تأثير الزراعة المتتالية على شمولية التعبير البروتيني باستخدام التحليل البروتينومي

الطالب: محمد سليمان الهاجوج

تحت إشراف: د. أحمد عبدالكريم مرزا

مستخلص البحث

يعتبر التهاب المسالك البولية واحد من أكثر الإلتهابات البكتيرية انتشارا في العالم التي تؤثر في الغالب على المثانة والكلى. حيث ان البكتيريا سلبية الجرام هي سبب رئيسي لمثل هذه العدوى، و خاصة الإشريكية القولونية (الإي كولاي) حيث أنها كانت العامل الرئيسي المسبب ل ٨٠-٩٠ ٪من العدوى المكتسبة من المجتمع، وحوالي ٤٠ ٪من التهاب المسالك البولية، وهي المسؤولة عن ٢٥ ٪من الإلتهابات المتكررة. وقد برز مجال البروتيوميات كأداة عظيمة لتحليل البروتينات وتحديد المؤشرات الحيوية المحتملة المرتبطة بعدد من الحالات المرضية، وإلى تحديد نفس المدى المرتبط مع التطور المرضي البكتيري حيث يقومون الباحثون بالتحقيق في ملامح (الإي كولاي) عن طريق البروتيوميكس لتحديد المؤشرات الحيوية المحتملة، ولكن يمكن أن تختلف ملامح البروتين بسبب المؤثر البيئي الناجم عن الزراعة الفرعية للبكتيريا. هنا نقترح الإجابة على سؤال البحث، هل هناك اختلافات في ملامح البروتين من الإشريكية القولونية التي نشأت من الزراعة او المرور المتتابع .

في هذا البحث، تم جمع أربع عينات بول من الأفراد الذين يعانون من التهاب المسالك البولية المتكررة، وتم زراعتها بالتسلسل وتحليلها باستخدام جهاز فصل البروتينات الكهربائي (جل إلكتروفوريسيس) وجهاز قياس الطيف الكتلي لتحديد اي تغيير كبير في البروتين بين البروتينات المستخلصة من المزرعة الأصلية من البكتيريا (الإي كولاي) مقارنة بالبروتينات المعبرة والمتولدة في آخر مزرعة بعد التسلسل من نفس العينة .

في هذا البحث لوحظ أن الزراعة المتتابعة على البكتيريا أثرت على تعبير البروتينات. أيضا وجد أن هناك تغيير في تعبير البروتين بين المزرعة الأصلية للبكتيريا مقارنه مع المزرعة الأخيرة لمدة ٨ تسلسلات زراعية من نفس البكتيريا. لوحظ أيضا أن هناك بروتينات ظهرت بعد تأثير التزريع المتتالي للبكتيريا بينما لم تكن متواجدة في المزرعة الأصلية للبكتيريا مقرونة قوية بقوة و شراسة البكتيريا وهم : ATPB_ECOBW,DPS ECOL6,ASPA ECOLI و DCEB ECOLI.

استنتج من هذه الدارسة أن هناك تغير في حالة البروتينات قد يكون بسبب الزارعة المتتالية للبكتيريا وبعض العوامل التي تساهم في مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية وتكرار اصابتها. وبعد الكشف عن حقيقة هذه البروتينات أن لها عالقة قوية بقوة وشراسة البكتيريا ونموها.

Impact of Sequential Passage on Overall Protein Expression using Proteomic Analysis

Mohammed S. Alhajouj; Ghadah Alsharif; Ahmed A. Mirza

ABSTRACT

Background: *Escherichia coli* (*E. coli*) is the main causative agent of 80-90% of community-acquired infection, about 40% of nosocomial urinary tract infections (UTI), and 25% of recurrent infections. The field of proteomics has emerged as a great tool to analyze expressed proteins and to identify possible biomarkers associated with many pathological states, and to the same extent those associated with bacterial pathogenesis and their ability to cause recurrent infections. However, protein profiles could vary due to environmental stress created and can be simulated by subculturing; here we investigated the effects of sequential passaging on protein profiles of *E. coli* from patients with recurrent UTIs.

Method: Four urine samples were collected from individuals with recurrent UTI, and sequentially subcultured. Protein samples were prepared by sonicating bacterial pellets and analyzed using one- and two-dimensional gel electrophoresis. Protein spots of interest arising from changes in the protein profile where analyzed using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry and matched against known data bases to identify related proteins.

Result: No major differences were observed using 1-D gel electrophoresis except for one sample. However, 2-D gel electrophoresis identified ATPB_ECOBW, ASPA ECOLI, DPS ECOL6 and DCEB ECOLI as proteins associated with higher passaging.

Conclusion: Passaging resulted in identifiable changes in the protein profile of *E. coli*, namely proteins that are associated with ferocity and virulence of bacteria and suggestive of factors contributing to antibiotic resistance and recurrent UTIs.