

IX  
Ogólnopolska Konferencja Doktorantów Nauk o Życiu

**BIOOPEN**

# **KSIĘGA ABSTRAKTÓW**



IX  
Ogólnopolska Konferencja Doktorantów Nauk o Życiu

# BIOOPEN

11-12 kwietnia 2024

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska  
Uniwersytet Łódzki

ISBN 978-83-67376-02-0



9 788367 376020

# Spis treści:

Sponsorzy i Patroni .....	4
Organizatorzy .....	5
Program .....	6
Goście specjalni .....	15
Sesja „Biologia Nowotworów” - referaty .....	22
Sesja „Biologia Nowotworów” - postery .....	28
Sesja „Mikrobiologia i Biotechnologia” - referaty .....	33
Sesja „Mikrobiologia i Biotechnologia” - postery .....	44
Sesja „Biologia Środowiska” - referaty .....	62
Sesja „Biologia Środowiska” - postery .....	71
Sesja „Biologia Molekularna i Medyczna” - referaty .....	81
Sesja „Biologia Molekularna i Medyczna” - postery .....	90

## SPONSORZY:



ABL&E-JASCO® Polska Sp. z o.o.



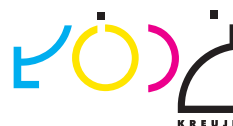
## PATRONI:



Wojewoda łódzki  
Dorota Ryl



Patronat Rektora  
Uniwersytetu Łódzkiego



## KOMITET ORGANIZACYJNY:

---

### Opiekun naukowy:

dr hab. Joanna Kołodziejczyk-Czepas, prof. UŁ

### Przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego:

mgr Beata Bielska

### Wiceprzewodnicząca Komitetu Organizacyjnego:

mgr Karina Maciak

## ORGANIZATOR:

---

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

Uniwersytet Łódzki

ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

strona: [www.uni.lodz.pl/bioopen](http://www.uni.lodz.pl/bioopen)

mail: [bioopen@uni.lodz.pl](mailto:bioopen@uni.lodz.pl)

fb: @konferencja.bioopen

## KOMITET NAUKOWY:

---

### Mikrobiologia i Biotechnologia:

mgr Magdalena Jurczak

mgr Anastasiia Kulbachko

mgr Aleksandra Tończyk

#### *opieka merytoryczna:*

dr hab. Sylwia Różalska, prof. UŁ

dr hab. Magdalena Druszczyńska, prof. UŁ

### Biologia Molekularna i Medyczna:

mgr Izabela Kaczmarska

mgr Agata Pyrzanowska-Banasiak

mgr Kamil Pluciennik

#### *opieka merytoryczna:*

dr Katarzyna Mokra

dr Kamila Soboska

### Biologia Środowiska:

mgr Inez Masiarek

mgr Ewa Michalska

mgr Dominika Piwowarska

#### *opieka merytoryczna:*

dr hab. Edyta Kiedrzyńska

dr hab. Marcin Kiedrzyński

### Biologia nowotworów:

mgr Piotr Białecki

mgr Karolina Górecka

mgr Magdalena Więckowska

#### *opieka merytoryczna:*

dr hab. Anna Krześlak, prof. UŁ

dr Paweł Józwiak

## GRAFIKA I PROMOCJA:

---

mgr Natalia Sławińska

mgr Aleksandra Tończyk

## KSIĘGA ABSTRAKTÓW:

---

mgr Natalia Sławińska

mgr Magdalena Więckowska

*Abstrakty opublikowano w formie  
otrzymanej od Autorów.*



# PROGRAM



## CZWARTEK 11.04.2024

08:30

Otwarcie Konferencji

Prof. dr hab. Andrzej Kruk

*Dziekan Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska UŁ*

08:40-9:30

**Wykład plenarny:** Ciemna strona chemii medycznej - nowe substancje psychoaktywne ("dopalacze")

Prof. dr hab. n.farm.  
Jolanta B. Zawilska

*Zakład Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi*

## SESJA: Biologia Nowotworów

9:30-10:10

**Wykład:** Nowoczesne terapie celowane w leczeniu raka tarczycy

Dr hab. n. med. Marlena Godlewska,  
prof. CMKP w Warszawie

*Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Zakład Biologii Komórki i Immunologii*

10:10-10:25

Nie tylko cukrzyca: antyangiogeny i antymetastatyczny potencjał inhibitorów SGLT2

Baran Michał

*Studenckie Koło Naukowe Biologii Komórki i Ultrastruktury, CM UMK w Bydgoszczy*

10:25-10:40

Aktywność komórek NK w środowisku zestarzałych komórek nowotworowych

Godkowicz Kinga

*Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu*

10:40-10:55

UBB, UBC i  $\beta$ -katenina jako obiecujące narzędzia diagnostyczne i prognostyczne u pacjentów z rakiem gruczołu krokowego

Piątkowska Daria

*Katedra Patomorfologii Klinicznej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu*

10:55-11:10

Potencjalne mechanizmy molekularne działania flozyn na komórki nowotworowe - nowe perspektywy w terapii onkologicznej

Szachniewicz Martyna

*Studenckie Koło Naukowe Biologii Komórki i Ultrastruktury, CM UMK w Bydgoszczy*



## CZWARTEK 11.04.2024

11:10-11:25

Analiza ekspresji białka MRPL23 i jego rola w patogenezie raka gruczołu krokowego

Trybek Edyta

*Katedra Patomorfologii Klinicznej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu*

11:25-11:40

Potencjał metforminy w terapii raka jajnika

Winnicka Adrianna

*Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Studenckie Koło Naukowe Młodych Biofizyków Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego*

11:40-11:50

**Prezentacja sponsora:** Mabion S.A.

11:55-12:20

**Sesja posterowa:** Biologia nowotworów

*Gielecińska Adrianna, Jarczewska Karolina, Sędzicka Monika, Waszczykowska Klaudia, Wilk Karolina*

12:20-12:30

**Prezentacja sponsora:** ABL&E-JASCO Polska Sp. z o.o.

## SESJA: Mikrobiologia i Biotechnologia

12:30-12:45

Geny stymulowane przez IFN- $\gamma$  są zaangażowane w pyroptotyczną śmierć komórki w odpowiedzi na zakażenie *Shigella flexneri*

Horoszczuk-Bajger Aleksandra

*Pracownia Odporności Wewnątrzkomórkowej, Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie*

12:45-13:00

Ocena wpływu niekonwencjonalnych metod obróbki wstępnej oraz suszenia na jakość mikrobiologiczną owadów jadalnych

Bogusz Radosław

*Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Instytut Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*





**CZWARTEK 11.04.2024**

13:00-13:15

Ocena antybiotykowrażliwości szczepów *E. faecalis* i *E. faecium* izolowanych z kału zwierząt dziko żyjących z uwzględnieniem nowych opcji terapeutycznych

**Borkowski Wiktor**

*Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu  
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera  
w Bydgoszczy, Katedra Mikrobiologii*

13:15-13:30

Ocena antybiotykowrażliwości szczepów *Enterococcus* spp. izolowanych ze środowiska ferm zwierząt

**Czuba Julia**

*Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera  
w Bydgoszczy Uniwersytet Mikołaja  
Kopernika w Toruniu*

13:30-13:45

Nanocząstki jako potencjalnie nowy środek przeciwdrobnoustrojowy do zapobiegania *mastitis* u bydła mlecznego

**Kot Magdalena**

*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
w Warszawie, Instytut Nauk o Zwierzętach*

13:45-14:00

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* sp. podstawą biopreparatów wspomagających ochronę i wzrost roślin uprawnych

**Kubiak Adrianna**

*Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii,  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu*

14:00-14:15

"ECbiom" – dotychczasowa wiedza i dalsze perspektywy badań

**Kuźmycz Olga**

*Katedra Mikrobiologii Molekularnej, Instytut  
Mikrobiologii, Immunologii i Biotechnologii,  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,  
Uniwersytet Łódzki*

14:15-14:30

Charakterystyka i analiza porównawcza sekwencji genomowych szczepów *Proteus mirabilis* K2796, K2058, K1674

**Petruńko Leon**

*Zakład Mikrobiologii, Instytut Biologii,  
Uniwersytet Jana Kochanowskiego  
w Kielcach*

14:30-14:45

Synteza kwasu laktobionowego z zastosowaniem grzybowych enzymów oksydoredukcyjnych

**Piątek-Gołda Wiktoria**

*Instytut Nauk Biologicznych, Katedra  
Biochemii i Biotechnologii, Wydział Biologii  
i Biotechnologii, Uniwersytet Marii-Curie  
Sklodowskiej w Lublinie*



## CZWARTEK 11.04.2024

14:45-15:00

Wpływ mikroplastiku PBAT na biodegradację pestycydów przez *Trichoderma* sp.

Rusetskaya Volha

*Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Katedra Mikrobiologii i Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki,*

15:00-15:15

Ocena lekowrażliwości i patogenności szczepów *Escherichia coli* izolowanych z próbek kału zwierząt dziko żyjących

Zakrocka Julia

*Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu*

15:15-15:55

**Wykład:** Zastosowanie grzybów mykoryzowych w zdrowych i porażonych wirusem PVY uprawach ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.)

Prof. dr hab. Katarzyna Hryniewicz

*Katedra Mikrobiologii, Instytut Biologii, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu*

15:55-17:25

**Sesja posterowa:** Mikrobiologia i Biotechnologia

*Burchardt Sebastian, Czerkas Krzysztof, Grykin Urszula, Jurkiewicz Julia, Kalinowska Jolanta, Kądziela Agata, Kozłowska Liliana, Kurek Renata, Lorek Piotr, Łomanowska Magdalena, Mazur Zofia, Pacak Ilona, Pietrzak Marta, Prochoń Katarzyna, Rachubik Michalina, Rogalska Marta, Sulej Justyna, Zielińska Dominika*

17:30

**Zakończenie** pierwszego dnia Konferencji



**PIĄTEK 12.04.2024**

**09:00**

Otwarcie drugiego dnia Konferencji

## SESJA: Biologia Środowiska

**9:05-9:45**

**Wykład:** Po co i jak chronić różnorodność biologiczną w morzu?

Prof. dr hab. Jan M. Węśławski  
*Instytut Oceanologii Polskiej Akademii*

**9:45-10:00**

Dynamika zmian w funkcjonowaniu perydermy, wtórnej tkanki okrywającej, w sezonie wegetacyjnym u kasztanowca zwyczajnego (*Aesculus hippocastanum*)

Brzostowska Anna  
*Zakład Biologii Rozwoju Roślin, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski*

**10:00-10:15**

Optymalizacja usuwania zanieczyszczeń biogenych przez Sekwencyjny System Sedymentacyjno-Biofiltracyjny w warunkach okresowego przepływu wody

Chamczak Patrycja  
*Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki*

**10:15-10:30**

Wzrost gorczycy białej (*Sinapis alba*) w obecności różnej wilgotności gleby oraz dodatku mikropolistyrenu i oleju napędowego do gleby

Ciesielski Tomasz  
*Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska*

**10:30-10:40**

**Prezentacja sponsora:** Linegal Chemicals Sp. z o.o.

**10:40-10:55**

*Chlamydomonas reinhardtii* jako model w badaniach ekotoksyczności niesteroidowych leków przeciwzapalnych

Kapuścińska Dominika  
*Pracownia Fizjologii Roślin i Toksykologii, Katedra Biologii Eksperymentalnej i Biotechnologii Roślin, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański*



**PIĄTEK 12.04.2024**

10:55-11:10

Czy warto chronić starodrzewy gospodarcze?

Mazurek Natalia

*Ogród Botaniczny, Uniwersytet Wrocławski*

11:10-11:25

Analiza źródeł zanieczyszczenia Morza Bałtyckiego metalami ciężkimi

Piwowska Dominika

*Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Uniwersytet Łódzki*

11:25-11:40

Rola kwasu giberelinowego, kwasu abscysynowego oraz rapamycyny w regulacji kiełkowania nasion *Triticum aestivum* L.

Szymkiewicz Julia

*Biotechnologia, Instytut Chemii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach*

11:40-11:55

Zmienność gatunków runa łąk na przykładzie gwiazdnicy wielkokwiatowej *Stellaria holostea*

Topolska Katarzyna

*Wydział Biologii, Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych, Uniwersytet Warszawski*

11:55-12:10

Pochodzenie i molekularna zmienność pijawek z Jeziora Ochrydzkiego

Wołodkiewicz Patryk

*Katedra Zoologii Bezkręgowców i Hydrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki*

12:10-12:20

**Prezentacja sponsorów:** PWN

**Sesja posterowa:** Biologia Środowiska

12:20-13:10

*Antos Joanna, Baćkowska Magdalena, Bojarski Wiktor, Budziński Konrad, Czupryńska Aleksandra, Gorodecki Światosław, Nowak Mateusz, Rzyńska Katarzyna, Walczewska Bogumiła, Węzigowska Paulina*

13:10-13:20

**Przerwa**



**PIĄTEK 12.04.2024**

## SESJA: Biologia Molekularna i Medyczna

13:20-14:00

**Wykład:** Translacyjne badania nad biomarkerami mikroRNA w onkologii

Prof. dr hab. n med. Wojciech Fendler  
*Zakład Biostatystyki i Medycyny Translacyjnej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Łodzi*

14:00-14:15

Wstępne wyniki potencjału antyoksydacyjnego u porostów Antarktycznych

Andrzejowska Aleksandra  
*Uniwersytet Jagielloński, Instytut Fizyki M. Smoluchowskiego, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Jagiellońskiego*

14:15-14:30

Ocena działania inhibitorów CHK1i oraz PARP-1 w monoterapii i podaniu skojarzonym w oparciu o zmiany poziomu białek związanych ze stresem replikacyjnym w komórkach raka wątroby

Bębenek Wiktoria  
*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Medycznej*

14:30-14:45

Znaczenie VEGFA w rozwoju kamicy moczowej na poziomie molekularnym

Grzybowska Kinga  
*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Sekcja Biochemiczna Studenckiego Koła Naukowego Biologów*

14:45-15:00

Akroleina indukuje zmiany w białkach i morfologii błon erytrocytów

Kopera Michał  
*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biologii Nowotworów i Epigenetyki, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Łódzkiego*

15:00-15:15

Homocysteina i jej metabolity wpływają na poziom białek związanych z metabolizmem białka prekursorowego amyloidu w komórkach mysiej neuroblastomy N2A-APPswe

Mencel Łukasz  
*Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Biochemii i Biotechnologii*



**PIĄTEK 12.04.2024**

**15:15-15:30**

Ocena wpływu ekstraktów z wybranych gatunków rzewienia (*Rheum L.*) należących do sekcji *Palmata* na odpowiedź hemostatyczną komórek śródbłonka

**Michaś Karolina**

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii Ogólnej*

**15:30-15:45**

Wykorzystanie metod bioinformatycznych do projektowania mutantów o zwiększonej stabilności termicznej L-asparaginaz

**Pieróg Izabela**

*Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Jagiellońskiego*

**15:45-16:00**

Choroby neurodegeneracyjne – czy mogą mieć związek z arginazą 2 ?

**Podgajna Martyna**

*Pracownia Molekularnych Podstaw Neurodegeneracji, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk*

**16:00-16:15**

Znaczenie genów *PHGPx*, *CAT* i *CYBB* jako potencjalnych markerów diagnostycznych kamicy moczowej

**Zaniewicz Nikola**

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Sekcja Biochemiczna Studenckiego Koła Naukowego Biologów*

**16:15-17:15**

**Sesja posterowa:** Biologia Molekularna i Medycyna

*Bielska Beata, Fatima Namra, Górski Jakub, Klonecka Agnieszka, Konieczna Klaudia, Kowalczyk Maria, Kozłowska Małgorzata, Mostowy Justyna, Pszczółkowska Klaudia, Reczulski Kamil, Ściuk Anna, Żukowska Adrianna*

**17:30**

**Przyznanie nagród** za najlepsze prezentacje ustne oraz postery i zakończenie Konferencji





# **GOŚCIE SPECJALNI**



## Prof. dr hab. n.farm. Jolanta B. Zawilska

Zakład Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi



Pani Profesor Zawilska jest absolwentką Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Łodzi. Stopień dr n. farm. i dr hab. n. farm. uzyskała odpowiednio w roku 1985 i 1993, a tytuł profesora n. farmaceutycznych w 1998 r. Odbyła szereg staży naukowych, m.in. w USA, Anglii, Francji, Finlandii i Włoszech. Od 2009 r. kieruje Zakładem Farmakodynamiki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Wśród jej różnorodnych zainteresowań naukowych ważne miejsce zajmują rytmy biologiczne i chronofarmakologia, nowe tarcze w farmakoterapii chorób psychicznych i neurologicznych oraz nowe substancje psychoaktywne („dopalacze”). Angażuje się w popularyzację nauki dla różnych grup społecznych i zawodowych. W 2022 roku otrzymała nagrodę Ministra Zdrowia za całokształt działalności naukowej, dydaktycznej i organizacyjnej.

### Ciemna strona chemii medycznej - nowe substancje psychoaktywne ("dopalacze")

W pierwszej dekadzie XXI wieku na światowym rynku narkotykowym zaczęły się pojawiać nowe substancje psychoaktywne (ang. New/Novel psychoactive substances; NPS), w Polsce potocznie nazywane dopalaczami. NPS to bardzo liczna i zróżnicowana, zarówno pod względem budowy chemicznej jak i działania, grupa związków. Należą do niej związki psychostymulujące („supernakręcające”) o działaniu charakterystycznym dla amfetamin i kokainy, syntetyczne kanabinoidy („spice”) naśladujące efekty marihuany, związki halucynogenne/psychodysleptyczne, syntetyczne opioidy, niefarmaceutyczne pochodne benzodiazepiny (ang. designer benzodiazepines). Co roku pojawiają się nowe związki, często będące analogami tych, które zostały objęte kontrolą prawną. Do grudnia 2022 roku w Europie zarejestrowano około 930 przedstawicieli NPS, natomiast na świecie ponad 1230. Pierwowzorem dla wielu „dopalaczy” były związki chemiczne zsyntetyzowane w laboratoriach firm farmaceutycznych bądź w pracowniach uniwersytetów w ramach poszukiwań nowych struktur o potencjalnym działaniu terapeutycznym. Aby przyciągnąć uwagę potencjalnego klienta (w szczególności nastolatka), opakowania produktów zawierających „dopalacze” wyróżniają się atrakcyjną, barwną szatą graficzną. Ta sama nazwa handlowa jest często wykorzystywana do sprzedaży różnych związków, także o odmiennych działaniach. Różny skład ilościowy i jakościowy oraz obecność zanieczyszczeń pochodzących zarówno z procesu syntezy (substratów, katalizatorów, półproduktów) jak i dodanych w celu zafałszowania związku lub utrudnienia jego identyfikacji, zwiększają ryzyko zatrucia. Ponadto, niektóre NPS są sprzedawane jako leki, dodatek do klasycznych narkotyków, a także w postaci mieszaniny o nieokreślonym składzie. W wyniku szeroko zakrojonych działań legislacyjnych sprzedaż NPS przeniosła się do Internetu, ostatnio co raz częściej do Darknetu. Spektrum działań toksycznych „dopalaczy”, a także ich nasilenie często przewyższa te wywoływane przez klasyczne narkotyki. Szczególnie niebezpieczne są zaburzenia sercowo-naczyniowe, depresja oddechowa, uszkodzenia nerek, a także zaburzenia psychiczne i neurologiczne. Tylko w przypadku pochodnych benzodiazepiny i opioidów dysponujemy lekami znoszącymi objawy ostrego zatrucia. Są to fumazenil oraz nalokson. W odniesieniu do pozostałych grup NPS leczenie jest wyłącznie objawowe, co zwiększa ryzyko ciężkich powikłań, a nawet zgonu. „Dopalacze”, z wyjątkiem związków halucynogennych, posiadają wysoki potencjał uzależniający.



## Dr hab. n. med. Marlena Godlewska, prof. CMKP w Warszawie

Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Zakład Biologii Komórki i Immunologii



Dr hab. n. med. Marlena Godlewska, prof. CMKP jest pracownikiem naukowo dydaktycznym Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie. Jej główne zainteresowania naukowe dotyczą biologii komórek nowotworowych, a w ostatnim czasie szczególnie rozwoju zjawiska lekooporności w odpowiedzi na celowaną terapię molekularną, oraz mechanizmów rozwoju chorób autoimmunologicznych.

### Nowoczesne terapie celowane w leczeniu raka tarczycy

Raki tarczycy stanowią najczęstszą grupę wśród nowotworów układu dokrewnego, a ich częstość diagnozowania wzrosła w ciągu ostatnich kilku dekad. Raki tarczycy wywodzą się z komórek pęcherzykowych wytwarzających hormony tarczycy oraz komórek C, które są odpowiedzialne za wydzielanie m.in. kalcytoniny. Nowotwory wywodzące się z komórek nabłonka pęcherzykowego są najczęstsze i obejmują m.in. raka brodawkowatego, pęcherzykowego oraz anaplastycznego.

Nowotwory tarczycy dotyczą zarówno dorosłe osoby jak i młodzież, zwłaszcza kobiety, dlatego szczególnie ważna jest wczesna diagnoza i skuteczna terapia. Cytologia aspiracyjna cienkoigłowa pod kontrolą USG jest uważana za złoty standard diagnostyczny. Pomimo postępów w metodach diagnostycznych i strategiach terapeutycznych, leczenie zaawansowanych, postępujących chorób pozostaje wyzwaniem, z ograniczonymi dostępnymi opcjami leczenia.

W ostatniej dekadzie lepsze zrozumienie szlaków molekularnych zaangażowanych w proces nowotworzenia doprowadziło do opracowywania nowej generacji ukierunkowanych strategii leczenia, w tym spersonalizowanej terapii z użyciem inhibitorów kinaz. Jednak leczeniu z wykorzystaniem tych nowych terapii często towarzyszą działania niepożądane oraz obserwuje się nabywanie przez komórki nowotworowe oporności na użyte leki. Dlatego wciąż poszukiwane są nowe inhibitory o większej selektywności oraz terapie kombinowane, jak również prowadzone są badania nad identyfikacją mechanizmów oporności na inhibitory kinaz tyrozynowych i sposobami ich przezwyciężenia, w celu uzyskania maksymalnej skuteczności klinicznej.

Prezentowane wyniki były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, projekt OPUS nr 2018/29/B/NZ3/02642.

## Prof. dr hab. Katarzyna Hrynkiewicz

Katedra Mikrobiologii, Instytut Biologii, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu



Pani Profesor Hrynkiewicz jest kierownikiem Katedry Mikrobiologii w Instytucie Biologii na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Swoje zainteresowania badawcze skupia na zagadnieniach związanych z interakcjami zachodzącymi pomiędzy mikroorganizmami i roślinami. W centrum zainteresowań znajdują się: mikroorganizmy endofityczne (bakterie/grzyby), grzyby symbiotyczne (ektomykoryzowe i arbuskulrane), bakterie diazotroficzne, bakterie i grzyby będące patogenami roślin, mikroorganizmy chorobotwórcze człowieka oraz wirusy roślinne.

Badania prowadzone są na terenach dotkniętych stresem abiotycznym (obszary zanieczyszczone metalami ciężkimi, wysokim zasoleniem, niskimi temperaturami, suszą, niedoborem składników pokarmowych). Prace badawcze dotyczą drzew i roślin zielnych naturalnie zasiedlających badane środowiska oraz roślin uprawnych (zboża, warzywa), ważnych dla rozwoju rolnictwa.

### Zastosowanie grzybów mykoryzowych w zdrowych i porażonych wirusem PVY uprawach ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.)

W warunkach naturalnych rośliny uprawne wchodzi w interakcje z różnymi mikroorganizmami. Należą do nich mikroorganizmy pożyteczne, np. grzyby mykoryzowe i fitopatogeniczne, które wpływają na wzrost i produktywność roślin. W ostatnich dziesięcioleciach produkcja ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) spadała z powodu występowania wirusa Y ziemniaka (PVY), który jest jednym z najważniejszych szkodników ziemniaka. Arbuskularne grzyby mykoryzowe (AMF, ang. Arbuscular Mycorrhizal Fungi) są powszechnymi symbiontami mutualistycznymi ziemniaka, ale wpływ symbiozy mykoryzowej na rozwój choroby PVY jest słabo poznany. W ramach dwóch projektów badawczych dotyczących tego zagadnienia zbadano wpływ różnych grzybów mykoryzowych na zdrowe i porażone wirusem Y (PVY) uprawy ziemniaka. Przeprowadzone analizy obejmowały nie tylko pomiar parametrów wzrostu ziemniaka, ale także wskaźniki stresu oksydacyjnego i fotosyntezy. Ponadto, oceniono rozwój AMF w korzeniach roślin, a także poziom wirusa w roślinach mykoryzowych. Badania wykazały, że istnieją wieloczynnikowe interakcje w roślinach żywicielskich skolonizowanych przez fitopatogeny i endofity, które są ważne dla uprawy ziemniaka w rolnictwie.

Badania zostały wsparte finansowo przez Narodowe Centrum Nauki (NCN, Polska) OPUS 2016/23/B/NZ9/03417 oraz przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBR, Polska) TANGO 4 (TANGO-IV-A/0018/2019).

## Prof. dr hab. Jan M. Węsławski

Instytut Oceanologii Polskiej Akademii Nauk



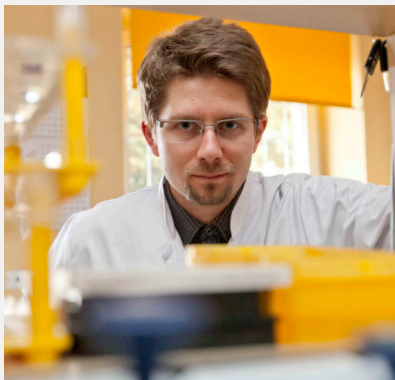
Pan Profesor Jan Marcin Węsławski to absolwent pierwszego rocznika oceanografii na Uniwersytecie Gdańskim z 1979 r., terenowy biolog – ekolog morski, profesor zwyczajny od 2000 r. Od 2018 r. dyrektor Instytut Oceanologii PAN. Spędził ponad 50 miesięcy na wyprawach polarnych i morskich w Arktyce - od Rosji, przez Svalbard, Grenlandię do Kanady. Specjalizuje się w związkach bioróżnorodności w morzach do zmiany klimatu. Autor ponad 150 prac naukowych cytowanych ponad 5000 razy. Interesuje go relacja człowiek-Natura. Od 45 lat ta sama żona, dwoje dzieci, jedna wnuczka. Hobby - pływanie canoe, historia wypraw polarnych i strzelanie z tradycyjnego łuku.

### Po co i jak chronić różnorodność biologiczną w morzu?

Fundamentalną różnicą między przyrodą na lądach i w morzu jest to, że ta pierwsza zbudowana jest i kontrolowana przez duże organizmy (trawy, drzewa, duże zwierzęta) a ta druga odwrotnie, przez mikroorganizmy (mikroplankton, mezozooplankton). Do pewnego stopnia odzwierciedla to zasadę kontroli przepływu energii „top-down” versus „bottom-up”. Oznacza to również możliwość kontrolowania (i kształtowania) lądowych ekosystemów przez człowieka i kompletny brak takiej możliwości w morzu, gdzie nasze możliwości ograniczają się do niszczenia, ale budować na mikrobach jeszcze nie potrafimy. Wielka debata o ochronie Przyrody, która toczy się dziś na świecie ma w znacznym stopniu charakter światopoglądowy – czy mamy „czynić sobie ziemię poddaną” kształtując ją wg naszych upodobań – czyli ogrody zoologiczne i rolnictwo, czy mamy „oddać połowę Ziemi Przyrodzie” i wycofać się z wielkich obszarów przydatnych do eksploatacji. Na domiar złego ochrona Przyrody posługując się nagminnie określeniem „ochrona różnorodności biologicznej” do dziś nie zdefiniowała o co chodzi, bo każdy badacz widzi tę różnorodność wg swojej specjalności. Coraz częściej określa się te dylematy mianem „wicked environmental problems”.

## Prof. dr hab. n. med. Wojciech Fendler

Zakład Biostatystyki i Medycyny Translacyjnej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Łodzi



Profesor Fendler (ur. 1982) jest jednym z wyróżniających się młodych naukowców w kraju. Jego specjalnością jest analiza statystyczna danych i badania z zakresu diabetologii i onkologii. Jest autorem kilkuset prac naukowych i kierownikiem kilkunastu projektów badawczych finansowanych ze środków krajowych i unijnych. Od początku swojej kariery naukowej dąży do upowszechniania wiedzy za zakresu analizy danych i wspiera młodych naukowców w opanowaniu umiejętności kluczowych dla samodzielnej pracy naukowej. Profesor Fendler jest laureatem kilkunastu prestiżowych konkursów takich jak Stypendium Fundacji

Naukowej Polpharmy, Stypendium MNiSW, stypendium START FNP i Nagrody Narodowego Centrum Nauki 2020 w dziedzinie Nauk o Życiu.

### Translacyjne badania nad biomarkerami mikroRNA w onkologii

Wiele programów badań przesiewowych nie wpływa korzystnie na poprawę przeżycia pacjentów onkologicznych. Poszukiwanie narzędzi pozwalających nie tylko wykryć chorobę nowotworową jako taką, ale zdiagnozować ją na wczesnym, uleczalnym etapie, jest jednym z największych wyzwań współczesnej medycyny. W trakcie wykładu przedstawione zostaną wyniki badań nad wykorzystaniem wolnokrążących mikroRNA wykrywanych w surowicy jako biomarkerów chorób nowotworowych. Omówione zostaną wyzwania techniczne, kliniczne i statystyczne jakie stoją przed badaczami poszukującymi takich narzędzi oraz omówione zostaną możliwości wdrożenia opracowanych testów do praktyki klinicznej w kontekście stanu prawnego i własnych doświadczeń autora.



# **ABSTRAKTY**

## **Nie tylko cukrzyca: antyangiogeny i antymetastatyczny potencjał inhibitorów SGLT2**

Michał Baran<sup>1\*</sup>, Martyna Szachniewicz<sup>1</sup>, Marta Hałas-Wiśniewska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Studenckie Koło Naukowe Biologii Komórki i Ultrastruktury, CM UMK w Bydgoszczy*

<sup>2</sup> *Katedra Histologii i Embriologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz*

\* *email autora do korespondencji: 1michalbaran@gmail.com*

*Numery ORCID: MB: 0009-0009-8279-7706; MS: 0009-0002-0153-3709; MHW: 0000-0002-1264-0481*

Inhibitory kotransportera SGLT2 okazały się nie tylko bezpiecznymi i skutecznymi lekami w terapii cukrzycy, ale znalazły zastosowanie również w przypadku leczenia chorób sercowo naczyniowych i w nefroprotekcji. Ich potencjału terapeutycznego wypatruje się także w leczeniu chorób nowotworowych. Trwają badania dotyczące potencjalnych mechanizmów przeciwnowotworowych flozyn, między innymi działania hamującego angiogenezę oraz hamującego przerzuty.

Niedotlenienie guzów litych stymuluje wytwarzanie naczyń krwionośnych w obrębie guza. Badania wykazały, że w liniach komórkowych raka wątrobowokomórkowego (HCC), które wykazywały ekspresję SGLT2: Huh7 i HepG2, kanagliflozyna zmniejszała proliferację komórek i poziom substancji proangiogennych. Obserwowano spadek poziomu VEGFA i HIF-1 $\alpha$ , białek związanych z angiogenezą indukowaną hipoksją, oraz zahamowanie szlaku AKT/mTOR, który istotnie wpływa na transkrypcję i translację HIF-1 $\alpha$ . Także *in vivo*, w modelach mysich z ludzkimi ksenotransplantami z linii Huh7 i HepG2, w tkankach guza występowała niższa ekspresja VEGF i HIF-1 $\alpha$ .

Blokowanie kotransportera SGLT2 przez flozyny w kanalikach proksymalnych nerki skutecznie obniża glikemię. Natomiast w guzach nowotworowych HCC kanagliflozyna może znacznie hamować pobór glukozy, co istotnie zmniejsza proliferację komórek nowotworowych wykazujących ekspresję SGLT2. Wraz ze zmniejszeniem proliferacji zaobserwowano spadek białek odpowiedzialnych za przejście epitelialno-mezenchymalne (EMT) oraz zahamowanie aktywności migracyjnej komórek, co świadczy o potencjalnym mechanizmie hamowania przerzutowania. W badaniach *in vivo* kanagliflozyna także powodowała spowolnienie wzrostu i progresji ksenotransplantu HCC. Znany jest także przypadek spontanicznej regresji HCC po rozpoczęciu terapii flozynami u pacjenta z cukrzycą i marskością wątroby, co wiąże się z antyangiogenym działaniem flozyn.

W świetle prowadzonych badań, biorąc pod uwagę antymetastatyczny antyproliferacyjny i antyangiogeny potencjał flozyn, mogą być one rozpatrywane jako potencjalne leki w terapii przeciwnowotworowej. Proponowane wystąpienie stanowi przegląd najnowszej literatury w tej tematyce, a także stanowi przygotowanie teoretyczne do badań w tym zakresie.

## **Aktywność komórek NK w środowisku zestarzałych komórek nowotworowych**

Kinga Godkowicz<sup>1\*</sup>, Ewa Ziolo<sup>1</sup>, Wojciech Kałas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu, ul. Weigla 12, 50-414 Wrocław

\*email autora do korespondencji: [kinga.godkowicz@hirsfeld.pl](mailto:kinga.godkowicz@hirsfeld.pl)

Numery ORCID: KG: 0000-0003-3046-7595; EZ: 0000-0002-1439-8975; WK: 0000-0003-2656-5192

Starzenie komórkowe jest stanem stabilnego zatrzymania proliferacji komórki w odpowiedzi na stres, taki jak skracanie telomerów, aktywacja onkogenów czy działanie czynnikami genotoksycznymi. Starzenie komórkowe może być też skutkiem ubocznym terapii przeciwnowotworowej. Część komórek nowotworowych nie ulega apoptozie, ale starzeniu. Zatrzymuje to ich wzrost, ale ich obecność w szerszej perspektywie jest niekorzystna. Komórki zestarzałe wykazują fenotyp sekrecyjny (SASP) składający się z obfitej ilości czynników prozapalnych i remodelujących tkankę. Ma on na celu rekrutację komórek odpornościowych i usunięcie uszkodzonych komórek. Jednakże w przypadku osłabienia układu odpornościowego komórki zestarzałe mogą nie być prawidłowo eliminowane, co prowadzi do ich akumulacji w tkankach oraz ciągłego wydzielania czynników związanych z SASP. To z kolei może prowadzić do przewlekłego stanu zapalnego oraz wtórnej indukcji starzenia komórkowego lub kancerogenezy w sąsiednich komórkach. W związku z tym, prowadzone są badania nad senolizą, czyli selektywnym usuwaniem komórek starzejących się. Jedną z strategii senolitycznych przewiduje wykorzystanie do tego celu komórek odpornościowych.

