

Rośliny mają zdolność do syntezy wielu metabolitów wtórnych, które biorą udział w odpowiedzi obronnej na abiotyczne i biotyczne bodźce stresowe, pochodzące ze środowiska naturalnego. Wśród wtórnych metabolitów na szczególną uwagę zasługują związki fenolowe, które stanowią dużą i różnorodną grupę substancji biologicznie czynnych pochodzenia roślinnego. Ze względu na swój wysoki potencjał redox i właściwości oksydo-redukcyjne, związki fenolowe mogą być wykorzystywane w terapii chorób zakaźnych, jako substytut dla antybiotyków, a przede wszystkim w zwalczaniu bakterii chorobotwórczych, które wykazują się wysoką antybiotykoopornością. Jednakże, szlaki syntezy związków fenolowych w roślinach nie zostały dotychczas w pełni opisane.

Ciekawym przykładem rośliny, która syntezuje w swoich tkankach wiele pochodnych związków fenolowych, jest muchołówka amerykańska (*Dionaea muscipula* J. Ellis), należąca do rodziny Droseraceae (rosiczkowatych). Ze względu na swoją biologię, roślina ta ma zdolność do akumulacji flawonoidów, kwasów fenolowych i rzadko spotykanych pochodnych 1,4-naftochinonów, takich jak plumbagina czy 3-chloroplumbagina. Współczesna biotechnologia wykorzystuje różne narzędzia w celu badania i powiększania puli związków biologicznie czynnych w roślinach. Jednym z nich jest transformacja genetyczna z użyciem dzikich szczepów bakterii *Rhizobium rhizogenes*, które mają zdolność do wbudowywania swojego DNA plazmidowego (T-DNA) do genomu roślinnego. Prowadzi to do zmian w fizjologii funkcjonowania całej rośliny i może objawiać się poprzez zwiększenie przyrostu biomasy, czy też zmiany w szlakach syntezy metabolitów wtórnych. Transformowane rośliny stanowią wartościowy model w badaniach nad syntezą biologicznie czynnych metabolitów wtórnych. Należy podkreślić fakt, że transformacja muchołówki amerykańskiej za pomocą *R. rhizogenes* nie została dotychczas opisana w literaturze naukowej.

W prezentowanym projekcie, nadrzędnym celem jest opisanie szlaków syntezy związków fenolowych i ich akumulacji w transformowanych tkankach muchołówki amerykańskiej oraz zbadanie właściwości antibakteryjnych ekstraktów uzyskanych z transformowanych roślin w stosunku do czterech patogennych gatunków bakterii: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Escherichia coli*. Dodatkowo uzyskane wyniki pozwolą na weryfikację następujących hipotez: (1) transformacja muchołówki amerykańskiej spowoduje zwiększenie przyrostu jej biomasy i zmiany w profilu metabolicznym związków fenolowych, (2) doprowadzi do wystąpienia reakcji stresowej, która manifestować będzie się poprzez intensywne działanie antyoksydantów i zwiększoną produkcję niektórych pochodnych fenolowych dzięki działaniu enzymów katalizujących szlaki ich produkcji, (3) ekstrakty uzyskane z transformowanych roślin będą posiadały wysoką aktywność przeciwbakteryjną.

Do realizacji celów i weryfikacji postawionych hipotez, w prezentowanym projekcie wykorzystane zostaną różne techniki molekularne i analityczne: reakcja łańcuchowa polimerazy w celu potwierdzenia transformacji na poziomie molekularnym, wysokosprawna chromatografia cieczowa do oznaczenia zawartości związków fenolowych, metody spektrofotometryczne do zbadania aktywności enzymów zaangażowanych w szlaki syntezy związków fenolowych i antyoksydantów drobnocząsteczkowych, natywna elektroforeza białek w żelach poliakrylamidowych do oznaczenia aktywności poszczególnych izoform enzymów antyoksydacyjnych i metoda pomiaru minimalnych stężeń bakteriobójczych do zbadania aktywności przeciwbakteryjnej transformowanych roślin.

Zaplanowane działania doprowadzą do opisania użytecznego modelu do badań nad syntezą biologicznie czynnych związków fenolowych, jakim będzie stransformowana muchołówka amerykańska. Dodatkowo przyczynią się także do poszerzenia wiedzy w obszarze fizjologii i biotechnologii roślin leczniczych oraz pozwolą na poznanie oddziaływania bogatych w związki fenolowe ekstraktów roślinnych na patogenne i antybiotykooporne gatunki bakterii.