

Popularnonaukowe streszczenie projektu

Chityna, drugi po celulozie naturalny polisacharyd występujący na Ziemi, stanowi główny składnik pancerzy skorupiaków, egzoszkieletu owadów oraz ściany komórkowej grzybów. Z kolei dla wielu mikroorganizmów heterotroficznych jest głównym źródłem węgla oraz azotu. W związku z tym liczne bakterie morskie oraz glebowe wykształciły system enzymatyczny złożony z chitynaz oraz białek wiążących chitynę, który hydrolizuje ten polimer do oligo- i monomerów. Wiele badań wskazuje, że enzymy syntetyzowane przez tlenowe laseczki *Bacillus cereus sensu lato* (*B. cereus s.l.*), powszechnie występujące w glebie, są niezwykle wydajne w degradacji chityny. Co więcej, skład i jakość chitynaz bakteryjnych zależy od typu gleby, wskazując, że odgrywa ona kluczową rolę w ewolucji mikroorganizmów. W związku z powyższym, głównym założeniem niniejszego projektu jest to, że naturalne środowisko oddziałuje na bakterie, co przejawia się na poziomie genomu oraz fenotypu organizmów, np. w różnicach w systemie enzymatycznym odpowiedzialnym za rozkład chityny. W badaniach uwzględnę ok. 120 szczepów *B. cereus*, *B. thuringiensis* i *B. mycoides* wyizolowanych z (i) gleby mineralnej (pole uprawne w Jasienówce), (ii) gleby organicznej (obszar ochrony ścisłej Białowieskiego Parku Narodowego, teren Biebrzańskiego Parku Narodowego), oraz (iii) próbek klinicznych (szczepy referencyjne z międzynarodowych kolekcji). Metodyka badań obejmuje techniki biologii molekularnej oraz analizy biochemiczne, które pozwolą określić związek pomiędzy środowiskiem a aktywnością chitynolityczną *B. cereus s.l.* W pierwszym etapie badań określone zostaną właściwości chitynolityczne oraz aktywność przeciwgrzybicza badanych szczepów. Następnie, w wyniku sekwencjonowania oraz hybrydyzacji typu Southern oszacowany zostanie polimorfizm genów kodujących poszczególne enzymy systemu hydrolizującego chitynę. Wybrane geny zostaną sklonowane do wektorów ekspresyjnych i transformowane do kompetentnych komórek *E. coli*. Ekspresja enzymu zostanie potwierdzona komercyjnym testem do oznaczania aktywności chitynolitycznej, a syntetyzowane białko oczyszczone metodą FPLC. Następnie zostaną określone aktywność przeciwgrzybicza oraz właściwości enzymatyczne (w różnych warunkach). Zapropionowane badania przyczynią się do wyjaśnienia podstaw ekologicznej adaptacji do utylizacji chityny wśród *B. cereus s.l.* i tym samym wskażą ważne wątki w ewolucji tej grupy bakterii. Ponadto, biorąc pod uwagę, iż chitynazy znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym, energetycznym, jak również rolniczym, badania aktywności przeciwgrzybiczej oraz właściwości enzymatycznych chitynaz syntetyzowanych przez *B. cereus s.l.* mogą przyczynić się do rozwoju badań o charakterze aplikacyjnym. Takie wielopoziomowe badania nie były do tej pory prowadzone.