

Wpływ mutacji w sekwencji promotora genu *amiA* na wirulencję pałeczek *Salmonella* Enteritidis

Aleksandra Błachut¹, opiekun naukowy: dr Rafał Kolenda²

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu Katedra Biochemii i Biologii
Molekularnej
ul. Norwida 31; 50-375 Wrocław², Uniwersytet Wrocławski Zakład
Mikrobiologii
ul. Przybyszewskiego 63; 51-148 Wrocław¹

Bakterie z rodzaju *Salmonella* to fakultatywnie beztlenowe, Gram-ujemne pałeczki należące do rodziny *Enterobacteriaceae*. U ludzi najczęściej izolowane są należące do grupy generalistów *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*. Za większą liczbę przypadków klinicznych odpowiada *S. Enteritidis*, dlatego istotna jest molekularna charakterystyka czynników wirulencji tych bakterii. Wiele z nich jest już szeroko scharakteryzowanych, mimo to informacje na temat pozostałych, między innymi *AmiA*, są nieliczne. Fakt ten stał się podstawą do przeprowadzenia badań, których głównym celem było określenie roli polimorfizmu pojedynczego nukleotydu w promotorze genu *amiA* w adhezji oraz inwazji do ludzkich komórek nabłonka jelita. Kluczowe w doświadczeniu było stworzenie mutantów *S. Enteritidis* 6206_amiA_P125109, *S. Enteritidis* 6206_amiA_6206 w oparciu o zmodyfikowaną metodę zaproponowaną przez Datsenko i Wannera, która opiera się na wykorzystaniu λ Red. Następnie nowoutworzone szczepy zostały przebadane pod względem zmian morfologicznych, agregacji oraz tempa wzrostu. W celu zweryfikowania wpływu SNP w promotorze genu *amiA* na wirulencję pałeczek *Salmonella* przeprowadzono testy adhezyjne i inwazyjne. Wykorzystano do tego linię komórkową Caco-2, która jest najczęściej stosowana do badań nad patogenami bakteryjnymi. Dodatkowo przeprowadzono eksperyment, którego celem było określenie wpływu mutacji w promotorze na oporność na wankomycynę.

Przeprowadzone badania nie wykazały zmian w morfologii czy agregacji. Testowane szczepy charakteryzowały się zbliżonym tempem wzrostu zarówno w płynnym LB, jak i w medium infekcyjnym. Dodatkowo testy z wykorzystaniem linii komórkowej Caco-2 nie wykazały różnic w poziomie adhezji oraz inwazji otrzymanych mutantów względem szczepu dzikiego. Badania z zastosowaniem wankomycyny wskazują na brak wpływu SNP w promotorze genu *amiA* na zwiększenie/zmniejszenie oporności na ten antybiotyk, ponieważ wszystkie z testowanych szczepów wykazały się podobnym tempem wzrostu.

Przeprowadzone badania i ich wyniki wskazują na brak wpływu polimorfizmu pojedynczego nukleotydu w promotorze genu, kodującego amidazę, na wirulencję testowanych szczepów. Należałoby jednak przeprowadzić bardziej dogłębne, dokładniejsze badania, czy też zastosować szerszy wariant czynników stresowych, które mogą wpływać na ekspresję genów. Jest to niezwykle istotne z uwagi na fakt, że nie znamy funkcji znaczącego odsetka genów bakteryjnych, częściowo dlatego, iż nie wiemy, kiedy i jak są one ekspresjonowane.