

## POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Mikrobiologiczne zanieczyszczenie żywności świeżej lub o małym stopniu przetworzenia stanowi poważny problem dla producentów, jak i konsumentów. Problem szczególnie dotyka branży przetwórstwa oraz dystrybucji ryb i przetworów rybnych. Pomimo odnotowywanych przypadków zepsucia mikrobiologicznego, liczne prognozy rynkowe wskazują na ciągły wzrost sprzedaży żywności pochodzenia morskiego, zwłaszcza otrzymywanej według receptur kuchni orientalnej (tj. sushi i sashimi). Wzrost spożycia produktów rybnych wynika z ich korzystnego wpływu na zdrowie człowieka. Produkty rybne odznaczają się bowiem wysoką zawartością kwasów tłuszczowych omega-3.

Z doniesień naukowych wielu badaczy wynika, że psucie się produktów rybnych powodują głównie bakterie *Pseudomonas* spp. W produktach spożywczych *Pseudomonas* spp. są relatywnie mało aktywne metabolicznie, dopóki ich liczebność nie wzrośnie do odpowiednio wysokiego poziomu, aby zniwelować działanie zastosowanych zabiegów utrwalających. To nowo poznane zjawisko określa się mianem *quorum sensing*. Zjawisko to podlega na wytwarzaniu przez drobnoustroje cząsteczek sygnalizacyjnych, (głównie laktonów *N*-acylhomoseriny (AHL)), regulujących stopień ekspresji wybranych genów. Właściwości fizjologiczne drobnoustrojów, kontrolowane przez *quorum sensing*, są bardzo zróżnicowane. W większości przypadków dotyczą jednak tych procesów, które kontrolują mechanizm psucia się żywności (np. obecność śluzu na powierzchni produktu, zmiana smaku, zapachu czy tekstury żywności). Ponieważ *quorum sensing* odgrywa znaczącą rolę w procesach psucia się żywności, rozpoznanie mechanizmów, które zakłócają ten system u saprofitycznych *Pseudomonas* spp. jest aktualnie ważnym i nowatorskim tematem w dziedzinie mikrobiologii żywności i technologii żywności. Potencjałem do hamowania zjawiska *quorum sensing* *Pseudomonas* spp. odznaczają się olejki eteryczne z niektórych roślin przyprawowych. W niniejszym projekcie planujemy zbadać szczegółową rolę olejków eterycznych z dziurawca, mirtu zwyczajnego, pieprzu, jałowca, estragonu i rozmarynu w zakłócaniu zjawiska *quorum sensing*. W doświadczeniach użyte zostaną dzikie szczepy *Pseudomonas* spp. pozyskane z produktów spożywczych oraz z przewodu pokarmowego ryb. Przedłożony projekt cechuje nowość naukowa. Opisuje on bowiem rzeczywiste oddziaływanie olejków eterycznych oraz ich poszczególnych składników bioaktywnych na ekspresję genów kontrolowanych przez proces *quorum sensing* u dzikich szczepów. W projekcie zaplanowano sekwencjonowanie całego genomu badanych drobnoustrojów, co pozwoli ocenić również ewolucyjne rearanżacje genetyczne, którym podlegają mikroorganizmy obecne w żywności i precyzyjnie zaprojektować startery do ilościowej reakcji qRT-PCR. Oprócz kompletnej analizy transkryptomowej, w projekcie zaplanowano również badania *in silico* dokowania ligandów (cząsteczek autoinduktorów oraz bioaktywnych składników olejków eterycznych) do receptorów mechanizmu *quorum sensing* *Pseudomonas* spp. Zaplanowaliśmy także wykonanie testów cytotoksyczności oraz genotoksyczności badanych olejków eterycznych w odniesieniu do komórek przewodu pokarmowego (z uwzględnieniem błony śluzowej żołądka, nabłonka jelitowego i wątroby). Wyniki otrzymane na tym etapie badań pozwolą ustalić czy wyznaczone we wcześniejszych doświadczeniach dawki olejków eterycznych, wywołujące specyficzną odpowiedź biologiczną, są jednocześnie neutralne dla komórek przewodu pokarmowego. Ostatni etap pracy zakłada również ocenę poziomu ekspresji wybranych genów przez *Pseudomonas* spp. po ich wprowadzeniu do modelowego produktu spożywczego.

Zaplanowane w projekcie zadania badawcze umożliwią zweryfikowanie następujących hipotez naukowych: **(i)** czy poprzez zaburzanie syntezy autoinduktorów mechanizmu *quorum sensing* można wpłynąć selekcyjnie na metabolizm drobnoustrojów? Jakie są molekularne mechanizmy tego procesu?; **(ii)** czy zmieniona ekspresja zestawu genów, występująca pod wpływem badanych olejków eterycznych i ich składników bioaktywnych jest faktycznie związana z mechanizmem *quorum sensing*?; **(iii)** czy zaburzanie syntezy autoinduktorów mechanizmu *quorum sensing* może być alternatywnym zabiegiem podwyższającym jakość i bezpieczeństwo żywności łatwo podatnej na mikrobiologiczne zepsucie?; **(iv)** czy obecność olejków eterycznych z dziurawca, mirtu, pieprzu, jałowca, estragonu czy rozmarynu w produktach żywnościowych wykazuje potencjalne działanie cytotoksyczne i genotoksyczne w odniesieniu do ludzkich prawidłowych komórek układu pokarmowego? Czy dodatek olejków eterycznych z wyżej wymienionych roślin może być alternatywą dla obecnie stosowanych metod przedłużających trwałość konsumpcyjną żywności?

Mocną i nowatorską stroną projektowanych badań jest również:

**(i)** wykorzystanie w doświadczeniach szczepów dzikich, sekwencjonowanie ich genomów i zaprojektowanie do nich starterów w celu wytypowania najbardziej konserwatywnych rejonów sekwencji; **(ii)** zaprojektowanie interdyscyplinarnych badań (biologicznych, bioinformatycznych, chemicznych, technologicznych) pozwalających ocenić nie tylko wpływ mechanizmu blokowania *quorum sensing* na cechy fizjologiczne drobnoustrojów przenoszonych przez żywność, ale również implikacje tego zjawiska na produkt żywnościowy.