



UNIwersYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

METODA OKREŚLANIA PRZYNALEŻNOŚCI GATUNKOWEJ ORAZ STOPNIA POKREWIEŃSTWA SZCZEPÓW Z RODZAJU STAPHYLOCOCCUS

(PROJEKT NR P-194)

Przedmiotem oferty jest nowa metoda określania przynależności gatunkowej oraz stopnia pokrewieństwa szczepów z rodzaju Staphylococcus. Oferowane rozwiązanie, m.in. dzięki unikalnemu wzorowi zmienności wybranego genu i analizie polimorfizmu sekwencji tego genu, umożliwi szybką i dokładną identyfikację oraz określenie stopnia pokrewieństwa gronkowców.



Centrum Innowacji,
Transferu Technologii
i Rozwoju Uniwersytetu

Gronkowce (Staphylococcus) to jedne z najważniejszych patogenów bakteryjnych człowieka. Bakterie te są odpowiedzialne za wiele chorób oraz kolonizację skóry i śluzówek. W ostatnich latach opracowano i rozwinięto wiele **metod identyfikacji** oraz typowania izolatów bakterii z rodzaju *Staphylococcus* (gronkowiec). Wśród tych metod można wyróżnić dwie grupy: **metody fenotypowe i genotypowe**. Identyfikacja gatunków gronkowcowych metodami fenotypowymi oparta jest na charakterystyce morfologicznej, właściwościach fizjologicznych oraz chemicznym składzie ściany komórkowej. Rezultaty otrzymywane za pomocą komercyjnych testów opartych na profilach reakcji biochemicznych oraz immunologicznych obciążone są pomyłkami z powodu zmiennej ekspresji niektórych cech fenotypowych oraz dwuznaczności w interpretacji wyników. Ogólna dokładność konwencjonalnych testów jest niska i mieści się w przedziale 50-70%.

Spośród **genotypowych metod** porównawcza hybrydyzacja DNA-DNA oraz analiza sekwencyjna genu kodującego 16S rRNA zdefiniowały gatunki w obrębie rodzaju *Staphylococcus* oraz rekomendowane są dla potwierdzenia wyników nowych metod, które wprowadzane są do powszechnego użycia. Do innych metod identyfikacji genetycznych należą min. sondy genetyczne, hybrydyzacja typu dot-blot, amplifikacja metodą PCR i PCR gatunkowo-specyficzny (selektywny), PCR-RFLP – analiza polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych. **Do tej pory brak jest uniwersalnych metod jednoczesnej identyfikacji i typowania**, stosowanych we wszystkich laboratoriach i pozwalających uzyskać wysoką powtarzalność wyników. Ustalenie zróżnicowania taksonomicznego wewnątrz rodzaju *Staphylococcus* nie jest łatwe i obecnie wyodrębnia się więcej niż 38 gatunków, opierając się na sekwencjonowaniu genu kodującego 16S rRNA. Na dzień dzisiejszy nie znaleziono również konsensusu, którą z nich można uznać za najlepszy standard.

Przedmiotem oferty jest nowe wykorzystanie locus genomowego hptf w diagnostyce mikrobiologicznej, a w szczególności do określania przynależności gatunkowej oraz analizy różnorodności wewnątrzgatunkowej szczepów bakterii w obrębie rodzaju Staphylococcus. Przykładowo może ono opierać się na wykorzystaniu reakcji PCR (ang. polymerase chain reaction) do otrzymywania produktu na matrycy konserwatywnego locus genomowego, trawienia tego

ul. Czapskich 4
31-110 Kraków
tel. +48(12) 663 38 30
fax +48(12) 663 38 31
cittru@uj.edu.pl
www.cittru.uj.edu.pl



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

produktu enzymami restrykcyjnymi oraz analizy powstałego obrazu (RFLP, ang. restriction fragments length polymorphism) w celu determinacji przynależności gatunkowej. Analiza RFLP z odpowiednio dobranymi enzymami restrykcyjnymi pozwala również na analizę wewnątrzgatunkowej zmienności w obrębie rodzaju *Staphylococcus*.

Do podstawowych zalet nowej metody należą:

- unikalny wzór zmienności genu *hyptf*;
- możliwość otrzymania obrazów restrykcyjnych dla 4 różnych enzymów charakteryzujących się wysoką jednoznacznością i powtarzalnością;
- możliwość łatwej interpretacji wyników nawet w przypadku pojawienia się polimorfizmów wewnątrzgatunkowych;
- możliwość różnicowania nawet bardzo blisko spokrewnionych gatunków takich jak *S. delphini*, *S. intermedius* i *S. pseudintermedius*.

Oferowana metoda określania stopnia pokrewieństwa szczepów z rodzaju *Staphylococcus* stanowi przedmiot zgłoszenia patentowego. Dalsze prace nad jej rozwojem są prowadzone na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, a Centrum Innowacji, Transferu Technologii i Rozwoju Uniwersytetu poszukuje podmiotów zainteresowanych komercyjnym wykorzystaniem wynalazku.



Centrum Innowacji,
Transferu Technologii
i Rozwoju Uniwersytetu

Dalsze informacje:

dr Klaudia Polakowska
Specjalista ds. Transferu Technologii
CITTRU, Uniwersytet Jagielloński
www.cittru.uj.edu.pl

tel. 12 663 3832, fax: 12 63 3831
e-mail: klaudia.polakowska@uj.edu.pl

ul. Czapskich 4
31-110 Kraków
tel. +48(12) 663 38 30
fax +48(12) 663 38 31
cittru@uj.edu.pl
www.cittru.uj.edu.pl