

Popularnonaukowe streszczenie projektu

Biosurfaktanty to grupa związków chemicznych, która w ciągu ostatnich lat przyciągnęła uwagę konsumentów i producentów z całego świata. Nazwa biosurfaktanty oznacza związki powierzchniowo czynne (ang. *surface active compounds*) pochodzenia biologicznego. Właściwości biosurfaktantów są podobne do syntetycznych związków powierzchniowo czynnych (np. detergentów), z którymi spotykamy się codziennie, jak płyny do mycia naczyń czy proszki do prania. Jednocześnie biosurfaktanty wykazują o wiele więcej ciekawych cech, np. łatwo ulegają biodegradacji w środowisku. Mogą też działać jak antybiotyki lub środki przeciwgrzybiczne, służyć jako leki przeciwnowotworowe czy wreszcie zapobiegać zakażeniom różnych urządzeń medycznych przez chorobotwórcze bakterie (działanie przeciwadhezyjne). Uważa się więc, że w niedalekiej przyszłości biosurfaktanty mogą stać się ekologicznymi zamiennikami syntetycznych detergentów.

Biosurfaktanty są szeroko rozpowszechnione w środowisku naturalnym. Produkują je głównie mikroorganizmy należące do trzech grup: *Pseudomonas*, *Bacillus* i *Candida*. Biosurfaktanty są też bardzo zróżnicowane, tzn. są nimi związki chemiczne o bardzo różnej budowie, np. lipopeptydy, glikolipidy czy fosfolipidy. Obecnie istnieje kilka teorii próbujących wytłumaczyć powody, dla których mikroorganizmy wydzielają biosurfaktanty. Wyniki doświadczeń sugerują na przykład, że biosurfaktanty zwiększają stopień degradacji hydrofobowych substratów (np. plam ropy naftowej) przez mikroorganizmy. Biosurfaktanty regulują też migrację mikroorganizmów z biofilmu i przez to mogą mieć znaczenie przy kolonizacji nowych środowisk przez bakterie. Istniejące hipotezy nie pokrywają jednak wszystkich funkcji biosurfaktantów i często są ze sobą sprzeczne. Stworzenie spójnej teorii tłumaczącej wydzielanie biosurfaktantów przez bakterie do środowiska jest więc niezwykle istotne.

Jednym z biosurfaktantów odkrytych w Zakładzie Biotransformacji na Uniwersytecie Wrocławskim jest lipopeptyd pseudofaktyna. Pseudofaktyna wykazuje działanie antybiotyczne, przeciwgrzybowe, przeciwnowotworowe i przeciwadhezyjne. Jednak funkcje jakie naturalnie pełni w cyklu życiowym produkującego ją szczepu *P. fluorescens* BD5 nie są w znane.

Celem naszego projektu jest próba wyjaśnienia znaczenia pseudofaktyny dla produkującego ją mikroorganizmu. Cel zrealizowany zostanie dzięki identyfikacji genów zaangażowanych w biosyntezę pseudofaktyny w genomie szczepu *P. fluorescens* BD5, stworzeniu mutantów, pozbawionych możliwości produkcji pseudofaktyny oraz analizie ich fenotypów. **Pozwoli nam to określić powody, dla których szczep BD5 produkuje pseudofaktynę.**

W ramach przeprowadzonych wcześniej prac uzyskaliśmy sekwencję genomową DNA szczepu *P. fluorescens* BD5. Realizację opisywanego projektu rozpoczniemy od analizy *in silico* wspomnianej sekwencji w poszukiwaniu operonów (czyli grupy genów) NRPS (ang. *nonribosomal peptide-synthetases*). W tych fragmentach zapisana jest informacja o dużych kompleksach białkowych – syntetazach peptydów nierybosomowych, które są zaangażowane w produkcję lipopeptydów a więc i pseudofaktyny. Naszym pierwszym celem będzie identyfikacja operonu NRPS potencjalnie zaangażowanego w syntezę pseudofaktyny. Następnie z użyciem technik biologii molekularnej zmodyfikujemy genom szczepu *P. fluorescens* BD5 aby dezaktywować te geny i stworzymy tym samym mutanty nieprodukujące pseudofaktyny. Analiza cech (fenotypów) tak powstałych mutantów i porównanie tych wyników ze szczepem rodzicielskim pozwoli nam określić naturalną rolę jaką pełni pseudofaktyna. Zbadamy wszystkie aspekty życia bakterii, które do tej pory wskazano jako potencjalnie zależne od wydzielania biosurfaktantów, tzn. szybkość wzrostu, szybkość utylizacji węglowodorów, zdolność komórek do migracji i tworzenia biofilmu, oddziaływanie z innymi mikroorganizmami (np. *Candida albicans*) i inne.

Wyniki przeprowadzonych badań umożliwią nam identyfikację operonu NRPS odpowiedzialnego za produkcję pseudofaktyny przez szczep *P. fluorescens* BD5 oraz ocenę roli (lub ról) jakie naturalnie pełni pseudofaktyna. Zestawienie naszych wyników z pracami innych naukowców pozwoli zrewidować teorie dotyczące znaczenia biosurfaktantów w środowisku oraz lepsze zrozumienie mechanizmów rządzących populacjami mikroorganizmów. Ponadto, nasze badania będą punktem wyjścia do dalszych doświadczeń na szczepie BD5, które umożliwią nam w przyszłości tańszą produkcję pseudofaktyny oraz zaprojektowanie tej cząsteczki w celu uzyskania jeszcze lepszych właściwości fizykochemicznych i biologicznych. Może to się przełożyć na powstanie „uniwersalnych” związków chemicznych, które będą służyć zarówno jako nowe leki przeciwbakteryjne czy przeciwnowotworowe jak i preparaty do zabezpieczania powierzchni instalacji przemysłowych i urządzeń medycznych przed kolonizacją przez chorobotwórcze mikroorganizmy.