Komórki NK stanowią pierwszą linię obrony w odpowiedzi odpornościowej przeciwko komórkom nowotworowym. Obecność komórek NK zaobserwowano również w sąsiedztwie komórek starzejących się, co sugeruje, że w prawidłowych warunkach biorą aktywny udział w ich eliminacji. Sprawia to, że komórki NK są doskonałym kandydatem na narzędzie senolityczne, jednak do tej pory badania w tej dziedzinie są niejednoznaczne.

Aby zbadać aktywność komórek NK w środowisku nowotworowych komórek starzejących się, wywołaliśmy starzenie za pomocą niskiej dawki etopozydu w komórkach raka pęcherza HCV29 i raka płuc A549. Przeprowadziliśmy badanie nad cytotoksycznością bezpośrednią używając w tym celu cytotoksycznych komórek NK-92, jednak nie zaobserwowaliśmy różnic w odpowiedzi cytotoksycznej komórek NK-92 wobec komórek poddanych i niepoddanych procedurze starzenia. Istotne wyniki uzyskaliśmy jednak wystawiając komórki NK-92 na działanie medium kondycjonowanego pochodzącego z komórek starzejących się, które wyindukowało spadek żywotności i osłabienie odpowiedzi cytotoksycznej komórek NK-92. Koreluje to ze zwiększoną ekspresją receptorów hamujących NKG2A na komórkach NK oraz obniżoną ekspresją receptorów aktywujących 2B4. Analiza składu mediów kondycjonowanych wykazała zwiększone stężenie wielu czynników SASP, w tym szczególnie wysokie stężenia IL-6 i IL-8, które zgodnie z dotychczasową wiedzą mogą negatywnie oddziaływać na aktywność cytotoksyczną komórek NK. Zaobserwowano również znacznie podwyższone stężenia chemokiny Gro- $\alpha$  oraz Serpiny E1.

## UBB, UBC i $\beta$ -katenina jako obiecujące narzędzia diagnostyczne i prognostyczne u pacjentów z rakiem gruczołu krokowego

Daria Piątkowska<sup>1\*</sup>, Anna Klimaszewska-Wiśniewska<sup>1</sup>, Alicja Kosińska<sup>1</sup>, Radosław Wujec<sup>1</sup>,  
Dariusz Grzanka<sup>1</sup>, Justyna Durślewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Pathomorphology, Faculty of Medicine, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, 85-094 Bydgoszcz, Poland

\* email autora do korespondencji: [daria.piatkowska0@gmail.com](mailto:daria.piatkowska0@gmail.com)

Numery ORCID: DP: 0009-0003-6370-3993; AKW: 0000-0002-8493-3806; DG: 0000-0002-0416-7583, JD: 0000-0001-7301-5324

Rak prostaty stanowi istotny problem zdrowotny o zasięgu globalnym, będąc jednym z najczęściej diagnozowanych nowotworów u mężczyzn na całym świecie. Doniesienia literaturowe wskazują na istotną rolę procesów ubikwitynacji i regulacji ekspresji genów w rozwoju tej choroby. Nasze badanie miało na celu ocenę poziomów ekspresji UBB i UBC oraz  $\beta$ -kateniny, a także ich wzajemnych korelacji. W celu osiągnięcia tego celu przeprowadziliśmy oznaczenia immunohistochemiczne oraz dokonaliśmy analizy danych z ogólnodostępnych baz. W naszych badaniach ujawniono zwiększoną ekspresję UBB i UBC w tkankach raka prostaty, szczególnie wyraźną w przypadku przerzutów do węzłów chłonnych, co podkreśla ich istotną rolę w progresji choroby. Dodatkowo, zaobserwowano istotną korelację między wysokimi poziomami ekspresji UBB i UBC a zmniejszonym ogólnym przeżyciem pacjentów z rakiem prostaty, co podkreśla ich znaczenie w praktyce klinicznej. Odnotowano również istotną redukcję ekspresji  $\beta$ -kateniny w błonie komórek raka prostaty. Co istotne, nieprawidłowa ekspresja  $\beta$ -kateniny była silnie związana z krótszym przeżyciem pacjentów. Analiza przeżycia metodą Kaplan-Meier wykazała, że pacjenci charakteryzujący się jednoczesną ekspresją UBB i utratą ekspresji  $\beta$ -kateniny wykazują szczególnie niekorzystny czas przeżycia. Wyniki te podkreślają kliniczną ważność oceny UBB, UBC i  $\beta$ -kateniny w raku prostaty.



## **Potencjalne mechanizmy molekularne działania flozyn na komórki nowotworowe - nowe perspektywy w terapii onkologicznej**

Martyna Szachniewicz<sup>1\*</sup>, Michał Baran<sup>1</sup>, Marta Hałas-Wiśniewska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Studenckie Koło Naukowe Biologii Komórki i Ultrastruktury, CM UMK w Bydgoszczy*

<sup>2</sup> *Katedra Histologii i Embriologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz*

\* *email autora do korespondencji: martynaszachniewicz@wp.pl*

*Numery ORCID: MS: 0009-0002-0153-3709; MB: 0009-0009-8279-7706; MHW: 0000-0002-1264-0481*

Flozyny, czyli inhibitory kotransportera SGLT2, pierwotnie wykorzystywane jako leki w terapii cukrzycy, stanowią obiecujący kierunek badań pod względem właściwości przeciwnowotworowych. Potencjalne mechanizmy dotyczą nie tylko obniżania stężenia glukozy w organizmie chorego, czy w komórkach nowotworowych, ale również przyczyn nie związanych z inhibicją kotransportera SGLT2.

Badania na liniach komórkowych raka piersi (MCF-7), dla których poszukiwano potencjalnych mechanizmów przeciwnowotworowych, wykazały zahamowanie proliferacji i klonogenego przeżycia komórek po zastosowaniu kanagliflozyny. Przy jej udziale odnotowano hamowanie mitochondrialnego kompleksu I, co niesie za sobą działanie antylipogeniczne i antyproliferacyjne. Antyproliferacyjne działanie flozyn było także związane ze wzrostem aktywności AMPK, która wywołuje reakcje oddziałujące na komórki nowotworowe. W badaniach dapagliflozyna i kanagliflozyna zatrzymywały cykl komórkowy i indukowały apoptozę. Efektem wzrostu aktywności AMPK jest hamowanie syntezy kwasów tłuszczowych, zahamowanie proliferacji i indukcja apoptozy. Skutków dopatruje się również w hamowaniu cyklu komórkowego w fazie G2/M oraz w obniżonej syntezie DNA i RNA.

Badania prowadzone na raku wątrobowokomórkowym (HCC) wykazały, że kanagliflozyna znacząco wpływa na obniżenie stężenia glukozy w obrębie guza. Nie dzieje się to jednak wyłącznie przez hamowanie SGLT2, ale również przez zahamowanie transporterów GLUT.

Potencjalne mechanizmy obejmują również hamowanie działania  $\beta$ -kateniny przez kanagliflozynę. Oddziaływanie to wykazane zostało na komórkach HCC za pośrednictwem zahamowania indukowanej napływem glukozy translokacji  $\beta$ -kateniny do jądra komórkowego z cytoplazmy oraz wzmożeniem jej proteosomalnej degradacji.

Trwające badania nad flozynami jako potencjalnymi lekami w terapii przeciwnowotworowej, dotyczą nie tylko mechanizmów antyproliferacyjnych, czy proapoptotycznych w obrębie guza, ale również tych hamujących przerzuty i angiogenezę. Przedstawiony w prezentacji przegląd badań w tym zakresie pozwala stwierdzić, że skupienie na obu komponentach może przyczynić się do rozwoju terapii onkologicznej.

## Analiza ekspresji białka MRPL23 i jego rola w patogenezie raka gruczołu krokowego

Edyta Trybek<sup>1</sup>, Justyna Durślewicz<sup>1</sup>, Daria Piątkowska<sup>1</sup>, Damian Łukasik<sup>1</sup>, Dariusz Grzanka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Patomorfologii Klinicznej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Bydgoszcz, Polska

\* email autora do korespondencji: edyta.trbk@gmail.com

Numerory ORCID: ET: 0009-0006-6911-4075; JD: 0000-0001-7301-5324; DP: 0009-0003-6370-3993; DŁ: 0009-0000-5229-4096; DG: 0000-0002-0416-7583

Rak gruczołu krokowego (PC) jest jednym z najczęstszych nowotworów diagnozowanych u mężczyzn, będąc drugą co do częstości przyczyną zgonów z powodu raka w USA. Pomimo znacznych postępów w diagnostyce i leczeniu, nadal istnieje silna potrzeba dalszych badań nad mechanizmami patogenezы oraz rozwinięciem skuteczniejszych terapii. Odkrycia dotyczące niekodujących RNA (lncRNA), takich jak MRPL23, wydają się obiecujące dla zrozumienia głębszych mechanizmów prowadzących do rozwoju PC. MRPL23, będący jednym z długich niekodujących RNA (lncRNA), odgrywa kluczową rolę w różnych procesach komórkowych, a jego ekspresja może mieć istotny wpływ na rozwój nowotworu. W niniejszym badaniu skoncentrowano się na ocenie ekspresji MRPL23 w kontekście postępu PC oraz jego wpływu na ogólne przeżycie pacjentów. Do analizy włączono 67 pacjentów z PC, którzy przeszli prostatektomię w latach 2016–2019. Ekspresję MRPL23 oceniano poprzez barwienie immunohistochemiczne w tkankach prawidłowych, zmienionych nowotworowo oraz przerzutach do węzłów chłonnych, a następnie przeanalizowano wyniki w kontekście korelacji kliniczno-patologicznych oraz ich wpływu na ogólne przeżycie pacjentów.

Nasze obserwacje potwierdziły znaczący wzrost ekspresji MRPL23 w tkankach PC w porównaniu z tkanką prawidłową ( $p < 0,0001$ ), oraz wykazały wyższą ekspresję w nowotworze węzłów chłonnych w porównaniu z tkankami PC ( $p < 0,001$ ) i prawidłowymi ( $p < 0,0001$ ). Analiza krzywej przeżycia Kaplan-Meiera wykazała, że pacjenci z wysokim poziomem ekspresji MRPL23 mieli istotnie niższy wskaźnik ogólnego przeżycia ( $p = 0,003$ ). Dodatkowo, stwierdzono, że wysoki poziom ekspresji białka MRPL23 był niezależnym czynnikiem prognostycznym w modelu hazardów proporcjonalnych Coxa.

Podsumowując, nasze badanie potwierdziło, że białko MRPL23 pełni istotną rolę w procesie patogenezы PC. Te ustalenia sugerują, że MRPL23 może być potencjalnie użytecznym biomarkerem prognostycznym, który umożliwi identyfikację pacjentów narażonych na niekorzystny przebieg choroby. Dodatkowo, otwiera to perspektywy na wykorzystanie MRPL23 jako celu terapeutycznego w leczeniu raka prostaty.

## Potencjał metforminy w terapii raka jajnika

Adrianna Winnicka<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236, Łódź

<sup>2</sup> Studenckie Koło Naukowe Młodych Biofizyków Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, ul. Pomorska 141/143, 90-236, Łódź

\* email autora do korespondencji: [adrianna.winnicka@edu.uni.lodz.pl](mailto:adrianna.winnicka@edu.uni.lodz.pl)

Numer ORCID: AW: 0009-0003-9596-9892

Rak jajnika (OC, ang. *ovarian cancer*) jest jednym z najczęstszych nowotworów złośliwych u kobiet, zajmując siódme miejsce pod względem częstości występowania oraz ósme pod względem liczby zgonów na świecie. Według danych WHO w 2020 roku odnotowano 313 959 nowych przypadków zachorowań i 207 252 zgonów z powodu OC na świecie. Aktualnie konwencjonalna terapia OC obejmuje leczenie skojarzone, chirurgiczne oraz chemioterapię, a także stosunkowo nowe terapie celowane. Terapie celowane oparte na zastosowaniu bewacyzumabu (terapia antyangiogenna) oraz inhibitorów polimerazy poli (ADP-rybozy) (PARP, ang. *poly (ADP-ribose) polymerase*), wydłużają czas przeżycia wolny od progresji (PFS, ang. *progression-free survival*), niemniej jednak ich korzystny wpływ na całkowite przeżycie (OS, ang. *overall survival*) pozostaje niejasny. Co więcej, wspomniane terapie celowane wiążą się niestety z wysokimi kosztami. Obecnie, co raz większą uwagę zwraca się na opracowywanie nowych rozwiązań terapeutycznych, które nie tylko byłyby stosunkowo tanie, ale także zmniejszałyby częstość nawrotów OC oraz zwiększały PFS. Jednym z takich rozwiązań wydaje się być terapia oparta na metforminie, czyli leku przeciwcukrzycowym.

Badania kliniczne wskazują na wysoki potencjał przeciwnowotworowy metforminy w różnych rodzajach nowotworów, w tym OC. Ponadto, wśród pacjentek z OC jej stosowanie wiązało się z wydłużeniem OS. Wśród mechanizmów działania tego leku wymienia się m.in. regulację sygnalizacji komórkowej, aktywność metaboliczną oraz hamowanie procesów związanych z metastazą i wzrostem nowotworów. W przypadku OC stwierdzono również, iż metformina odwraca oporność na chemioterapię i wykazuje ukierunkowane działanie na komórki macierzyste nowotworu. Wszystkie wymienione właściwości sprawiają, że metformina jest obecnie obiektem ponad 55 badań klinicznych związanych z onkologią.

## **Aktywność przeciwnowotworowa kwasu roburowego**

Adrianna Gielecińska<sup>1,2\*</sup>, Renata Kontek<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Katedra Biotechnologii Molekularnej i Genetyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź*

<sup>2</sup> *Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Łódzki, ul. Jana Matejki 21/23, 90-237 Łódź*

\* *email autora do korespondencji: [adrianna.gielecinska@edu.uni.lodz.pl](mailto:adrianna.gielecinska@edu.uni.lodz.pl)*

*Numer ORCID: AG: 0000-0001-9562-3582*

Kwas roburowy (RA) to naturalny związek roślinny należący do grupy tetracyklicznych triterpenoidów, pochodnych terpenu. Posiada on szerokie spektrum aktywności biologicznej, w tym działanie przeciwtleniające, przeciwmiażdżycowe i przeciwzapalne. RA został sklasyfikowany jako inhibitor mikrosomalnej syntazy prostaglandyny E2-1 (mPGES-1), dzięki czemu zapobiega powstawaniu kluczowego mediatora zapalnego PGE2. RA hamuje także aktywność cyklin CDK, prowadząc do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G0/G1 oraz zmniejsza ekspresję białek antyapoptotycznych, promując śmierć komórkową. Obiecujące właściwości sprawiają, że RA stał się przedmiotem intensywnych badań jako potencjalny środek przeciwnowotworowy.

Celem pracy była ocena aktywności przeciwnowotworowej kwasu roburowego, w tym jego potencjału cytotoksycznego i proapoptotycznego.

Badania przeprowadzono na komórkach nowotworowych gruczolaka jelita grubego (HT-29 i DLD-1), raka jelita grubego (HCT-116), gruczolaka trzustki (BxPC3) i raka stercza (PC3) oraz ludzkich fibroblastach płuc (WI38). Przy użyciu testu MTT dokonano analizy cytotoksyczności związku i wyznaczono stężenie  $IC_{50}$  dla każdej z testowanych linii komórkowych. Zmiany potencjału błonowego mitochondriów (MMP;  $\Delta\Psi_m$ ) oceniono za pomocą sondy MitoTracker Red jako wskaźnika funkcji mitochondriów i aktywacji apoptozy. Badania zakończono pomiarem frakcji komórkowych w teście podwójnego barwienia oranżem akrydyny/bromkiem etydy (AO/EB).

Badania potwierdziły wysoką aktywność cytotoksyczną RA wobec badanych linii komórek nowotworowych i mniejszą wobec komórek prawidłowych. Spadek żywotności korelował ze wzrostem stężenia badanego związku. Spośród wszystkich testowanych linii komórkowych, linie DLD-1 i HT-29 były najbardziej wrażliwe na działanie RA, co może wskazywać na selektywność wobec konkretnego typu nowotworu, stąd do dalszych badań wybrano jedynie linie nowotworowe przewodu pokarmowego. Po 24h inkubacji komórek nowotworowych z RA zastosowanym w stężeniach  $0,5 \times IC_{50}$ ,  $IC_{50}$  i  $2 \times IC_{50}$ , zaobserwowano spadek intensywności fluorescencji, odzwierciedlający spadek MMP, przy czym najniższy wynik odnotowano dla komórek linii HT-29. Ponadto, 24h inkubacja komórek nowotworowych z RA prowadziła do istotnego statystycznie wzrostu odsetka komórek apoptotycznych przy zastosowaniu stężeń  $IC_{50}$  i  $2 \times IC_{50}$  w teście podwójnego barwienia OA/EB.

Wyniki wskazują, że RA wykazuje silne działanie cytotoksyczne wobec testowanych linii komórkowych. Związek powoduje także spadek potencjału błony mitochondrialnej oraz wykazuje działanie proapoptotyczne.

## **Zastosowanie spektroskopii i obrazowania Ramana w analizie karotenoidów i retinoidów w nowotworach mózgu**

Karolina Jarczewska\*<sup>1</sup>, Monika Kopeć<sup>1</sup>, Jakub Surmacki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny, Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej, Laboratorium Laserowej Spektroskopii Molekularnej, ul. Gen. Walerego Wróblewskiego 15, 93-590 Łódź

\* email autora do korespondencji: karolina.jarczewska@dokt.p.lodz.pl

Numery ORCID: KJ: 0000-0003-4270-4981; MK: 0000-0001-5412-0399; JS: 0000-0001-6654-0286

Spektroskopia i obrazowanie Ramana to nieinwazyjne techniki analityczne, skupiające się na analizie drgań pojedynczych cząsteczek występujących w badanych próbkach. W spektroskopii Ramana analizowana jest składowa nieelastycznego rozpraszania światła, która jest generowana w wyniku oddziaływania światła laserowego z badaną próbką. Współcześnie obrazowanie Ramana ma coraz więcej zastosowań, między innymi w diagnostyce chorób cywilizacyjnych. W swojej pracy badawczej wykorzystuję spektroskopię i obrazowanie Ramana w analizie karotenoidów i retinoidów. Karotenoidy i retinoidy to związki organiczne wytwarzane przez rośliny i algi.

Jednym z przedstawicieli retinoidów jest *all-trans*-retinal, który jest aldehydem retinolu uczestniczącym w procesie widzenia. Z kolei najpopularniejszym karotenoidem z uwagi na jego obfite występowanie w licznych warzywach i owocach, jest  $\beta$ -karoten. Związek ten jest często nazywany prowitaminą A, ponieważ w organizmie jest przekształcany w retinol.

W moich badaniach skupiłam się na analizie modelowych układów nowotworów mózgu z uwagi na fakt, iż nowotwory złośliwe mózgu stanowią 2% nowotworów złośliwych u dorosłych i aż 30% u dzieci. Moje badania stawiają hipotezę, że *all-trans*-retinal oraz  $\beta$ -karoten mogą wpływać na progresję nowotworów mózgu, zmieniając metabolizm na poziomie komórkowym. W swoich badaniach suplementuję modelowe linie komórkowe obydwoma związkami. Linia U-87 MG jest nowotworem mózgu o IV stopniu agresywności. Po suplementacji *all-trans*-retinalem zaobserwowałam różnice w składzie tłuszczu i białek o czym świadczą zmiany intensywności następujących pasm Ramana: 750, 1310, 1444, 1583  $\text{cm}^{-1}$  oraz 1654  $\text{cm}^{-1}$ . Po suplementacji komórek  $\beta$ -karotenem zaobserwowałam zmiany w intensywnościach pasm: 750, 1092, 1126, 1254, 1310, 1337, 1444, 1583 i 1654  $\text{cm}^{-1}$ . Pasma przy częstościach 750, 1126, 1310, 1337 i 1583  $\text{cm}^{-1}$  odpowiadają cytochromowi c, 1092  $\text{cm}^{-1}$ -DNA, 1254 i 1444  $\text{cm}^{-1}$ -tłuszczom a 1654  $\text{cm}^{-1}$ -tłuszczom i białkom. Dowiedliśmy, że obrazowanie Ramana to odpowiednia technika dla analizy ilościowej i jakościowej komórek nowotworowych mózgu. Wpływ suplementacji zarówno *all-trans*-retinalem jak i  $\beta$ -karotenem jest widoczny, więc związki te modulują metabolizm komórek nowotworowych na poziomie pojedynczych organelli. *All-trans*-retinal powoduje zmniejszenie wytwarzania tłuszczu czy białek i zwiększa ilość cytochromu c, a  $\beta$ -karoten stymuluje metabolizm komórki.

Badania są finansowane w ramach projektu NCN OPUS 22 2021/43/B/ST4/01547/.

## Wpływ zahamowania ekspresji BMI-1 i różnego stężenia glukozy na ekspresję genów związanych z procesem autofagii w komórkach raka piersi

Monika Sedzicka<sup>1\*</sup>, Aleksandra Szustka<sup>1</sup>, Anna Krześlak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143 90-236 Łódź

\* email autora do korespondencji: [monika.sedzicka@edu.uni.lodz.pl](mailto:monika.sedzicka@edu.uni.lodz.pl)

Numery ORCID: MS: 0009-0002-0767-6364; AS: 0000-0001-9698-8209; AK: 0000-0002-4982-7901

Rak piersi jest najczęściej diagnozowanym nowotworem złośliwym, a stosowane leczenie nie zawsze jest skuteczne. Za niepowodzenia w terapii może odpowiadać między innymi nadekspresja białka BMI-1, które jest składnikiem kompleksu represyjnego Polycomb PRC1. Białko BMI-1 wpływa na szereg procesów komórkowych w tym naprawę DNA, apoptozę, proliferację, starzenie się czy regulację cyklu komórkowego. Ponadto odgrywa istotną rolę w biologii nowotworowych komórek macierzystych, regulując ich zdolność do samoodnowy i różnicowania. Pojawia się coraz więcej doniesień, że zmniejszenie ekspresji BMI-1 może wpływać na indukcję autofagii w niektórych nowotworach.

Autofagia to proces, w którym stare lub zbędne elementy komórkowe ulegają degradacji, co pozwala na zachowanie homeostazy komórkowej. W przypadku komórek nowotworowych rola autofagii jest dwójaka. Proces ten służy do usuwania dysfunkcyjnych elementów i tym samym zapobiega transformacji nowotworowej zdrowych komórek. Jednakże uważa się, że autofagia uczestniczy również w nawrotach nowotworów, wspieraniu ich wzrostu i w oporności na terapię. Dlatego też dokładne określenie mechanizmów leżących u podstaw procesu autofagii i jego roli w nowotworzeniu jest bardzo ważne z punktu widzenia możliwości projektowania nowych terapii przeciwnowotworowych.

Celem badań była ocena wpływu zahamowania ekspresji BMI-1 oraz różnego stężenia glukozy na proces autofagii w komórkach raka piersi. Ponadto, zbadana została skuteczność przeciwnowotworowa związku hamującego ekspresję BMI-1 – PTC-209, w kombinacji z inhibitorem autofagii Lys05.

Materiał badawczy stanowiły dwie linie komórkowe raka piersi MCF-7 i MDA-MB-231. Komórki kontrolne oraz komórki z zahamowaną ekspresją BMI-1 hodowano w warunkach optymalnego wzrostu (25 mM glukoza), jak i w warunkach stresowych (0,5 mM glukoza). Ocenę ekspresji genów wykonano techniką Real Time PCR, natomiast ocenę ekspresji białek wykonano z użyciem metody Western Blot. Efektywność przeciwnowotworową inhibitorów PTC-209 i Lys05 przeprowadzono z użyciem testu MTT.

Uzyskane wyniki wskazują, że zahamowanie ekspresji BMI-1 może w różny sposób wpływać na proces autofagii w zależności od kontekstu molekularnego. Co więcej, wyniki wykazały różnice w ekspresji w zależności od stężenia glukozy.

## Potencjalne sygnatury genów związanych ze szlakiem Wnt o znaczeniu diagnostycznym i prognostycznym w raku piersi

Klaudia Waszczykowska<sup>1\*</sup>, Damian Kołat<sup>1,2</sup>, Żaneta Kałuzińska-Kołat<sup>1,2</sup>, Elżbieta Płuciennik<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Genomiki Funkcjonalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Żeligowskiego 7/9, 90-752, Łódź

<sup>2</sup> Zakład Biomedycyny i Chirurgii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Narutowicza 60, 90-136, Łódź

\* email autora do korespondencji: [klaudia.waszczykowska@stud.umed.lodz.pl](mailto:klaudia.waszczykowska@stud.umed.lodz.pl)

Numery ORCID: KW: 0000-0003-3102-3419; DK: 0000-0002-1086-3796; ŻKK: 0000-0002-2335-3293; EP: 0000-0002-6682-0402

Nowotwór piersi zalicza się do najczęstszego typu nowotworu na świecie wśród kobiet, stanowiąc piątą najczęstszą przyczynę zgonów związaną z tym schorzeniem. Dlatego też wczesne wykrycie oraz skuteczna klasyfikacja typów raka piersi są kluczowe dla poprawy rokowań pacjentek. Istnieje więc nagląca potrzeba identyfikacji nowych biomarkerów o znaczeniu diagnostycznym i prognostycznym. Szlak sygnałowy Wnt regularnie ulega zaburzeniom w procesie kancerogenezy, co jest szczególnie często obserwowane w raku piersi. Dodatkowo, ścieżka ta jest istotna także w rozwoju embrionalnym, regulacji cyklu komórkowego, czy odnowie komórek macierzystych.

Celem niniejszego projektu było ustalenie nowych paneli biomarkerów w formie sygnatur genów związanych z szlakiem Wnt o znaczeniu diagnostycznym i prognostycznym u pacjentek z rakiem piersi. W tym celu wykorzystano dane od pacjentek z repozytorium TCGA i przeprowadzono analizy bioinformatyczne, takie jak analiza ważonej współekspresji genów oraz różnic ekspresji genów, estymacja przeżycia metodą Kaplana-Meiera, ocena modelu regresji logistycznej i krzywych ROC. Dodatkowo wykonano ocenę ontologii wyselekcjonowanych genów i analizę sieci wzajemnej zależności białek, co pozwoliło na lepsze poznanie procesów biologicznych istotnych w raku piersi. Badanie to pozwoliło na wyodrębnienie czterech sygnatur: panel trzech genów *TTC8*, *SLC7A5*, *PLCH1* okazał wartość prognostyczną dla oceny całkowitego czasu przeżycia, zaś *ZNF695*, *SLC7A5*, *PLCH1* dla oceny ryzyka wznowy choroby w zależności od obecności receptora estrogenowego. Dwie kolejne sygnatury wykazywały zróżnicowanie pomiędzy tkanką prawidłową a nowotworową i były to następujące geny: *SPC25*, *ANLN*, *KPNA2*, *SLC7A5* - wykazujące zależność z oceną całkowitego czasu przeżycia pacjentek, oraz *SPC25*, *KIF20A*, *SKA3*, *DTL*, *CDCA3*, *ANLN*, *TTK*, *RAD54L*, *MYBL2*, *ZNF695*, *SLC7A5* - dla oceny ryzyka wznowy.

Wyselekcjonowane sygnatury mogą przyczynić się do poprawy diagnostyki i/lub rokowania pacjentek z rakiem piersi. Takie panele mogą także pełnić funkcję zestawów celów terapeutycznych w kontekście dalszej terapii nowotworowej.

## Wpływ dostępności składników odżywczych na ekspresję czynników indukowanych hipoksją w raku piersi

Karolina Wilk<sup>1\*</sup>, Karolina Kozal<sup>1</sup>, Monika Jarosiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Cytobiochemii, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

\* email autora do korespondencji: UL0245944@edu.uni.lodz.pl

Numerory ORCID: KK: 0000-0001-6879-3674; MJ: 0000-0003-3104-4025

Rak piersi jest najczęściej wykrywanym nowotworem złośliwym wśród kobiet. Coraz więcej dowodów wskazuje, że niedotlenione mikrośrodowisko guza, które ma kluczowe znaczenie podczas rozwoju raka, odgrywa istotną rolę w regulacji progresji raka piersi i przerzutów. Kluczowym elementem wykrywania i reagowania komórki na zmiany stężenia tlenu jest czynnik indukowany hipoksją (HIF). Odgrywa on istotną rolę w utrzymaniu tak zwanego efektu Warburga, obejmującego zjawisko metabolizmu glukozy do kwasu mlekowego, niezależnie od stężenia tlenu.

HIF występuje w postaci trzech izoform, najbardziej znane są HIF-1 i HIF-2. HIF-1 jest najpowszechniej występującą w komórkach izoformą, natomiast HIF-2 ulega ekspresji głównie w komórkach śródbłonna, odgrywając ważną rolę w angiogenezie i utrzymaniu równowagi wewnątrz komórki. Aktywacja HIF w warunkach hipoksji w różnych typach nowotworów jest zjawiskiem powszechnie znanym, jednak brakuje informacji jak na jego ekspresję wpływa różna dostępność składników odżywczych. Jest to o tyle istotne, że współistniejące choroby metaboliczne, takie jak otyłość czy cukrzyca oraz hiperglikemia, mogą pogorszyć rokowania pacjentów z rakiem piersi. Biorąc pod uwagę rolę czynników HIF w procesie progresji nowotworów istotnym będzie również zbadanie zależności pomiędzy zmianami ekspresji i stabilności czynników HIF a zdolnością komórek do migracji. Dzięki testowi gojenia się ran, możemy stwierdzić potencjał migracyjny komórki.

Modelem komórkowym wykorzystanym w badaniach są dwie linie komórkowe raka piersi: hormonozależna MCF-7 oraz niezależna od hormonów MDA MB-231. Wstępne wyniki badań pozwalają nam stwierdzić, iż różna dostępność składników odżywczych ma wpływ na poziom czynnika transkrypcyjnego HIF oraz migrację komórek nowotworowych. Dotychczas najpowszechniej badano inwazję komórek nowotworowych w kontekście dostępności glukozy, podczas gdy prowadzone przez nas badania wykazały, że dostępność glutaminy może również mieć znaczenie dla potencjału inwazyjnego komórek raka piersi.



## Geny stymulowane przez IFN- $\gamma$ są zaangażowane w pyroptotyczną śmierć komórki w odpowiedzi na zakażenie *Shigella flexneri*

Aleksandra Bajger<sup>1\*</sup>, Łukasz S. Borowski<sup>2,3</sup>, Roman J. Szczęsny<sup>3</sup>, Michał P. Wandel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pracownia Odporności Wewnątrzkomórkowej, Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa

<sup>2</sup> Instytut Genetyki i Biotechnologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa

<sup>3</sup> Pracownia Biologii RNA, Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa

\* email autora do korespondencji: abajger@ibb.waw.pl

Numerory ORCID: AB: 0000-0002-6358-5259; ŁSB: 0000-0003-3766-0726; RJS: 0000-0002-0686-1632; MPW: 0000-0002-5275-5881

Układ wrodzonej odpowiedzi odpornościowej rozpoznaje zagrożenia dzięki obecności receptorów rozpoznających wzorce (ang. *pattern recognition receptors* – PRRs). PRRs rozpoznają cząsteczki charakterystyczne dla drobnoustrojów, które określa się mianem wzorców molekularnych związanych z patogenami (ang. *pathogen associated molecular patterns* – PAMPs). Jednym z najbardziej istotnych PAMP jest składnik błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych – lipopolisacharyd (LPS).

W przeszłości udowodniono, że stymulacja interferonem-gamma (IFN- $\gamma$ ) ssaczych komórek nabłonkowych prowadziła do zwiększonej ekspresji genów kodujących m.in. GTP-azy wiążące guanyliny (ang. *guanylate-binding proteins* – GBPs), kaspazę-4 czy gasderminę-D. Białka te w wyniku wykrycia w cytozolu komórek ssaczych bakteryjnego LPSu aktywowały kaskadę zdarzeń prowadzących do pyroptozy - wysoko zapalnej śmierci komórkowej. Badania przeprowadzone w ostatnim czasie sugerują, że inne białka, których ekspresja również jest stymulowana przez IFN- $\gamma$  mogą być zaangażowane w proces obrony przed patogenami wewnątrzkomórkowymi poprzez udział w szlaku pyroptotycznej śmierci komórkowej.

W celu odnalezienia nieopisanych dotąd czynników, które są zaangażowane w proces pyroptotycznej śmierci komórkowej wykonano przeszukanie z użyciem samodzielnie zaprojektowanej biblioteki małych interferujących RNA (ang. *small interfering RNA* – siRNA), zdolnych do wyciszenia ekspresji genów stymulowanych przez IFN- $\gamma$ . Komórki ludzkiej linii HeLa, traktowane siRNA, stymulowano IFN- $\gamma$  i infekowano *Shigella flexneri*. W wyniku tego badania, 6 genów zostało wytypowanych do dalszych badań jako potencjalnie istotne czynniki zaangażowane w przebieg pyroptozy. Aby potwierdzić ich rolę w procesie pyroptotycznej śmierci komórkowej zostały zastosowane techniki takie jak: nadekspresja białek odpowiadających za obserwowany fenotyp czy mutageniza ukierunkowana z wykorzystaniem CRISPR/Cas9.

