

Metan i dwutlenek węgla są końcowymi produktami beztlenowego rozkładu materii organicznej (ang. anaerobic digestion). Proces ten jest wynikiem aktywności metabolicznej wielu grup fizjologicznych mikroorganizmów. Zachodzi powszechnie w naturalnych ekosystemach takich jak osady dennego zbiorników wodnych, podmokłe gleby, bagna, w miejscach gdzie nie ma tlenu a także w innych akceptorów elektronów takich jak azotany, siarczany czy siarczany jest niskie. Procesy beztlenowego rozkładu biomasy zachodzą intensywnie na składowiskach śmieci i w biologicznych oczyszczalniach ścieków. Na beztlenowym rozkładzie materii organicznej opiera się praca biogazowni. Ogólny schemat rozkładu związków organicznych do metanu jest powszechnie znany. Wyróżnia się w nim cztery etapy: I - hydroliza wielkocząsteczkowych związków organicznych; II - fermentacja produktów hydrolizy (faza kwaśna - acydogeneza); III - utlenianie niegazowych produktów fazy kwaśnej do kwasu octowego, dwutlenku węgla i wodoru (acetogeneza lub octanogeneza); IV – metanogeneza. Metan może być wytwarzany z trzech rodzajów substratów: z dwutlenku węgla i wodoru (metanogeneza hydrogenotroficzna); ze związków posiadających grupy metylowe, jest to metanogeneza metylotroficzna; z octanu, jest to metanogeneza acetotroficzna. Dwa ostatnie etapy beztlenowego rozkładu materii organicznej (etap III acetogeneza i etap IV metanogeneza) połączone są ze sobą nierozdzielny sposób. Utlenianie niegazowych produktów kwaśnych fermentacji do octanu z wydzieleniem wodoru i dwutlenku węgla (etap III) wymaga syntroficznych układów pomiędzy bakteriami octanogennymi i archeonami metanogennymi. Syntrofia to rodzaj symbiozy, w której dwa organizmy są całkowicie od siebie zależne i tylko wspólnie zdolne są do degradacji określonych substratów. Okazuje się, że procesy powszechnie zachodzące w otaczającym nas świecie i ogólnie znane, są jednak słabo poznane na poziomie molekularnym.

Celem projektu jest dokładne poznanie i opisanie mechanizmów III etapu beztlenowego rozkładu materii organicznej, czyli octanogenezy. Nasza wiedza na temat tego etapu jest ograniczona, gdyż pochodzi głównie z doświadczeń na szczepach hodowlanych w warunkach laboratoryjnych. Wiskio acetogenów nie może rosnąć w postaci czystej kultury bez syntroficznego partnera, którym jest archeon metanogeny. Jest to powód niewystarczającego poznania szlaków przemian produktów kwaśnych fermentacji na etapie octanogenezy prowadzących do powstania substratów dla procesu metanogenezy. Stosując techniki, które nie opierają się na analizie bakterii hodowlanych, chcemy prześledzić szlaki przemian octanu, mleczanu, malianu i propionianu w hodowlach wspólnot mikroorganizmów metanogennych na sztucznych zdefiniowanych podłożach i wyznaczyć kluczowe czynniki metaboliczne.

Celem projektu jest również izolacja i identyfikacja archeonów metanogennych z wyselekcjonowanych wspólnot metanogennych w bioreaktorach w poszukiwaniu nowych gatunków, zwłaszcza metanogenów acetotroficznych. Do tej pory poznano tylko dwa rodzaje acetotrofów: Methanosarcina i Methanosaeta. Jednocześnie uważa się, że 2/3 metanu powstaje na drodze acetotroficznej. Obiektem badań hodowle przepływowe cięgiele i półcięgiele wspólnot mikroorganizmów metanogennych na sztucznych podłożach imitujących kwaśne odcieki poróżnych typach fermentacji.

Pozyskiwane będą dane opisujące pracę hodowli na poszczególnych substratach, takie jak pH, potencjał redox; chemiczne zapotrzebowanie tlenu; tempo produkcji gazów, skład biogazu, analiza odcieków pofermentacyjnych. Do tych celów zastosowane będą nowoczesne metody pomiarowe, chromatografia gazowa i cieczowa oraz spektrometria mas.

Poszczególne składniki podłoża będą znakowane izotopowo, umożliwiając śledzenie szlaków metabolicznych tych związków, czyli jakim przemianom podlegają we wspólnotach mikroorganizmów metanogennych.

Zastosujemy te nowoczesne techniki sekwencjonowania DNA i RNA w celu analizy metagenomicznej i metatranskryptomikowej wspólnoty mikroorganizmów produkujących metan. Analiza metagenomiczna polega na wyizolowaniu całkowitego DNA i zsekwencjonowaniu go. Odpowiednie opracowanie otrzymanych danych sekwencjonowania umożliwia poznanie bioróżnorodności badanej wspólnoty mikroorganizmów. Metatranskryptomika polega na izolacji całkowitego RNA z danej wspólnoty, wyodrębnienie matrycowego RNA i zsekwencjonowanie go. Wyniki mówią nam jakie geny uległy transkrypcji, czyli pozwalają określić funkcje danej wspólnoty.

Połączenie metagenomiki, metatranskryptomiki, śledzenia znakowanych substratów i parametrów fizykochemicznych opisujących pracę bioreaktorów wpisuje się w bieżące trendy w badaniach nad beztlenowym rozkładem materii organicznej. Takie podejście umożliwia kompleksowe spojrzenie na zachodzące procesy, dogłębne ich poznanie, pozwala wyznaczyć kluczowe czynniki metaboliczne.

Identyfikacja potencjalnych nowych gatunków będzie wykonana na podstawie sekwencji genu kodującego 16S rRNA oraz genu *mcrA*.

W dobie poszukiwania alternatywnych źródeł energii zainteresowanie efektywną produkcją biometanu z biomasy jest coraz większe. Optymalizacja procesów biotechnologicznych jest uwarunkowana poznaniem ich mechanizmów, a służyć temu badania podstawowe. Proponowane przez nas badania dostarczą ciekawej wiedzy na temat szlaków przemian octanu, mleczanu, malianu i propionianu na etapie acetogenezy we wspólnotach mikroorganizmów produkujących metan.

Uzyskana wiedza zainteresuje zarówno biotechnologów, mikrobiologów środowiskowych jak i geologów i geochemików.