

Elméleti orvostudományok - Kísérletes immunológia, mikrobiológia 2.

Új határok a bakteriális genomszerkesztésben – rekombináción alapuló genommérnökség határfokának növelése és gazda specifikitásának kiszélesítése

CZIKKELY MÁRTON

Általános Orvos, Osztatlan, 7. félév

Szegedi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Bevezetés: A rekombinációs genommérnökség lehetővé teszi új funkcióval bíró fehérjék előállítását, evolúciós folyamatok vizsgálatát vagy egyéb genotípus-fenotípus asszociációs vizsgálatokat. A módszer eddig kiaknázatlan maradt, mert a rekombinációs genommérnökség főleg *Escherichia coli*-ban mutatott kielégítő határfokot. Az ún. egyszálú DNS kapcsoló proteinek (ssDNA annealing proteins -SSAP) kulcsszerepet játszanak a rekombinációs genom szerkesztés folyamatában, mivel ezen enzimek illeszkedik a kívánt szekvenciát a komplementer szálhoz a replikációs villában.

Célkitűzés: Célunk az volt, hogy új SSAP-k felkutatásával és alkalmazásával növeljük a rekombinációs genommérnökség határfokát és kibővítsük a bakteriális fajok listáját, amiben alkalmazható a technika.

Módszerek: Első lépésként egy általunk fejlesztett szűrési módszerrel új SSAP jelölteket kerestünk. Ezt követően az ígéretes határfokot mutató jelölteket beillesztettük az általunk kidolgozott pORTMAGE plazmid rendszerbe (Nyerges és mtsai. PNAS-2016), hogy vizsgálhassuk az mutációk irányított bevitelének határfokát számos egymástól csak távoli rokonságban lévő bakteriális fajban.

Eredmények: Két új ígéretes jelöltet azonosítottunk. Az egyik SSAP 10-szeresére növelte a többszörös mutációbevitel hatékonyságát. A másik enzim lehetővé tette a hatékony mutációbevitelt egy bakteriális korokózában (*Pseudomonas aeruginosa*). Ez a baktérium gyakori oka az életet veszélyeztető kórházi fertőzéseknek. (T. M. Wannier, M. Czikkely és mtsai. PNAS-2020)

Következtetések: Az új szűrési módszer lehetővé teszi, hogy új, nagy határfokkal működő SSAP-ket azonosítsunk. Ezáltal új fajokban, nagyobb határfokkal alkalmazhatjuk a rekombináción alapuló genommérnökséget. Munkánk nagy módszertani előrelépés, és számos tudományág -evolúció biológia, a biotechnológia és az antibiotikumrezisztencia kutatás –számára is fontos lehet.

Támogatók: ÚNKP-19-2 ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROGRAM (ITM), SZEGEDI ORVOSBIOLÓGIAI KUTATÁSOK JÖVŐÉRT ALAPÍTVÁNY (EMMI -TSZ: 11136-2/2019/FIRFIN), STEPHEN W. KUFFLER KUTATÁSI ALAPÍTVÁNY

Témavezető: Dr. Pál Csaba, tudományos főmunkatárs, Eötvös Lóránd Kutatási Hálózat - Szegedi Biológiai Kutató Központ - Biokémia Intézet - Szintetikus és Rendszer Biológiai Egység

A mikrobiom összetételének és diverzitásának analízise karbapenemáz-termelő *Klebsiella pneumoniae*-vel kolonizált egerekben

FARKAS FERENC BALÁZS

Általános orvos, Osztatlan, 10. félév

Simmelweis Egyetem

Általános Orvostudományi Kar

A multirezisztens baktériumok megjelenése és terjedése világszerte komoly veszélyforrást jelent. A széles spektrumú β -laktamáz (ESBL) és a karbapenemáz termelő Enterobacteriaceae (CPE) a WHO antimikrobiális rezisztencia listáján a kritikus kategóriában szerepelnek. Ezek a baktériumok a kórházi infekciók nagy hányadért felelősek. A CPE-k elleni terápiás lehetőségek korlátozottak, ezért ezen baktériumok terjedésének kontrolálása kiemelkedő fontosságú. Az emésztőrendszeri kolonizáció döntő szerepet játszik a CPE-k disszeminációjában.

Jelen kutatásban célunk a mikrobiom összetételének és diverzitásának vizsgálata volt *Klebsiella pneumoniae* (KP5825) törzzsel kolonizált egerekben, melyek különböző per os antibiotikum kezelést kaptak. Ez a törzs egy PMQR gént, egy ESBL gént és egy karbapenemáz gént expresszált. Célunk továbbá a KP5825 kolonizációs rátájának, valamint a rezisztencia gén kópiaszámok (RGCN) változásainak vizsgálata volt.