Poznanie roli zidentyfikowanych genów umożliwi lepsze zrozumienie interakcji jakie zachodzą między komórkami gospodarza a patogenami, co może odegrać zasadniczą rolę w tworzeniu nowych szczepionek lub leków, zwłaszcza w erze post antybiotykowej.

## Ocena wpływu niekonwencjonalnych metod obróbki wstępnej oraz suszenia na jakość mikrobiologiczną owadów jadalnych

Radosław Bogusz<sup>1\*</sup>, Katarzyna Pobiega<sup>2</sup>, Małgorzata Nowacka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Instytut Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776, Warszawa

<sup>2</sup> Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Instytut Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776, Warszawa

\* email autora do korespondencji: [radoslaw\\_bogusz@sggw.edu.pl](mailto:radoslaw_bogusz@sggw.edu.pl)

Numery ORCID: RB: 0000-0003-2547-7561; KP: 0000-0003-3532-8666; MN: 0000-0003-4689-6909

Owady jadalne wskazuje się jako jedno z najbardziej obiecujących alternatywnych źródeł żywności, ze względu na wysoką wartość odżywczą oraz mniejszy wpływ ich hodowli na środowisko naturalne. Pomimo tych zalet, owady nie są wolne od zagrożeń mikrobiologicznych. Można je jednak zminimalizować lub wyeliminować, przeprowadzając właściwą obróbkę technologiczną. Suszenie jest jednym z najczęściej wybieranych sposobów utrwalania surowców, ponieważ poprzez zmniejszenie zawartości wody wolnej w materiale ogranicza się możliwość wzrostu drobnoustrojów. Ponadto, aby zwiększyć ten efekt, suszenie można poprzedzić obróbką wstępną. Spośród dostępnych niekonwencjonalnych możliwości, zastosowanie obróbki wstępnej z wykorzystaniem pulsacyjnego pola elektrycznego (PEF) albo immersji w alkoholu etylowym (EtOH) wydaje się być obiecującym kierunkiem badań.

Celem badań była ocena wpływu niekonwencjonalnych metod obróbki wstępnej (pulsacyjne pole elektryczne oraz immersja w alkoholu etylowym) przed suszeniem konwekcyjnym na jakość mikrobiologiczną suszu z mącznika młynarka (*Tenebrio molitor* L.). Larwy mącznika młynarka (w całości) zostały poddane obróbce PEF i/lub immersji w alkoholu etylowym, a następnie wysuszone metodą konwekcyjną. W uzyskanym suszu oznaczono ogólną liczbę drobnoustrojów (OLD), ogólną liczbę grzybów (OLG), liczbę bakterii tlenowych przetrwalnikujących i liczbę bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*.

Zastosowanie suszenia zmniejszyło zanieczyszczenie mikrobiologiczne badanego materiału. Suszenie w połączeniu z obróbką wstępną dodatkowo obniżyło liczbę badanych drobnoustrojów, przy czym większy efekt zaobserwowano w suszach poddanych immersji w alkoholu etylowym. Przeprowadzone badania wskazują, że zastosowanie niekonwencjonalnych metod obróbki pozwala poprawić jakość mikrobiologiczną suszu, ale nie na tyle, aby spełnione były kryteria mikrobiologiczne dla tego typu żywności. W związku z powyższym, potrzebne są dalsze badania w celu optymalizacji tych metod oraz otrzymania suszy bezpiecznych mikrobiologicznie.

## Ocena antybiotykowrażliwości szczepów *E. faecalis* i *E. faecium* izolowanych z kału zwierząt dziko żyjących z uwzględnieniem nowych opcji terapeutycznych.

Wiktor Borkowski<sup>1\*</sup>, Krzysztof Skowron<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Katedra Mikrobiologii, ul. M. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz

\* email autora do korespondencji: wiktorborkowski1@gmail.com

Numery ORCID: WB: 0009-0004-2254-7696; KS: 0000-0003-0868-864X

Zoonozy, czyli choroby odzwierzęce stanowią nawet do 60% wszystkich chorób zakaźnych występujących u ludzi, a drobnoustroje wywołujące te zakażenia mogą być izolowane również od zwierząt dziko żyjących. Koncepcja „ONE HEALTH” jest to inicjatywa stworzona i propagowana przez Światową Organizację Zdrowia, która zakłada równoważne podejście do zdrowia ludzi, zwierząt i środowiska. Jednym z jej działań jest profilaktyka i zwalczanie chorób odzwierzęcych. Wśród drobnoustrojów, które mogą wywoływać zakażenia zarówno u ludzi, jak i u zwierząt są ziarenkowce z rodzaju *Enterococcus*. Bytują one głównie w układzie pokarmowym ludzi i innych ssaków, u których stanowią składnik naturalnej mikrobioty, ale mogą też być przyczyną zakażeń oportunistycznych. Enterokoki wykazują naturalną, bądź nabytą oporność na kilka grup antybiotyków, przez co mogą stanowić duże wyzwanie terapeutyczne. W związku z narastającą opornością *Enterococcus* spp. na coraz większą liczbę substancji przeciwdrobnoustrojowych, poszukuje się nowych opcji terapeutycznych. Jednymi z obiecujących antybiotyków są erawacyklina i linezolid.

Celem pracy była ocena antybiotykkooporności szczepów *E. faecalis* i *E. faecium* izolowanych z próbek kału zwierząt dziko żyjących na wybrane antybiotyki, z uwzględnieniem nowych opcji terapeutycznych w zwalczaniu zakażeń o etiologii *Enterococcus* spp.

Materiał do badań stanowiło 98 próbek kału pochodzących od zwierząt dziko żyjących, które zebrano z terenów leśnych i stref ekotonowych. Bakterie wyosobniono z odchodów poprzez posiew na podłoża selektywne, a identyfikację gatunkową przeprowadzono przy użyciu systemu MALDI TOF. Antybiotykkooporność oceniono metodą krążkowo-dyfuzyjną, zgodnie z rekomendacjami Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości (EUCAST v. 13). Określono występowanie fenotypów VRE, HLSR, HLGR i HLAR. Na podstawie uzyskanych wyników opracowano profile antybiotykkooporności.

W badanych próbkach kału stwierdzono występowanie 38 szczepów *E. faecalis* i 9 szczepów *E. faecium*. Najwięcej szczepów *E. faecalis* występowało w próbkach pochodzących od zająca, a najwięcej szczepów *E. faecium* pochodziło z próbek kału dzika. W przypadku *E. faecalis* najczęściej stwierdzano oporność na erawacyklinę (50%) i linezolid (31,6%). Wobec ampicyliny i ciprofloksacyny wszystkie szczepy wykazywały wrażliwość. Z kolei najwięcej szczepów *E. faecium* było opornych na chinuprystynę/dalfoprystynę (44,4%), a najmniej na erawacyklinę (11,1%) i ampicylinę (11,1%). W przypadku badanych szczepów wykryto fenotypy HLSR, HLGR i HLAR. Wykryto szczepy MDR. W badanej populacji szczepów XDR i PDR nie stwierdzono.

## Ocena antybiotykowrażliwości szczepów *Enterococcus* spp. izolowanych ze środowiska ferm zwierząt

Julia Czuba<sup>1\*</sup>, Agnieszka Ratajczak<sup>1</sup>, Katarzyna Grudlewska-Buda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Katedra Mikrobiologii, ul. M. Curie Skłodowskiej 9, 85-094, Bydgoszcz

\* email autora do korespondencji: [juliacz113@gmail.com](mailto:juliacz113@gmail.com)

Numer ORCID: KGB: 0000-0002-5730-940X

Ziarenkowce z rodzaju *Enterococcus* to szeroko rozpowszechnione w środowisku naturalnym bakterie oportunistyczne. Zarówno zwierzęta gospodarcze, jak i środowisko ich życia stanowią rezerwuar szczepów *Enterococcus* spp. wywołujących zakażenia u ludzi, głównie hodowców, rolników oraz weterynarzy. Najczęściej izolowanymi od ludzi gatunkami są *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium*. Ze względu na ich właściwości, są zdolne do nabywania oporności na leki przeciwbakteryjne.

Celem pracy była identyfikacja i ocena antybiotykowrażliwości *Enterococcus* spp. izolowanych ze środowiska wybranych ferm zwierząt.

Materiał do badań stanowiło 441 szczepów pochodzących ze środowiska kurników, obory oraz chlewni. Identyfikacji gatunkowej wyizolowanych szczepów dokonano przy użyciu techniki MALDI–TOF MS. Następnie, bakterie należące do rodzaju *Enterococcus* poddano ocenie wrażliwości na antybiotyki z zastosowaniem metody krążkowo – dyfuzyjnej zgodnie z zaleceniami Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości (EUCAST, wersja 14.0).

W przeprowadzonym badaniu stwierdzono występowanie 441 szczepów bakteryjnych. Rodzaj *Enterococcus* był reprezentowany przez 336 (76,2%) z nich, z czego 200 (59,5%) pochodziło z chlewni, 104 (31,0%) z kurników, a 32 (9,5%) z obory. Wyosobnione szczepy należały do 8 gatunków *Enterococcus* spp., przy czym z najwyższą częstością izolowano szczepy reprezentujące gatunki: *E. hirae* – 144 (42,9%), *E. faecium* – 99 (29,5%) oraz *E. faecalis* – 70 (20,8%). Ocena wrażliwości drobnoustrojów na antybiotyki wykazała, że 254 (75,6%) badanych szczepów było opornych na co najmniej jeden lek przeciwbakteryjny. Stwierdzono zróżnicowany poziom oporności bakterii na stosowane antybiotyki w zależności od miejsca izolacji, jednak największa liczba badanych szczepów wykazywała oporność na streptomycynę (n=181, 53,9%). Najniższy odsetek oporności stwierdzono w przypadku teikoplaniny (n=2, 0,6%). Wykazano występowanie 82 (24,4%) szczepów wielolekoopornych (ang. multidrug – resistant, MDR) pochodzących ze środowiska ferm zwierząt, z czego najwięcej pochodziło z kurników (n=62, 75,6%).

Przeprowadzone badania wykazały zróżnicowanie gatunkowe wśród szczepów *Enterococcus* spp. izolowanych ze środowiska ferm zwierząt. W badaniu stwierdzono występowanie szczepów opornych na co najmniej jeden antybiotyk, jak i kilka klas leków przeciwbakteryjnych, w tym szczepów MDR.

## Nanocząstki jako potencjalnie nowy środek przeciwdrobnoustrojowy do zapobiegania *mastitis* u bydła mlecznego

Magdalena Kot<sup>1\*</sup>, Sławomir Jaworski<sup>2</sup>, Agata Lange<sup>2</sup>, Marcin Gołębiowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Instytut Nauk o Zwierzętach, ul. Jana Ciszewskiego 8, 02-786, Warszawa

<sup>2</sup> Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Instytut Biologii, ul. Jana Ciszewskiego 8, 02-786, Warszawa

\* email autora do korespondencji: magdalena\_kot@sggw.edu.pl

Numery ORCID: MK: 0000-0002-2002-163X; SJ: 0000-0002-4619-941X; AL: 0000-0003-1523-083X; MG: 0000-0003-0645-433X

Do jednych z najczęściej występujących chorób bydła mlecznego należy zapalenie wymienia, czyli *mastitis*. W leczeniu wykorzystywana jest antybiotykoterapia, jednak jej nieracjonalne stosowanie jak i nadużywanie z czasem doprowadziło do wytworzenia przez bakterie oporności. Wiele doniesień sugeruje, że skuteczną alternatywą dla antybiotyków, mogą być nanocząstki metali (NPs) ze względu na ich biobójcze właściwości. Celem badań było sprawdzenie wpływu działania nanocząstek złota srebra i miedzi (AuNPs, AgNPs, CuNPs) oraz ich kompleksów na przeżywalność patogenów izolowanych z próbek mleka krów u których zdiagnozowano *mastitis*.

Materiał biologiczny stanowiło mleko pobrane od krów u których stwierdzono zapalenie wymienia (LKS>400 tys./ml). Do posiewów mikrobiologicznych wykorzystano specjalistyczne podłoża selektywne: Mannitol Salt Lab Agar, Chromogenic Uri-Color Lab Agar, Edwards Lab Agar (Biomaxima, Lublin, Polska). Przygotowane posiewy inkubowano w 37°C przez 24 godziny. Wyhodowane kolonie zidentyfikowano przy użyciu Maldi-Tof (Bruker, Polska). Przygotowaną zawiesinę bakteryjną oraz hydrokoloidy nanocząstek pipetowano na płytki 96-dołkowe tak, aby końcowe stężenia NPs wynosiły: 0,78; 6,25; 12,5 mg/l. Inkubację prowadzono przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Po 24 godzinach do każdego dołka dodano odczynnik XTT (Invitrogen, Waltham, MA, USA) i kontynuowano inkubację przez następne 24 godziny. Po upływie tego czasu odczytano absorbancję spektrofotometrycznie dla długości fali 570 nm (Tecan, Durham, NC, USA).

Kompleksy nanocząstek wykazywały silniejsze właściwości biobójcze niż pojedyncze nanocząstki, potwierdzając ich synergistyczne działanie. Najsilniejsze właściwości biobójcze wykazał kompleks AgCuNP, który przy najniższym stężeniu 0,78 mg/l zmniejszył przeżywalność patogenów takich jak *S. uberis*, *S. sciuri*, *E. coli* i *S. aureus* o 95-97%. *S. uberis* dla stężeń 6,25-12,5 mg/l dla tego kompleksu wykazywał 0% przeżywalności, podobnie jak *S. marcescens* dla stężeń 12,5 mg/l. *C. koseri* okazała się najbardziej oporną bakterią dla najniższego stężenia (0,78 mg/l), jednak wskaźnik przeżywalności spadł o około 60% po zastosowaniu tego stężenia

Leczenie zapalenia wymienia oparte na antybiotykach jest nieskuteczne ze względu na antybiooporność wśród bakterii. Ponadto ich stosowanie zaostrza problem grzybiczego zapalenia wymienia zwiększając jego odsetek. *Mastitis* nadal jest globalnym problemem bez skutecznych alternatywnych metod leczenia. Testy *in vitro* wykazały, że stosowanie AgCuNPs może mieć pozytywny wpływ na leczenie i prewencję *mastitis*, jednak konieczne są dalsze eksperymenty *in vivo* w celu potwierdzenia ich właściwości biobójczych w terenie.

## Grzyby z rodzaju *Trichoderma* sp. podstawą biopreparatów wspomagających ochronę i wzrost roślin uprawnych

Adrianna Kubiak<sup>1\*</sup>, Agnieszka Wolna-Maruwka<sup>1</sup>, Agnieszka Pilarska<sup>2</sup>,  
Alicja Niewiadomska<sup>1</sup>, Katarzyna Panasiewicz<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań

<sup>2</sup> Katedra Inżynierii Wodnej i Sanitarnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Piątkowska 94A, 60-649 Poznań

<sup>3</sup> Katedra Agronomii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

\*email autora do korespondencji: [adrianna.kubiak@up.poznan.pl](mailto:adrianna.kubiak@up.poznan.pl)

Numery ORCID: AK: 0009-0000-5260-1789; AWM: 0000-0003-0421-6071; AP: 0000-0001-6128-0315; AN: 0000-0002-4237-6407; KP: 0000-0001-6447-9557

Podstawowym wyzwaniem współczesnej praktyki rolniczej jest poszukiwanie innowacyjnych środków wspomagających ochronę i rozwój roślin uprawnych, które nie będą stanowiły zagrożenia dla zdrowia ludzi i naturalnego ekosystemu. Badania wskazują, że alternatywą pozwalającą na utrzymanie produkcji roślinnej na odpowiednim poziomie, przy jednoczesnym spełnieniu wymagań programów unijnych dotyczących zrównoważonego rolnictwa, jest rozwój rynku biologicznych środków ochrony i promowania wzrostu roślin. W związku z powyższym celem przeprowadzonych badań było wyselekcjonowanie grzybów z rodzaju *Trichoderma* sp., które stanowiąc będą podstawę biofungicydów i środków stymulujących rozwój roślin uprawnych.

Pierwszym etapem badań było wyizolowanie grzybów z rodzaju *Trichoderma* sp. z próbek środowiskowych oraz analiza ich wzrostu i zarodnikowania w zmiennych warunkach środowiska. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że 27 szczepów cechuje wysoki poziom tolerancji na różne zakresy temperatury otoczenia oraz pH podłoża. Następnie oceniono zdolność grzybów do produkcji metabolitów. Wyniki analiz spektrofotometrycznych wykazały, że wszystkie analizowane szczepy *Trichoderma* sp. wytwarzają proteazy odpowiedzialne za degradację enzymów, ścian i błon komórkowych grzybów patogennych, a także fosfatazy, które przemieniają obecny w glebie fosfor organiczny, który jest niedostępny dla rośliny, w postać mineralną, która może być przyswajana przez roślinę za pomocą jej systemu korzeniowego. Z kolei analiza jakościowa solubilizacji fosforanu wapnia potwierdziła hipotezę, że omawiana grupa drobnoustrojów potrafi mineralizować związki fosforu także poprzez mechanizm wytwarzania kwasów organicznych. Kolejnym etapem badań było określenie zdolności pozyskanych izolatów do produkcji auksyn odpowiedzialnych za zwiększenie powierzchni korzeni, co umożliwi roślinie szybsze pobieranie wody i składników pokarmowych z podłoża. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że 7 szczepów *Trichoderma* sp. wytwarza omawiane fitohormony na wysokim poziomie. Ponadto zauważono, że analizowane drobnoustroje są w stanie rozwijać się na pożywkach, gdzie jedynym źródłem węgla jest glukoza. Ostatnim etapem badań było określenie zdolności antagonistycznych kultur *Trichoderma* sp. w stosunku do grzybów patogennych. Bezpośrednia konfrontacja w bikulturze wykazała, że 10 izolatów znacznie ograniczało rozwój *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium redolens*, *Sclerotinia sclerotiorum* oraz *Alternaria* sp.

## ”ECbiom” – dotychczasowa wiedza i dalsze perspektywy badań

Olga Kuźmycz<sup>1\*</sup>, Aleksandra Kowalczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Mikrobiologii Molekularnej, Instytut Mikrobiologii, Immunologii i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 93-277 Łódź

\*email autora do korespondencji: [olga.kuzmycz@biol.uni.lodz.pl](mailto:olga.kuzmycz@biol.uni.lodz.pl)

Numerory ORCID: OK: 0000-0002-1709-2971; AK: 0000-0001-9607-7173

Projekt poznania mikrobiomu ludzkiego (ang. Human Microbiome Project) przyczynił się do znacznego pogłębienia wiedzy na temat składu mikrobiomu oraz jego dynamicznych zmian w kontekście różnych stanów, w szczególności patofizjologicznych. Szacuje się, że około 15% wszystkich nowotworów może mieć podłoże mikrobiologiczne. Dysbioza flory endometrialnej, czyli nieprawidłowości w zróżnicowaniu mikroorganizmów obecnych w błonie śluzowej macicy, może stanowić istotny czynnik wspomagający te procesy. W literaturze naukowej istnieją rozbieżności w raportowanych gatunkach bakterii w materiale biologicznym pochodzącym od kobiet z nowotworem endometrium. Skład mikrobiomu endometrium może być różnorodny, podlegając wpływowi takich czynników jak wiek kobiety, faza cyklu miesięczkowego, indeks masy ciała, dieta oraz przynależność etniczna. W kontekście tych ustaleń literaturowych, nasz zespół zainicjował badania mające na celu identyfikację mikrobioty endometrium zmienionego nowotworowo u kobiet w populacji polskiej. W tym celu pobrano wymazy dystalnej części kanału szyjki macicy od 13 kobiet z mięśniakiem macicy oraz od 16 kobiet z nowotworem endometrium, we współpracy ze Szpitalem Klinicznym im. F. Chopina w Rzeszowie, zgodnie z protokołami badawczymi. DNA bakterii zostało ekstrahowane z wymazów z zastosowaniem komercyjnego zestawu DNazy Power Soil Kit (Qiagen) z pewnymi modyfikacjami. Genotypowanie mikrobiomu prób przeprowadzono przy użyciu platformy Illumina MiSeq we współpracy z Biobankiem Uniwersytetu Łódzkiego, badając zmienne regiony V3-V4. Wyniki naszych badań jednoznacznie wskazują na większą różnorodność mikroorganizmów w próbkach pochodzących od kobiet z nowotworem endometrium w porównaniu do kobiet z mięśniakiem macicy. Dodatkowo wyniki analiz sugerują, że *Anaerococcus* może być istotnym taksonem różnicującym próbki nowotworu trzonu macicy od mięśniaka macicy, zatem przeprowadzono badania w celu wstępnej oceny wirulencji *Anaerococcus vaginalis* wobec komórek endometrium niezmiennych nowotworowo. W tym celu zbadany został potencjał adhezyjny szczepu w stosunku do fibroblastów jamy macicy linii HUF, przy użyciu barwnika BacLight Green (Invitrogen), a także wykonano ocenę wpływu badanych bakterii na wzrost reaktywnych form tlenu komórek ludzkich, przy użyciu sondy H<sub>2</sub>DCF-DA (Thermo). W badaniach tych wykorzystano bezpośrednią kohodowlę bakterii wraz z badanymi komórkami ludzkimi przy MOI 0.5 przez 24 godziny. Wykazano istotny wpływ badanego szczepu na wzrost reaktywnych form tlenu badanych komórek ludzkich. Obecnie trwają dalsze badania mające na celu lepsze zrozumienie interakcji pomiędzy patogenem a komórkami gospodarza.

Pracę zrealizowano w ramach konkursu NCN SONATA 17 (UMO-2021/43/D/NZ7/01386).

## Charakterystyka i analiza porównawcza sekwencji genomowych szczepów *Proteus mirabilis* K2796, K2058, K1674

Leon Petruńko<sup>1\*</sup>, Klaudia Musiał<sup>1</sup>, Dawid Gmitter<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii, Instytut Biologii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce

<sup>2</sup> Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096, Warszawa

\*email autora do korespondencji: leonpetrunko@gmail.com

Numery ORCID: LP: 0009-0004-8346-5440; KM: 0009-0001-0657-2304; DG: 0000-0001-8663-129X

*Proteus mirabilis* to Gram-ujemna pałeczka, niedawno umieszczona w rodzinie *Morganellaceae*. Odpowiedzialna jest za wiele przypadków zakażeń przewodów moczowych, szczególnie u pacjentów szpitali oraz domów opieki z założonym cewnikiem. Naturalnie występuje w środowisku oraz wchodzi w skład flory bakteryjnej ludzkiego przewodu pokarmowego. Przewlekłe zakażenia dróg moczowych spowodowane przez tę bakterię mogą prowadzić do poważnych powikłań, np. kamicy.

Celem tej pracy była charakterystyka i analiza porównawcza sekwencji genomowych szczepów *P. mirabilis* K12796, K2058 oraz K1674 pochodzących od pacjentów Świętokrzyskiego Centrum Onkologicznego w Kielcach, przy użyciu metod *in silico*.

Wyizolowane genomowe DNA poddano sekwencjonowaniu z wykorzystaniem technologii odczytów sparowanych (2 x 150 pz) Illumina NextSeq. Surowe odczyty poddano trymowaniu oraz asemblacji do postaci kontigów, z wykorzystaniem kolejno programów Trimmomatic (v0.39) oraz Unicycler (Galaxy Version 0.4.8.0). Program Mauve (v2.4.0) wykorzystano celem uporządkowania uzyskanych kontigów oraz porównania ogólnej struktury genomów. Adnotacji funkcjonalnej sekwencji dokonano przy pomocy serwera Rapid Annotation Subsystems Technology (RAST). Program ten wygenerował również podstawowe informacje dotyczące jakości uzyskanych sekwencji. Dodatkowo dokonano analizy podobieństwa genomów wykorzystując współczynnik *Average Nucleotide Identity* (ANI) przy pomocy programu fastANI. W analizach wykorzystano sekwencje genomu szczepu *P. mirabilis* HI4320 jako sekwencje referencyjną.

Przeprowadzony proces asemblacji pozwolił na uzyskanie sekwencji o długości 3963540 pz (52 kontigów), 4000327 pz (60 kontigów) oraz 3963643 pz (51 kontigów), kolejno dla szczepów K12796, K2058 oraz K1674. Parametry jakościowe uzyskanych sekwencji odpowiadają danym literaturowym. Analiza filogenetyczna ujawniła, że badane szczepy są ze sobą blisko spokrewnione (99,94 – 100% podobieństwa wyrażonego współczynnikiem ANI). Wysokie podobieństwo genetyczne wskazuje, że szczepy są swoimi klonami.

Analiza porównawcza sekwencji genomowych powyższych szczepów, zarówno pod względem podobieństwa sekwencji, jak i funkcjonalności ich genów, poszerzy wiedzę o zmienności gatunku *P. mirabilis*.



## Synteza kwasu laktobionowego z zastosowaniem grzybowych enzymów oksydoredukcyjnych

Wiktorija Piątek-Gołda<sup>1\*</sup>, Justyna Sulej<sup>1</sup>, Monika Osińska-Jaroszuk<sup>1</sup>, Marcin Grąż<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Marii-Curie Skłodowskiej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

\*email autora do korespondencji: wiktoria.piatek-golda@mail.umcs.pl

Numery ORCID: WPG: 0000-0001-7593-2302; JS: 0000-0003-2220-7558; MOJ: 0002-3465-0461; MG: 0000-0002-9899-8707

Kwas laktobionowy (ang. lactobionic acid, LBA) jest polihydroksykwasem powstającym w wyniku utleniania laktozy. Produkcja LBA może zachodzić w wyniku syntezy chemicznej, ale coraz częściej używa się metod biotechnologicznych z zastosowaniem mikroorganizmów lub układów biokatalitycznych zawierających enzymy oksydoredukcyjne. Ze względu na swoje właściwości, między innymi chelatujące, nawilżające, czy przeciwutleniające, LBA znalazł zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym, chemicznym, spożywczym, a także w medycynie. Mimo ogromnego potencjału biotechnologicznego zastosowanie kwasu laktobionowego jest nadal częściowo ograniczone ze względu na niską efektywność, wysokie koszty syntezy, a czasem również regulacje prawne.

Celem pracy była intensyfikacja syntezy kwasu laktobionowego z zastosowaniem unieruchomionych enzymów: dehydrogenazy celobiozowej z *Phanerochaete chrysosporium* (PchCDH) i lakazy z *Cerrena unicolor* (CuLAC) na mikrosferach chitosanowych.

Do aktywacji chitosanu użyto trzech różnych czynników modyfikujących powierzchnię nośnika: genipinę (GEN), aldehyd glutarowy (GA) oraz polietylenoiminę (PEI). Do określenia wydajności procesu konwersji zastosowano cienkowsarstwową chromatografię cieczową (TLC) oraz wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC).

Uzyskane wyniki pokazują, że rodzaj użytego aktywatora powierzchni nośnika wpływa na skuteczność wiązania enzymu z matrycą. Co więcej, ilość utworzonego LBA zależy od rodzaju zastosowanego systemu białymatycznego. Najbardziej optymalne okazało się zastosowanie układu, w którym jeden z enzymów jest unieruchomiony na nośniku aktywowanym PEI (PchCDH), a drugi (CuLAK) jest wolny, gdyż taki układ pozwala na niemal 100% konwersję laktozy do kwasu laktobionowego.

Na podstawie przeprowadzonych badań można wnioskować, że enzymy oksydoredukcyjne pochodzenia grzybowego mogą z powodzeniem być stosowane do syntezy kwasu laktobionowego. Uzyskane wyniki świadczą o dużym potencjale biotechnologicznym badanego przez nas układu do syntezy LBA.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr **2023/49/N/NZ9/00375** finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

## Wpływ mikroplastiku PBAT na biodegradację pestycydów przez *Trichoderma sp.*

Volha Rusetskaya<sup>1\*</sup>, Przemysław Bernat<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Łódzki, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź.

<sup>2</sup> Uniwersytet Łódzki, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź.

\* email autora do korespondencji: [volha.rusetskaya@edu.uni.lodz.pl](mailto:volha.rusetskaya@edu.uni.lodz.pl)

Numery ORCID: VR: 0000-0002-3757-4206; PB: 0000-0002-5589-1555

Biodegradowalne plastiki mogą stanowić ekologiczną alternatywę dla popularnych tworzyw sztucznych. Niestety, proces ich degradacji w środowisku naturalnym przebiega stosunkowo długo, w związku z czym długotrwała obecność bioplastików wpływa na funkcjonowanie skażonych środowisk. W trakcie starzenia biomateriału powstają mikrocząstki (MP) o innych od wyjściowego tworzywa właściwościach oraz z dużą powierzchnią sorpcyjną, przyczyniając się do akumulacji innych potencjalnie szkodliwych związków. Zaobserwowano, że adsorpcja pestycydów oraz metali ciężkich przez tworzywa wpływała na zmniejszenie ich biodostępność dla otaczających drobnoustrojów w miejscu skażenia. Dodatkowo cząsteczki MP mogą pełnić rolę wektorów dla ksenobiotyków i przenosić je na kolejne poziomy troficzne.

Celem prezentowanej pracy było zbadanie wpływu MP PBAT na efektywność eliminacji wybranych herbicydów przez grzyby mikroskopowe o wysokim potencjale degradacyjnym z rodzaju *Trichoderma*.

Wybrane szczepy *Trichoderma* hodowano w płynnym podłożu Sabouraud oraz w glebie z dodatkiem herbicydów w stężeniu 50mg/L i mikroplastiku PBAT w stężeniu od 0,5% do 2% o wielkości cząsteczek do 1000 µm. Ekstrakcje pestycydów przeprowadzono metodą QuEChERS, a ilościowe badanie wykonano techniką chromatografii cieczowej i tandemowej spektrometrii mas (LC-MS/MS) z identyfikacją związków za pomocą techniki MRM (multiple reaction monitoring), pochodne powstałe w procesie degradacji pestycydów oznaczano techniką chromatografii gazowej (GC-MS/MS).

Udowodniono wysoki potencjał wybranych szczepów *Trichoderma* do degradacji badanych pestycydów i oznaczono związki powstające w procesie ich degradacji. Otrzymane wyniki ilościowe wskazują na zdolność MP PBAT do adsorpcji niektórych pestycydów zmniejszając ich biodostępność i tym samym hamując proces biodegradacji przez mikroorganizmy. Adsorpcja pestycydu w tym przypadku zależy od jego właściwości fizyko-chemicznych oraz warunków środowiska oddziaływania.

Praca była finansowana z grantu NCN nr UMO 2020/39/B/NZ9/00471.

## Ocena lekowrażliwości i patogenności szczepów *Escherichia coli* izolowanych z próbek kału zwierząt dziko żyjących

Julia Zakrocka<sup>1\*</sup>, Anna Budzyńska<sup>1</sup>, Krzysztof Skowron<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Katedra Mikrobiologii, ul. M. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz

\*email autora do korespondencji: zakrockajulia@gmail.com

Numery ORCID: AB: 0000-0002-8545-177X; KS: 0000-0003-0868-864X

*Escherichia coli* to Gram-ujemna pałeczka z rodziny *Enterobacteriaceae*, która występuje w różnych środowiskach – wodzie, glebie, stanowi ponadto składnik prawidłowej mikrobioty jelit ludzi i zwierząt stałocieplnych. Może też jednak wywoływać zakażenia, zarówno w, jak i poza układem pokarmowym. Chorobotwórczość szczepów *E. coli* związana jest z obecnością licznych czynników wirulencji. Obecnie duży problem dla systemów ochrony zdrowia na całym świecie stanowi antybiotykooporność bakterii, w tym szczepów *E. coli*. Rezerwuarem szczepów opornych jest nie tylko środowisko szpitalne, czy zwierzęta hodowlane, ale również ssaki dziko żyjące, które odgrywają coraz większą rolę jako czynniki zoonotyczne.

Celem przeprowadzonych badań była ocena lekowrażliwości oraz występowania wybranych genów wirulencji szczepów *E. coli* izolowanych z odchodów różnych gatunków zwierząt dziko żyjących. Spośród 115 próbek kału pozyskanych z obszarów leśnych, w 77 (67,0%) wykryto obecność bakterii *E. coli*. Zgodnie z obowiązującymi rekomendacjami EUCAST (ang. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), przy użyciu metody krążkowo-dyfuzyjnej, oceniano wrażliwość izolowanych szczepów na 20 leków przeciwdrobnoustrojowych. Wykorzystując podłoża chromogenne, metodę dwóch krążków oraz test CIM (ang. Carbapenem Inactivation Method) oceniano częstość występowania beta-laktamaz o szerokim spektrum substratowym. Metodę PCR zastosowano do wykrywania genów *neuC*, *sfa/foc*, *fimA*, *fimH*, *hlyF*, *iutA* i *ibeA*, warunkujących adaptację do niekorzystnych warunków środowiska i ominięcie systemów obrony immunologicznej gospodarza, zdolność do adhezji poprzez obecność fimbrii i białek adhezyjnych, obecność hemolizyn, umiejętność pozyskiwania żelaza oraz predyspozycję do przekraczania bariery krew-mózg.

Wszystkie badane szczepy charakteryzowały się wrażliwością na temocylinę, połączenie piperacyliny z tazobaktamem, cefepim, ceftazydym, ceftriakson, cefuroksym i karbapenemy. Najwyższy odsetek (54,5%) szczepów wykazywał oporność na tigecyklinę. Szczepy wykazywały jednoczesną oporność na maksymalnie 4 antybiotyki. Obecność dwóch szczepów wytwarzających karbapenemazy, wykrytych z użyciem podłoża chromogennych, nie potwierdzono testem CIM. Najczęściej występującymi spośród genów były *fimA* i *fimH* (jednakowo u 92,2% szczepów). Największą liczbę - 6 spośród 7 poszukiwanych genów wykazano u jednego szczepu. W badanej populacji stwierdzono występowanie 11 profili lekowrażliwości i 13 profili wirulencji.

