

Nanotechnologia jest obecnie jedną z najszybciej rozwijających się technologii, dającą ogromne możliwości rozwoju życia gospodarczego w wielu krajach na całym świecie. Masowe wykorzystanie nanomateriałów w różnych obszarach życia, w tym w wytwarzaniu produktów codziennego użytku (kosmetyków, odzieży), a także w wielu branżach rynku konsumenckiego (elektronice, przemyśle samochodowym, przemyśle spożywczym oraz rolnictwie) stwarza ryzyko ich niekontrolowanego uwalniania i akumulacji w środowisku. Mimo podejmowanych prób oceny zagrożenia związanego z wprowadzaniem nanocząstek do środowiska oraz badania ich toksyczności względem organizmów żywych, zagadnienia te wciąż pozostają bardzo słabo poznane. Wynika to między innymi z unikatowych właściwości nanomateriałów odróżniających je od tradycyjnych materiałów, co stwarza wiele problemów w śledzeniu ich losów w środowisku i uniemożliwia ocenę rzeczywistego ich stężenia w środowisku.

Mikroorganizmy zamieszkujące różne ekosystemy charakteryzują się szybką i złożoną odpowiedzią na warunki stresowe, w tym na obecność nanomateriałów. Z dostępnych danych literaturowych wynika, że nanostruktury mają negatywny wpływ na procesy fizjologiczne bakterii, co w konsekwencji może prowadzić do zakłócenia równowagi ekologicznej środowiska przyrodniczego. Z tego względu kluczowe wydaje się zintensyfikowanie badań ekotoksykologicznych w celu określenia potencjalnych zagrożeń wynikających z obecności nanomateriałów dla zespołów mikroorganizmów i zaproponowania działań zapobiegających negatywnym skutkom akumulacji tych zanieczyszczeń w środowisku. Podejmowane badania nanotoksykologiczne z użyciem mikroorganizmów modelowych oraz różnych szczepów bakterii pełniących kluczową rolę w funkcjonowaniu ekosystemów są jednymi z podstawowych działań umożliwiających dokładne poznanie sposobu oddziaływań nanostruktur z mikroorganizmami.

Celem projektu jest wieloaspektowa analiza wpływu nanocząstek nieorganicznych nAg, nCu, nTiO<sub>2</sub> i nZnO na referencyjne szczepy bakterii: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* i *Staphylococcus epidermidis* pochodzące z kolekcji American Type Culture Collection (ATCC). Wybór szczepów z różnych rodzin pozwoli na porównanie ich wrażliwości i/lub oporności na nanocząstki metali. Warto podkreślić, że będzie to nowe podejście łączące molekularne podstawy działania metalicznych nanocząstek z ich genotoksycznością i podłożem biochemicznym. W celu wyjaśnienia wpływu nanocząstek na wybrane procesy fizjologiczne bakterii zostaną zastosowane odpowiednie metody biochemiczne, genetyczne i mikrobiologiczne. Zakres prac obejmie ocenę wrażliwości szczepów na badane nanocząstki, pomiary aktywności enzymów antyoksydacyjnych, badanie poziomu ekspresji wybranych genów stresu oksydacyjnego, przepuszczalności błony komórkowej, składu komórkowych kwasów tłuszczowych oraz innych parametrów wewnątrzkomórkowych. Aby porównać toksyczność testowanych nanocząstek w stosunku do 10 innych szczepów środowiskowych o różnej taksonomii, zostanie przeprowadzony mikrobiologiczny test oceny ryzyka. Ponadto podczas realizacji projektu będą prowadzone obserwacje zarówno morfologii komórek ekspozycyjnych na nAg, nCu, nTiO<sub>2</sub> i nZnO, jak i konkretnych nanocząstek z użyciem skaningowego mikroskopu elektronowego.

Ze względu na brak określonych przepisów, protokołów i wystandaryzowanych metod dotyczących testowania toksyczności nanomateriałów względem mikroorganizmów, konieczne jest prowadzenie eksperymentów z różnymi rodzajami nanomateriałów i mikroorganizmów w celu określenia potencjalnych zagrożeń wynikających z ich stosowania. Takie badania są szczególnie ważne w dobie rosnącej produkcji i coraz powszechniejszego wykorzystywania nanomateriałów w różnych obszarach życia oraz w ocenie ich potencjalnego zagrożenia dla organizmów żywych i środowiska. Proponowany projekt dostarczy nowej wiedzy na temat molekularnego działania metalicznych nanocząstek na komórki drobnoustrojów. W szczególności dokładna analiza ekspresji bakteryjnych genów odpowiedzi na stres i ich produktów zagwarantuje uzyskanie nowych informacji na temat biologicznej aktywności nanocząstek. Ponadto analiza profili komórkowych kwasów tłuszczowych i zaprojektowanie nowych wskaźników stresu mogą być krokami milowymi w badaniach nanotoksykologicznych. Warto również podkreślić, że przedstawiony projekt ma na celu zaproponowanie łatwo dostępnej i zweryfikowanej metodologii do przyszłych badań.