Kísérleti állatmodellünkben hím, 6-8 hetes, C57BL/6 egereket alkalmaztunk. A kolonizációhoz 5×10^6 CFU KP5825 szuszpenziót juttatunk be orálisan, ampicillin (AMP) előkezelés 14., valamint 15. napján. Ezt követően az állatokat 6 csoportba osztottuk. A csoportok a következő antibiotikus kezelést kapták 15 napon keresztül az ivóvízbe keverve: 0.5g/L AMP, 0.1g/L ceftazidim (CAZ), 0.5g/L CAZ, 0.1g/L ciprofloxacín (CIP) és 0.5g/L CIP (6. csoport: kontroll). Minden 3. napon friss székletmintákat gyűjtöttünk, melyekből mikrobiális DNS izolálása történt.

Kísérleteink második szakaszában a KP5825 DNS mennyiségének, valamint a RGCN meghatározásához qPCR technikát alkalmaztunk. Az intestinalis mikrobióta összetételének és diverzitásának meghatározásához a 16S rRNS gén V3-V4 régiója amplifikálásra, majd szekvenálásra került Illumina MiSeq platformmal.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy az AMP és a CAZ kezelés növelte a KP5825 kolonizációját és csökkentette a bél mikrobióta diverzitását. Ezzel szemben a CIP kezelés nem változtatta a kolonizációs rátát. Továbbá erős negatív korrelációt figyelhetünk meg a Lachnospiraceae NK4A136 group 11319, Roseburia, Anaerostipes, Lachnoclostridium 11308, Lachnospiraceae UCG-004, Tyzzerella, Agathobacter, Lachnospiraceae NK3A20 group 11318 genusok és a KP5825 kolonizációs rátái között.

Témavezető: Dr. Szabó Dóra, egyetemi tanár, SE ÁOK

csatlakozás

**Elméleti orvostudományok - Kísérletes immunológia, mikrobiológia 2. (Zoom4)**

2021. április 8. (csütörtök) 10:30-12:15

ZSÚRI

*Dr. Bácsi Attila, egyetemi tanár, DE ÁOK Immunológiai Intézet**Dr. Berki Tímea, egyetemi tanár, PTE KK Immunológiai és Biotechnológiai Intézet**Dr. Riba Pál, egyetemi docens, SE Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet**Dr. Burián Katalin, egyetemi docens, SZTE ÁOK Orvosi Mikrobiológia Intézet**Dr. Szebeni Gábor, tudományos munkatárs, Szegedi Biológiai Kutatóközpont*

ELŐADÁSOK

10:30 Czikkely Márton (SZTE ÁOK)

Új határok a bakteriális genomszerkesztésben – rekombináción alapuló genommérnökség hatásfokának növelése és gazda specificitásának kiszélesítése

10:45 Farkas Ferenc Balázs (SE)

A mikrobiom összetételének és diverzitásának analízise karbapenemáz-termelő *Klebsiella pneumoniae*-vel kolonizált egerekben

11:00 Le Tran Linh Dan (DE ÁOK)

In vitro characterization of HER2-redirected universal CAR T cells

11:15 Kisiczki Ármin Szabolcs, Koós Bence (SE ÁOK)

A metabolikus ritmus immunmodulátor hatásai

11:30 Shlomie Briscoe (DE ÁOK)

Comprehensive analysis of different tumor cell-line produced soluble mediators on the monocyte-derived dendritic cells' differentiation and functional properties

11:45 Szócs Emőke, Soós Ádám (SE)

A bursa Fabricii lymphoid folliculusainak embrionális fejlődése

12:00 Veres Júlia (DE ÁOK)

Az NLRP3 és I-es típusú interferon útvonalak interakciójának vizsgálata humán plazmacitoid dendritikus sejtekben

csatlakozás

**Elméleti orvostudományok - Sejtbiológia, sejtélettan 2. (Zoom5)**

2021. április 8. (csütörtök) 10:30-12:15

ZSÚRI

*Dr. Virág László, egyetemi tanár, DE ÁOK Orvosi Vegytani Intézet**Dr. Ábrahám Hajnalka Gabriella, egyetemi docens, PTE ÁOK Orvosi Biológiai Intézet és Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium**Dr. Majnik Judit, egyetemi adjunktus, SE Reumatológiai és Klinikai Immunológiai Tanszék**Dr. Boldogkői Zsolt, intézetvezető egyetemi tanár, SZTE ÁOK Orvosi Biológiai Intézet**Dr. Kövesdi Dorottya, tudományos főmunkatárs, ELTE TTK Immunológiai Tanszék*

ELŐADÁSOK

10:30 Balla Abigél (DE ÁOK)

Intraventrális vérzés indukálta gyulladásos folyamatok vizsgálata humán choroid plexus epithelsejtekben

10:45 Gyulai-Nagy Szuzina (SZTE ÁOK)

Az exoszómák és az aktin nanoszerkezet szerepe a szindekán-4 sejtmigrációra gyakorolt hatásában

11:00 Khozeimeh Mohammad Ali (SE ÁOK)

Establishment of a lentiviral expression system for the expression of potassium channel genes in sensory neurons