

1. Cel prowadzonych badań/hipoteza badawcza

Większość gatunków owadów przejawia największą aktywność w umiarkowanej temperaturze, jednakże niektóre owady wykazują pełną aktywność w temperaturze zbliżonej do temperatury zamarzania, a inne z kolei są w stanie przetrwać w ekstremalnie wysokich temperaturach. W drodze ewolucji owady narażone na zimno wykształciły szereg adaptacji umożliwiających im przetrwanie w niesprzyjających warunkach termicznych. Przykładem może tu być synteza krioprotektantów, takich jak poliole i trehaloza, synteza białek zaszczipających lód, tzw. nukleatorów lodu czy białek przeciwdziałających zamarzaniu. Innymi przystosowaniami mogą być zmiany w aktywności poszczególnych szlaków metabolicznych oraz różnice w poziomie ekspresji białek szoku cieplnego oraz akwaporyn. Na poziomie komórkowym mechanizmy te chronią komórki przed nagłymi zmianami warunków środowiskowych. Obecnie stosunkowo dużo wiadomo na temat mechanizmów krioprotekcyjnych u owadów strefy umiarkowanej czy subpolarniej, natomiast w niewielkim zakresie poznano mechanizmy przeciwdziałające stresowi chłodu u owadów żyjących w strefach tropikalnych.

Proponowany projekt ma na celu określenie wpływu niskiej temperatury na fizjologię karaczana *G. coquereliana* oraz poznanie mechanizmów krioprotekcyjnych występujących u tropikalnych owadów. W projekcie przyjęto następujące hipotezy:

1. *Stres chłodu indukuje zmiany w poziomie ekspresji białek, w tym białek szoku cieplnego (HSP) i akwaporyn (AQP).*
2. *Stres chłodu zmienia aktywność enzymów kluczowych szlaków metabolicznych oraz wpływa na tempo oddychania i produkcję energii przez mitochondria*
3. *Stres chłodu generuje stres oksydacyjny.*

2. Zastosowana metoda badawcza/metodyka

W ramach projektu planuje się sprawdzenie wpływu niskiej temperatury (4°C) na przebieg procesów fizjologicznych u tropikalnego gatunku karaczana *G. coquereliana*. Gatunek ten występujący na terenach tropikalnych (Madagaskar) okresowo narażony jest na działanie niskiej temperatury (2-3°C do 2-3 h/dobę). Badania zostaną przeprowadzone na ciele tłuszczowym (fizjologicznym odpowiedniku tkanki tłuszczowej i wątroby ssaków), jelicie (zaangażowanym w regulację gospodarki wodno-elektrolitowej) oraz tkance mięśniowej dorosłych samców karaczana *G. coquerelina*. Oddziaływanie niskiej temperatury na aktywność metaboliczną zostanie oznaczone spektrofotometrycznie poprzez pomiar aktywności enzymów kluczowych szlaków metabolicznych jak fosfofruktokinazy, syntazy cytrynianowej i dehydrogenazy beta hydroxyacylo-CoA. Pozwoli to na stwierdzenie, które procesy metaboliczne są najbardziej aktywne, a także które substraty energetyczne stanowią główne źródło energii dla owadów w warunkach stresu termicznego. W celu uzyskania odpowiedzi na pytanie, w jaki sposób chłód wpływa na zarządzanie zasobami energetycznymi w ciele owada, planowane są doświadczenia mające na celu wyznaczenie współczynnika oddechowego (RQ) oraz produkcji energii przez mitochondria izolowane z wybranych tkanek. Zbadany zostanie również ogólny profil białkowy badanych tkanek z wykorzystaniem elektroforezy dwukierunkowej połączonej ze spektrometrią mas. Umożliwi to identyfikację ewentualnych białkowych czynników krioprotekcyjnych. Negatywne oddziaływanie czynników środowiskowych na organizm powiązane jest zwykle ze stresem oksydacyjnym, dlatego też planuje się zbadanie poziomu reaktywnych form tlenu oraz stopnia peroksydacji lipidów w wybranych tkankach w odpowiedzi na stres chłodu. Jednocześnie przeprowadzona zostanie analiza aktywności enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy. Białkami w istotny sposób zaangażowanymi w reakcję na stres termiczny są akwaporyny i białka HSP. W projekcie planujemy określenie zmian w ekspresji poszczególnych izoform tych białek z wykorzystaniem techniki qPCR oraz Western Blot.

3. Wpływ spodziewanych rezultatów na rozwój nauki, cywilizacji, społeczeństwa

Realizacja proponowanego projektu pozwoli określić, jakie zmiany biochemiczne i fizjologiczne zachodzą u tropikalnego karaczana *G. coquereliana* w odpowiedzi na stres chłodu. Wyniki badań pozwolą na pełniejsze zrozumienie mechanizmów krioprotekcyjnych występujących u owadów. Wiedza ta może w przyszłości posłużyć do opracowywania metod przechowywania żywności czy leczenia skutków hipotermii. Już dzisiaj prowadzi się badania nad wykorzystaniem substancji wytwarzanych przez organizmy odporne na niskie temperatury w przechowywaniu artykułów spożywczych, przechowywaniu i transporcie narządów do przeszczepów oraz komórek rozrodczych czy macierzystych.