Przedstawione wyniki wskazują na fakt coraz szerszego rozprzestrzeniania się antybiotykooporności szczepów *E. coli* izolowanych od zwierząt.

## Kwas poli- $\gamma$ -glutaminowy przeciwdziała skutkom suszy u łubinu żółtego

Sebastian Burchardt<sup>1\*</sup>, Agata Kućko<sup>2</sup>, Patrycja Wojtaczka<sup>3</sup>, Emilia Wilmowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń, Polska

<sup>2</sup> Katedra Fizjologii Roślin, Instytut Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

<sup>3</sup> Katedra Biochemii, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń, Polska

\* email autora do korespondencji: sburchardt@doktorant.umk.pl

Numery ORCID: SB: 0009-0002-5096-6834; EW: 0000-0002-3663-8132; PW: 0009-0002-6481-3484 ; AK: 0000-0002-4653-1152

Susza jest głównym czynnikiem abiotycznym wpływającym negatywnie na plonowanie roślin uprawnych. U łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.), deficyt wody w glebie prowadzi do przedwczesnego odcięcia kwiatów, co uniemożliwia zawiązanie strąków zawierających nasiona. Istotną zaletą łubinu jest jego zdolność do symbiozy z bakteriami *Bradhyrhizobium lupini*, dzięki czemu wiązany jest azot atmosferyczny i przekształcany w przyswajalny dla rośliny amoniak. Związany w ten sposób azot jest wykorzystywany jako materiał budulcowy oraz odkładany w glebie, zwiększając jej żyzność. Pierwszym miejscem percepcji suszy jest korzeń. W odpowiedzi na stres środowiskowy część z bakterii kolonizujących glebę w strefie korzeniowej, tzw. bakterie ryzosferowe, ma zdolność do wytwarzania substancji obronnych, spośród których istotny jest kwas poli- $\gamma$ -glutaminowy ( $\gamma$ -PGA).

Celem prezentowanych badań było określenie możliwości zastosowania syntetycznego  $\gamma$ -PGA w przeciwdziałaniu skutkom suszy u *L. luteus*.

Z korzeni *L. luteus* wyizolowano RNA (NucleoSpin RNA Plant), które poddano analizie jakościowej i ilościowej. Uzyskany kwas nukleinowy posłużył jako matryca do reakcji odwrotnej transkrypcji (Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit) i syntezy cDNA. Uzyskane cDNA wykorzystano do badania ekspresji genów w czasie rzeczywistym (Real Time PCR). W reakcjach wykorzystano startery komplementarne do sekwencji badanego genu oraz sondy hydrolizujące UPL. Zbadano aktywność transkrypcyjną genów zaangażowanych w powstawanie oraz funkcjonowanie brodawek korzeniowych (*LIBOP*, *BLADE ON PETIOLE*) oraz związane z procesem biosyntezy fitohormonów (*LIACS*, *1-AMINOCYCLOPROPANE-1-CARBOXYLATE SYNTHASE*, *LIACO*, *AMINOCYCLOPROPANECARBOXYLATE OXIDASE*, *LIZEP*, *ZEAXANTHIN EPOXIDASE*).

Wykazaliśmy, że  $\gamma$ -PGA podany roślinom uprawianym w warunkach deficytu wody w glebie reguluje aktywność transkrypcyjną genu *LIBOP*, zaangażowanego w rozwój i funkcjonowanie korzeni oraz brodawek korzeniowych. Egzogenny polimer kwasu glutaminowego moduluje aktywność transkrypcyjną genów kodujących syntazę i oksydazę kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksylogowego (ACC), będącego prekursorem etylenu (ET) – jednego z głównych hormonów stresowych roślin. Ponadto  $\gamma$ -PGA wpływa na poziom mRNA genu *LIZEP*, kodującego epoksydazę zeaksantyny, a więc jeden z kluczowych enzymów biosyntezy kwasu abscysynowego (ABA), który obok ET pojawia się w roślinie w odpowiedzi na stres.

Uzyskane wyniki wskazują, że  $\gamma$ -PGA wpływając na szlaki biosyntezy hormonów stresowych na poziomie transkryptomicznym, a przez to regulując ich homeostazę, może neutralizować negatywne skutki suszy w korzeniach łubinu.

## Aktywność antybakteryjna tanin przeciwko *Streptococcus mutans* – potencjalne zastosowanie w zapobieganiu próchnicy

Krzysztof Czerkas<sup>1\*</sup>, Ewa Olchowik-Grabarek<sup>2</sup>, Magdalena Łomanowska<sup>2</sup>, Szymon Sękowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet w Białymstoku, Konstancja Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, Polska

<sup>2</sup> Laboratorium Biofizyki Molekularnej, Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii, Wydział Biologii, Uniwersytet w Białymstoku, Konstancja Ciołkowskiego 1J, 15-254 Białystok, Polska

\* email autora do korespondencji: kc1802@wp.pl

Numery ORCID: KC: 0009-0003-7548-4871; EOG: 0000-0003-4533-1412; MŁ: 0009-0007-2178-9281;

S.S: 0000-0001-5825-0318

Próchnica to wieloczynnikowa choroba zakaźna, niszcząca twardą tkankę zębów. Jej rozwój jest silnie związany z bakterią *Streptococcus mutans*, która wykazuje zdolność do adhezji i wytwarzania biofilmu na powierzchni zębów. *S. mutans* obniża pH jamy ustnej sprzyjając rozkładowi zmineralizowanej tkanki zęba a także rozwojowi bakterii opornych na kwaśne środowisko.

Wiele spośród stosowanych obecnie związków przeciwpróchnicznych może wykazywać efekty uboczne. Bezpieczniejszą alternatywą mogą być taniny zaliczane do polifenoli roślinnych. Wykazują one aktywność przeciwbakteryjną między innymi względem *S. aureus*, *S. epidermitis*, *B. cereus*, *E. coli* czy *P. aeruginosa* poprzez bezpośrednie oddziaływanie z komórkami bakterii jak i ich toksynami.

Z tego względu postanowiono przeanalizować ich aktywność antybakteryjną względem *S. mutans*.

W badaniach wykorzystano trzy taniny: PGG (1,2,3,4,6-penta-O-galoilo-β-D-glukoza), dGVG (1,2-di-O-galoilo-4,6-waloneilo-β-D-glukoza) oraz b-dGVG (2-O-bis-digaloilo-4,6-waloneilo-β-D-glukoza) przeciwko *S. mutans* ATCC 25175. W pracy eksperymentalnej stosowano zarówno testy mikrobiologiczne jak i techniki fizykochemiczne związane z pomiarami fluorescencji oraz zmianami potencjału.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że PGG, dGVG i b-dGVG wykazują wysoką aktywność przeciwbakteryjną wobec *S. mutans*, związaną z silną zmianą płynności i potencjału błony komórkowej *S. mutans* oraz oddziaływaniem badanych tanin z ich białkami błonowymi.

Podsumowując PGG, dGVG i b-dGVG z uwagi na ich aktywność przeciwko *S. mutans* mogą być potencjalnie zastosowane jako naturalne czynniki w profilaktyce próchnicy zębów.

## Różnorodność drożdży w antropogenicznym środowisku psychrofilnym

Urszula Grykin<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Warmiński – Mazurski w Olsztynie, ul. Michała Oczapowskiego 1A, 10-719, Olsztyn

\* email autora do korespondencji: urszula.grykin@student.uwm.edu.pl

Numer ORCID: UG: 0009-0007-0291-7516

Drożdże obserwuje się licznie w środowisku psychrofilnym, czyli cechującym się niskimi temperaturami (poniżej 15°C). Mikroorganizmy w ekstremalnych warunkach wykazują cechy adaptacyjne do niekorzystnego otoczenia przez wytwarzanie barwników, magazynowanie kwasów tłuszczowych oraz produkcję chlamydospor.

Celem pracy była ocena czystości i różnorodności mykologicznej lodu ze ścian zamrażarek poprzez analizę jakościową i ilościową drożdży. Materiałem użytym do badań była zeszkrobina lodu z powierzchni ścian 5 urządzeń (zamrażarek), który nawarstwiał się przez różny czas (od roku do 4 lat). Próby pobrano do sterylnych pojemników i przetransportowano do laboratorium. Do identyfikacji uzyskanego materiału mykologicznego zastosowano standardowy tok diagnostyczny stosowany w mykologii laboratoryjnej prób wodnych.

Największe zanieczyszczenie stwierdzono w próbie, gdzie lód zalegał 3 lata – liczba mikrogrzybów wyniosła  $1,3576 \times 10^4$  jtk/dm<sup>3</sup>. Najmniejszą liczbę drobnoustrojów stwierdzono w próbie, gdzie lód zalegał przez 4 lata – 588 jtk/dm<sup>3</sup>.

W próbach stwierdzono występowanie 5 rodzajów drożdży, gdzie największą różnorodnością okazała się próba trzyletnia. W trzech z nich stwierdzono obecność *Rhodotorula* sp., a w dwóch *Saccharomyces cerevisiae*. Wykazano obecność drożdży przetrwalnikujących i zarazem produkujących melaninę – *Aureobasidium pullulans*. Rodzaj *Kluyveromyces* w badaniach własnych cechował się magazynowaniem dużej ilości globule lipidowe.

Niektóre z mikroorganizmów przystosowały się do funkcjonowania w niskich temperaturach mimo, że pierwotnie w nich nie występowały – są w stanie przetrwać w ekstremalnych warunkach, a także zwiększać biomasę po ustaniu niekorzystnych warunków. Problem adaptacji drożdży do niskich temperatur może wiązać się z potencjalnym zagrożeniem dla ludzi np. poprzez skażenie żywności przechowywanej w zamrażalnikach, co wiąże się z dolegliwościami pokarmowymi, alergiami czy infekcjami.

## Znaczenie systemu sekrecji typu VI w procesie powstawania biofilmu *Proteus mirabilis*

Julia Jurkiewicz<sup>1\*</sup>, Anna Kowalik<sup>1\*</sup>, Dawid Gmitter<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii, Instytut Biologii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce

<sup>2</sup> Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096, Warszawa

\* email autorów do korespondencji: [julia.jurkiewicz22@gmail.com](mailto:julia.jurkiewicz22@gmail.com), [annakowalik123@gmail.com](mailto:annakowalik123@gmail.com)

Numery ORCID: JJ: 0009-0003-2760-4277; AK: 0009-0004-2204-4853; DG: 0000-0001-8663-129X

System sekrecji typu VI (SSTVI) jest kluczowym elementem w procesie rozpoznawania pokrewieństwa między bakteriami należącymi do gatunku *Proteus mirabilis*. Jego efektywność zależy głównie od aktywności kompleksu białkowego VipA/VipB, który jest kodowany przez geny *tssB/tssC*. MrpJ jest regulatorem ekspresji, który ma wpływ na ekspresje ok 217 genów poprzez wiązanie się do miejsc wiążących w obrębie danego genu, które odpadających np. za adhezję, ruchliwość komórek ich podziały. MrpJ reguluje powstawanie fimbrii przez co wpływa nie tylko na czynniki wirulencji bakterii, ale również na jej metabolizm. MrpJ w sposób bezpośredni reguluje również ekspresję operonu strukturalnego SSTVI. Związek pomiędzy MrpJ a SSTVI jest interesujący, zważywszy na fakt, że działanie SSTVI wiązane było dotychczas ze wzrostem rozpełzłym, zjawiskiem molekularnie odmiennym względem formowania biofilmu.

Celem naszych badań była ocena poziomu ekspresji genu *tssB* w trakcie formowania biofilmu.

W pracy wykorzystano szczep referencyjny *P. mirabilis* HI4320 oraz pochodny mu szczep *P. mirabilis* z delecją genu *mrpJ*. W pierwszym etapie całkowity RNA został wyizolowany z komórek HI4320 pobranych w 6h i 24h formowania biofilmu. W kolejnym kroku, całkowity RNA pozyskano z hodowli szczepów z delecją genu *mrpJ* oraz HI4320 prowadzonych przez 6 godzin na podłożu LB z dodatkiem 1,5% agaru. Po dokonaniu syntezy pierwszej nici cDNA określono poziom ekspresji genu *tssB* z wykorzystaniem metody łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-qPCR). Jako gen referencyjny wybrano gen *rpoA*.

Zaobserwowano wyższą ekspresję genu *tssB* w biofilmie dojrzałym w stosunku do jego wczesnej formy. Dodatkowo, ekspresja badanego genu utrzymywała się na niższym poziomie w komórkach mutantu *mrpJ* w porównaniu do szczepu typu dzikiego, co jest zgodne z doniesieniami literaturowymi. Uzyskane wyniki oraz doniesienia literaturowe sugerują znaczenie genu *tssB* w formowaniu biofilmie. Dlatego też naszym kolejnym krokiem będzie uzyskanie szczepu z delecją *tssB* i przeprowadzenie kolejnych analiz, które pozwolą lepiej zrozumieć rolę SSTVI w tym zjawisku.

Badania prowadzone w ramach realizacji projektu NCN 2019/33/N/NZ6/02406.

## Ocena zdolności ludzkiego koronawirusa 229E do generowania hipoksji w ludzkich mikrowaskularnych komórkach śródbłonna naczyń płucnych

Jolanta Kalinowska<sup>1\*</sup>, Robert Szewczyk<sup>1</sup>, Maciej Chałubiński<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Klinika Immunologii i Alergii, Katedra Pulmonologii, Reumatologii i Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, Bud.C5, 92-213, Łódź*

\* email autora do korespondencji: [jolanta.kalinowska@student.umed.lodz.pl](mailto:jolanta.kalinowska@student.umed.lodz.pl)

Numery ORCID: JK: 0009-0002-9199-9296; RS: 0000-0003-4867-6213; MC: 0000-0001-8311-9530

W warunkach fizjologicznych płuca są środowiskiem bogatym w tlen. Jednakże w wyniku infekcji dochodzi do miejscowych niedoborów tlenu- hipoksemii, co może upośledzić działanie odpowiedzi immunologicznej. Wirusy oddechowe takie jak m.in. koronawirusy, czy syncytialne wirusy oddechowe posiadają zdolność do wywoływania lokalnej hipoksji, w wyniku której dochodzi m. in. do hamowania wytwarzania IFN typu I oraz słabszej odpowiedzi komórkowej na cytokiny, które stanowią podstawę odpowiedzi przeciwwirusowej.

Celem pracy była ocena zdolności koronawirusa 229E (HCoV-229E) do generowania hipoksji w ludzkich mikrowaskularnych komórkach śródbłonna naczyń płucnych (HMVEC-L).

W pierwszym etapie eksperymentu komórki HMVEC-L inkubowano z HCoV-229E w 3 dawkach infekcyjnych (MOI 0,1; MOI 1,0; MOI 3,0) przez 3 godziny, a następnie 3-krotnie odpłukiwano PBS. Lizat komórkowy i supernatant zabezpieczono w odpowiednich punktach czasowych (0; 2; 12; 24; 48; 72; 96h). Z lizatów komórkowych wyizolowano mRNA. Następnie przy zastosowaniu reakcji odwrotnej transkrypcji uzyskano cDNA. Ekspresja mRNA wyznaczników odpowiedzi zapalnej (RANTES) oraz przeciwwirusowej (IFN-B), a także genów związanych z hipoksją (HIF-1 $\alpha$  i EPAS1) oceniono stosując technikę Real-Time PCR.

Ocena ekspresji mRNA dla genów związanych z hipoksją (HIF-1 $\alpha$  i EPAS1) wykazała znaczny wzrost w 2 godzinie (HIF-1 $\alpha$ : 2,6; 4,1; 5,1, EPAS1: 1,4; 1,7; 2,2 dla MOI 0,1; MOI 1,0; MOI 3,0, odpowiednio). Jednocześnie w tym samym punkcie czasowym nie zaobserwowano indukcji odpowiedzi przeciwwirusowej (IFN-B: 2,6; 0,2; 0,1) i zapalnej (RANTES: 0,8; 2,1; 1,6 dla MOI 0,1; MOI 1,0; MOI 3,0, odpowiednio).

W komórkach HMVEC-L zainfekowanych HCoV-229E wykazano wzrost ekspresji mRNA czynników związanych z indukcją hipoksji, co może świadczyć o zdolności ludzkiego koronawirusa 229E do generowania hipoksemii. Indukcja hipoksemii na wczesnym etapie infekcji może przyczynić się do osłabienia wyraźnej odpowiedzi zapalnej i przeciwwirusowej.



## Sekwencjonowanie, asemblacja i adnotacja funkcjonalna genomów szczepów *Proteus mirabilis* wyizolowanych od pacjentów szpitala Św. Łukasza w Końskich

Agata Kądziała<sup>1\*</sup>, Alicja Nowak<sup>1</sup>, Daniela Zielińska<sup>1</sup>, Dawid Gmiter<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii, Instytut Biologii, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce

<sup>2</sup>Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096, Warszawa

\* email autora do korespondencji: [agakadz78@gmail.com](mailto:agakadz78@gmail.com)

*Proteus mirabilis* to Gram-ujemna pałeczka należąca do rodziny *Morganellaceae*, która występuje w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt, ale także w glebie i środowisku wodnym. *Proteus mirabilis* jest uważany za część normalnej flory jelitowej, jednak jest także związany z infekcjami dróg moczowych (ZUM), w szczególności ZUM związanymi z cewnikami, ze względu na jego możliwość do tworzenia biofilmów na cewnikach i innych urządzeniach medycznych. Bakteria zdolna jest do wzrostu rozpełtłego, czyli migracji silnie urzęsionych komórek po powierzchniach stałych. Ta cecha jest uważana za czynnik wirulencji *P. mirabilis*, związana jest także ze zdolnością szczepów do identyfikacji komórek pokrewnych, tak zwane zjawisko Dienesy.

Genom to kompletna informacja genetyczna żywego organizmu lub wirusa. U organizmów eukariotycznych odnosi się do materiału genetycznego zawartego w pojedynczym zespole chromosomów. U organizmów prokariotycznych odnosi się do pojedynczego chromosomu, natomiast u wirusów do ich cząsteczki genetycznej.

Dzięki rozwijającej się technologii sekwencjonowania następnej generacji (NGS) i dostępowi do coraz większej liczby genomów bakteryjnych w bazach danych, możliwa jest analiza zmienności genetycznej bakterii w sposób, który wcześniej był niemożliwy przy użyciu standardowych metod.

Celem pracy była analiza genomów trzech szczepów *P. mirabilis* pozyskanych ze Szpitala św. Łukasza w Końskich. Do badań użyto szczepów K19, K29, K35; wyizolowanych od pacjentów w podobnym okresie. Genomowe DNA poddano sekwencjonowaniu z wykorzystaniem technologii sparowanych odczytów (2 x 150 pz) Illumina NextSeq. Surowe odczyty poddano trymowaniu oraz asemblacji, z wykorzystaniem kolejno programów Trimmomatic (v0.39) oraz Unicycler (Galaxy Version 0.4.8.0). Uzyskano sekwencje genomowe, które składały się z 56, 62 oraz 51 kontigów, kolejno dla K19, K29 oraz K35. Adnotacja funkcjonalna sekwencji była możliwa dzięki zastosowaniu serwera *online* Rapid Annotation Subsystems Technology (RAST). Narzędzie to dodatkowo pozwala na ocenę jakościową sekwencji. Parametry ilościowe i jakościowe uzyskanych sekwencji odpowiadają wartościom obserwowanym w przypadku sekwencji genomowych *P. mirabilis* dostępnych w publicznych bazach danych.

Uzyskane sekwencje stanowią doskonałe narzędzie do dalszych analizach skupionych na zrozumieniu zmienności genetycznych oraz molekularnych podstaw patogenezy gatunku *P. mirabilis*.

## Wpływ warunków oświetlenia oraz doglebowej aplikacji grzybów *Trichoderma* i polimerów stosowanych w przemyśle spożywczym na wzrost ziół i profil związków biologicznie aktywnych w *Thymus vulgaris* i *Thymus serpyllum*

Liliana Kozłowska<sup>1\*</sup>, Kamila Kulbat-Warycha<sup>2</sup>, Justyna Nawrocka<sup>1</sup>, Dorota Żyżelewicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

<sup>2</sup> Instytut Technologii i Analizy Żywności, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź

\* email autora do korespondencji: [lilianakozlowska@gmail.com](mailto:lilianakozlowska@gmail.com)

Numery ORCID: LK: 0009-0003-7019-8841; KKW: 0000-0002-6094-9942; JN: 0000-0001-8096-3664; DŻ: 0000-0003-0989-0671

Badania dotyczyły wpływu różnych warunków oświetlenia i suplementacji gleby polimerami stosowanymi w przemyśle spożywczym oraz polimerami w połączeniu z zarodnikami grzybów *Trichoderma*, na wzrost i rozwój ziół - *Thymus vulgaris* i *Thymus serpyllum*. Analiza metaboliczna skoncentrowana była na wykrywaniu zmian w zawartości barwników roślinnych, takich jak chlorofil a i b, antocyjany i karotenoidy oraz zawartości związków biologicznie aktywnych, między innymi związków fenolowych (w tym flawonoidów), terpenoidów i lotnych związków organicznych o właściwościach prozdrowotnych. Badania miały na celu ocenę wpływu warunków środowiskowych na wzrost i skład chemiczny wybranych roślin oraz rozpatrzenie sposobów optymalizacji uprawy tych ziół w celu poprawy jakości i wydajności produkcji składników bioaktywnych.

Pod wpływem dodatkowego oświetlenia ( $174$  i  $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) wzrost *T. vulgaris* i *T. serpyllum* ulegał znacznemu przyspieszeniu. Zioła należące do obu odmian wykazywały większą biomasę oraz długość pędów, a w przypadku *T. serpyllum* obserwowano wzrost zawartości karotenoidów i antocyjanów. W odniesieniu do metabolitów wtórnych, najbardziej wyraźne zmiany zaobserwowano w zawartości flawonoidów oraz całkowitej zdolności przeciwutleniającej, które znacznie wzrastały pod wpływem dodatkowego oświetlenia. Jednoczesna lub osobna aplikacja zarodników *Trichoderma* i polimerów spowodowała wzrost zawartości flawonoidów w liściach obu gatunków tymianku. Wzrost zawartości terpenoidów był związany zarówno z oddziaływaniem dodatkowego oświetlenia, zarodników *Trichoderma* oraz polimerów. Charakter tych zmian zależał od gatunku tymianku. Przy użyciu metody wykorzystującej elektroniczny nos, wstępnie zidentyfikowano osiem lotnych związków, wytwarzanych przez *T. vulgaris* i *T. serpyllum*:  $\alpha$ -pinen, mircen,  $\alpha$ -terpinen,  $\gamma$ -terpinen, 1,8-cyneol (eukaliptol), tymol, karwakrol i eugenol. Dodatkowe oświetlenie powodowało wzrost procentowej zawartości tymolu i  $\gamma$ -terpinenu w całkowitej puli związków lotnych. Wyniki wykazały również pozytywny wpływ polimerów i w mniejszym stopniu grzybów *Trichoderma* na wzrost zawartości w oparach związków lotnych o właściwościach prozdrowotnych, zwłaszcza tymolu i  $\gamma$ -terpinenu.

## Wytwarzanie P3HB metodami biotechnologicznymi z surowców odpadowych z przemysłu spozywczego

Renata Kurek<sup>1\*</sup>, Katarzyna Kozak<sup>1</sup>, Otton K. Roubinek<sup>1</sup>, Piotr Lorek<sup>1</sup>, Jolanta Janiszewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Chemii Przemysłowej im. prof. I. Mościckiego, ul. Rydygiera 8, 01-793 Warszawa

\*email autora do korespondencji: [renata.kurek@ichp.lukasiewicz.gov.pl](mailto:renata.kurek@ichp.lukasiewicz.gov.pl)

Numery ORCID: RK: 0000-0002-0701-8102; KK: 0000-0003-0706-3568; OR: 0000-0002-6492-7118; PL: 0009-0006-0338-8516, JJ: 0000-0003-0958-8018

Ze względu na ochronę środowiska od lat dąży się do zmniejszenia ilości odpadów z tworzyw sztucznych. Doskonałą alternatywą są biopolimery z grupy polihydroksyalkanianów (PHA), wytwarzane przez drobnoustroje. Do tej grupy należy P3HB (poli-3-hydroksymaślan), który może być wytwarzany z różnych surowców odpadowych. Biopolimer P3HB posiada cechy podobne do polimerów otrzymywanych z ropy naftowej, ale w przeciwieństwie do nich ulega szybkiemu rozkładowi. Jest tworzywem termoplastycznym, dlatego wykorzystywany jest już między innymi do produkcji opakowań. Charakteryzuje go biogodność, dzięki czemu znajduje coraz szersze zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym oraz implantologii.

Celem pracy było opracowanie metody wytwarzania i określenie jak zmieniają się parametry określające przydatność przetwórczą polimeru P3HB ( $M_n$  – średnia liczbowa masa cząsteczkowa,  $M_w$  – średnia wagowa masa cząsteczkowa i PDI – z ang. polydispersity index) w zależności od stosowanego źródła węgla. W badaniach wykorzystano genetycznie modyfikowaną bakterię *Escherichia coli*. Proces biosyntezy prowadzono w warunkach tlenowych, w sposób okresowy lub półokresowy. W hodowlach wykorzystano różne źródła węgla – glukozę i odpadowe surowce z przemysłu spożywczego: młóto browarniane i melasę. W trakcie prowadzenia eksperymentów z bioreaktorami prowadzono pomiary:  $OD_{600}$ , temperatury, pH, intensywności mieszania i rozpuszczonego tlenu (z ang. dissolved oxygen – DO).

W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano biopolimer P3HB. Wartość PDI, w porównaniu do polimeru komercyjnego, była dla hodowli na: (i) glukozie o około 30% mniejsza, (ii) melasie o około 80 % większa, a (iii) młócie o około 16 % większa. Wzrost stopnia polidispersyjności (PDI) powoduje pogorszenie właściwości mechanicznych polimeru, ale zwiększa zakres temperatury zeszklenia i płynięcia. W niektórych procesach przetwórczych preferowane są polimery o wyższym PDI, ze względu na to, że frakcje polimeru o małej masie działają jako plastyfikator, polepszając jego przetwarzalność. Stosując różne źródła węgla i warunki hodowli można uzyskać polimer, który znajdzie zastosowanie w różnych aplikacjach.

## ***Streptomyces* - niewyczerpane źródło antybiotyków**

Piotr Lorek<sup>1\*</sup>, Katarzyna Kozak<sup>1</sup>, Renata Kurek<sup>1</sup>, Otton K. Roubinek<sup>1</sup>, Jolanta Janiszewska<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Chemii Przemysłowej, ul. Rydygiera 8, 01-793 Warszawa

\*email autorów do korespondencji: piotr.lorek@ichp.lukasiewicz.gov.pl; jolanta.janiszewska@ichp.lukasiewicz.gov.pl  
Numery ORCID: PL: 0009-0006-0338-8516; KK: 0000-0003-0706-3568; RK: 0000-0002-0701-8102; OR: 0000-0002-6492-7118; JJ: 0000-0003-0958-8018

Wiele z obecnie używanych antybiotyków to substancje wytwarzane przez bakterie z rodzaju *Streptomyces*. Mikroorganizmy zaliczane do tej grupy posiadają rozwinięte systemy produkcji metabolitów wtórnych, a związki przez nie wydzielane wykazują działanie nie tylko przeciwdrobnoustrojowe, ale również przeciwwirusowe i immunosupresyjne. Szacuje się, że dotychczas scharakteryzowano jedynie 1-3% substancji produkowanych przez bakterie z rodzaju *Streptomyces*. Tym samym prawdopodobieństwo identyfikacji związków – potencjalnych nowych antybiotyków wydzielanych przez mikroorganizmy z tej grupy pozostaje wysokie.

Celem pracy było wytypowanie szczepów bakterii z rodzaju *Streptomyces* zdeponowanych w kolekcji IBA produkujących substancje ograniczające rozwój patogenów. Aktywność tych związków określano obserwując siłę zahamowania wzrostu wybranych drobnoustrojów chorobotwórczych – m. in. *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Candida albicans*. W pracy przeprowadzono analizy metodą MCS oraz testy z wykorzystaniem mieszanin substancji wyekstrahowanych z hodowli bakterii z rodzaju *Streptomyces*.

Większość badanych szczepów wydzielała substancje wykazujące działanie przeciwdrobnoustrojowe. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość znalezienia nowych antybiotyków i związków przeciwgrzybiczych. Planowane jest przeprowadzenie rozdziału związków znajdujących się w otrzymanych ekstraktach i opisanie ich właściwości, co być może pozwoli w przyszłości opracować preparaty ograniczające rozprzestrzenianie się szczepów drobnoustrojów wielolekoopornych.

Badania zostały dofinansowane w ramach dotacja statutowa Sieci Badawczej Łukasiewicz – Instytutu Chemii Przemysłowej na rok 2024, nr **841334**.

## Antybakteryjna aktywność taniny wyizolowanej z sumaka octowca (*Rhus typhina* L.) względem *Pseudomonas aeruginosa*

Magdalena Łomanowska<sup>1\*</sup>, Ewa Olchowik-Grabarek<sup>1</sup>, Krzysztof Czerkas<sup>2</sup>, Szymon Sękowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorium Biofizyki Molekularnej, Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii, Wydział Biologii, Uniwersytet w Białymstoku, Konstantego Ciołkowskiego 1J, 15-254 Białystok, Polska

<sup>2</sup> Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet w Białymstoku, Konstantego Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok, Polska

\*email autora do korespondencji: m.lomanowska173@gmail.com

Numery ORCID: MŁ: 0009-0007-2178-9281; EOG: 0000-0003-4533-1412; KC: 0009-0003-7548-4871; SS: 0000-0001-5825-0318

Pałeczka ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*) jest Gram-ujemną bakterią, która stanowi jedno z najpoważniejszych zagrożeń zarówno dla ludzi, jak i dla systemów opieki zdrowotnej. Leczenie zakażeń wywołanych przez tę bakterię jest wyjątkowo trudne ze względu na jej zdolność do adaptacji i nabywania lekooporności dzięki szybkim mutacjom. Ponadto *P. aeruginosa* powoduje infekcje szpitalne, szczególnie w przypadkach stosowania materiałów przeznaczenia medycznego (np. drenów). W ostatnich latach odnotowano znaczący wzrost oporności mikroorganizmów na antybiotyki oraz powstanie szczepów wielolekoopornych. Według statystyk epidemiologicznych, co roku prawie 700 000 osób traci życie z powodu zakażeń antybiotykoopornymi szczepami bakterii. Z tego względu poszukiwane są źródła nowych związków wykazujących silną aktywność antybakteryjną. Jednym z nich mogą być polifenole pochodzenia roślinnego stanowiące wtórne metabolity roślin i wykazujące wysoką aktywność przeciwutleniającą, przeciwzapalną, antywirusową oraz przeciwbakteryjną. Taniny wchodzące w skład tej grupy związków charakteryzują się zdolnością do oddziaływania zarówno z komórkami bakterii, jak i ich czynnikami wirulencji, np. toksynami.

Celem pracy było zbadanie antybakteryjnego potencjału 3,6-bis-O-di-O-galoilo-1,2,4-tri-O-galoilo- $\beta$ -D-glukozy (wyizolowana tanina sumaka octowca - TS) względem *P. aeruginosa* ATCC BAA-1744.

W badaniach wykonano pomiary przeżywalności testem INT, analizy fluorescencyjne oddziaływania tanin z błoną komórkową *P. aeruginosa* oraz zmiany potencjału zeta.

Otrzymane wyniki pozwoliły stwierdzić, że TS wykazuje działanie przeciwbakteryjne związane z indukowaniem zmian biofizycznych parametrów błony komórkowej *P. aeruginosa*, co prowadzi do zaburzeń procesów fizjologicznych bakterii, zahamowania ich wzrostu i śmierci. Z tego względu TS może stanowić nowy, naturalny środek o potencjalnym zastosowaniu w zwalczaniu *P. aeruginosa*.

## Oddziaływanie promieniowania UV-C na wybrane gatunki cyjanobakterii

Zofia Mazur<sup>1\*</sup>, Monika Kula-Maximenko<sup>1</sup>, Kamil Zieliński<sup>1</sup>, Ireneusz Ślesak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk, Niezapominajek 21, 30-239 Kraków

\*email autora do korespondencji: z.mazur@ifr-pan.edu.pl

Numery ORCID: ZM:0000-0002-2429-9030; MKM:0000-0001-7100-877X; KZ: 0000-0002-6513-5382; IS: 0000-0003-3040-4228

Promieniowanie ultrafioletowe (UV) wchodzi w skład widma światła słonecznego i obejmuje zakres od 100 do 400 nm. Wyróżnia się promieniowanie UV-A i UV-B, które w niewielkich ilościach docierają do powierzchni naszej planety oraz UV-C, które jest w całości pochłaniane przez ozonosferę Ziemi. Promieniowanie UV-C jest szkodliwe dla człowieka i innych organizmów żywych, a w wysokich dawkach może prowadzić nawet do ich śmierci. Cyjanobakterie (sinice) pojawiły się na Ziemi ok. 3,5 – 2,5 mld lat temu, w okresie, gdy warstwa ozonowa chroniąca przed promieniowaniem UV, nie istniała. Ponadto cyjanobakterie były pierwszymi organizmami, przeprowadzającymi fotosyntezę tlenorodną. Większość badań dotyczących wpływu UV na układy żywe przeprowadzono z wykorzystaniem promieniowania UV-A i UV-B. Znacznie mniej wiadomo o oddziaływaniu UV-C na różne organizmy.

