

Kwas bursztynowy jest jednym z głównych związków chemicznych biorących udział w cyklu kwasów trikarboksylowych (TCA), zwanym również cyklem Krebsa. Cykl ten jest etapem przemian metabolicznych przebiegających w komórkach organizmów w warunkach tlenowych. Z kolei w warunkach beztlenowych, kwas bursztynowy może być produktem końcowym w trzech szlakach biochemicznych tj. redukcyjnej gałęzi cyklu Krebsa, cyklu glioksylanowym oraz cyklu Krebsa, z nieaktywnym enzymem dehydrogenazy bursztynianowej. Właściwości kwasu bursztynowego sprawiają, że jest to jeden z 12 najbardziej pożądaných związków chemicznych o znaczeniu przemysłowym. Ponadto, metabolit ten wykazuje szereg właściwości prozdrowotnych znajdując szerokie zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym m. in. w produkcji witamin, aminokwasów i leków przeciwnowotworowych.

Obecnie, przemysłowa produkcja kwasu bursztynowego odbywa się na drodze syntezy chemicznej. Jednakże, w obliczu trendu wykorzystania surowców odnawialnych do produkcji związków chemicznych oraz eliminacji zanieczyszczeń środowiska emitowanych przez zakłady przemysłowe, biotechnologiczna produkcja kwasu bursztynowego z wykorzystaniem wydajnych producentów mikrobiologicznych stała się tematem ogólnoswiatowego zainteresowania. W dalszym ciągu, liczba mikroorganizmów cechujących się zdolnością do nadprodukcji tego metabolitu jest niewielka. Co więcej, większość zidentyfikowanych już szczepów ogranicza zdolność do metabolizowania jedynie prostych sacharydów. Tymczasem, w produkcji kwasu bursztynowego, istnieje potrzeba wykorzystania mikroorganizmów charakteryzujących się zdolnością do efektywnego metabolizowania m.in. laktozy znajdującej się w serwatce oraz glicerolu, który jest produktem ubocznym powstającym podczas produkcji biodiesla.

Celem proponowanych badań jest przeprowadzenie charakterystyki genetycznej, biochemicznej oraz fizjologicznej nowego szczepu *Enterobacter* sp. LU1 charakteryzującego się zdolnością do wydajnej produkcji kwasu bursztynowego w obecności laktozy i glicerolu. Mikroorganizmy wykazujące zdolność do nadprodukcji kwasu bursztynowego tj. *Basfia succiniproducens*, *Mannheimia succiniproducens*, *Actinobacillus succinogenes*, *Anaerobiospirillum succiniciproducens* są dobrze scharakteryzowane pod kątem fizjologicznym oraz biochemicznym. Ponadto sekwencje genomów tych mikroorganizmów zostały już poznane, dzięki czemu możliwe jest prowadzenie zaawansowanych badań z wykorzystaniem technik inżynierii metabolicznej. Tymczasem, zidentyfikowany przez nas zespół szczep jest jedynym znanym szczepem bakteryjnym z rodzaju *Enterobacter* zdolnym do wydajnej produkcji kwasu bursztynowego i z tego względu objętym ochroną patentową RP. W związku z tym, niezwykle ważne jest przeprowadzenie badań, które umożliwią wyjaśnienie mechanizmów regulacji biosyntezy produktów fermentacji, ze szczególnym uwzględnieniem kwasu bursztynowego.

W ramach niniejszego projektu zakłada się zsekwencjonowanie genomu szczepu *Enterobacter* sp. LU1 oraz przeprowadzenie dokładnej charakterystyki genetycznej badanego szczepu. Uzyskana sekwencja genomu zostanie opublikowana w bazie danych NCBI GenBank będąc doskonałym materiałem dla innych naukowców do dalszych prac w zakresie badań podstawowych nad szczepem *Enterobacter* sp. LU1 oraz analiz filogenetycznych. Ponadto zostanie przeprowadzona analiza proteomiczna i biochemiczna badanego szczepu oraz analiza ekspresji wybranych genów zaangażowanych w biosyntezę kwasu bursztynowego pod wpływem różnych źródeł węgla w podłożu hodowlanym. Projekt zakłada także wykonanie obszernej analizy metabolizmu badanego szczepu pod kątem profilu produktów fermentacji w obecności różnych źródeł węgla, azotu, hydrolizatów białkowych oraz substancji dodatkowych, a także ich stężeń w podłożu hodowlanym. Ponadto, badania te pozwolą na opracowanie metodyk modyfikacji genetycznych badanego szczepu celem wyeliminowania lub ograniczenia niepożądanych produktów fermentacji na korzyść zwiększenia poziomu biosyntezy kwasu bursztynowego. Dzięki temu możliwe będzie otrzymanie producenta o cechach porównywalnych do najlepszych obecnie szczepów-producentów kwasu bursztynowego. Wyniki otrzymane w ramach realizacji proponowanego projektu mogą dostarczyć wielu nowych informacji dotyczących wpływu składników podłoża na mechanizmy regulacji biosyntezy produktów fermentacji.