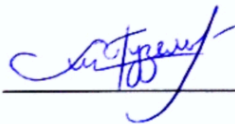


Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии


Направление подготовки (специальность): 06.04.01 – Биология
Профиль (магистерская программа): Микробиология и вирусология

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
**ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕМОЛИЗИНА
MORGANELLA MORGANII В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ**


Обучающийся 2 курса
группы 01-240-2


Мухтарова Г.И.

Научный руководитель
д-р биол. наук, доцент


Марданова А.М.

Заведующий кафедрой микробиологии
д-р биол. наук, профессор


Ильинская О.Н.

Казань – 2024

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Характеристика вида <i>Morganella morganii</i>	6
1.2 Инфекции, вызываемые <i>Morganella morganii</i>	8
1.3 Роль уропатогенов в инфекциях мочевыводящих путей	11
1.4 Гемолитическая активность	18
1.5 Внеклеточные везикулы, как факторы вирулентности	19
1.6 Заключение	22
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	23
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	23
2.1 Объекты исследования	23
2.2 Питательные среды и условия культивирования	23
2.3 Определение влияния различных сред культивирования на уровень гемолитической активности <i>M. morganii</i>	24
2.4 Установление влияния культуральной жидкости <i>M. morganii</i> , выращенной на средах разного состава на монослой клеток эпителия мочевыводящих путей	24
2.5 Определение экспрессии гена <i>hlyA M. morganii</i> на разных часах роста	25
2.6 Выявление способности секретировать гемолизин в составе внеклеточных мембранных везикул	26
2.7 Статистическая обработка результатов	
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	28
3.1 Характеристика гемолитической активности штамма <i>M. morganii</i> ММ 190 и влияния мочевины на рост бактерий	28
3.2 Влияние различных сред культивирования на уровень гемолитической активности <i>M. morganii</i>	30

3.3 Оценка цитотоксичности в отношении клеток эпителия мочевыводящих путей культуральной жидкости <i>M. morgani</i>, выращенной на средах разного состава	33
3.4 Экспрессия гена <i>hlyA</i> <i>M. morgani</i> на разных часах роста	34
3.5 Секреция гемолизина в составе внеклеточных мембранных везикул	37
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	40
ВЫВОДЫ	42
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	43

ВВЕДЕНИЕ

Рост числа оппортунистических инфекций, возбудителем которых является *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, входящую в состав нормальной микробиоты кишечника человека и животных [Zaric *et al.*, 2021]. Несмотря на это, она является условно-патогенным микроорганизмом, который вызывает различные инфекции, такие как раневые инфекции, абсцесс, сепсис, а также инфекции мочевыводящих путей (ИМП), которые иногда заканчиваются летальным исходом [Liu *et al.*, 2016].

Для колонизации мочевыводящих путей *M. morganii* имеет в своем арсенале целый комплекс разнообразных факторов вирулентности, позволяющих ей выживать и распространяться в неблагоприятной для жизни условиях мочи [Lüthje, Brauner, 2014]. Одними из подобных факторов являются кальций-зависимые порообразующие токсины семейства RTX [Ostolaza *et al.*, 2019], способные формировать поры в мембране различных типов клеток человека, тем самым способствуя их гибели и повреждению тканей [Ristow, Welch, 2016]. Представителем данного семейства является широко известный α -гемолизин (HlyA) который синтезируется более чем 50% уропатогенов [Lu *et al.*, 2018]. При изучении генома *M. morganii* было обнаружено, что факторы вирулентности данной бактерии включают также липополисахариды, фимбриальные адгезины, протеазы, уреазы, железосвязывающие белки, а также систему секреции типа III (T3SS) [Chenal *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2016].

На фоне вышесказанного *M. morganii* становится важным патогеном, вызывающим 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 являлось изучение особенностей экспрессии гемолизина *Morganella morganii*.

В работе решались следующие **задачи**:

1) определить влияние различных сред культивирования на уровень гемолитической активности *M. morganii*;

2) установить влияние культуральной жидкости *M. morganii*, содержащей гемолизин, на монослой клеток карциномы мочевого пузыря Т-24 и карциномы почки ОКР-GS;

3) определить экспрессию гена *hlyA* на разных часах роста;

4) изучить секрецию гемолизина в составе внеклеточных мембранных везикул.

ВЫВОДЫ

1) Биосинтез гемолизина зависит от среды культивирования бактерий: чем богаче среда, тем раньше на ней проявляются гемолитические свойства. Мочевина в составе сред не только подавляла рост бактерий, но и ингибировала гемолитическую активность на ранних часах роста.

2) Наличие гемолизина в среде способствовало гибели клеток мочевыводящих путей, эпителия мочевого пузыря и почек, что свидетельствует о том, что гемолизин играет важную роль в патогенезе ИМП. Цитотоксический эффект к клеткам карциномы почки ОКР-GS был в 2.5 раза выше по сравнению с клетками эпителия мочевого пузыря.

3) Пик экспрессии гена *hlyA* на среде LB приходится на 2 час культивирования, что соответствует высокому уровню гемолитической активности в культуральной жидкости на этот час роста.

4) *M. morgani* 190 способен секретировать гемолизин в составе внеклеточных мембранных везикул. Бактерии образуют больше везикул на стационарной фазе роста, но концентрация гемолизина в лизатах везикул на экспоненциальной фазе роста была в 4 выше.