Głównym celem badań było określenie, jak promieniowanie UV-C (254 nm) w dawkach od 0 do 1 J·cm<sup>-2</sup> wpłynie na wzrost i aktywność fotosyntetyczną dwóch gatunków cyjanobakterii: *Synechocystis sp.* PCC 6803 oraz *Gloeobacter violaceus* CCALA 979. Hipoteza badawcza zakładała, że *G. violaceus*, jako filogenetycznie starszy gatunek cyjanobakterii, którego przodkowie mogli pojawić się na Ziemi wcześniej niż przodkowie *Synechocystis sp.*, będzie bardziej odporny na UV-C. Analizy przeprowadzono z wykorzystaniem: spektroskopii UV-VIS (pomiary przyrostu biomasy cyjanobakterii oraz zawartości barwników fotosyntetycznych), elektrody tlenowej typu Clark'a (określenie intensywności wydzielania O<sub>2</sub>) i metod pomiaru fluorescencji chlorofilu *a* (aktywność fotoukładu II).

Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów stwierdzono: 1) zahamowanie wzrostu cyjanobakterii po naświetlaniu UV-C (*Synechocystis sp.* od dawki 0.25 J·cm<sup>-2</sup>; *G. violaceus* od 0.1 J·cm<sup>-2</sup>), 2) obniżenie zawartości barwników fotosyntetycznych w komórkach badanych sinic (np. chlorofilu *a* i karotenoidów) i 3) zaburzenia w funkcjonowaniu aparatu fotosyntetycznego po działaniu UV-C.

Otrzymane wyniki potwierdzają szkodliwy efekt promieniowania UV-C na wzrost cyjanobakterii oraz ich aktywność fotosyntetyczną. Ponadto, wskazują na wyższą wrażliwość aparatu fotosyntetycznego *G. violaceus* niż *Synechocystis sp.* na ten rodzaj promieniowania.

Dalsze badania spróbują wyjaśnić dlaczego filogenetycznie starszy *G. violaceus*, którego przodek mógł żyć gdy do powierzchni Ziemi docierały wyższe dawki UV-C, jest bardziej wrażliwy na to promieniowanie niż ewolucyjnie młodsza *Synechocystis sp.* Ponadto, takie badania pozwolą lepiej zrozumieć ewolucję fotosyntezy tlenorodnej i mechanizmów funkcjonowania cyjanobakterii w warunkach świetlnych, które występowały na Ziemi w okresie Archaiku.

## Ocena wpływu suplementacji spektrum uprawowego promieniowaniem ultrafioletowym na aktywność fotosyntetyczną roślin uprawnych

Ilona Pacak<sup>1\*</sup>, Magdalena Trojak<sup>2</sup>, Ernest Skowron<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Chemii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce

<sup>2</sup> Zakład Biologii Środowiska, Instytut Biologii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce

\*email autora do korespondencji: [ilona.pacak@gmail.com](mailto:ilona.pacak@gmail.com)

Numery ORCID: IP: 0000-0002-5832-8354; MT: 0000-0002-5771-2047; ES: 0000-0001-5330-9122

Zaletą stosowania upraw zamkniętych jest możliwość lokalnej produkcji żywności na niewielkiej powierzchni dzięki ściśle kontrolowanym warunkom uprawowym, co umożliwia modyfikację morfologii roślin i zawartości związków bioaktywnych. Suplementacja promieniowaniem UV o różnym zakresie fal może być użyteczna dla zwiększenia efektywności oraz zmniejszenia kosztów produkcji, jednak może prowadzić do uszkodzenia aparatu fotosyntetycznego przez stres radiacyjny i oksydacyjny, co negatywnie wpływa na plonowanie roślin.

Celem prezentowanej pracy była ocena wpływu ekspozycji roślin na promieniowanie z zakresów UV-A, UV-B i UV-C na aktywność fotosyntetyczną i kondycję fizjologiczną roślin oraz określenie optymalnego natężenia i czasu ekspozycji na dane promieniowanie UV, pozwalającego na minimalizację stresu radiacyjnego przy zachowaniu wysokiego potencjału fotoindukcyjnego.

W badaniach wykorzystano rośliny uprawne występujące w odmianie zielonej i czerwonej: bazylię właściwą (*Ocimum basilicum* L.) – Sweet Large i Dark Opal oraz sałatę siewną liściową (*Lactuca sativa* var. *crispa*) – Lollo Bionda i Lollo Rossa. Rośliny uprawiano w krótkim cyklu produkcyjnym jako *microgreens* oraz *Baby Leaf* w komorach wyposażonych w lampy LED o spektrum RGB ( $200 \pm 5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; 661 : 633 : 520 : 434 nm) przez 11 dni od dnia wysiewu. Po upływie tego czasu spektrum suplementowano o promieniowanie UV przez doświetlanie lampami UV-A (365 nm), UV-B (311 nm) i UV-C (254 nm) (Philips Lighting) przez 4 dni z progresją czasu naświetlania. Podczas naświetlania analizowano wydajność fotosyntetyczną PSII (Fv/Fm, ΦPSII, ETR) oraz mechanizmy ochronne – ΦNPQ, ΦNO. Oceniono również poziom chlorofilu, całkowitą zawartość białek i Rubisco oraz natężenie peroksydacji lipidów błonowych.

Analiza otrzymanych wyników wykazała negatywny wpływ promieniowania UV-C na aktywność fotosyntetyczną i kondycję fizjologiczną sałaty Lollo Bionda i Lollo Rossa oraz bazylii Sweet Large. Aktywowane stresem radiacyjnym mechanizmy ochronne były nieskuteczne dla sałaty Lollo Bionda. Wysoki potencjał fotoindukcyjny uzyskano po 4 dniach ekspozycji na promieniowanie UV-A dla sałaty Lollo Bionda oraz bazylii Sweet Large i Dark Opal. Natomiast ekspozycja na promieniowanie UV-B sałaty Lollo Rossa charakteryzowała się największą efektywnością.

Przedstawione wyniki badań mogą przyczynić się do postępu w opracowaniu innowacyjnych strategii uprawy żywności funkcjonalnej charakteryzującej się wysokimi plonami.

## Charakterystyka wzrostu pszenicy w obecności *Trichoderma longibrachiatum*, grzyba wspomagającego kiełkowanie roślin

Marta Pietrzak<sup>1\*</sup>, Przemysław Bernat<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Stefana Banacha 12/16, 90-237 Łódź

<sup>2</sup> Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Stefana Banacha 12/16, 90-237 Łódź

\* email autora do korespondencji: mrtapietrzak@gmail.com

Numer ORCID: PB: 0000-0002-5589-1555

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* spp. stanowią obiecujące narzędzie w redukcji stosowania chemicznych nawozów i pestycydów, w obliczu stale rosnącego zapotrzebowania na produkcje żywności. Poprzez mechanizmy biokontroli, takie jak mykopasożytnictwo, konkurencja oraz wytwarzanie metabolitów wtórnych, *Trichoderma* spp. może przeciwdziałać chorobom roślin wywołanym przez fitopatogeny. Jednocześnie stymulując wzrost i poprawiając pobieranie składników odżywczych, co przekłada się do zwiększenia odporności roślin na biotyczne i abiotyczne czynniki stresowe.

W celu zbadania potencjału wspomagającego kiełkowanie roślin, przeprowadzono badanie z użyciem grzyba *T. longibrachiatum* KKP 532. Zawiesina zarodników tego grzyba była aplikowana na ziarna pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L., odmiana Alibi i Owacja) umieszczonych na szalkach Petriego. Po 7 dniach hodowli w temperaturze 20 °C zmierzono wzrost korzeni i łodyg. Próby poddano także badaniu ilości aminokwasów i fosfolipidów w tkankach pszenicy zwyczajnej.

Analiza długości korzeni i łodygi pszenicy zwyczajnej wykazała istotny wzrost roślin w próbach z dodaną *T. longibrachiatum* KKP 532, szczególnie widoczny był przyrost długości korzeni odmiany Alibi (40,4%) i Owacja (32,5%). Obserwacja zawartości aminokwasów ujawniła istotne zmiany, zauważalne zwłaszcza w przypadku wzrostu ilości treoniny, proliny i tryptofanu oraz spadku zawartości asparaginy, lizyny i histydyny. Natomiast analiza profilu fosfolipidów wykazała różnice we wzroście zawartości kwasu fosfatydowego, lizofosfatydylocholiny, lizofosfatydyloetanoloaminy oraz spadku zawartości fosfatydylocholiny i fosfatydyloetanoloaminy.

Wnioski z badań potwierdziły hipotezę o stymulacyjnym wpływie *T. longibrachiatum* na kiełkowanie roślin, co wskazuje na potencjał tego grzyba jako naturalnego środka wspomagającego wzrost i rozwój roślin.

Praca badawcza była finansowana z grantu Narodowego Centrum Nauki Nr UMO-2020/39/B/NZ9/00471.



## Określenie zdolności grzybów entomopatogennych z rodzaju *Metarhizium* do wzrostu w obecności wybranych trichotecenów wytwarzanych przez *Fusarium* spp.

Katarzyna Prochoń<sup>1\*</sup>, Sylwia Różalska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Stefana Banacha 12/16, 90-237 Łódź

<sup>2</sup> Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Stefana Banacha 12/16, 90-237 Łódź

\* email autora do korespondencji: k.prochon@gmail.com

Numery ORCID: KP: 0000-0002-0005-9550; SR: 0000-0003-1695-5154

Mykotoksyny produkowane przez grzyby z rodzaju *Fusarium* stanowią zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Związki te zanieczyszczają uprawy zbóż, są wykrywane w roślinnych produktach spożywczych. Do jednych z najgroźniejszych mykotoksyn fuzaryjnych zaliczamy trichoteceny, które wykazują wysoką toksyczność wobec zwierząt i ludzi.

Z kolei grzyby entomopatogenne są znane ze swojej zdolności do atakowania owadów, jednak ich wpływ na rośliny i rolnictwo może być znacznie szerszy. Dotychczasowe badania wykazują, że grzyby entomopatogenne jako endofity, mogą zwiększać odporność roślin na ataki grzybów fitopatogennych, na przykład *Fusarium*, co wpływa na poprawę wzrostu i zdrowia roślin. Te interakcje między różnymi rodzajami grzybów bytujących na/w roślinach są obecnie przedmiotem badań naukowych i mogą prowadzić do stworzenia nowych strategii kontroli chorób roślin.

Celem tego badania było określenie zdolności grzybów entomopatogennych z rodzaju *Metarhizium* do wzrostu w obecności mykotoksyn fuzaryjnych - deoksyniwalenolu oraz jego acetylowanych pochodnych. W badaniach wykorzystano metodę mikrorozcieńczeń na płytkach titracyjnych 96-dołkowych, na które nanoszono odpowiednie podłoże hodowlane, badane mykotoksyny oraz zawiesinę zarodników *Metarhizium anisopliae*. Po 72 godzinnej inkubacji do każdego dołka na płytce dodano roztwór 0,8% FDA (dioctanu fluoresceiny) w buforze fosforanowym. Następnie, po 1h inkubacji, dokonano pomiarów aktywności fluorescencji na czytniku Fluostar Omega (BMG Labtech) przy długościach fal 485/530 nm.

Otrzymane wyniki wskazują, że badane trichoteceny (deoksyniwalenol, niwalenol, 3-acetylodeoksyniwalenol oraz 15-acetylodeoksyniwalenol) dodawane do podłoża hodowlanego w zakresie stężeń 0-80 mg/l nie wpływały na wzrost *Metarhizium anisopliae*.

Brak zahamowania wzrostu w obecności trichotecenów sugeruje, że związki te mogą być metabolizowane przez badany grzyb entomopatogeny, co będzie przedmiotem dalszych badań.

### Literatura

1. Nowak, M., Soboń, A., Bernat, P., & Różalska, S. (2023). Entomopathogenic fungi of the genus *Cordyceps* biotransform zearalenone-metabolomic and proteomic backgrounds. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 179, 105572.

## Analiza ilościowa archeonów halofilnych i drobnoustrojów niehalofilnych na powierzchni skał pochodzących z Kopalni Soli Bochnia

Michalina Rachubik<sup>1\*</sup>, Gabriela Arciszewska<sup>1</sup>, Jolanta Kalinowska<sup>1</sup>, Dominika Drzewiecka<sup>2</sup>, Aleksandra Puławska<sup>3,4</sup>, Maciej Manecki<sup>3</sup>, Luciana Albuquerque<sup>5</sup>, Magdalena Kowalewicz-Kulbat<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

<sup>2</sup> Katedra Biologii Bakterii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

<sup>3</sup> Wydział Geologii, Geofizyki i Ochrony Środowiska, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Al. A. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków

<sup>4</sup> Kopalnia Soli Bochnia, ul. Campi 15, 32-700 Bochnia

<sup>5</sup> Microbiology Laboratory, Center for Neurocience and Cell Biology, University of Coimbra, CNC-UC, UC-Biotech, Biocant Park, Nucleo 04 Lote 8, 3060-197 Cantanedo, Portugalia

\*email autora do korespondencji: [michalina.rachubik@edu.uni.lodz.pl](mailto:michalina.rachubik@edu.uni.lodz.pl)

Numery ORCID: MR: 0009-0004-8910-8567; JK: 0009-0002-9199-9296; DD: 0000-0002-2753-7700; AP: 0000-0002-0128-4434; MM: 0000-0002-4937-1836; LA: 0000-0002-6957-4673; MKK: 0000-0003-4447-0859.

Archeony halofilne to prokariotyczne drobnoustroje jednokomórkowe zdolne do życia w środowisku o wysokim stopniu zasolenia takim jak: słone jeziora, morza, solanki, a także kopalnie soli. Do tej pory obecność halofili na powierzchni skał nigdy nie była badana, dlatego celem niniejszej pracy była analiza ilościowa archeonów halofilnych występujących na powierzchni czystej soli kamiennej (skały o powierzchni gładkiej) oraz zasolonych skał ilastych (skały o powierzchni szorstkiej) w odniesieniu do liczby drobnoustrojów niehalofilnych.

Materiał do badań stanowiły wymazy pobrane za pomocą wymazówki z powierzchni skał gładkich i szorstkich występujących w Kopalni Soli Bochnia w miejscach odbywania haloterapii - terapii wspomagającej leczenie chorób układu odpornościowego, w tym astmy, przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP) czy mukowiscydozy. Próby inkubowano na podłożu HBM z dodatkiem 15-25% NaCl w zakresie temperatur 21-37°C. Oceniono ogólną liczbę archeonów halofilnych (CFU/25cm<sup>2</sup> powierzchni skały), a także wykonano analizę jakościową na podstawie analizy sekwencji 16S rRNA.

Niniejsza praca po raz pierwszy wskazuje na występowanie archeonów halofilnych, między innymi z rodzaju: *Halococcus* sp., *Haloarcula* sp., czy *Halobacterium* sp. na powierzchni skał gładkich i szorstkich bytujących w Kopalni Soli Bochnia. Wykazano, iż na powierzchni obu typów skał dominowały drobnoustroje halofilne nad niehalofilnymi. Uzyskane wyniki stanowią cenny wkład wiedzy w lepsze zrozumienie w przyszłości znaczenia archeonów bytujących w materiale skalnym w kształtowaniu mikrośrodowiska aerozolowego wspomagającego leczenie chorób układu oddechowego.

Projekt finansowany przez Narodowe Centrum Nauki numer projektu 2021/41/N/ST10/02751 oraz Studencki Grant Badawczy UŁ 2023 i 2024.

## Potencjał probiotyczny wyizolowanych drożdży z rodzaju *Kluyveromyces*

Marta Rogalska<sup>1\*</sup>, Sara Dworakowska<sup>1</sup>, Jolanta Mierzejewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków, Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska, ul. Koszykowa 75, 00-662 Warszawa

\* email autora do korespondencji: [marta.rogalska2.dokt@pw.edu.pl](mailto:marta.rogalska2.dokt@pw.edu.pl)

Numery ORCID: MR: 0000-0003-0810-2821; JM: 0000-0002-9298-8794

Mikroorganizmy probiotyczne zasiedlają organizmy ludzkie jak i zwierzęce wspierając ich prawidłowe funkcjonowanie. Są one naturalnie obecne w przewodzie pokarmowym, skórze oraz innych środowiskach życiowych. Bakterie kwasu mlekowego, takie jak *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, są dobrze zbadane pod kątem ich pozytywnego wpływu na zdrowie, zwłaszcza w zakresie funkcjonowania przewodu pokarmowego i układu odpornościowego. W przypadku drożdży jedynie przebadano pojedyncze szczepy z rodzaju *Saccharomyces* i *Kluyveromyces*. Choć badania nad drożdżami probiotycznymi są mniej liczne niż te nad bakteriami, to wykazują one obiecujące właściwości zdrowotne. Na przykład szczepy *Kluyveromyces marxianus* wykazują potencjał w poprawie zdrowia jelit poprzez regulację mikrobioty jelitowej i wspieranie trawienia, co może być szczególnie korzystne w przypadku zaburzeń jelitowych spowodowanych antybiotykoterapią. Mikroorganizmy probiotyczne dostają się do organizmu w różny sposób. Spożycie żywności fermentowanej, takiej jak jogurty, stanowi ważne źródło probiotyków. Ponadto, suplementy diety oraz specjalne środki lecznicze, zawierające wysokie stężenia określonych szczepów probiotycznych, są powszechnie stosowane dla wzmocnienia mikrobioty jelitowej oraz poprawy zdrowia ogólnego.

Wyniki badań wykazały, że wyizolowane szczepy z rodzaju *Kluyveromyces marxianus* (1) oraz (2) posiadają potencjał probiotyczny. Poprzez symulację warunków panujących w układzie pokarmowym człowieka, przeanalizowano przeżywalność drożdży w jtk/ml w czasie w płynach śliny (pH 7.0), żołądka (pH 3.0) oraz jelita (pH 7.0). W ramach porównania, jako szczep referencyjny zastosowano *Kluyveromyces marxianus* B0399. Zestawiając jtk/ml drożdży, które uległy adhezji do jtk/ml kontroli zaobserwowano adhezyjność szczepu 1 oraz 2 do powierzchni pokrytej mucyną, białka wyściełającego m.in. nabłonek jelita. Dodatkowo, analogicznie w warunkach *in vitro* oceniono adhezję do monowarstwy ludzkich linii komórkowych HT-29 raka okrężnicy oraz komórek HCT-116 raka jelita grubego. Przeprowadzono szereg badań mających na celu określenie korelacji między szczepami 1 oraz 2 a innymi mikroorganizmami, a także wpływu antybiotyków na zahamowanie wzrostu tych szczepów za pomocą metody dyfuzyjno-krążkowej.

Te wyniki mogą otworzyć nowe perspektywy w rozwoju terapii oraz suplementacji mikrobiotycznej w celu poprawy zdrowia jelitowego i ogólnego stanu zdrowia.

## Chitozan jako matryca do immobilizacji dehydrogenazy celobiozowej stosowanej w biotechnologicznych systemach prewencyjnych

Justyna Sulej<sup>1\*</sup>, Wiktoria Piątek-Gołda<sup>1</sup>, Monika Osińska-Jaroszuk<sup>1</sup>, Magdalena Jaszek<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Marii-Curie Skłodowskiej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

\* email autora do korespondencji: justyna.sulej@mail.umcs.pl

Numery ORCID: JS: 0000-0003-2220-7558; WPG: 0000-0001-7593-2302; MOJ: 0002-3465-0461, MJ: 0000-0003-2609-1820

Unieruchamianie enzymów na biokompatybilnych matrycach polimerowych, takich jak chitosan pozwala na ich efektywne zastosowanie w biomedycznych oraz przemysłowych systemach prewencyjnych. Przykładem takiego enzymu jest dehydrogenaza celobiozowa (CDH, EC1.1.99.18, CAZy: AA3.1), wykazująca silne właściwości antyoksydacyjne oraz przeciwbakteryjne wynikające z mechanizmu katalizowanej reakcji, w wyniku której powstaje kwas aldobionowy i nadtlenek wodoru jako produkt uboczny utleniania cukrów połączonych wiązaniami  $\beta$ -1,4-glikozydowymi.

Celem niniejszych badań było unieruchomienie enzymu, pochodzącego od różnych producentów grzybowych, na nośniku chitozanowym oraz określenie jego właściwości fizykochemicznych, biologicznych i zmian strukturalnych uzyskanych preparatów.

Proces immobilizacji przeprowadzono stosując technikę adsorpcyjną oraz kowalencyjną z zastosowaniem aldehydu glutarowego (GA) jako czynnika modyfikującego powierzchnię nośnika chitozanowego. Dokonano charakterystyki fizykochemicznej (FTIR), strukturalnej (SEM) oraz biologicznej (DPPH, MTT) preparatów enzymatycznych unieruchomionych na matrycy chitozanowej.

Uzyskane wyniki pokazują, że zastosowana technika immobilizacji ma znaczący wpływ na wydajność wiązania enzymu z matrycą chitozanową, choć metoda adsorpcyjna jest mniej inwazyjna, proces chemiczny z zastosowaniem GA jako czynnika modyfikującego jest bardziej efektywny. Wykazano znaczące różnice we właściwościach immobilizowanych CDH pochodzących z różnych źródeł. Wszystkie badane enzymy posiadały silne właściwości antyoksydacyjne i przeciwbakteryjne w obecności substratów. Procedura immobilizacji zmieniła morfologię powierzchni nośnika we wszystkich wariantach doświadczenia w porównaniu z próbami kontrolnymi.

Proces immobilizacji CDH na matrycy chitozanowej techniką kowalencyjną korzystnie wpływa na efektywność enzymu w porównaniu z metodą adsorpcyjną, umożliwia jego ponowne wykorzystanie, poprawia stabilność i aktywność katalityczną oraz zwiększa odporność na zmiany środowiskowe i poprawia właściwości biologiczne.

## Dbłość o higienę w drogeriach kosmetycznych i jej wpływ na czystość testerów kosmetyków

Dominika Ziplińska<sup>1\*</sup>, Maja Muzyka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Studenckie Koło Naukowe Mykologów, Katedra Mikrobiologii i Mykologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, ul. Oczapowskiego 1A, 10-719 Olsztyn, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie*

*\*email autora do korespondencji: 171450@student.uwm.edu.pl*

Testery kosmetyczne w większości czasu narażone są na zanieczyszczenia pochodzące od potencjalnych konsumentów - klient dotykając produkt pozostawia na jego powierzchni mikroorganizmy. Dlatego obowiązkiem utrzymywania tych produktów w czystości mikrobiologicznej obarczone są drogerie posiadające w swojej ofercie możliwość korzystania z testerów kosmetyków. W celu analizy zanieczyszczenia owych produktów wykonano badania laboratoryjne oraz ankietowe, umożliwiające analizę bezpieczeństwa takich produktów pod kątem obecności potencjalnie szkodliwych dla człowieka mikroorganizmów. Wśród respondentów przeprowadzono autorską ankietę zawierającą pytania na temat sposobów utrzymywania i dbania o higienę testerów kosmetycznych.

Aby porównać stosowane przez pracowników drogerii metody dbałości o czystość testerów wykonano badania laboratoryjne, podczas których przeanalizowano czystość czterech rodzajów kosmetyków stosowanych do makijażu: podkład i korektor do twarzy, cienie do powiek oraz szminkę.

Próbki do badań pobrano losowo z czterech różnych drogerii kosmetycznych. Następnie wykonano posiewy metodą powierzchniową na podłoża stałe na szalkach Petriego (agar odżywczy, podłoże Sabourauda bez antybiotyku, podłoże Czapek-Doxa) oraz na podłoża płynne (bulion Sabourauda bez antybiotyku oraz bulion odżywczy). Założone hodowle inkubowano w temperaturze 37°C przez 6 dni. Wyhodowane kolonie bakteryjne zliczono, opisano makroskopowo oraz wykonano trwałe preparaty, barwione metodą Grama i Schaeffera-Fultona. Wykonane preparaty umożliwiły analizę mikromorfologii komórek, cech gram-ujemnych i gram-dodatnich oraz zdolności do wytwarzania przetrwalników.

Na podstawie zebranych danych ustalono, że największe zanieczyszczenie testerów kosmetycznych wystąpiło w Drogerii A (43%), podczas gdy najmniejsza ilość bakterii (7%) została wyizolowana w Drogerii D. Wśród badanych produktów kosmetycznych obserwowano, że największe zanieczyszczenie mikrobiologiczne wykazują cienie do powiek (73,34%), natomiast najmniejsze podkład do twarzy (3,33%).

Wyniki zostały przeanalizowane przy pomocy ankiet, na których podstawie wywnioskowano, że drogerie dbające o higienę testerów kosmetycznych wykazują znacznie niższą liczbę mikroorganizmów na ich powierzchniach.

## Dynamika zmian w funkcjonowaniu perydermy, wtórnej tkanki okrywającej, w sezonie wegetacyjnym u kasztanowca zwyczajnego (*Aesculus hippocastanum*)

Anna Brzostowska<sup>1\*</sup>, Edyta M. Gola<sup>1</sup>, Elżbieta Myśkow<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Biologii Rozwoju Roślin, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski Kanonia 6-8, 50-328 Wrocław

\* email autora do korespondencji: [anna.brzostowska@uwr.edu.pl](mailto:anna.brzostowska@uwr.edu.pl)

Numerory ORCID: AB: 0000-0003-0561-0572; EG: 0000-0002-4111-6785; EM: 0000-0001-6305-9681

Naturalnym zjawiskiem cechującym rośliny wieloletnie jest naprzemienne występowanie okresów aktywności i spoczynku. Szczególne znaczenie ma to u drzew, które w takim rytmie mogą funkcjonować przez setki lat dzięki tkankom wtórnym: przewodzącym, odpowiedzialnym za transport wody i substancji odżywczych w całym organizmie oraz okrywającym, zapewniającym ochronę przed wpływem szkodliwych czynników abiotycznych i biotycznych, takich jak zmiany temperatury, uszkodzenia mechaniczne czy wnikanie patogenów.

Sezonowość znajduje swoje odzwierciedlenie w zmianach fenologicznych, takich jak kwitnienie czy zrzucanie liści na zimę, a także w dynamice różnorodnych procesów rozwojowych, zachodzących na poziomie komórek, tkanek i całego organizmu. Należą do nich m.in. powstawanie i różnicowanie nowych komórek, a także zmiany aktywności tkanek, np. związane z wchodzeniem i wychodzeniem ze spoczynku zimowego. Charakter i dynamika tych procesów jest od wielu lat badana w kontekście aktywności kambium i powstawania wtórnych tkanek przewodzących, głównie drewna wtórnego. Niewiele jednak wiadomo na temat funkcjonowania wtórnej tkanki okrywającej, perydermy, tworzonej dzięki działalności drugiego merystemu bocznego, fellogenu.

Celem badań była charakterystyka aktywności fellogenu i regulacji rozwoju perydermy. Obiektem badań był kasztanowiec zwyczajny (*Aesculus hippocastanum*), rozpowszechniony w Europie gatunek drzewa ozdobnego. Zanalizowano fragmenty gałązek oraz martwicy korkowej (tzw. kory) pni wieloletnich drzew pobierane w odstępach jedno- i dwutygodniowych w okresie od marca do października, w latach 2019, 2021, 2022 i 2023.

Na podstawie analizy preparatów mikroskopowych scharakteryzowano funkcjonowanie perydermy w młodych, rocznych pędach (w których dochodzi do powstania perydermy), w pędach dwuletnich (po pierwszym okresie spoczynku zimowego), a także w perydermie dojrzałej (funkcjonującej w pniach starych drzew). Analizy pozwoliły na wyróżnienie sześciu etapów rozwoju komórek perydermy w pierwszym roku jej funkcjonowania. Wykazały także różnice w aktywności fellogenu w zależności od jego wieku: najdłużej aktywny był fellogen w roku powstania, podczas gdy w starszych perydermach jego aktywność była wyraźnie krótsza. Opisano także mechanizmy zapewniające utrzymanie ciągłości funkcjonowania perydermy poprzez odnowienie fellogenu z komórek kolenchymy (w pierwszym roku jej aktywności) lub komórek fellodermy (w drugim roku). W starszych pniach zaobserwowano zakładanie kolejnej perydermy z komórek floemu wtórnego. Mechanizmy te wskazują na plastyczność rozwojową organizmów wieloletnich, umożliwiającą funkcjonowanie w zmieniających się warunkach środowiska.

## **Optymalizacja usuwania zanieczyszczeń biogenych przez Sekwencyjny System Sedymentacyjno-Biofiltracyjny w warunkach okresowego przepływu wody**

Patrycja Chamczak<sup>1,2\*</sup>, Paweł Jarosiewicz<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Uniwersytet Łódzki Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Stefana Banacha 12/16, 90-232 Łódź*

<sup>2</sup> *Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, Tylna 3, 90-364 Łódź*

*\* email autora do korespondencji: patrycja.chamczak@edu.uni.lodz.pl*

*Numer ORCID: [PJ: 0000-0002-9104-2593](https://orcid.org/0000-0002-9104-2593)*

Pomimo poprawy jakości wód w Polsce w ostatnich dekadach, głównie na skutek budowy nowych oczyszczalni ścieków, stan wód w Polsce jest nadal w większości zły. Aby przeciwdziałać presji zanieczyszczeń obecnie coraz częściej poszukuje się Rozwiązań Bliskich Naturze, takich jak Sekwencyjne Systemy Sedymentacyjno-Biofiltracyjne (SSSB). Skuteczność SSSB jest stosunkowo dobrze poznana dla cieków o stałym przepływie, jednak w obliczu postępującej zmiany klimatu i degradacji cyklu hydrologicznego, istnieje konieczność weryfikacji tych technologii w ciekach o okresowym przepływie. Szczególnie ważne jest zachowanie się SSSB wobec azotu i fosforu – pierwiastków biogenych, wpływających na eutrofizację wód powierzchniowych.

Celem pracy była ocena wpływu występowania okresowego przepływu wody na usuwanie zanieczyszczeń biogenych w SSSB. Badania prowadzone zostały na dwóch poziomach: analiz laboratoryjnych oraz wykonania i testowania modelowego SSSB w mezoskali. Badania laboratoryjne obejmowały 48-godzinne testy sorpcji oraz 24-godzinne testy desorpcji fosforanów dla wybranych sorbentów. Następnie materiały te testowano w mezoskali, analizując usuwanie substancji biogenych w ujęciu czasowym (7-11 dni).

Uzyskane wyniki pozwoliły wyłonić materiały o wysokiej skuteczności usuwania fosforanów, sięgającej 95% (m.in. BioChalix, produkt firmy Hydroidea). Uwidocznione zostały różnice w uwalnianiu fosforanów pod wpływem przesuszenia pomiędzy badanymi sorbentami. Badania w mezoskali wykazały skuteczność usuwania fosforu i azotu sięgającą odpowiednio ponad 90% oraz 70%, przy zastosowaniu wybranych materiałów. W kontroli nie odnotowano zmiany. Wyniki badań pomogą w lepszym projektowaniu SSSB w ciekach o okresowym przepływie, co ma duże znaczenie w obliczu postępującej zmiany klimatu.

Badania zostały zrealizowane w ramach Studenckiego Grantu Badawczego Uniwersytetu Łódzkiego (tytuł projektu: „Skuteczność Przepuszczalnych Barrier Reaktywnych w usuwaniu zanieczyszczeń biogenych w warunkach okresowego przepływu wody”) oraz projektu Science Hub UŁ (pt. „Zastosowanie preparatów sorpcyjnych firmy Hydroidea do zwiększenia skuteczności Ekohydrologicznych Rozwiązaniach Bliskich Naturze”).

## Wzrost gorczycy białej (*Sinapis alba*) w obecności różnej wilgotności gleby oraz dodatku mikropolistyrenu i oleju napędowego do gleby

Tomasz Ciesielski<sup>1\*</sup>, Anna Parus<sup>1</sup>, Marta Woźniak-Karczewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska, ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań

\* email autora do korespondencji: tomasz.ciesielski@doctorate.put.poznan.pl

Numery ORCID: TC: 0000-0002-8243-6531; AP: 0000-0002-2061-1031; MWK: 0000-0002-4461-6785

Gleby rolnicze narażone są na obecność wielu toksycznych ksenobiotyków. Jednym z nich jest olej napędowy, którego źródłem w glebie mogą być między innymi maszyny rolnicze. Kolejnym ksenobiotykiem, który wzbudza obawy wśród naukowców, jest pojawiający się w coraz większych ilościach w środowisku plastik. Jego zwiększająca się z roku na rok produkcja powoduje, że coraz częściej w środowisku naturalnym pojawia się mikroplastik (wielkość cząstek 5 mm - 100 nm). Obecność ksenobiotyków, takich jak diesel czy mikroplastik, może oddziaływać negatywnie na środowisko glebowe, w tym między innymi na rośliny. Dodatkowo w glebie mogą panować zmienne warunki wodne (PWP – permanentny punkt zwilżania, FC – pojemność polowa oraz SAT – nasycenie), które także mogą mieć znaczący wpływ na wzrost roślin. Dlatego też postanowiono sprawdzić, jak dodatek diesla oraz mikroplastiku polistyrenowego (PS) do gleby, gdzie panuje zmienna wilgotność PWP, FC i SAT, będzie wpływać na wzrost gorczycy białej (*Sinapis alba*).

Wyniki uzyskanych badań sugerują, że głównym czynnikiem determinującym wzrost roślin były warunki wodne. Optymalna zawartość wody w glebie (FC) wpłynęła na uzyskanie największej ilości gorczycy białej w przedziale 350-450 mg. W warunkach niedostatecznej ilości wody w glebie (PWP) wzrost roślin był gorszy niż w FC i po pewnym czasie rośliny więdły. Natomiast dla warunków SAT, czyli największej wilgotności gleby, rośliny rosły najgorzej (średnia masa ok. 100 mg); gorczyca w takich warunkach zaczynała gnić. Dodatkowo obecność diesla wpłynęła na redukcję masy roślin – w przypadku warunków optymalnych FC o ponad połowę. Uzyskane wyniki sugerują, że głównym czynnikiem wpływającym na wzrost gorczycy białej była dostępność wody, natomiast obecność diesla była czynnikiem inhibitującym wzrost roślin.

Badania zostały zrealizowane w ramach projektu OPUS 21 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w Polsce, przyznanego na podstawie decyzji DEC-2021/41/B/NZ9/03981 pod tytułem "Multilevel relationships between the presence of micro/nanoplastics (MNPs) in soil and the amount and availability of water as well as sorption of model xenobiotics in terms of changes in biodegradation kinetics and soil microbial communities".



