

Wpływ bakterii z rodzaju *Lactococcus* i *Leuconostoc* na wzmacnianie bariery jelitowej - od identyfikacji potencjalnie probiotycznych szczepów i czynników warunkujących powinowactwo do mucyn po ocenę *in vivo* ich właściwości chroniących śluzówkę [popularnonaukowe streszczenie projektu]

Uzasadnienie podjęcia tematyki badawczej: Czy możemy czuć się bezpiecznie wiedząc, że jesteśmy zamieszkani przez biliony mikroorganizmów? Przewód pokarmowy człowieka zasiedlają rozbudowane społeczności mikroorganizmów, zwane mikrobiotą jelitową. Ma ona znaczący wpływ na normalną fizjologię gospodarza oraz jego podatność na choroby. Jedną z kluczowych ról bariery jelitowej jest przestrzenne ograniczenie bakterii do światła przewodu pokarmowego, przede wszystkim poprzez wydzielanie śluzu, który limituje penetrację mikroorganizmów. Działanie śluzu jest wzmacniane dzięki produkcji peptydów i białek o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, które zabijają lub hamują wzrost bakterii w bezpośrednim sąsiedztwie nabłonka jelit. Zaburzenia funkcji bariery jelitowej, na przykład z powodu niewłaściwego odżywiania, infekcji, czy innych chorób, mogą prowadzić do zwiększonej przepuszczalności jelitowej, zwanej również zespołem nieszczelnego jelita. Przerwanie ciągłości nabłonka jelitowego jest związane z wieloma chorobami przewodu pokarmowego, takimi jak nieswoiste zapalenie jelit (IBD), zespół jelita drażliwego (IBS), celiakia, czy wczesne stadia rozwoju raka jelita grubego, ale także z pozajelitowymi stanami patologicznymi, takimi jak cukrzyca, alergia pokarmowa, czy zaburzenia ze spektrum autyzmu (ASD). Biorąc pod uwagę istotny wpływ mikrobioty jelitowej na modulację funkcji i struktury bariery jelitowej, podawanie probiotyków stanowi obiecującą strategię w leczeniu zespołu nieszczelnego jelita. Udokumentowano oddziaływanie niektórych bakterii kwasu mlekowego (LAB) na ludzkie jelito i wynikające z tego korzyści zdrowotne dla gospodarza. Stąd, mimo że bakterie z tej grupy stanowią niewielką część społeczności bakteryjnej w przewodzie pokarmowym, nie wyklucza to ich ważnej roli w obrębie mikrobioty jelitowej. Do najlepiej poznanych LAB pod kątem aktywności probiotycznych należą bakterie z rodzaju *Lactobacillus*. Niewiele natomiast wiadomo o oddziaływaniach między komórkami bakteryjnymi a gospodarzem w przypadku laktokoków i leukonostoków, szeroko stosowanych w przemyśle mleczarskim, jako kultury starterowe. Warto zauważyć, że istnieje coraz więcej dowodów na to, że bakterie, wprowadzane do organizmu człowieka wraz z żywnością, są biologicznie aktywne w okrężnicy, a więc mogą przyczyniać się do funkcji pełnionych przez mikrobiotę jelitową. Powinowactwo do mucyn (czyli przyczepianie się, degradacja reszt cukrowych mucyn), może przyczynić się do wydłużenia kontaktu między bakteriami a gospodarzem, a zatem wzmocnić pożądany efekt prozdrowotny i promować tolerancję immunologiczną wobec komensali i bakterii wprowadzanych wraz z żywnością, a także odpowiedź immunologiczną na patogeny.

Cel projektu: Celem niniejszego projektu jest zbadanie najbardziej obiecującego potencjalnego probiotyku spośród szczepów bakterii z rodzaju *Lactococcus* i *Leuconostoc* pod kątem zdolności do wzmacniania bariery jelitowej.

Opis badań: Wyizolowane z surowego mleka i produktów fermentowanych laktokoki i leukonostoki zostaną przebadane pod kątem ich właściwości probiotycznych w oparciu o zdolność do produkcji cząsteczek efektorowych takich jak mleczan, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA) i witaminy, a także pod kątem posiadania powinowactwa do mucyn. Cechy te są stosunkowo słabo poznane, na poziomie molekularnym, u innych niż *Lactobacillus* bakterii z grupy LAB, a ważne dla zastosowań probiotycznych. Dla dziesięciu szczepów o potencjalnie najlepszych właściwościach probiotycznych uzyskana zostanie sekwencja nukleotydowa genomowego DNA, co umożliwi przeprowadzenie porównawczej analizy bioinformatycznej i wytypowanie czynników molekularnych potencjalnie odpowiedzialnych za powinowactwo do mucyn. Rola wytypowanych czynników w procesie adhezji zostanie zweryfikowana w oparciu o analizę białek powierzchniowych bakterii, z zastosowaniem chromatografii cieczowej połączonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS). Uzyskane zostaną również pochodne szczepy bezplazmidowe lub mutanty delecyjne w wybranych genach, które następnie będą testowane pod kątem adhezji na mikroplątkach opłaszczonych mucyną, fibronektyną lub kolagenem typu IV, jak również na jelitowej linii komórkowej wytwarzającej śluz HT29-MTX-E12. Analizowana będzie też zdolność tych szczepów do degradacji reszt cukrowych mucyn. Ponadto wybrany szczep sprawdzony będzie pod względem przeciwdziałania zaburzeniom bariery jelitowej okrężnicy i oddziaływania na mikrobiotę gospodarza przy użyciu mysiego modelu naśladującego fizjopatologię IBS.

Najważniejsze spodziewane efekty: Oczekujemy, że uzyskane wyniki pogłębią wiedzę na temat mechanizmu powinowactwa do mucyn i produkcji specyficznych metabolitów przez różne szczepy bakterii z rodzaju *Lactococcus* i *Leuconostoc* i doprowadzą do wyselekcjonowania nowego potencjalnie probiotycznego szczepu, który będzie miał pozytywny wpływ na modulację funkcji i struktury bariery jelitowej oraz mikrobioty gospodarza.