сравнению со средой Мюллер-Хинтона. Биопленкообразование штамма MM 190 в 2 раза выше, чем у штамма MM1.

4) В геноме MM 190 была обнаружена нуклеотидная последовательность гена *hlyA*, кодирующего  $\alpha$ -токсин, что коррелирует с его способностью к  $\beta$ -гемолизу. Ген  $\alpha$ -токсина штамма MM 190 имеет 77% гомологии с последовательностью гена  $\alpha$ -токсина уропатогенного штамма *E. coli* CFT073. Ген  $\alpha$ -токсина MM 190 экспрессируется на ранней экспоненциальной фазе роста бактерий.