## ***Chlamydomonas reinhardtii* jako model w badaniach ekotoksyczności niesteroidowych leków przeciwzapalnych**

Dominika Kapuścińska<sup>1\*</sup>, Monika Hejna<sup>2</sup>, Anna Aksmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pracownia Fizjologii Roślin i Toksykologii, Katedra Biologii Eksperymentalnej i Biotechnologii Roślin, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

<sup>2</sup> Zakład Biotechnologii i Nutrigenomiki, Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk, ul. Postępu 36A, Jastrzębiec, 05-552 Magdalena

\*email autora do korespondencji: dominika.kapuscinska@phdstud.ug.edu.pl

Numery ORCID: DK: 0000-0001-6515-2521; MH: 0000-0003-3427-9831; AA: 0000-0003-4766-2434

W ciągu ostatnich kilku dekad obserwuje się rosnące zanieczyszczenie środowiska wodnego substancjami leczniczymi i ich pochodnymi. Szczególne zainteresowanie budzą niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ), które stanowią bardzo liczną grupę leków o różnorodnej budowie chemicznej. Jednym ze skutków środowiskowych powszechnej dostępności, niekontrolowanego uwalniania, a także braku skutecznych metod remediacji NLPZ jest ich toksyczne oddziaływanie na organizmy nie docelowe. Zielenice planktonowe, takie jak modelowy organizm *Chlamydomonas reinhardtii*, stanowią obiecujące narzędzie do detoksykacji i usuwania zanieczyszczeń farmaceutycznych ze środowiska naturalnego, niezbędne jest jednak dokładne poznanie wrażliwości tych organizmów na substancje lecznicze i zmian zachodzących w komórkach zielenic pod wpływem tych związków. W niniejszej pracy szczególną uwagę skupiono na nabumetonie (NBT) i kwasie flufenamowym (FFA), należącymi do grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Celem badań było oznaczenie wybranych parametrów stresu oksydacyjnego, a także określenie wpływu FFA i NBT na wydajność fotosyntezy u *C. reinhardtii*. Przyjęto założenie, że toksyczne działanie wybranych NLPZ na badaną zielenicę planktonową będzie się różnić w związku z ich odmienną budową chemiczną.

Przeprowadzone analizy potwierdziły powyższą hipotezę. Badane związki wykazywały zróżnicowaną toksyczność względem *C. reinhardtii*, a także indukowały stres oksydacyjny. Wyznaczone wartości  $EC_{50/24}$  wyniosły odpowiednio 5,76 mg/L dla NBT i 35,4 mg/L dla FFA. Nabumeton zwiększał wydzielanie tlenu fotosyntetycznego, w odróżnieniu od kwasu flufenamowego, który znacznie obniżył intensywność tego procesu. Szczegółowa analiza fluorescencji chlorofilu *a in vivo* wykazała, że obydwa badane związki obniżyły maksymalną wydajność kwantową pierwotnych reakcji fotochemicznych ( $\Phi P_o$ ) i transportu elektronów ( $\Phi E_o$ ). Ponadto FFA powodował zmniejszenie frakcji aktywnych centrów reakcji PS II ( $RC_M$ ), co jest prawdopodobną przyczyną hamowania wydzielania tlenu. Przeprowadzone badanie potwierdza wysoką toksyczność badanych NLPZ. Ich obecność w środowisku wodnym, stwarza zatem potencjalne ryzyko dla rozwoju populacji mikroglonów, a w konsekwencji funkcjonowania łańcuchów pokarmowych, u których podstawy znajdują się te organizmy.

Badania finansowane w ramach środków Narodowego Centrum Nauki (OPUS 2019/35/B/NZ9/01567).

## **Czy warto chronić starodrzewy gospodarcze?**

Natalia Mazurek<sup>1\*</sup>, Ewa Stefańska-Krzaczek<sup>1</sup>, Zygmunt Kącki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ogród Botaniczny, Uniwersytet Wrocławski, ul. Sienkiewicza 23, 50-335 Wrocław

\* email autora do korespondencji: [natalia.mazurek2@uwr.edu.pl](mailto:natalia.mazurek2@uwr.edu.pl)

Numery ORCID: NM: 0000-0003-1309-9292; ESK: 0000-0002-5802-0595; ZK: 0000-0002-2241-1631

Większość lasów występujących w Polsce podlega użytkowaniu gospodarczemu, co znacząco wpływa na strukturę tych zbiorowisk roślinnych. Większość drzew jest wycinana, gdy drzewostan przekracza wiek rębności, czyli zazwyczaj 100-160 lat, w zależności od gatunku. Oznacza to, że najstarsze drzewostany gospodarcze usuwane są w optymalnym stadium rozwoju zbiorowiska leśnego, które może kształtować się 300-400 lat. Lasów zbliżonych do naturalnych i wyłączonych z użytkowania jest jednak niewiele, więc to starodrzewy gospodarcze w wielu miejscach są jedyną ostoją dla gatunków leśnych.

Celem badań była ocena czy starodrzewy gospodarcze (100-180 lat) wyróżniają się specyficznym składem i wysokim bogactwem gatunkowym roślin naczyniowych w porównaniu z drzewostanami w wieku średnim (41-80 lat).

W zwartym kompleksie Borów Stobrawskich, położonym w południowo-zachodniej Polsce, zebrano dane florystyczne ze 100 kołowych powierzchni badawczych (300 m<sup>2</sup>) zakładanych w drzewostanach dębowych w średnim wieku (41-80 lat) oraz w starodrzewach (100-180 lat), z uwzględnieniem siedlisk o różnej żyzności i wilgotności. Obliczono ogólną oraz średnią liczbę gatunków, a także przeanalizowano zmienność składu gatunkowego w grupach drzewostanów różniących się wiekiem oraz zasobnością i wilgotnością zajmowanych siedlisk.

Średnie bogactwo gatunkowe starodrzewów oraz drzewostanów w wieku średnim nie różni się istotnie, ale wartość wskaźnika korelacji wskazuje na związek liczby gatunków z wiekiem drzewostanów. Drzewostany w średnim wieku i starodrzewy różnią się składem gatunkowym, a gatunki wskaźnikowe zależą od warunków siedliskowych. Drzewostany dębowe występujące na uboższych siedliskach zasiedlają gatunki kwaśnych dąbrów i borów mieszanych. Natomiast na siedliskach żyzniejszych i wilgotniejszych częściej występują gatunki grądów i lasów łęgowych. Stwierdzono także, że gatunki światłolubne preferują drzewostany młodsze.

Mimo iż starodrzewy gospodarcze nie charakteryzują się wysokim bogactwem gatunkowym, to są one jednak niezwykle istotne, ponieważ wykazują odrębność florystyczną w stosunku do młodszych drzewostanów. Bez względu na wiek drzewostany dębowe posiadają własną pulę gatunków oraz tworzą inne układy fitocenotyczne niż otaczające je monokultury sosnowe. Korzystne jest zachowanie starodrzewów nawet jeśli nie wyróżniają się one wysokim bogactwem roślin naczyniowych. Mogą one stanowić siedliska dla wielu innych grup organizmów.

## **Analiza źródeł zanieczyszczenia Morza Bałtyckiego metalami ciężkimi**

Dominika Piwowarska<sup>1,2</sup>, Edyta Kiedrzyńska<sup>2,1</sup>, Marcin Kiedrzyński<sup>3</sup>, Adam Józwiak<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Łódzki, Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

<sup>2</sup> Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Tylina 3, 90-364 Łódź

<sup>3</sup> Uniwersytet Łódzki, Katedra Biogeografii, Paleoekologii i Ochrony Przyrody, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

<sup>4</sup> Uniwersytet Łódzki, Katedra Informatyki, ul. Pomorska 149/153, 90-236 Łódź

\* email autora do korespondencji: dominika.piwowarska@edu.uni.lodz.pl

Numery ORCID: DP: 0000-0002-3586-8155; EK: 0000-0003-0649-4438; MK: 0000-0002-1751-9357; AJ: 0000-0002-3287-7064

Szybki rozwój przemysłu w zlewni zamieszkiwanej przez 85 mln ludzi oraz niemal całkowicie śródlądowe położenie sprawia, że Morze Bałtyckie jest stale narażone na dopływ zanieczyszczeń antropogenicznych. Ponadto, morze zasilane jest wodą słodką pochodzącą z obszaru dziewięciu rolniczych i wysoce uprzemysłowionych krajów, co wpływa na obniżanie zasolenia oraz dopływ toksycznych zanieczyszczeń tj. metale ciężkie. Stąd niezwykle istotna jest nie tylko kwantyfikacja problemu zanieczyszczenia, ale też opracowywanie nowych metod remediacji środowiska [1,2,3].

Celem badań jest holistyczna analiza głównych źródeł zanieczyszczeń Morza Bałtyckiego metalami ciężkimi oraz zaproponowanie modelowych działań ekohydrologicznych w zakresie rozwiązań opartych na naturze (EH Nature Based Solutions), mających na celu ograniczenie ich transportu ze zlewni do morza.

Jak pokazują dane HELCOM (2021), w latach 2012-2018 do Morza Bałtyckiego dostało się łącznie 2724,6 t metali ciężkich, w tym: 174 t kadmu, 32,6 t rtęci i 2518 t ołowiu, z czego 81,6% ładunku kadmu, 32,8% rtęci i 63,7% ołowiu doptynęło wraz z dopływem rzeczny [2]. Daje to średnio  $1,26 \times 10^{-5}$  t kadmu,  $9,52 \times 10^{-7}$  t rtęci i  $1,43 \times 10^{-4}$  t ołowiu uwalnianych ze spływów rzecznych rocznie z 1 km<sup>2</sup> zlewni. Dodatkowo w tym samym okresie do Bałtyku z bezpośrednich źródeł punktowych z 1 km<sup>2</sup> zlewni trafiło łącznie  $1,22 \times 10^{-5}$  t wymienionych wyżej metali, a w wyniku depozycji atmosferycznej z 1 km<sup>2</sup> zlewni dostało się  $2,74 \times 10^{-6}$  t kadmu i  $1,84 \times 10^{-6}$  t rtęci i  $1 \times 10^{-4}$  t ołowiu.

Mimo, iż metale można usunąć z wody m.in. poprzez chemiczne wytrącanie czy separację membranową, metody te są kosztowne i zaawansowane technologicznie. Dlatego też, obecnie większą uwagę przywiązuje się do rozwiązań bazujących na biotechnologiach ekohydrologicznych i rozwiązaniach opartych na naturze (NBS), które są preferowane zarówno w programach Komisji Europejskiej (p.Horyzont Europa), jak i w działaniach prowadzonych w ramach IX fazy Programu Hydrologicznego UNESCO-IHP. Rozwiązania te wykorzystują naturalne procesy biologiczne, tj.: bioremediacja i fitoremediacja, a ich przykładami mogą być m.in. constructed wetlands czy strefy buforowe [4].

Badania zrealizowane w ramach projektu Farmikro OPUS-22 Narodowego Centrum Nauki (Nr 2021/43/B/ST10/01076).

[1] HELCOM. 2021. *Inputs of hazardous substances to the Baltic Sea. Baltic Sea Environment Proceedings No. 179* [2] Kiedrzyńska E. et al. 2014. *Hierarchy of factors exerting an impact on the nutrient load of the Baltic Sea and sustainable management of its drainage basin. Marine Pollution Bulletin* 88: 162-173 [3] Lodenius M., (2016). *Factors affecting metal and radionuclide pollution in the Baltic Sea. European Journal of Environmental Sciences*, 6(2). [4] Piwowarska, D. et al. (2024). *A global perspective on the nature and fate of heavy metals polluting water ecosystems, and their impact and remediation. CREST*, 1-23.

## **Rola kwasu giberelinowego, kwasu abscysynowego oraz rapamycyny w regulacji kiełkowania nasion *Triticum aestivum* L.**

Julia Szymkiewicz<sup>1</sup>, Ernest Skowron<sup>2</sup>, Magdalena Trojak<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> *Biotechnologia, Instytut Chemii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce*

<sup>2</sup> *Zakład Biologii Środowiska, Instytut Biologii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce*

\* email autora do korespondencji: [magdalena.trojak@ujk.edu.pl](mailto:magdalena.trojak@ujk.edu.pl)

Numery ORCID: ES: 0000-0001-5330-9122; MT: 0000-0002-5771-2047

Kiełkowanie to podstawowy proces rozwoju każdej rośliny i jest wynikiem licznych zmian biochemicznych, fizjologicznych i morfologicznych. Pierwszy etap, czyli aktywacja metaboliczna zarodka rozpoczyna się od absorpcji wody do suchego nasiona i zależy od wielu czynników wewnętrznych tj. stężenia hormonów i stosunku aktywatorów do inhibitorów, ale również od warunków zewnętrznych. Celem badania była ocena wpływu stosowania kwasu giberelinowego (GA), kwasu abscysynowego (ABA) oraz rapamycyny (RAPA) na kiełkowanie nasion pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L. odmiany Comandor). Nasiona, o wilgotności na poziomie 14%, poddano powierzchniowej sterylizacji (3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), inkubowano odpowiednio w roztworach regulatorów – 10 μM GA, 10 μM ABA oraz 10 μM RAPA i umieszczono w komorze fitotronowej FITO700 przy stałych warunkach temperatury: 20,8°C, wilgotności otoczenia 60% oraz natężenia promieniowania wynoszącego 50 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (RGB).

Badania wykazały, że zastosowanie RAPA oraz ABA spowodowało opóźnienie wzrostu siewek *T. aestivum* L., co prowadziło do znacznego zmniejszenia świeżej masy oraz długości ich korzeni i pędów. Natomiast zastosowanie GA, stymulowano kiełkowanie nasion, przez co siewki charakteryzowała największa dynamika wzrostu oraz zwiększenie ich świeżej masy. Ponadto wykazano, że zastosowanie GA zwiększyło wartość rzeczywistej i maksymalnej wydajności kwantowej reakcji w PSII ( $\Phi_{PSII}$ , Fv/Fm) oraz szybkość przepływu elektronów w PSII (ETR<sub>II</sub>). Natomiast zastosowanie ABA oraz RAPA zmniejszyło wartość  $\Phi_{PSII}$  oraz Fv/Fm przy jednoczesnym wzroście kwantowej wydajności nieregulowanego wygaszania niefotochemicznego ( $\Phi_{NO}$ ). Potwierdza to, że naturalnie występujący inhibitor wzrostu ABA był bardziej skuteczny w hamowaniu aktywności fotosyntetycznej siewek *T. aestivum* L., w porównaniu do RAPA.

Kiełkowanie nasion stanowi kluczowy etap w cyklu życiowym roślin, a jego regulacja pozwala na uzyskanie optymalnej produkcji rolnej. Poznanie mechanizmów molekularnych działania regulatorów kiełkowania oraz spoczynku nasion, pozwoli na opracowanie biotechnologicznych rozwiązań stanowiących przyszłość przemysłu zbożowego.

*Badania finansowane w ramach realizacji projektu M16 Współpraca w przedmiocie opracowania innowacji objętego PROW 2014-2020, ARiMR Operacja DDD.6509.00044.2022.13 - Innowacyjna, proekologiczna konstrukcja silosów zbożowych niwelujących straty ziarna związane z rozwojem mikroorganizmów, zwłaszcza grzybów pleśniowych*

## Zmienność gatunków runa grądów na przykładzie gwiazdnicy wielkokwiatowej *Stellaria holostea*

Katarzyna Topolska<sup>1\*</sup>, Maciej Wódkiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych Uniwersytetu Warszawskiego, ul. Żwirki i Wigury 101, 02-089 Warszawa

\* email autora do korespondencji: k.topolska4@uw.edu.pl

Numery ORCID: KT: 0000-0001-9553-9153; MW: 0000-0002-7358-126X

Grądy to lasy liściaste strefy umiarkowanej o specyficznym składzie gatunkowym, które podlegają ochronie w Europie m.in. w ramach sieci Natura 2000. Na skutek silnej antropopresji, areal tych lasów w Polsce uległ znacznemu zmniejszeniu na przestrzeni lat. Dawniej rozległe tereny leśne zostały silnie przekształcone m.in. poprzez fragmentację drzewostanów. W efekcie, obecnie zbiorowiska te występują często w postaci ograniczonych przestrzennie płatów o zaburzonym składzie gatunkowym. Uważa się, że wraz z niekorzystnymi zmianami siedliska, presji podlegają również gatunki ściśle z nimi związane, w konsekwencji wycofując się. Pierwsze sygnały, mogące świadczyć o ustępowaniu tych roślin, podobnie jak dokładny mechanizm tego zjawiska, nie zostały w pełni poznane. Poszerzenie wiedzy na ten temat może mieć szczególne znaczenie m.in. w planowaniu skutecznej ochrony tych fitocenoz, zwłaszcza w dobie postępujących zmian klimatycznych.

Gwiazdnica wielkokwiatowa *Stellaria holostea* to jeden z gatunków charakterystycznych grądów, wciąż jeszcze występujący w nich dość powszechnie. Jest to również gatunek wskaźnikowy starych lasów cechujący się ograniczonymi zdolnościami dyspersji. Ze względu na fakt, że jego zdolności dyspersyjne mogą okazać się niewystarczające dla przetrwania w przypadku występowania silnych zaburzeń, postanowiono przyjrzeć się jego reakcji na zmiany siedliska oraz zmienności genetycznej. W przeciwieństwie do innych roślin typowych dla grądów, wiedza dotycząca funkcjonowania tego gatunku w zbiorowiskach leśnych jest wciąż niewystarczająca.

Aby uzupełnić tę lukę, zaplanowano badania gwiazdnicy wielkokwiatowej w zróżnicowanych układach środowiskowych i krajobrazowych, skupiające się na zmienności gatunku na trzech poziomach: fenologicznym, morfologicznym i genetycznym. W tym celu wytypowano 21 populacji zróżnicowanych, m.in. pod kątem stopnia izolacji przestrzennej, powierzchni płatu czy ogólnej charakterystyki siedliska. Założono również eksperyment wspólnego ogrodu, dzięki któremu możliwa jest obserwacja zróżnicowania cech roślin w ujednoliconych warunkach. Podczas wystąpienia zaprezentowany zostanie zarys badań planowanych w ramach projektu doktorskiego. Przedstawione zostaną również pierwsze, wstępne wyniki przeprowadzonych analiz.

## Pochodzenie i molekularna zmienność pijawek z Jeziora Ochrydzkiego

Patryk Wołodkiewicz<sup>1\*</sup>, Klaudyna Królikowska<sup>1</sup>, Tomasz Mamos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Zoologii Bezkręgowców i Hydrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

\* email autora do korespondencji: UL0245936@edu.uni.lodz.pl

Numery ORCID: PW: 0009-0008-9664-5634; KK: 0000-0003-0633-7213; TM: 0000-0002-0524-3015

Położone w centralnych Bałkanach, oligotroficzne i krasowe Jezioro Ochrydzkie, jest prawdopodobnie najstarszym jeziorem w Europie. Dotychczasowe badania fauny jeziora pozwoliły stwierdzić, że kryje ono znaczną endemiczną różnorodność biologiczną, dotyczy to przede wszystkim bezkręgowców. Jedną z grup, która charakteryzuje się wyjątkowo dużą zmiennością w jeziorze są pijawki. Dotychczas znaleziono 26 gatunków pijawek występujących w jeziorze, należących do pięciu rodzin: *Piscicolidae*, *Glossiphoniidae*, *Hirudinidae*, *Haemopiidae* i *Erpobdellidae*. Dwanaście z nich uważa się za gatunki endemiczne dla regionu.

Głównym założeniem niniejszego projektu jest zbadanie molekularnej zmienności oraz określenie pochodzenia, endemicznych dla jeziora Ochrydzkiego, pijawek należących do rodzin *Erpobdellidae*, *Glossiphoniidae* i *Piscicolidae*. Materiał do badań stanowiło 285 pijawek zebranych w rejonie Jeziora Ochrydzkiego w latach 2019-2022. W celu zbadania molekularnej zmienności, przeprowadzono barkoding COI 239 osobników, które zgrupowały się w 6-7 jednostek molekularnych odpowiadającym gatunkom, z międzygatunkowym dystansem K2p na poziomie 5%. Następnie, do rekonstrukcji filogenezy pozyskano od 89 osobników sekwencje markerów: 12S (mitochondrialne DNA), 18S i 28S (jądrowe DNA). Rekonstrukcje filogenezy wykonano z wykorzystaniem metody bayesowskiej w oparciu o program BEAST 2.

Wyniki badań sugerują znaczne zróżnicowanie molekularne wśród badanych organizmów zwłaszcza u należących do rodzaju *Dina* (*Erpobdellidae*). Ponad to, po raz pierwszy udało się wygenerować sekwencje barkodowe przedstawicieli *Piscicolidae* w regionie Jeziora Ochrydzkiego. Początkowo zakładano ich przynależność do rodzaju *Piscicola*, jednak po przeprowadzeniu analiz, wykazano bliższe pokrewieństwo z rodzajem *Cystobranchnus*. Pozyskane sekwencje zostały zarchiwizowane w bazie danych Barcode of Life Datasystems (BOLD).

Projekt finansowany w ramach programu Studenckich Grantów Badawczych Uniwersytetu Łódzkiego.

## **Wpływ obecności tetracyklin na środowisko wodne - sytuacja w Europie**

Joanna Antos<sup>1\*</sup>, Marianna Piosik<sup>1</sup>, Dobrochna Ginter-Kramarczyk<sup>1</sup>, Izabela Kruszelnicka<sup>1</sup>, Joanna Zembruska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Inżynierii Środowiska i Instalacji Budowlanych, Politechnika Poznańska, ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań

<sup>2</sup> Instytut Chemii i Elektrochemii Technicznej, Politechnika Poznańska, ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań

\* email autora do korespondencji: joanna.antos@doctorate.put.poznan.pl

Numery ORCID: JA: 0000-0002-9156-3399; MP: 0000-0002-9122-1436; DGK: 0000-0001-6588-4546; IK: 0000-0003-4400-2553; JZ: 0000-0002-3993-4818

Monitoring środowiska zajmuje się identyfikacją źródeł zanieczyszczeń środowiska, szacowaniem stężeń zanieczyszczeń, oceną ich toksyczności i ekotoksyczności, a także ich bioakumulacji przez organizmy żywe. Budzącymi niepokój polutantami w środowisku są antybiotyki. Obecnie poziom ich stężeń określany jest w jednostkach: [ng/L], [µg/L], [ng/g] i [µg/g]. Ich obecność jest odzwierciedleniem szerokiego stosowania w leczeniu ludzi i zwierząt. W ciągu ostatnich lat wzrosła sprzedaż antybiotyków o ponad 30%. Występowanie antybiotyków w środowisku prowadzi do lekooporności oraz ma negatywny wpływ na zwierzęta i ludzi. Średni poziom zanieczyszczenia tetracyklinami w wodach na terenie Europy wynosi od 0 do 20 ng/L. Istnieje zaledwie kilka doniesień literaturowych dotyczących monitoringu tetracyklin w środowisku wodnym i glebowym w Europie. Fakt ten może być wynikiem braku regulacji prawnych odnośnie oczyszczania ścieków z tetracyklin na terenie Europy. Prowadzone badania wskazują, że konwencjonalne oczyszczalnie ścieków nie radzą sobie z całkowitym usuwaniem tetracyklin z wody. Według ekspertów wprowadzenie czwartego etapu oczyszczania usprawniłoby ten proces. Tetracykliny bowiem są skutecznie usuwane ze ścieków poprzez oczyszczanie w procesach naświetlania promieniowaniem UV, adsorpcji i utleniania.

W celu rozwiązania problemu, jakim jest zanieczyszczenie tetracyklinami, należy unowocześnić technologie oczyszczania ścieków i przeprowadzić badania dotyczące monitorowania poziomów stężenia tetracyklin w środowisku, a także długoterminowe obserwacje wpływu tetracyklin bezpośrednio na środowisko. Konieczna jest również praca nad zmniejszeniem zanieczyszczenia środowiska antybiotykami.

1. J. Antos, M. Piosik, D. Ginter-Kramarczyk, J. Zembruska, I. Kruszelnicka, Tetracyclines contamination in European aquatic environments: A comprehensive review of occurrence, fate, and removal techniques, *Chemosphere* - 2024, vol. 353, s. 141519-1-141519-15.
2. L. Xu, H. Zhang, P. Xiong, Q. Zhu, C. Liao, G. Jiang, Occurrence, fate, and risk assessment of typical tetracycline antibiotics in the aquatic environment: a review. *Sci. Total Environ*-2021, vol. 753, s. 141975.
3. JF. Artiola, ML. Brusseau, The role of environmental monitoring in pollution science. In: *Environmental and Pollution Science*-2019, pp. 149–162

## **Charakterystyka pylenia roślin drzewiastych flory wiosennej na terenie miasta Kielce w roku 2023**

Magdalena Baćkowska<sup>1\*</sup>, Anna Kopacz-Bednarska<sup>2</sup>, Joanna Ślusarczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Instytut Biologii, Zakład Biologii Środowiska, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce*

<sup>2</sup> *Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Instytut Biologii, Zakład Biologii Medycznej, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce*

\* email autora do korespondencji: [magda.backowska@gmail.com](mailto:magda.backowska@gmail.com)

Numery ORCID: MB: 0000-0002-8185-4416; AKB: 0000-0003-0664-1450; JS: 0000-0001-8022-3244

Choroby alergiczne stanowią współcześnie poważny problem medyczny i społeczny. Badania prowadzone w ostatnich latach pokazują wyraźną tendencję wzrostową dla zapadalności na alergię w populacji ludzkiej, a częstość występowania choroby stale rośnie. Jednym z ważniejszych czynników wywołujących objawy alergii w okresie wiosennym są ziarna pyłku roślin drzewiastych, takich jak leszczyna, olcha, brzoza, topola, jesion, wiąz, wierzba, klon, grab, dąb, buk, cis i jałowiec, których alergeny mogą prowadzić do nasilenia dolegliwości alergicznych u osób szczególnie wrażliwych.

Terminy rozpoczęcia i zakończenia okresów pylenia mogą różnić się w poszczególnych latach, a stężenie alergenów pyłkowych może odbiegać od prognozowanych średnich wieloletnich. Pomiar aerobiologiczny stanowi zatem istotny wskaźnik ułatwiający wykrywanie źródeł alergenów wziewnych. Zdobyte w ten sposób dane służą do określenia momentu rozpoczęcia i zakończenia pylenia, długości trwania sezonu pyłkowego oraz osiąganych stężeń dobowych ziaren pyłku, a także ustalenia terminów największej koncentracji ziaren pyłku w powietrzu. Niniejsze badania obejmowały charakterystykę pylenia roślin drzewiastych flory wiosennej w Kielcach w roku 2023. Na podstawie badań monitoringowych przeprowadzonych metodą objętościową (aparatury Hirscha) wyznaczone zostały podstawowe parametry sezonu pyłkowego.

Analiza aerobiologiczna wykazała, że w 2023 roku najwcześniej rozpoczął się sezon pylenia leszczyny. Najwyższą roczną sumę ziaren pyłku oraz najwyższe maksymalne stężenie ziaren pyłku zaobserwowano w sezonie pylenia brzozy, co wskazuje na znaczący udział rośliny w rozwoju alergii pyłkowej w regionie. W sezonie pyłkowym brzozy zanotowano także największą liczbę dni z koncentracją ziaren pyłku powyżej stężeń progowych wywołujących objawy alergii. Spośród roślin okresu wiosennego najdłużej pyliły jałowiec i cis. Pozostałe gatunki charakteryzowały się krótszymi okresami pylenia i stosunkowo niskimi stężeniami ziaren pyłku, zarówno całkowitych sum rocznych, jak i stężeń maksymalnych. W roku 2023 okresem największego zagrożenia dla alergików, z uwagi na możliwość występowania reakcji krzyżowych był kwiecień, w którym odnotowano aż 11 gatunków roślin w sezonach pylenia. Z przeprowadzonych analiz wynika, że dynamika sezonu pyłkowego 2023 w Kielcach dla gatunków drzewiastych była zróżnicowana i cechowała się mniejszą intensywnością w porównaniu do lat ubiegłych (2021-2022).



## Wykorzystanie procesu kompostowania jako biologicznej metody przetwarzania bioodpadów

Wiktor Bojarski<sup>1\*</sup>, Wojciech Czekala<sup>1</sup>, Mateusz Nowak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Inżynierii Biosystemów, Wojska Polskiego 50, 60-627, Poznań

\* email autora do korespondencji: [wiktor.bojarski@up.poznan.pl](mailto:wiktor.bojarski@up.poznan.pl)

Numery ORCID: WB: 0000-0003-0606-8690; WC: 0000-0002-7750-9265; MN: 0000-0002-0499-7157

Potrzeby współczesnego świata w znacznej mierze skupiają się na poszukiwaniu oraz wdrażaniu nowoczesnych, a jednocześnie przyjaznych środowisku naturalnemu technik przetwarzania odpadów. Za takowe uznać można wszystkie współczesne instalacje wykorzystujące proces kompostowania.

Proces ten polega na kontrolowanej konwersji materiałów podlegających biodegradacji w produkty stabilne. Opiera się on na aktywnej działalności mikroorganizmów, a także grzybów. Kompostowanie znane jest ludzkości od ponad czterech tysięcy lat, lecz dopiero w wyniku rozwoju współczesnej inżynierii możliwe było jego udoskonalenie oraz wykorzystanie na szerszą skalę. Obecnie proces kompostowania stanowi najpopularniejszą na świecie metodę stabilizacji bioodpadów. W Polsce wykorzystanie tego procesu do zagospodarowania odpadów biodegradowalnych zwiększa się z każdym rokiem. Według danych z Głównego Urzędu Statystycznego wykorzystanie procesu kompostowania oraz fermentacji metanowej w zagospodarowaniu odpadów wzrosło z 7% w roku 2017 do 14% w roku 2022.

W ramach realizowanej pracy przeprowadzono przegląd literatury, w celu wskazania dostępnych technologii wykorzystujących proces kompostowania do przetwarzania bioodpadów. Ponadto określono istotne zalety wykorzystania tego procesu w ramach wdrażanej na szeroką skalę gospodarki o obiegu zamkniętym.

Przeprowadzony przegląd literatury wykazał, że obecnie prowadzone są intensywne badania nad procesem kompostowania, które sprawiają, że na rynek wprowadzane są coraz nowocześniejsze technologie maksymalizujące efektywność procesu w zagospodarowywaniu odpadów biodegradowalnych. Ponadto wskazano, że omawiany proces wpisuje się w tak cenioną obecnie ideologię gospodarki o obiegu zamkniętym.

## **Ocena wielkości świadczenia wybranych usług ekosystemów na terenach rodzinnych ogrodów działkowych**

Konrad Budziński<sup>1,2\*</sup>, Renata Włodarczy-Marciniak<sup>2</sup>, Agnieszka Bednarek<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237, Łódź*

<sup>2</sup> *Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Tylna 3, 90-364, Łódź*

*\* email autora do korespondencji: konrad.budzinski@edu.uni.lodz.pl*

*Numery ORCID: KB: 0000-0002-3891-8963; RWM:0000-0002-0285-0055; AB: 0000-0003-4795-7400*

Zieleń stanowi istotny element tkanki współczesnych miast. Charakterystyka terenów zurbanizowanych jako obszarów o dużym zagęszczeniu populacji, nagromadzenia infrastruktury oraz postępu gospodarczego, kulturowego i społecznego sprawia, że wszelkie elementy przyrodnicze stają się w nich niezwykle cenne (Wagner 2020). Porządane jest, by zieleń miejska stanowiła wielofunkcyjne przestrzenie, które zapewniają mieszkańcom nie tylko korzyści środowiskowe, jak regulacja mikroklimatu poprzez zmniejszanie uciążliwości zjawiska miejskiej wyspy ciepła czy poprawę jakości powietrza lecz także szereg dobrodziejstw społeczno-kulturowych jak możliwość rekreacji w zielonym otoczeniu lub doznania estetyczne (Zwierzchowska, Mizgajski, 2019). Wszystkie dobra, które wynikają z obecności ekosystemów i ich funkcjonowania, z których człowiek pośrednio i bezpośrednio czerpie korzyści są określane mianem usług ekosystemów.

W ramach prowadzonych badań, na podstawie analizy botanicznej, przeprowadzono ocenę intensywności świadczenia usług ekosystemów na terenach rodzinnych ogrodów działkowych. Do analiz wzięte zostały przykłady usług w każdej z czterech kategorii (TEEB 2011): siedliskowych, zaopatrujących, regulacyjnych i kulturowych. Porównane zostały funkcje ekologiczne i społeczne działek, które są wykorzystywane i zagospodarowane w niekiedy skrajnie różny sposób: rolniczo-uprawny, rekreacyjno-wypoczynkowy oraz mieszany.

### Literatura:

1. Poradnik TEEB dla miast: usługi ekosystemów w gospodarce miejskiej (2011), wydanie polskie: Fundacja Sendzimira, Kraków.
2. Wagner I. 2020. Ekohydrologia miejska, czyli błękitno-zielone aspekty adaptacji miast do zmian klimatu. *Academia. Prezentacje. Hydrobiologia*, 2, 62: 76-80.
3. Zwierzchowska I., Mizgajski A. 2019. Potencjał zielonej infrastruktury w dużych polskich miastach do świadczenia usług ekosystemowych, *Rozwój Regionalny i Polityka Regionalna* 47: 21–37.

