

Probiotyki i prebiotyki to substancje bioaktywne, które w korzystny sposób kształtują mikrobiom zwierzęcia. Prebiotyki nie ulegają trawieniu w układzie pokarmowym gospodarza, stanowią naturalne źródło odżywcze dla probiotyków, czyli bakterii zasiedlających jelito i kształtujących korzystny (zdrowotny) mikrobiom w jelicie gospodarza. Wydajność produkcyjna kurcząt ma swoje odzwierciedlenie w kondycji zdrowotnej wewnętrznych organów i fizjologii ptaka. Gatunki bakterii wchodzące w skład mikrobioty, która zasiedla niedojrzały organizm kurczęcia, wraz z przeciwciałami matczynymi przekazany od kury, wywierają główny wpływ na ukształtowanie systemu odpornościowego w zarodkach i u wyklutych piskląt. Zwraca uwagę znaczący brak informacji na temat interakcji komórek jelita z bakteriami probiotycznymi i efektów tych oddziaływań, np. informacji o tym, co wpływa na zdolność probiotyków do produkcji nowych grup bioaktywnych metabolitów, np. postbiotyków, lantibiotyków i neurotransmisterów w organizmie gospodarza.

Celem projektu jest dostarczenie nowej wiedzy na temat mechanizmów funkcji probiotyków i prebiotyków w jelicie, poprzez wczesną stymulację mikrobiomu *in ovo*.



Ryc. Schematyczny obraz głównych założeń badawczych, które będą testowane w ramach projektu.

Istnieją dwa możliwe momenty w trakcie rozwoju embrionalnego, w których można wpłynąć na ukształtowanie embrionalnego mikrobiomu posługując się technikami *in ovo* (iniekcji substancji do jaja): w 12

dobie oraz między 18-19.5 dobą inkubacji jaj lęgowych. Wykorzystanie do badań odmiany kur typu rzeźnego (brojlerów), zagwarantuje jednolity materiał pod kątem genetycznych i pełną kontrolę parametrów chowu, co nie byłoby możliwe przy wykorzystaniu jakiegokolwiek innego wyższego organizmu. W badaniach zaplanowano własne, wypracowane i zweryfikowane w skali produkcyjnej, techniki precyzyjnej iniekcji *in ovo* probiotyków i prebiotyków do zarodków w możliwie najwcześniejszych fazach rozwoju zarodkowego. Zawiązano interdyscyplinarną i międzynarodową sieć współpracy, która umożliwi pełne analizy interakcji probiotyków i prebiotyków z komórkami jelita. **Badania będą obejmować cały przekrój rozwojowy ptaków, czyli etap zarodka, wyklutego pisklęcia i dorosłego ptaka.** Po pierwsze, zaplanowano identyfikację swoistych markerów aktywności metabolicznej probiotyków, w trakcie hodowli *in vitro* bakterii w pożywce z dodatkiem prebiotyków. Owe znaczniki probiotyków w pożywce określane są również mianem metabolicznych ‘odcisków stopy’ (ang. *footprints*). Jedną z hipotez zakłada, że te same markery będą zidentyfikowane w tkance kury gospodarza, po podaniu tego samego probiotyku *in ovo*. Obrazu tych interakcji dopełnią wyniki uzyskane z wykorzystaniem **nowego modelu 3D tkanki jelita** kurzego *in vitro*. W metodologii założoną technikę tzw. „wyprania tkanki” i otrzymanie nagiej matrycy 3D, która posłuży do zasiedlenia przez dostępne linie komórkowe jelita. Współ-hodowla komórek jelita z bakteriami probiotycznymi stanowić będzie ostatnie ogniwo identyfikacji metabolitów probiotyków w komórkach, jako tzw. metaboliczne „odciski palca” (ang. *fingerprints*). Po drugie, zaplanowano identyfikację unikalnego profilu mikrobioty w jelicie kurczym, który będzie specyficzny dla organizmu stymulowanego probiotykami i prebiotykami przed wylęgiem (*in ovo*). Badanie to jest obecnie wykonalne z wykorzystaniem najnowszych technik sekwencjonowania materiału genetycznego mikroorganizmów (metagenomika). Po trzecie założono, że analiza wszystkich kluczowych parametrów biologii ptaków, na przestrzeni ich całego okresu rozwojowego, w znaczący sposób pogłębi zrozumienie prozdrowotnych mechanizmów funkcji probiotyków i prebiotyków w jelicie. Stąd, zaplanowano analizę parametrów zootechnicznych podczas lęgu i chowu, mikrostruktury jelita, mikrounacznienia mięśni, regulacji ekspresji genów na osi jelito-mózg i klasycznych wskaźników biochemicznych. W projekcie przewidziano analizy metagenomowe, transkryptomocne (ekspresja genów) i proteomiczne, których wyniki będą integrowane z użyciem zaawansowanej stacji badawczej (GeneSpring) przez cały okres projektu, a własny system badań statystycznych zapewni odpowiednią interpretację i dostarczenie treściwych wniosków. Odkrycia tego projektu przyczynią się do rozwoju podstaw naukowych zootechniki, mikrobiologii, nauki o mięsie, drobiu i genetyki ptaków. Ponadto, nowa wiedza na temat funkcji probiotyków w organizmie gospodarza przyczyni się do rozwoju nauk stosowanych, np. ostatnie dowody wskazujące na kluczową rolę mikrobiomu u pacjentów w kształtowaniu ich odporności i reakcji na leczenie immunoterapeutyczne.