

Owady są najliczniejszą grupą zwierząt. Swoją ewolucyjną sukces zawdzięcza między innymi sprawnie funkcjonującemu układowi immunologicznemu, czyli obronemu. Jego rolą jest ochrona organizmu owada przed namnażaniem się w nim patogennych bakterii, wirusów lub grzybów. Z drugiej strony patogeny wykształciły mechanizmy, które ułatwiają im przedostanie się przez bariery obronne i intensywne namnażanie w ciele owadów. Zarówno owady jak i atakujące je mikroorganizmy wci udoskonalały swoje mechanizmy obronne i, odpowiednio, mechanizmy wirulencji. Trwa więc nieustanny "wyścig zbroje", a jego stawką jest przetrwanie. Interakcja gospodarz-patogen nie odbywa się w próżni, ale w warunkach środowiska zewnętrznego. Zarówno czynniki abiotyczne (np. zmiany temperatury) jak i biotyczne (przebieg poprzednich infekcji, bądź równoległa infekcja innym mikroorganizmem), mogą w istotny sposób wpływać na wzajemną interakcję gospodarz-patogen. Celem naszych badań jest poznanie jak wymienione grupy czynników modulują przebieg zakażenia. Zaprezentowany plan badań dotyczy odpowiedzi immunologicznej owadów, które już poprzednio w swoim życiu miały kontakt z tym samym patogenem, a więc odnosi się do drugiej grupy czynników (biotycznych). Jest to szczególnie interesujące z uwagi na fakt, że owady nie wykształciły tzw. odporności nabytej, jak posiadają ludzie. Jest ona jak wiadomo związana z tym, że pierwszy kontakt z danym mikroorganizmem powoduje produkcję swoistych przeciwciał przez tzw. limfocyty, specyficznie i sprawnie rozpoznających dany mikroorganizm. Wykorzystuje się ten fakt np. w szczepieniach ochronnych. Jak już wspomniano układ obronny owadów nie ma limfocytów oraz zdolności do produkcji przeciwciał. W odpowiedzi na zakażenie, syntetyzowane są i wydzielane do hemolimfy (odpowiednik krwi) tzw. peptydy odpornościowe, które mają aktywność przeciwdrobnoustrojową. Ponadto komórki hemolimfy - hemocyty, mogą fagocytować (pochłaniać) drobnoustroje. Hemolimfa owadów jest bardzo bogata w różne białka i peptydy, które mają właściwości przeciwbakteryjne, dlatego jest źródłem poszukiwanej substancji, które mogą być alternatywą dla antybiotyków. Związki przeciwdrobnoustrojowe zawarte w hemolimfie "współpracują" ze sobą nawzajem w zwalczaniu infekcji. Ich synteza i aktywność może być indukowana i zmieniana podczas zakażenia. Pomimo braku przeciwciał badania ostatnich lat wykazały, że owady posiadają pewien rodzaj pamięci immunologicznej. Manifestuje się on tym, że zwierzęta, które wcześniej pokonały infekcję, są bardziej odporne na kolejną. Co więcej, ta zwiększona odporność może być przekazywana kolejnym pokoleniom. Jest to zjawisko określane jako pamiętowanie układu immunologicznego. Poznanie mechanizmów modulujących odpowiedź immunologiczną owadów jest właśnie przedmiotem naszych zainteresowań naukowych oraz tematycznych przedstawionego projektu. Badanymi owadami jest barciak włośny - *Galleria mellonella*, który jest szkodnikiem pszczoł, wywołującym tzw. galleriozę pszczoł. Będzie on zakażany bakterią *Bacillus thuringiensis*, która jest szeroko rozpowszechniona w przyrodzie i po wniknięciu do ciała barciaka, intensywnie namnaża się w hemolimfie wywołując tzw. septysemię. Zamierzamy porównać przebieg odpowiedzi immunologicznej owadów, które po raz pierwszy ulegają infekcji z odpowiedzią u tej grupy owadów, które już wcześniej zetknęły się z danym patogenem. Hemolimfa gromadzona w obu grupach będzie zbierana w poszczególnych punktach czasowych po zakażeniu i badana pod kątem aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Analizowany również będzie profil białkowy hemolimfy i wykrywany poziom apolipoproteiny III. Jest to białko, które bierze udział w rozpoznaniu infekcji, stymuluje aktywność peptydów przeciwbakteryjnych i samo posiada aktywność przeciwdrobnoustrojową. Ponadto analizowana będzie ekspresja genów, kodujących białka i peptydy odpornościowe owadów w ciele tłuszczowym. Ciało tłuszczowe jest odpowiednikiem w trobie i głównym źródłem polipeptydów hemolimfy. Białka, w tym te które mają być wydzielone do hemolimfy są tam wytwarzane. Pierwszym etapem jest transkrypcja, która polega na przepisaniu informacji genetycznej zawartej w DNA na matrycowy RNA (mRNA). Następnie po przyłączeniu rybosomów, w procesie translacji, czyli biosyntezy białka powstaje dany polipeptyd. Miary wyrażania się (ekspresji) genu kodującego dane białko jest więc ilość odpowiadającego mu matrycowego RNA. Zamierzamy porównać zmiany w ilości mRNA dla poszczególnych białek i peptydów obronnych *Galleria mellonella* u owadów zakażonych po raz pierwszy i tych, które miały poprzednio kontakt z danym patogenem. Uzyskane wyniki badań będą analizowane w świetle krzywych przeżywalności owadów zakażonych po raz pierwszy i powtórnie. Efekty realizacji przedstawionego projektu przybliżą nas do zrozumienia jak owady, które nie posiadają limfocytów i przeciwciał zapamiętują poprzedni kontakt z daną bakterią, aby w przypadku kolejnej - sprawnie zwalczać zakażenie.