## **Zastosowanie analiz fluorescencji chlorofilu *a* do oceny aktywności fotosyntetycznej roślin *Triticum aestivum* L. i *Avena sativa* L.**

Aleksandra Czupryńska<sup>1</sup>, Ernest Skowron<sup>2</sup>, Magdalena Trojak<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> *Biotechnologia, Instytut Chemii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce*

<sup>2</sup> *Zakład Biologii Środowiska, Instytut Biologii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce*

\* email autora do korespondencji: [magdalena.trojak@ujk.edu.pl](mailto:magdalena.trojak@ujk.edu.pl)

Numery ORCID: ES: 0000-0001-5330-9122; MT: 0000-0002-5771-2047

Światło odgrywa kluczową rolę jako sygnał stymulujący biosyntezę barwników fotosyntetycznych w tkankach roślin, a zmiany zarówno jego natężenia, jak i składu spektralnego wpływają na właściwości morfofizjologiczne i biochemiczne roślin. Wśród barwników fotosyntetycznych chlorofil *a* ma szczególne znaczenie, ponieważ pomiar emisji jego fluorescencji jest podstawą funkcjonowania fluorymetrów, stosowanych w badania określających aktywność fotosyntetyczną roślin w odpowiedzi na zmiany warunków środowiskowych.

Celem badań była identyfikacja wpływu zmian składu spektrum uprawowego na aktywność fotosyntetyczną i tempo ontogenezy zbóż uprawnych zarówno w odmianie ozimej - pszenica zwyczajna (*Triticum aestivum* L.) i jarej - owsa zwyczajnego (*Avena sativa* L.). Uprawa prowadzona była w dwóch komorach fitotronowych: rGB (*red-green-blue*: 40%:40%:20%) oraz Rgb (*red-green-blue*: 50%:35%:15%) o natężeniu promieniowania 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  w temperaturze 23±1°C i wilgotności otoczenia 50±5%.

Pomiar fluorescencji chlorofilu *a* wykazał, że rośliny wzrastające w spektrum Rgb charakteryzowała niższa maksymalna wydajność kwantowa PSII (Fv/Fm), szczególnie obserwowana u roślin *T. aestivum* L. Natomiast najwyższa rzeczywista wydajność kwantowa -  $\Phi_{\text{PSII}}$  występowała u roślin pszenicy wzrastających w komorze - rGB, co potwierdziły również analizy szybkości transportu elektronów - ETR<sub>II</sub>. Zwiększony udział promieniowania czerwonego w spektrum, aktywował mechanizm regulowanego wygaszania niefotochemicznego NPQ oraz pasywnego wygaszania niefotochemicznego  $\Phi_{\text{NO}}$ , szczególnie u roślin *A. sativa* L. Uprawa roślin w warunkach Rgb ograniczyła akumulację barwników fotosyntetycznych (indeks zieloności - SPAD), biomasy oraz przyspieszyła fazę generatywną roślin *A. sativa* L. w porównaniu do roślin uprawianych w rGB.

Opracowana nieinwazyjna metoda oceny fluorescencji chlorofilu *a* stanowi ważne narzędzie do szybkiego fenotypowania różnych odmian roślin, szczególnie w przypadku upraw zamkniętych, w których optymalizacja składu i natężenia światła ma kluczowe znaczenie w podnoszeniu ich produktywności.

*Badania finansowane w ramach realizacji projektu M16 Współpraca w przedmiocie opracowania innowacji objętego PROW 2014-2020, ARiMR Operacja DDD.6509.00044.2022.13 - Innowacyjna, proekologiczna konstrukcja silosów zbożowych niwelujących straty ziarna związane z rozwojem mikroorganizmów, zwłaszcza grzybów pleśniowych*

## Gospodarka ściekowa w Polsce i sekwencyjne systemy biofiltracji ścieków

Światosław Gorodecki<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> *Departament Monitoringu Środowiska, Główny Inspektorat Ochrony Środowiska w Warszawie, Al. Jerozolimskie 92, 00-807, Warszawa*

*\* email autora do korespondencji: [swiat.gorodecki@gmail.com](mailto:swiat.gorodecki@gmail.com)*

*Numer ORCID: ŚG: 0009-0004-5938-0148*

W referacie przedstawiono analizę rozwoju gospodarki ściekowej w Polsce w latach 1995-2019 oraz efektywność pracy oczyszczalni ścieków w Szadku jako etap przygotowawczy przed budową Sekwencyjnego Systemu Biofiltracji Ścieków, który jest jednym z przykładów zastosowania biotechnologii ekohydrologicznych. Ochrona wód przed zanieczyszczeniami staje się głównym problemem do rozwiązania, ponieważ ścieki są jednym z elementów zanieczyszczających w dużym stopniu ekosystemy wodne. Analiza gospodarki ściekowej w Polsce została wykonana na bazie danych statystycznych udostępnionych przez Główny Urząd Statystyczny. Natomiast analizę jakości ścieków oraz wody rzecznej Pichny, która jest odbiornikiem ścieków, przeprowadzono w laboratorium Europejskiego Regionalnego Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk.

W wyniku analizy rankingowej województw pod kątem emisji ładunku zanieczyszczeń odprowadzanych z przemysłowych i komunalnych oczyszczalni ścieków stwierdzono, że największy ładunek zanieczyszczeń w ściekach oczyszczonych w 2019 r. odprowadzały województwa z największą gęstością zaludnienia. Rozwój gospodarki ściekowej w całym kraju z upływem lat stopniowo się poprawia. Inwestycje w gospodarkę ściekową nie tylko przyspieszają rozwój społeczno-gospodarczy, a także umożliwiają spełnienie postanowień dyrektyw unijnych ważnych dla życia i zdrowia ludzi.

Oczyszczalnie ścieków dużych miast i zakładów przemysłowych wyposażone są często w nowoczesne systemy oczyszczania oparte o nowe technologie, które zapewniają efektywne oczyszczanie ścieków oraz ich higienizację. Sytuacja często wygląda znacznie gorzej w oczyszczalniach małych (poniżej 2000 RLM) i średniej wielkości.

Technologia oczyszczania ścieków w Szadku nie umożliwiała w okresie badań odpowiedniego usuwania związków biogenych i zawiesiny ze ścieków. Sekwencyjny System Biofiltracji Ścieków jest niezwykle potrzebny, aby doczyszczać ścieki oczyszczone i przeciwdziałać odpływowi zanieczyszczeń do rzeki Pichny. Zastosowanie w szerszej skali rozwiązań opartych o naturę pozwoli poprawić jakość wody w zlewni.

## **Rolnicze zastosowanie pofermentu z biogazowni - możliwe zagrożenia środowiskowe**

Mateusz Nowak<sup>1\*</sup>, Wojciech Czekala<sup>2</sup>, Wiktor Bojarski<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Katedra Inżynierii Biosystemów, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wojska Polskiego 50, 60-637 Poznań, Polska*

*\* email autora do korespondencji: mateusz.nowak@up.poznan.pl*

*Numerory ORCID: MN: 0000-0002-0499-7157; WC: 0000-0002-7750-9265; WB: 0000-0003-0606-8690*

Intensywne nawożenie gleby nawozami mineralnymi doprowadza do różnych problemów związanych z wysokimi kosztami, zanieczyszczeniem azotanami i utratą węgla w glebie. Nawożenie materia organiczną, taką jak kompost, stanowi zatem alternatywę dla aktualnych trendów zrównoważonego rolnictwa. Tradycyjne nawozy organiczne, takie jak obornik, komposty i osady ściekowe, były w przeszłości często badane. Jednak zastosowania pofermentów biogazowych i ich wpływ na środowisko i zdrowie ludzi są nadal nieprzebadane w pełnym zakresie.

Fizyczno-chemicznymi cechami wpływającymi na możliwą toksyczność pofermentu dla środowiska naturalnego wydają się być wysoka zawartość amonu, zasolenie, ChZT, fosforany. W związku z tym konieczna jest obróbka wstępna w celu zmniejszenia zagrożenia dla środowiska, niezależnie od sposobu jego wykorzystania. Wytypowano kilka głównych obszarów potencjalnych zagrożeń. Pierwszym z nich jest możliwe zanieczyszczenie gleby. Choć poferment zawiera składniki odżywcze istnieje również nadmiar pewnych substancji, takich jak np. metale ciężkie, może prowadzić to do zanieczyszczenia gleby, co negatywnie wpływa na jej zdolność produkcyjną oraz może prowadzić do bioakumulacji w roślinach. Sytuacja ta jest szczególnie istotna, gdy biogazownia do procesu fermentacji wykorzystuje jako wsad osady ściekowe. Kolejnym z istotnych zagrożeń jest niekontrolowane stosowanie pofermentu co może prowadzić do wymywania substancji odżywczych i zanieczyszczeń do wód gruntowych, co z kolei może mieć negatywny wpływ na jakość wód i ekosystemów wodnych. Ostatnim z analizowanych aspektów jest emisyjność i odorowość pofermentu, co może stanowić potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzi.

W pracy skupiono się na analizie potencjalnych zagrożeń środowiskowych związanych z rolniczym wykorzystaniem pofermentu pochodzącego z biogazowni. Pulpa pofermentacyjna, będąca produktem ubocznym procesu produkcji biogazu, jest najczęściej wykorzystywana jako nawóz w rolnictwie, głównie ze względu na swoje wartości odżywcze i potencjał poprawy struktury gleby szczególnie lekkich. Jednakże jej stosowanie może przyczynić się do różnych negatywnych skutków dla środowiska, co przedstawiono w szczegółowej analizie. Podkreślono konieczność uwzględnienia i skutecznego zarządzania potencjalnymi zagrożeniami środowiskowymi związanymi z rolniczym wykorzystaniem pofermentu z biogazowni. Wskazano potrzebę dalszych badań nad skutkami tego rodzaju zagospodarowania oraz konieczność opracowania odpowiednich regulacji, które mogą pomóc w minimalizacji negatywnych wpływów na środowisko i zdrowie publiczne.

## **Fitotoksyczność kwasów fenolowych**

Katarzyna Rzyska<sup>1\*</sup>, Anna Przybylska-Balcerek<sup>1</sup>, Danuta Kurasiak-Popowska<sup>2</sup>, Sylwia Mikołajczyk<sup>2</sup>, Kinga Stuper-Szablewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Chemii, Wydział Leśny i Technologii DREWNA, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 75, 60-628 Poznań

<sup>2</sup> Katedra Genetyki i Hodowli Roślin, Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Bioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

\* email autora do korespondencji: katarzyna.rzyska@up.poznan.pl

Numery ORCID: KR: 0009-0004-5960-069X; APB: 0000-0002-0481-6416; DKP: 0000-0002-2214-406X; SM: 0000-0003-2480-855X; KSS: 0000-0002-9011-8592

Kwasy fenolowe, zaliczane do niskocząsteczkowych związków przeciwutleniających produkowanych przez rośliny i grzyby, pełnią różnorodne funkcje metaboliczne. Według badań naukowych, wykazują one szerokie spektrum potencjalnego działania toksycznego na inne organizmy, w tym na rośliny. W ramach pracy dokonano przeglądu literatury uzupełnionego o badania własne pod kątem możliwego fitotoksycznego działania kwasów fenolowych.

Kwasy fenolowe są naturalnymi pestycydami chroniącymi rośliny przed patogenami, które jednocześnie korzystnie wpływają na roślinę je produkującą oraz utrudniają kiełkowanie, wzrost i rozwój roślin sąsiadujących. Przykładami w tym zakresie mogą być rozpuszczalne w wodzie chwastobójcze allelochemikalia izolowane z koniczyny (*Medicago sativa* L.), do których zaliczają się przede wszystkim kwasy cynamonowe i ich pochodne, czyli kwas wanilinowy, ferulowy i p-kumarowy. Kwas kawowy wykazuje charakterystyczne działanie w stosunku do niektórych gatunków roślin, takich jak m.in. stymulacja wzrostu sałaty lub zahamowanie wzrostu wrzosu zwyczajnego (*C. vulgaris*). W konsekwencji wykazuje działanie fitotoksyczne w odniesieniu do wzrostu korzeni roślin jednoliściennych i dwuliściennych. Hamuje metabolizm energetyczny w chloroplastach i mitochondriach oraz utrudnia modyfikację powinowactwa wiązań z receptorami błonowymi.

Chemiczny mechanizm fitotoksyczności kwasu fenolowego nie został dokładnie wyjaśniony; niemniej jednak na podstawie danych literaturowych i doświadczeń przeprowadzonych przez autorów badań można stwierdzić, że toksyczne działanie na kiełkowanie nasion może być częściowo związane z ich lipofilowym charakterem. Wiadomo również, że kwasy karboksylowe i fenole indukują koniugacje form utlenionych podczas fotofosforylacji fotosyntetycznej w mitochondriach i chloroplastach. Źródła literaturowe na ten temat również wskazują na podwójne działanie kwasów fenolowych. Kwasy fenolowe występujące pojedynczo lub w połączeniu z innymi polifenolami wykazują działanie fitotoksyczne na rośliny. Mechanizm ten może opierać się na ich działaniu synergistycznym lub antagonistycznym. W komórkach roślinnych prowadzi to do redukcji m.in. tempa fotosyntezy i transpiracji. Ester metylowy kwasu salicylowego pełni funkcję nośnika uruchamiającego mechanizmy obronne przed infekcjami wewnątrz rośliny i pomiędzy roślinami. Dotychczasowe badania wskazują również, że zbyt niskie stężenie kwasów fenolowych w komórkach roślinnych może również nasilać skutki stresu oksydacyjnego.

## **Wpływ światła czerwonego, zielonego i niebieskiego na metabolizm fotosyntetyczny roślin pomidora**

Bogumiła Walczewska<sup>1</sup>, Ernest Skowron<sup>2</sup>, Magdalena Trojak<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> *Biotechnologia, Instytut Chemii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce*

<sup>2</sup> *Zakład Biologii Środowiska, Instytut Biologii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce*

\* email autora do korespondencji: [magdalena.trojak@ujk.edu.pl](mailto:magdalena.trojak@ujk.edu.pl)

Numery ORCID: ES: 0000-0001-5330-9122; MT: 0000-0002-5771-2047;

Światło jest wykorzystywane przez rośliny zarówno jako źródło energii podczas fotosyntezy oraz jako nośnik informacji w procesach fotomorfogenetycznych. Wśród sztucznych źródeł oświetlenia diody półprzewodnikowe LED (*light-emitting diodes*), ze względu na wysoką efektywność konwersji energii elektrycznej na promieniowanie fotosyntetycznie aktywne (PAR, *photosynthetically active radiation*), są wykorzystywane w uprawach prowadzonych w kontrolowanych warunkach CEA (*controlled-environment agriculture*). Celem pracy była analiza wpływu światła monochromatycznego czerwonego - R, zielonego - G i niebieskiego - B na wzrost i rozwój roślin pomidora zwyczajnego (*Solanum lycopersicum* L. cv. Malinowy Ożarowski). Jako kontrole zastosowano światło białe - RGB i czerwono–niebieskie - RB.

Analiza zawartości barwników fotosyntetycznych wykazała, że największe stężenie chlorofilu *a* i *b* oraz karotenoidów posiadają rośliny pomidora, które wzrastały w świetle B. Rośliny te wykazały wyższe parametry maksymalnej - Fv/Fm, rzeczywistej  $\Phi_{PSII}$  wydajności kwantowej i szybkości transportu elektronów - ETR<sub>II</sub>, co świadczy o zwiększonej wydajności fotosyntezy. W grupie roślin R stwierdzono najniższe stężenie chlorofilu *a* i *b* oraz karotenoidów, co potwierdzono również analizą indeksu SPAD. Obserwowana niska wartość  $\Phi_{PSII}$  i ETR<sub>II</sub> oraz najwyższa wartość parametru regulowanego wygaszania niefotochemicznego NPQ, świadczy o uruchomieniu mechanizmu ochronnego dla PSII i może wskazywać na uszkodzenie aparatu fotosyntetycznego. U roślin uprawianych w świetle G zaobserwowano wzrost wydajności nieregulowanego wygaszania niefotochemicznego  $\Phi_{NO}$  przy jednoczesnym spadku NPQ, co potwierdza, że zarówno fotochemiczna konwersja energii, jak i ochronne mechanizmy regulacyjne są nieefektywne. Dodatkowo, wykazano wpływ składu spektrum na syntezę metabolitów wtórnych, gdzie największą akumulację antocyjanów zaobserwowano przy udziale światła RGB.

Przeprowadzone badania mają istotne znaczenie dla zrozumienia wpływu składu spektrum uprawowego na wzrost i rozwój roślin oraz wyjaśnienia mechanizmów syntezy metabolitów wtórnych.

## **Znaczenie aktywności szlaków biosyntezy cytokinin MVA i MEP w indukcji starzenia się liści tytoniu**

Paulina Węzigowska<sup>1</sup>, Magdalena Trojak<sup>2</sup>, Ernest Skowron<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> *Biotechnologia, Instytut Chemii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce*

<sup>2</sup> *Zakład Biologii Środowiska, Instytut Biologii, Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce*

\* email autora do korespondencji: [ernest.skowron@ujk.edu.pl](mailto:ernest.skowron@ujk.edu.pl)

Numery ORCID: MT: 0000-0002-5771-2047; ES: 0000-0001-5330-9122

Biologiczną rolą starzenia się liści jest remobilizacja i relokacja związków w nich zawartych do innych części rośliny, w których rozpoczyna się proces rozwoju i wzrostu. Postępującemu starzeniu towarzyszy utrata zawartości pigmentów fotosyntetycznych, białek, lipidów oraz kwasów nukleinowych, a najwcześniejsze zmiany notowane są na poziomie chloroplastów.

Regulacja starzenia się liści jest zależna od czynników endo- i egzogennych. Do kluczowych regulatorów endogennych należą fitohormony, w tym cytokiny (CK). Starzenie się liści jest bezpośrednio związane ze spadkiem stężenia i aktywności CK, czemu przeciwdziała ich egzogenna aplikacja, podnosząc produktywność roślin uprawnych. Odmiany roślin, charakteryzujące się naturalnie podwyższonym poziomem CK charakteryzuje fenotyp *stay-green* i podwyższona produktywność.

Celem niniejszej pracy była identyfikacja zależności między aktywnością szlaków biosyntezy endogennych CK – cytozolowego szlaku mewalonowego (MVA) oraz plastydowego szlaku fosforanu metylo-erytrytolu (MEP) a tempem starzenia się liści oraz dostarczenie rozwiązań pozwalających opóźnić moment jego inicjacji. W badaniach wykorzystano trzy odmiany tytoniu szlachetnego (*Nicotiana tabacum* L.): Xanthi, Golden Virginia oraz Monte Calme Yellow o zróżnicowanej wrażliwości na inhibitory syntezy CK. W badaniu zastosowano traktowanie egzogenną CK – benzyloadeniną oraz inhibitorami syntezy CK: lowastatyną i chlomazonem. Postęp starzenia indukowanego deprywacją świetlną monitorowano za pomocą pomiarów fluorescencji chlorofilu *a* (PAM), indeksu zieloności liści (SPAD) oraz zmian profilu białkowego (SDS-PAGE).

Wykazano, że badane odmiany tytoniu charakteryzuje różna wrażliwość na zastosowane związki oraz tempo starzenia. Odmiana Xanthi wykazująca cechy fenotypu *stay-green* charakteryzuje się spowolnionym procesem starzenia, co koreluje z niską wrażliwością na lowastatynę i chlomazon. Z kolei Golden Virginia, a w szczególności Monte Calme Yellow to odmiany tytoniu charakteryzujące się szybkim postępowaniem procesu starzenia liści po jego indukcji i obniżeniem aktywności fotosyntetycznej. Badania dostarczyły ważnych informacji dotyczących roli aktywności szlaków MEP i MVA regulujących syntezę endogennych cytokinin w indukcji starzenia się liści tytoniu.



## Wstępne wyniki potencjału antyoksydacyjnego u porostów Antarktycznych

Aleksandra Andrzejowska<sup>1,2\*</sup>, Krystian Mokrzyński<sup>3</sup>, Beatrycze Nowicka<sup>3</sup>, Ewa Latkowska<sup>3</sup>, Kazimierz Strzałka<sup>3</sup>, Angelica Casanova-Katny<sup>4</sup>, Hubert Harańczyk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jagielloński, ul. Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Instytut Fizyki M. Smoluchowskiego, Uniwersytet Jagielloński, ul. Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków, Polska

<sup>3</sup> Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński ul. Gronostajowa 7A, 30-387 Kraków, Poland

<sup>4</sup> Wydział Nauk o Ziemi, Katolicki Uniwersytet w Temuco, Chile

\* email autora do korespondencji: [aleksandra.andrzejowska@doctoral.uj.edu.pl](mailto:aleksandra.andrzejowska@doctoral.uj.edu.pl)

Numery ORCID: AA: 0000-0003-4541-1455; KM: 0000-0001-8092-9132; BN: 0000-0002-2696-5439

Stres oksydacyjny jest związany z rozwojem wielu chorób cywilizacyjnych, takich jak cukrzyca, choroby układu sercowo-naczyniowego i choroby neurodegeneracyjne. Chociaż syntetyczne antyoksydanty są skuteczne i już szeroko stosowane (szczególnie w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym), w ostatnich latach zwraca się uwagę na ich negatywne skutki zdrowotne. Dlatego poszukuje się nowych, nietoksycznych i naturalnych antyoksydantów. Intuicyjnie wydaje się, że należy szukać tych substancji w organizmach wystawionych na najtrudniejsze warunki środowiskowe, prowadzące do zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu (ROS). Jednym z najbardziej wymagających środowisk jest Antarktyda. Antarktyczne porosty wytwarzają unikalne metabolity wtórne, które posiadają właściwości antyoksydacyjne [1].

W przedstawianym badaniu wybrano cztery gatunki antarktycznych porostów: *Umbilicaria antarctica*, *Caloplca regalis*, *Sphaerophorus globosus* i *Stereocaulon alpinum*, w poszukiwaniu naturalnych, ale skutecznych antyoksydantów, mających potencjał do zastosowań farmaceutycznych i kosmetycznych. Otrzymane ekstrakty zostały poddane analizie metodą chromatografii cieczowej połączonej z masową spektrometrią (HRLC-MS). Potencjał antyoksydacyjny określono za pomocą detekcji czasu życia tlenu singletowego. Ponadto przeprowadzono eksperymenty komórkowe, testując toksyczność i potencjał antyoksydacyjny in vivo. Komórki keratynocytów ludzkich (HaCaT) inkubowano przez 24 godziny z ekstraktami porostów o różnym stężeniu. Po inkubacji dodano do komórek 100  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Przeżywalność komórek obserwowano za pomocą aktywności mitochondrialnej (test MTT) zaraz po dodaniu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oraz po 24 godzinach.

Analiza HRLC-MS wykazała, że głównym metabolitem wtórnym testowanych ekstraktów jest kwas gyroforowy, który posiada silny potencjał utleniający. Wszystkie testowane ekstrakty istotnie zmniejszyły czas życia singletowego tlenu, ale najbardziej skuteczne były ekstrakty pochodzące z *C. regalis*. Aktywność mitochondrialna komórek, odpowiadająca przeżywalności, była najniższa po inkubacji z ekstraktem z *U. antarctica*, jednak była istotnie wyższa ( $p < 0,01$ ) niż dla komórek bez ekstraktu. Testowane stężenia ekstraktu nie wykazały cytotoksyczności dla komórek.

Uzyskane wyniki sugerują, że ekstrakty antarktycznych porostów mogą stanowić odpowiedź na poszukiwanie naturalnych i skutecznych antyoksydantów.

1. Bhattacharyya S. et. al. *J. PharmTech Res.* 2016; 6(6)

## **Ocena działania inhibitorów CHK1i oraz PARP-1 w monoterapii i podaniu skojarzonym w oparciu o zmiany poziomu białek związanych ze stresem replikacyjnym w komórkach raka wątroby**

Wiktoria Bębenek<sup>1\*</sup>, Agnieszka Marczak<sup>1</sup>, Aneta Rogalska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Medycznej, ul. Pomorska 141/143, 90-236, Łódź

\* email autora do korespondencji: [wiktoria.bebenek@edu.uni.lodz.pl](mailto:wiktoria.bebenek@edu.uni.lodz.pl)  
 Numery ORCID: AM: 0000-0003-3439-9032; AR: 0000-0002-4170-1693

PARP-1 pełni istotną rolę w naprawie DNA, dzięki czemu chroni komórki przed stresem replikacyjnym i przyczynia się do zachowania integralności genomu. Zahamowanie działania PARP-1 sprzyja akumulacji pojedynczych pęknięć nici DNA (SSB) oraz ich konwersji do trudno naprawialnych, pęknięć dwuniciowych (DSB). Może to prowadzić do śmierci komórek nowotworowych z zaburzeniami rekombinacji homologicznej (HR) przy jednoczesnej aktywacji kinazy CHK1. Dlatego też, celem przeprowadzonych badań było określenie czy połączenie olaparibu (PARPi) z inhibitorem kinazy CHK1 (CHK1i) może przyczynić się do wzrostu skuteczności terapii opartej o inhibicję PARP-1 w komórkach raka wątroby.

Do oszacowania cytotoksyczności badanych związków w linii HepG2 i linii Hep3B zastosowano test aktywności metabolicznej MTT. Wyznaczono stężenia związków (CHK1i oraz PARPi) stosowanych w kombinacjach. Ekspresję natywnej formy białka PARP-1, o pełnej długości jak i formy ciętej, oceniono za pomocą ilościowej metody Western Blot. PARPi oraz CHK1i promując akumulację podwójnych pęknięć DNA w komórkach, powodują fosforylację histonu H2AX przy serynie 139 ( $\gamma$ H2AX), będącego markerem pęknięć dwuniciowych. Dlatego też w powyższym badaniu oceniono czy hamowanie PARP-1 i blokowanie szlaku CHK1 może wywołać zmianę fosforylacji H2AX.

Przeprowadzone badania wykazały, że w komórkach linii HepG2 monoterapia olaparibem, jak również kombinacja olaparibu z CHK1i zwiększyły wyłącznie poziom ekspresji PARP-1. W przypadku komórek linii Hep3B, jedynie kombinacja inhibitorów indukowała znaczący, synergistyczny wzrost PARP-1. Dodanie CHK1i do olaparibu istotnie zwiększyło ekspresję ciętego PARP-1 do poziomu, jaki obserwowano w przypadku monoterapii CHK1i. Skojarzone działanie CHK1i oraz PARPi istotnie zwiększyło ekspresję fosforylowanego histonu H2AX w obu badanych liniach komórkowych w porównaniu z odpowiednimi monoterapiami, przy czym efekt ten był większy w komórkach linii Hep3B.

Uzyskane wyniki sugerują, że oba badane inhibitory stresu replikacyjnego w podaniu skojarzonym są cytotoksyczne i genotoksyczne w komórkach raka wątroby.

1. Gupta M., Iyer R., Fountzilias C. 2019. *Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitors in Pancreatic Cancer: A New Treatment Paradigms and Future Implications*. *Cancers* (Basel), 11 (12): 1980.

## Znaczenie VEGFA w rozwoju kamicy moczowej na poziomie molekularnym

Kinga Grzybowska<sup>1\*</sup>, Paulina Wigner-Jeziorska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sekcja Biochemiczna SKNB, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

<sup>2</sup> Katedra Biochemii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

\* email autora do korespondencji: kinga.grzybowska@edu.uni.lodz.pl

Numer ORCID: PWJ: (0000-0002-0590-6966)

Kamica moczowa (ang. urolithiasis) jest jednym z najczęstszych schorzeń związanych z układem moczowym, należących do grupy chorób cywilizacyjnych. Choroba ta polega na wytrącaniu się trudno rozpuszczalnych w moczu związków w postaci złogów, które uniemożliwiają prawidłowy przepływ moczu przez drogi moczowe. Pomimo licznych badań, patomechanizm tego schorzenia nadal nie jest w pełni poznany. Istnieją teorie, wskazujące na kluczowy udział procesów przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej, a tym samym angiogenezy w mechanizmie rozwoju kamicy moczowej. Ponadto, fakt ten, wydaje się zasługiwać na uwagę ze względu na doniesienia epidemiologiczne wskazujące na wzrost ryzyka rozwoju raka pęcherza moczowego w grupie pacjentów z kamicią moczową. W związku z tym, w prezentowanych badaniach podjęto próbę określenia roli VEGFA (czynnik wzrostu śródbłonna naczyń, ang. vascular endothelial growth factor), który jest głównym regulatorem procesu angiogenezy w patogenezie kamicy moczowej [2].

Prezentowane badania obejmowały analizę rozkładu genotypów polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP, ang. single nucleotide polymorphism) 2578 A > C — VEGFA (rs699947) w grupie pacjentów z zdiagnozowaną kamicią moczową i w grupie kontrolnej oraz jej wpływu na ekspresję VEGFA na poziomie mRNA.

Do badań wykorzystano krew pełną pobraną od 52 pacjentów z zdiagnozowaną kamicią moczową oraz od 50 osób, należących do grupy kontrolnej, z której wyizolowano RNA i DNA z zastosowaniem komercyjnego zestawu DNA/RNA Extracol Kit (Eurx, Polska). Następnie, w celu dokonania profilowania SNP oraz określenia poziomu ekspresji VEGFA przeprowadzono łańcuchową reakcję polimerazy w czasie rzeczywistym (real-time PCR) w termocyklerze CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (BIO-RAD Laboratories Inc., USA) z wykorzystaniem sond TaqMan (Thermo Fischer Scientific, USA) i RT PCR Mix Probe (A&A Biotechnology, Polska). Wszystkie wykonane procedury uzyskały zgodę Komisji ds. Etyki Badań Naukowych UŁ (nr 12/KBBN-UŁ/II/2020-21).

Podsumowując, przeprowadzone przeze mnie badania wskazują na znaczącą rolę VEGFA w molekularnym mechanizmie rozwoju kamicy moczowej poprzez ułatwiony transport składników budujących nowe złogi. Ponadto, wyniki te sugerują podobnie jak dotychczasowe dane epidemiologiczne możliwe powiązanie kamicy moczowej z rozwojem raka pęcherza moczowego.

Słowa kluczowe: kamica moczowa, polimorfizm pojedynczego nukleotydu, ekspresja mRNA, urologia, angiogeneza

1. Zhang, Lu et al. "Global, Regional, and National Burden of Urolithiasis from 1990 to 2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019." *Clinical epidemiology* vol. 14 971-983. 15 Aug. 2022, doi:10.2147/CLEP.S370591
2. Melincovici, Carmen Stanca et al. "Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis." *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie* vol. 59,2 (2018): 455-467

## **Akroleina indukuje zmiany w białkach i morfologii błon erytrocytów**

Michał Kopera<sup>1,2\*</sup>, Krzysztof Gwoździński<sup>1</sup>, Anna Pieniążek<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Katedra Biologii Nowotworów i Epigenetyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, 90-236 Łódź, Polska*

<sup>2</sup> *Uniwersytet Łódzki, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, 90-236 Łódź*

\* *email autora do korespondencji: [michal.kopera@edu.uni.lodz.pl](mailto:michal.kopera@edu.uni.lodz.pl)*

*Numery ORCID: MK: 0000-0001-6875-1423; KG: 0000-0003-2590-7496; AP: 0000-0001-5061-1596*

Wysokie stężenia akroleiny (2-propenalu) występują w powietrzu zanieczyszczonym spalinami i dymie papierosowym. Związek ten może być również wytwarzany endogennie jako produkt przemian metabolicznych poliamin, utleniania treoniny i kwasów tłuszczowych oraz podczas rozkładu leków przeciwnowotworowych. Wykazano, że akroleina związana jest z indukcją i progresją wielu chorób do których należą między innymi: przewlekła obturacyjna choroba płuc, cukrzyca, choroba Alzheimera, choroby nowotworowe, przewlekła niewydolność nerek i choroby układu krążenia. Wysoka reaktywność akroleiny wobec grup tiolowych i aminowych aminokwasów może powodować uszkodzenia białek komórkowych. Akroleina może być odpowiedzialna również za indukcję stresu oksydacyjnego w komórkach. W wyniku analizy naszych wcześniejszych badań i danych literaturowych postawiliśmy hipotezę, że akroleina może przyczyniać się do uszkodzenia białek błonowych oraz komórkowych w erytrocytach, prowadząc do zaburzenia struktury ich błon komórkowych.

Eryocyty człowieka inkubowano 24 godziny w 37 °C z akroleiną w 3 stężeniach (0.3 mg/L, 0.6 mg/L oraz 1.2 mg/L), a następnie dokonano oceny płynności lipidów błonowych z wykorzystaniem znaczników spinowych (5-DS, 12-DS i 16-DS.) i stanu konformacyjnego białek błonowych (MSL i ISL) techniką EPR. W białkach błonowych i hemolizatu określono poziom grup tiolowych, aminowych i karbonylowych. Ponadto zmierzono również oporność osmotyczną, poziom całkowitego nieenzymatycznego potencjału przeciwutleniającego oraz stężenie produktów reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS).

Przeprowadzone badania wykazały, że ekspozycja erytrocytów na akroleinę powoduje zmiany zarówno w białkach błony komórkowej jak i hemolizatu. Akroleina usztywnia błonę komórkową erytrocytów co powoduje wzrost ich wrażliwości osmotycznej. Spadek całkowitego nieenzymatycznego potencjału przeciwutleniającego wewnątrz erytrocytów spowodował nasilenie procesów utleniania białek i lipidów. Uzyskane wyniki badań jasno wskazują, że stopień zachodzących w erytrocytach zmian wywołanych obecnością akroleiny uzależniony jest od jej dawki.

**Homocysteina i jej metabolity wpływają na poziom białek związanych z metabolizmem białka prekursorowego amyloidu w komórkach mysiej neuroblastomy N2A-APP<sub>swe</sub>**

Łukasz Mencil<sup>1\*</sup>, Hieronim Jakubowski<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Dojazd 11, 60-632 Poznań

<sup>2</sup> Uniwersytet Rutgers New Jersey Medical School, Katedra Mikrobiologii, Biochemii i Genetyki Molekularnej, Warren Street 225, 07103-3535, Newark, New Jersey

\* email autora do korespondencji: lukasz.mencil@up.poznan.pl

Numery ORCID: ŁM: 0000-0003-0789-4943; HJ: 0000-0001-5845-4409

Homocysteina (Hcy) jest aminokwasem siarkowym. Powstaje z metioniny dostarczanej z pożywieniem, a następnie przekształcana jest powrotnie w metioninę w procesie remetylacji, cysteinę w procesie transsulfuracji lub w tiolakton homocysteiny (HTL). Podwyższony poziom Hcy związany jest z wieloma chorobami w tym chorobą Alzheimera. HTL łączy się z resztami lizynowymi białek w procesie N-homocysteinytacji, proces ten powoduje zmiany w ich strukturze i funkcji. Akumulacja  $\beta$ -amyloidu ( $A\beta$ ) generowanego z białka prekursorowego amyloidu (APP), powoduje powstawanie płytek amyloidowych, których agregaty występują w mózgach pacjentów chorych na chorobę Alzheimera.

Celem badania było sprawdzenie hipotezy, mówiącej że homocysteina oraz jej metabolity wpływają na poziom białek związanych z metabolizmem białka prekursorowego amyloidu w komórkach mysiej neuroblastomy N2A-APP<sub>swe</sub>. Wcześniejsze badania wykazały, że podwyższony poziom Hcy i HTL zwiększa poziom APP, lecz sposób działania wymaga dalszego sprawdzenia.

Komórki neuroblastomy N2A-APP<sub>swe</sub> zawierające ludzki transgen z mutacjami w genie białka prekursorowego amyloidu hodowano na pełnej pożywce DMEM/F12. Komórki traktowano Hcy, HTL oraz N-homocysteinyłowymi białkami. Białka związane z metabolizmem APP oznaczano ilościowo metodą Western blot.

Traktowanie komórek N2A-APP<sub>swe</sub> za pomocą Hcy i HTL powodowało podwyższenie poziomu fosforylowanej formy APP, która powoduje zmianę wysokości cięcia APP i zwiększenie produkcji  $A\beta$  oraz  $\beta$ -sekretazy (BACE1) odpowiadającej za pierwszy etap cięcia w szlaku amyloidogennym. Poziom PSEN1, będącej podjednostką  $\gamma$ -sekretazy, odpowiadającej za drugi etap cięcia APP, był podwyższony po traktowaniu Hcy. Nie zauważono wpływu N-homocysteinyłowanych białek na proces.

Traktowanie Hcy oraz HTL powoduje zmiany w poziomie białek związanych z metabolizmem APP, wskazując na zwiększenie występowania szlaku amyloidogennego, może to tłumaczyć powiązanie Hcy z chorobą Alzheimera.

Badania częściowo wspierane przez grant NCN 2021/43/B/NZ4/00339.

## Ocena wpływu ekstraktów z wybranych gatunków rzewienia (*Rheum L.*) należących do sekcji *Palmata* na odpowiedź hemostatyczną komórek śródbłónka

Karolina Michaś<sup>1</sup>, Justyna Krzyżanowska-Kowalczyk<sup>2</sup>, Mariusz Kowalczyk<sup>2</sup>, Oleksandra Liudvytska<sup>1</sup>, Joanna Kołodziejczyk-Czepas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Biochemii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, [www.uni.lodz.pl](http://www.uni.lodz.pl), Pomorska 141/143, 90-236, Łódź

<sup>2</sup> Zakład Biochemii i Jakości Plonów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, [www.iung.pulawy.pl](http://www.iung.pulawy.pl), Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

\* email autora do korespondencji: [karolina.michas@edu.uni.lodz.pl](mailto:karolina.michas@edu.uni.lodz.pl)

Numery ORCID: OL: 0000-0001-7119-033X; JKK: 0000-0003-0811-5235; MK: 0000-0001-7454-4762; JKC: 0000-0001-8849-1067

Korzenie *Rheum tanguticum Maxim ex Balf* oraz *Rheum officinale Baill.* (sekcja *Palmata*) stanowią surowiec zielarski wykorzystywany w medycynie wielu regionów świata. W/w gatunki rzewienia znalazły szerokie zastosowanie w terapii zaburzeń przewodzenia pokarmowego i stanów zapalnych. Ich wpływ na działanie układu hemostazy jest natomiast poznany w znikomym stopniu. W butanolowych ekstraktach otrzymanych z korzeni badanych gatunków dominowały antrachinony, charakterystyczna była również obecność sennozydów, m.in: sennozydu A, sennozydu C oraz ich malonylowanych pochodnych. W tej grupie zaobserwowano również liczne pochodne reiny (heksozydy, malonylowane heksozydy oraz diantrony), wykryto także pochodne emodyny, oraz aloeemodyny (diantrony). Grupa stilbenów była reprezentowana przez heksozydy resveratrolu estryfikowane kwasem gallusowym, hydroksybenzoesowym lub cynamonowym.

Celem pracy była porównawcza ocena działania ekstraktów z korzeni i ogonków liściowych *Rheum officinale* oraz *R. tanguticum* na odpowiedź prokoagulacyjną oraz profibrynolityczną komórek śródbłónka. Doświadczenia przeprowadzono na ludzkich komórkach śródbłónka, izolowanych z żyły pępowinowej (HUVECs), stymulowanych trombiną (4U/ml). Odpowiedź prokoagulacyjną komórek, preinkubowanych badanymi ekstraktami (1-50 µg/ml), oceniano na podstawie immunodetekcji (ELISA) czynnika von Willebranda (vWF). Potencjał profibrynolityczny oceniano na podstawie pomiaru poziomu (ELISA) uwalnianego tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) oraz inhibitora aktywatorów plazminogenu 1 (tworzenia kompleksów PAI-1-t-PA).

Badane ekstrakty z rzewieni obniżały poziom uwalnianego vWF (maks. o 30% dla ekstraktu z ogonków liściowych *R. officinale*). Spadek sekrecji vWF wskazuje, że badane ekstrakty zmniejszają aktywność prokoagulacyjną komórek śródbłónka. Badane ekstrakty modulowały także aktywność profibrynolityczną i ograniczały procesy sekrecyjne komórek śródbłónka. Odnotowano spadek uwalniania t-PA (o ok. 50% dla ekstraktów z ogonków oraz korzeni obu gatunków przy 50 µg/ml) i PAI-1 (o ok. 35% dla ekstraktów z ogonków liściowych obu gatunków rzewienia).

Finansowanie badań: NCN (UMO-2018/31/B/NZ9/01238).

## **Wykorzystanie metod bioinformatycznych do projektowania mutantów o zwiększonej stabilności termicznej L-asparaginaz**

Izabela Pieróg<sup>\*1,2</sup>, Anna Ściuk<sup>1,2</sup>, Joanna Loch<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków

<sup>2</sup> Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. prof. Stanisława Łojasiewicza 11 30-348 Kraków

\* email autora do korespondencji: [izabela.pierog@doctoral.uj.edu.pl](mailto:izabela.pierog@doctoral.uj.edu.pl)

Numery ORCID: IP: 0009-0000-4831-0225; AŚ: 0000-0003-4515-9966; JL: 0000-0002-7345-4527

Ostra białaczka limfoblastyczna jest jednym z najczęstszych nowotworów występujących u dzieci pomiędzy 2 a 10 rokiem życia. Od kilkunastu lat w terapii przeciwko ALL stosowane są L-asparaginazy Klasy 1, które powodują śmierć komórek nowotworowych w wyniku zubożenia surowicy krwi w L-asparaginę. Niestety obecnie używane L-asparaginazy wywołują wiele skutków ubocznych w tym neurotoksyczność związaną z koaktywnością glutaminazową tych enzymów.<sup>1,2</sup> Dlatego nieustannie poszukiwane są nowe enzymy o korzystniejszych parametrach kinetycznych i mniejszej immunotoksyczności. Jedną z metod uzyskania białek o ulepszonych właściwościach jest systematyczna mutagenaza ukierunkowana.

Celem badań było zaprojektowanie oraz charakterystyka biofizyczna i kinetyczna mutantów roślinnej L-asparaginazy Klasy 2, tj. PvAIII(K) o potencjalnie zwiększonej stabilności termicznej w oparciu o techniki bioinformatyczne. Nowe warianty enzymu zostały scharakteryzowane pod kątem stabilności termicznej przy pomocy nanoDSF i poprawności fałdowania z użyciem metod CD. Dodatkowo dla aktywnego mutantu N147I wykonano pomiary aktywności enzymatycznej metodą Nesslera polegającej na pomiarach spektrofotometrycznych przy długości fali 420 nm.

Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowany program bioinformatyczny HoTMuSiC<sup>3</sup> poprawnie wytypował miejsca mutacji dla badanego białka, powodując zwiększenie temperatury topnienia białka od 1 do nawet 16 °C. Jednak, w wyniku wprowadzonych mutacji zaobserwowano zmniejszenie lub całkowitą utratę aktywności L-asparaginazowej.

Praca została wykonana w ramach projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (NCN, Polska) grant 2020/38/E/NZ1/00035.

### Literatura:

1. Egler, R. A., Ahuja, S. P. & Matloub, Y. L-asparaginase in the treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia. *J Pharmacol Pharmacother* **7**, 62–71 (2016).
2. Loch, J. I. & Jaskolski, M. Structural and biophysical aspects of L -asparaginases: a growing family with amazing diversity . *IUCrJ* **8**, 514–531 (2021).
3. Pucci, F., Bourgeas, R. & Rومان, M. Predicting protein thermal stability changes upon point mutations using statistical potentials: Introducing HoTMuSiC. *Sci Rep* **6**, (2016).

## Choroby neurodegeneracyjne – czy mogą mieć związek z arginazą 2?

Martyna Podgajna<sup>1\*</sup>, Aleksandra Kaczyńska<sup>1</sup>, Michał Węgrzynowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pracownia Molekularnych Podstaw Neurodegeneracji, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. A. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa

\* email autora do korespondencji: [mpodgajna@imdik.pan.pl](mailto:mpodgajna@imdik.pan.pl)

Numery ORCID: MP: 0000-0002-8323-9492; AK: 0009-0000-9534-8357; MW: 0000-0002-5082-9576

Choroby neurodegeneracyjne (CN), które charakteryzują się postępującą utratą selektywnie wrażliwych populacji neuronów, stanowią najbardziej zagadkową grupę chorób i są poważnym wyzwaniem XXI wieku. Jesteśmy starzejącym się społeczeństwem – chorych przybywa, a etiologia, leczenie i prewencja pozostają nieznane.

Jednym z białek, które potencjalnie może być zaangażowane w patogenezę CN jest arginaza 2 (Arg2). Niedawno odkryto, że Arg2 – enzym mitochondrialny jest obficie wzbogacony tylko w wybranych regionach mózgu, a najwięcej jest go w prążkowie – regionie odpowiedzialnym za kontrolę motoryki. Wykazano, że postępująca utrata Arg2 może być potencjalnym czynnikiem przyczyniającym się do patogenezy choroby Huntingtona (HD).

Celem pracy jest określenie znaczenia prążkowej Arg2 w funkcjonowaniu prążkowiec oraz ustalenie, w jaki sposób deficyt Arg2 i wynikający z niego niedobór metabolizmu argininy mogą przyczyniać się do patogenezy w HD. W badaniach wykorzystano myszy C57Bl/6J (WT) i genetyczny mysi model braku Arg2 (myszy Arg2<sup>-/-</sup>; Arg2<sup>tm1Weo/J</sup>). Wykorzystując metody immunohistochemiczne określono dokładną lokalizację komórkową Arg2, wykazując, że białko to obecne jest w średnich neuronach kolczystych - populacji neuronów szczególnie dotkniętych we wczesnych stadiach patogenezy HD. Porównano proteom myszy WT i Arg2<sup>-/-</sup>. Z analiz bioinformatycznych wynika, że Arg2 może wspomagać funkcjonowanie mitochondriów prążkowiec. Otrzymane wyniki zweryfikowano metodą western blotting. Morfologię mitochondriów oceniono z wykorzystaniem metody mikroskopii elektronowej.

Podsumowując, wyniki przedstawione w tej pracy sugerują, że Arg2 ma specyficzną lokalizację, wspiera funkcjonowanie mitochondriów w średnich neuronach kolczystych, a utrata tego enzymu może przyczyniać się do patogenezy CN poprzez dysfunkcję mitochondriów.



## **Znaczenie genów *PHGPx*, *CAT* i *CYBB* jako potencjalnych markerów diagnostycznych kamicy moczowej**

Nikola Zaniewicz<sup>1\*</sup>, Małgorzata Wielgus<sup>1</sup>, Julia Saiki<sup>1</sup>, Paulina Wigner-Jeziorska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Sekcja Biochemiczna Studenckiego Koła Naukowego Biologów, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236, Łódź*

<sup>2</sup> *Katedra Biochemii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236, Łódź*

\* email autora do korespondencji: [nikola.zaniewicz@edu.uni.lodz.pl](mailto:nikola.zaniewicz@edu.uni.lodz.pl)

Numer ORCID: [PWJ: 0000-0002-0590-6966](https://orcid.org/0000-0002-0590-6966)

Kamica moczowa (ang. urolithiasis) związana jest z formowaniem się w moczu złogów trudno rozpuszczalnych substancji, które utrudniają jego prawidłowy przepływ w drogach moczowych. Aktualnie częstość występowania kamicy moczowej sięga w populacji globalnej 14,8% i wartość ta nadal wzrasta. Istotny problem w przypadku tego schorzenia stanowi późne rozpoznanie (w momencie zablokowania przepływu moczu w drogach moczowych) i jego częste nawroty. A zatem, istotne wydaje się prowadzenie badań, mających na celu opracowanie panelu molekularnych markerów diagnostycznych kamicy moczowej, umożliwiających wczesną i trafną diagnostykę, jeszcze przed pierwszym epizodem kolki nerkowej.

Dotychczasowe badania sugerują znaczącą rolę stresu oksydacyjnego w mechanizmie rozwoju kamicy moczowej. W związku z tym, przeprowadzone badania miały na celu określenie wpływu wybranych wariantów polimorficznych zlokalizowanych w genach *PHGPx*, *CAT* i *CYBB* na częstość występowania kamicy moczowej oraz ocenę wpływu rozwoju tego schorzenia na poziom ekspresji badanych genów.

Materiał badawczy stanowiły próbki DNA i RNA wyizolowane komercyjnym zestawem DNA/RNA Extracol Kit (Eurx) z krwi pełnej pobranej z żyły łokciowej od 60 pacjentów ze zdiagnozowaną kamica moczową, przebywających na Oddziale Urologii WSZ im. M. Kacprzaka w Płocku oraz od 60 zdrowych ochotników stanowiących grupę kontrolną. Następnie dokonano profilowania polimorfizmów (rs7943316, rs713041 oraz rs5963310) oraz oznaczenia poziomu ekspresji badanych genów w reakcji real-time PCR z zastosowaniem sond TaqMan (Thermo Fischer Scientific) i RT PCR Mix Probe (A&A Biotechnology). Wszystkie procedury uzyskały zgodę Komisji ds. Etyki Badań Naukowych UŁ (nr 12/KBBN-UŁ/II/2020-21).

Uzyskane wyniki wykazały, że genotyp A/A polimorfizmu c.-89 A > T — *CAT* (rs7943316) wpływał na zmniejszenie częstości występowania choroby, podczas gdy heterozygoty tego polimorfizmu znacznie częściej cierpiały z powodu kamicy moczowej. Ponadto, mając na uwadze główne czynniki ryzyka kamicy moczowej wykonano dodatkowe analizy, uwzględniające płeć, palenie papierosów oraz nadwagę i otyłość, z powodu których osoby palące i mężczyźni będący homozygotami A/A polimorfizmu c.-89 A > T cierpieli znacznie częściej na kamica moczową, podczas gdy heterozygoty cechowały się odwrotną zależnością. Co więcej pacjenci z kamica moczową cechowali się niższą ekspresją *CAT* na poziomie mRNA w porównaniu z grupą kontrolną.

Podsumowując, uzyskane wyniki sugerują kluczową rolę *CAT* w molekularnym mechanizmie rozwoju kamicy moczowej. Istnieje więc uzasadniona potrzeba prowadzenia dalszych badań w tym zakresie.

## **Biokompatybilność nanokompozytów w stosunku do erytrocytów człowieka**

Beata Bielska<sup>1,2\*</sup>, Katarzyna Miłowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Biofizyki Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Instytut Biofizyki, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź, Polska

<sup>2</sup> Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Łódzki

\* email autora do korespondencji: [beata.bielska@edu.uni.lodz.pl](mailto:beata.bielska@edu.uni.lodz.pl)

Numery ORCID: BB: 0009-0004-9201-6786; KM: 0000-0000-0000-0000

Gojenie ran to skomplikowany i dynamiczny proces, w który zaangażowane są różnego rodzaju komórki i białka. Urazy skóry można podzielić na ostre oraz przewlekłe. Rany ostre zazwyczaj goją się w przeciągu 4-12 tygodni natomiast rany przewlekłe to trudno gojące się urazy, które wynikają ze stanów patologicznych. Rany przewlekłe wpływają na jakość życia pacjenta, zwiększają zachorowalność, ponieważ są bardziej podatne na infekcje tym samym podnosząc liczbę przypadków śmiertelnych. Zachowanie integralności skóry jest najwyższym wymogiem, aby zachować zdrowie pacjenta, dlatego wciąż poszukiwane są nowe rozwiązania. Potencjalne działanie wspomagające proces gojenia ran wykazują nanokompozyty: nanocząstki złota i srebra (Au@AgNP) oraz filmy chitozanowe zmodyfikowane polifenolami.

Au@AgNP w połączeniu z polifenolami wykazują szereg korzystnych właściwości w gojeniu ran: działanie przeciwzapalne, przeciwutleniające, przeciwdrobnoustrojowe. Filmy chitozanowe są doskonałym kandydatem w leczeniu urazów skóry ze względu na niską toksyczność, biodegradowalność, wysoką biokompatybilność, dużą dostępność i niski koszt produkcji. W połączeniu z polifenolami pozwalają przezwyciężyć słabą rozpuszczalność w wodzie i otrzymać związek o zwiększonej aktywności przeciwutleniającej i charakteryzujący się działaniem przeciwdrobnoustrojowym i przeciwnowotworowym [1].

Celem niniejszego badania była ocena stopnia toksyczności nanokompozytów sprzężonych z kwercetyną na ludzkie erytrocyty i ludzkie fibroblasty skóry *in vitro*.

Materiał biologiczny stanowiły ludzkie erytrocyty. Hemotoksyczność nanokompozytów oceniano na podstawie stopnia hemolizy i stopnia utlenienia hemoglobiny do methemoglobiny w erytrocytach. Oznaczeń dokonano przy użyciu metod spektrofotometrycznych. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że nanocząstki w połączeniu z kwercetyną w zakresie stężeń (0,5-25 µg/ml) nie wykazywały istotnej toksyczności wobec erytrocytów. Niektóre filmy chitozanowe połączone w różnym stosunku i wariantach z kwercetyną wykazywały nieznaczną toksyczność w stosunku do erytrocytów człowieka. Otrzymane wyniki pozwalają sądzić, że badane nanokompozyty są biokompatybilne z użytym materiałem biologicznym, co w konsekwencji zachęca do dalszych badań oceniających ich potencjał w procesie gojenia ran.

1. Orłowski P., Zmigrodzka M., Tomaszewska E., Ranošek-Soliwoda K., Pajak B., Słonska A., Cymerys J., Celichowski G., Grobelny J., Krzyżowska M. 2020. *Polyphenol-Conjugated Bimetallic Au@AgNPs for Improved Wound Healing*. Int J Nanomedicine, 15:4969-4990.

## **Odkrywanie struktury kininogenu człowieka: mikroskopia kioelektronowa i metody obliczeniowe - interdyscyplinarne poszukiwania molekularnych tajemnic**

Namra Fatima<sup>1,2\*</sup>, Rida Zainab<sup>3</sup>, Michał B. Ponczek<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii Ogólnej, ul. Pomorska 141/143, 90-236, Łódź

<sup>2</sup> Szkoła Doktorska Biomedchem UŁ i Instytutów PAN w Łodzi, ul. Matejki 21/23, 90-237, Łódź

<sup>3</sup> Lahore College for Women University, Department of Biotechnology, Jail Road, 44444, Jinnah Town, Lahore, Pakistan

\* email autorów do korespondencji: [namra.fatima@edu.uni.lodz.pl](mailto:namra.fatima@edu.uni.lodz.pl); [michal.ponczek@biol.uni.lodz.pl](mailto:michal.ponczek@biol.uni.lodz.pl)

Numery ORCID: NF: 0009-0008-4044-688X; RZ: 0000-0001-7455-9753; MBP: 0000-0002-0839-8004

Kininogen wielkocząsteczkowy (HK), działając jako kofaktor krzepnięcia krwi w procesie krzepnięcia przez kontakt na naładowanych ujemnie powierzchniach, wiąże prekallikreinę oraz czynnik XI przy udziale czynnika XII, a dodatkowo służy jako źródło uwalniania bradykininy. Słabej rozdzielczości obrazy cząsteczek zostały uzyskane wiele lat temu za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej, przy użyciu różnych technik barwienia negatywowego. Oferują one jednak ograniczony wgląd w rzeczywistą strukturę molekularną. Struktury przestrzenne nadal pozostają nieznane dla człowieka i innych kręgowców.

Algorytmy AlphaFold i I-TASSER użyto do budowania kompletnych modeli obliczeniowych opartych na sekwencji aminokwasowej, które poddano składaniu i walidacji w programie ChimeraX. Modele były dodatkowo minimalizowane przy użyciu FolditStandalone, ISOLDE i GROMACS. Techniki mikroskopii kioelektronowej (cryo-EM) i metody komputerowe zostały zastosowane do badania struktury molekularnej HK człowieka. Obrazy komercyjnego preparatu HK pozyskano za pomocą mikroskopu elektronowego Krios G3i w SOLARIS na Uniwersytecie Jagiellońskim. Dane były analizowane programem CryoSPARC v3.2i v4.03 z użyciem infrastruktury PLGrid, superkomputerów Akademickiego Centrum Komputerowego Cyfronet Akademii Górniczo-Hutniczej. Zestawy cząstek zostały użyte do generowania map wspomagających rozwiązywanie struktur, a modele obliczeniowe dopasowaniu do map oraz wizualizacji w programie ChimeraX.

Stabilizowane przez Cys10-Cys596, struktury przyjmują wygląd naszyjników, z domenami przypominającymi koraliki i łącznikami funkcjonującymi jak sznurek. Obecność nieuporządkowanych fragmentów łączących te domeny pozwala na ruchliwość względem siebie, co skutkuje zwartymi lub bardziej rozciągniętymi konfiguracjami. Zmienność obserwuje się także w populacjach stosów cząstek cryo-EM. Alternatywne konformacje cząstek o podobnej masie cząsteczkowej, zwiększonej całościowo o około 40% z powodu reszt polisacharydowych, mogą wykazywać odrębne właściwości fizykochemiczne. Różnorodność i plastyczność cząstek odpowiada także za zmienność objętości w zależności od konformacji, potencjalnie wpływając na rozdział w SDS-PAGE. Konfiguracje cząsteczek obserwowane w cryo-EM są zgodne z przewidywaniami z analizy obliczeniowej. Rozwiązane struktury sugerują dynamiczne zachowanie w obrębie domen, wskazując na potencjalną plastyczność w oddziaływaniach z prekallikreiną i czynnikiem XI.

## **Wpływ bromelainy na aktywność enzymów przeciwutleniających w erytrocytach poddanych działaniu akroleiny**

Jakub Górski<sup>1,\*</sup>, Anna Pieniążek<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Katedra Biologii Nowotworów i Epigenetyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, 90-236 Łódź, Polska*

\* *email autora do korespondencji: jakub.gorski@edu.uni.lodz.pl*

*Numer ORCID: AP: 0000-0001-5061-1596*

Akroleina (2-propenal) jest wysoce reaktywnym, nienasyconym aldehydem, należącym do najbardziej toksycznych zanieczyszczeń powietrza. Mechanizm toksycznego działania akroleiny opiera się na tworzeniu adduktów z białkami, prowadząc do zmiany lub utraty ich funkcji, generowaniu stresu oksydacyjnego, zaburzeniach w funkcjonowaniu mitochondriów, uszkodzeniach błony komórkowej, indukcji stanu zapalnego. Ze względu na dużą reaktywność akroleiny w stosunku do grup tiolowych, rolę związków protekcyjnych w komórkach mogą pełnić aminokwasy (n-acetylocysteina, cysteina) lub peptydy zawierające grupy tiolowe. Opierając się na literaturowych właściwościach bromelainy (doi: 10.3390/nu13124313) wydaje się, że mogłaby ona chronić komórki przed działaniem akroleiny. Bromelaina będąca białkiem należącym do proteaz cysteinowych, w swoim liczącym około 212 aminokwasów łańcuchu polipeptydowym posiada ugrupowania (Cys – 7, Met- 3, Lys – 15, Arg - 6) stanowiące potencjalne miejsce wiązania z akroleiną.

Celem projektu jest sprawdzenie w jakim stopniu akroleina może zaburzać prawidłowe funkcjonowanie enzymów przeciwutleniających oraz ocena protekcyjnych właściwości bromelainy w erytrocytach poddanych działaniu akroleiny.

Materiałem do badań były erytrocyty (RBC) człowieka, które poddano działaniu akroleiny (ACR) i bromelainy (B) w następujących kombinacjach: RBC – kontrola, 24 h; RBC + ACR (40  $\mu$ M), 24h; RBC + B (4  $\mu$ M), 1h; RBC + B (10  $\mu$ M), 1h; RBC + B (4  $\mu$ M), 1h + ACR (40  $\mu$ M), 23h; RBC + B (10  $\mu$ M), 1h + ACR (40  $\mu$ M), 23h. Po zakończeniu inkubacji z erytrocytów izolowano hemolizat i oznaczano w nim stężenie hemoglobiny. Następnie oznaczano aktywność katalazy polegającą na pomiarze szybkości rozkładu nadtlenu wodoru oraz aktywność dysmutazy ponadtlenkowej metodą adrenalinową. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej i przedstawiono w postaci wartości średnich i odchyłeń standardowych.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że akroleina w stężeniu 40  $\mu$ M nieznacznie obniża aktywność katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej w hemolizacie erytrocytów. Z kolei godzinna inkubacja erytrocytów z bromelainą nie powodowała żadnych zmian aktywności obu badanych enzymów. W erytrocytach preinkubowanych 1h z bromelainą, a następnie wystawionych na działanie akroleiny (23h) aktywność obu enzymów pozostawała na poziomie wartości kontrolnych.

Uzyskane wyniki badań mogą świadczyć o protekcyjnych właściwościach bromelainy wobec toksycznego działania akroleiny.

## Wpływ wysokiego ciśnienia, podczas pomiarów synchrotronowych na uszkodzenia radiacyjne kryształów izomerazy glukozy ksylozy

Agnieszka Klonecka<sup>1,2,3\*</sup>, Joanna Sławek<sup>1</sup>, Maciej Kozak<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> NCPS SOLARIS, Uniwersytet Jagielloński, Czerwone Maki 98, 30-392, Kraków, Polska

<sup>2</sup> Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet Jagielloński, Łojasiewicza 11, 30-348, Kraków, Polska

<sup>3</sup> Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jagielloński, Łojasiewicza 11, 30-348, Kraków, Polska

<sup>4</sup> Zakład Fizyki Biomedycznej, Wydział Fizyki, Uniwersytet Adama Mickiewicza, Uniwersytetu Poznańskiego 2, 61-614, Poznań, Polska

\* email autora do korespondencji: a.klonecka@doctoral.uj.edu.pl

Numery ORCID: AK: 0000-0001-9577-6183; JS: 0000-0002-1754-2741; MK: 0000-0003-3312-6518

Uszkodzenia radiacyjne kryształów białek spowodowane promieniowaniem rentgenowskim stanowią istotny problem badawczy w biologii strukturalnej. Negatywnie wpływają na jakość uzyskiwanych pomiarów i precyzję uzyskiwanych informacji strukturalnych. Skutkując zanikiem refleksów dyfrakcyjnych, co pogarsza otrzymaną rozdzielczość, a w skrajnych przypadkach nawet uniemożliwia rozwiązanie struktury białka. Dotychczas zaproponowano różne strategie, które mają umożliwić zmniejszenie powstających uszkodzeń radiacyjnych, jedną z obiecujących jest wykonanie pomiarów w podwyższonym ciśnieniu [1].

W celu zbadania potencjalnej drogi minimalizacji uszkodzeń radiacyjnych przeprowadzono w ośrodku ESRF – European Synchrotron Radiation Facility (Grenoble, Francja) serię krystalograficznych pomiarów ciśnieniowych izomerazy glukozy/ ksylozy (XI) ze *Streptomyces rubiginosus*. Białko to jest szeroko wykorzystywane w przemyśle; przy produkcji wysokofruktozowego syropu kukurydzianego i bioetanolu z hemiceluloz, który jest istotnym dodatkiem do biopaliwa [2].

W trakcie badań wykazano, że kryształ XI, zamrożony pod podwyższonym ciśnieniem, może przyjąć większą dawkę promieniowania, przy jednoczesnym zachowaniu rozdzielczości pomiaru oraz kompletności danych. Ustalono również ciśnienie, w którym kryształ białka zaczął ulegać degradacji.

1. S. P. Meisburger, M. Warkentin, H. Chen, J. B. Hopkins, R. E. Gillilan, L. Pollack, R. E. Thorne, Breaking the Radiation Damage Limit with Cryo SAXS, *Biophysical Journal*, 2013, 104(1), 227-236
2. S. H. Bhosale, M. B. Rao, V.V. Deshpande, Molecular and industrial aspects of glucose isomerase. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 1996, 60(2), 280-300

Badania zostały zrealizowane za pomocą grantu badawczego PRELUDIUM BIS 2 (grant ID: 2020/39/O/ST4/03465) z Narodowego Centrum Nauki i Research Support Module, w ramach programu Inicjatywa Doskonałość - Uczelni Badawczej na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie.

## **Kofeina jako stymulator lipolizy w adipocytach. Działanie poprzez receptor A<sub>1</sub> adenozynowy.**

Klaudia Konieczna<sup>1\*</sup>, Katarzyna Szkudelska<sup>1</sup>, Tomasz Szkudelski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Katedra Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wołyńska 35, 60-637 Poznań*

*\* email autora do korespondencji: [klaudia.konieczna00@gmail.com](mailto:klaudia.konieczna00@gmail.com)*

*Numery ORCID: KK: 0009-0008-8369-6854; KS: 0000-0002-6828-0534; TS: 0000-0002-9067-6682*

Kofeina (1,3,7-trimetyloksantyna) jest powszechnie znanym związkiem biologicznie aktywnym. Biodostępność kofeiny jest bardzo wysoka, dociera ona do wielu tkanek i narządów wewnętrznych, również do białej tkanki tłuszczowej. Komórki tej tkanki, adipocyty, gromadzą lipidy w procesie lipogenezy, a także uwalniają lipidy w procesie lipolizy. Na podstawie danych literaturowych wiadomo, że kofeina hamuje lipogenezę w izolowanych adipocytach. Natomiast oddziaływanie na lipolizę jest słabo poznane.

W prezentowanych badaniach określono wpływ kofeiny na lipolizę w izolowanych adipocytach szczura. Komórki pozyskano z okołojądrowej tkanki tłuszczowej, którą inkubowano w temp. 37°C, przez 90 min. w buforze Krebsa-Ringera z kolagenazą. W doświadczeniach wykorzystano świeżo izolowane adipocyty, które inkubowano w obecności fizjologicznych i farmakologicznych modulatorów lipolizy. Zastosowano następujące stymulatory: adrenalinę (agonistę receptorów beta-adrenergicznych), dibutyrylo-cAMP (DB-cAMP, bezpośredni aktywator kinazy białkowej A), DPCPX (agonistę receptora A<sub>1</sub> adenozynowego). W badaniach użyto także inhibitor lipolizy: H-89 (bezpośrednio hamujący kinazę białkową A). W każdym układzie doświadczalnym adipocyty inkubowano również w obecności kofeiny. O intensywności lipolizy wnioskowano na podstawie ilości glicerolu wydzielonego do buforu. Adrenalina zwiększyła lipolizę o 140% w porównaniu do wartości podstawowych. Kofeina zwiększyła natomiast lipolizę stymulowaną adrenaliną o 90%. Lipoliza indukowana przez DB-cAMP wzrosła o 190% w porównaniu do wartości kontrolnych. Natomiast kofeina zwiększyła lipolizę stymulowaną DB-cAMP o 25%. Zablokowanie receptora A<sub>1</sub> adenozynowego (przez DPCPX) zwiększyło lipolizę o 155% w porównaniu do kontroli. Natomiast w obecności kofeiny, lipoliza stymulowana przez DPCPX zwiększyła się jedynie o 7%. Wykazano również, że stymulujące działanie kofeiny na lipolizę indukowaną adrenaliną było zahamowane w obecności H-89.

Wstępne wyniki wskazują, że kofeina powoduje zwiększenie intensywności lipolizy w adipocytach. Kofeina jest pochodną ksantynową i działa prawdopodobnie poprzez receptor A<sub>1</sub> adenozynowy. Zablokowanie tego receptora w adipocytach powoduje wzrost lipolizy. Przypuszczenie to potwierdza brak działania kofeiny na lipolizę stymulowaną antagonistą receptora A<sub>1</sub> adenozynowego.

## Wpływ wybranych bisfenoli na zależną od SUV39H1/2 metylację lizyny 9 histonu H3 w komórkach raka piersi

Maria Kowalczyk<sup>1\*</sup>, Ewa Forma<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

\* email autora do korespondencji: maria.kowalczyk@edu.uni.lodz.pl

Numery ORCID: MK: 0009-0009-8017-4492; EF: 0000-0003-0230-6831

Bisfenol A (BPA) i jego analogi (w tym bisfenol S, BPS) są związkami organicznymi, które wykorzystywane są do produkcji m.in. opakowań do żywności, materiałów stomatologicznych i papieru termicznego, z których mogą przedostawać się do organizmu człowieka. Związki te określa się mianem ksenoestrogenów, ponieważ wykazują zdolność do aktywowania szlaków sygnalizacyjnych zależnych od endogennych estrogenów. Tym samym bisfenole mogą zaburzać funkcjonowanie układu hormonalnego oraz wpływać na rozwój i progresję nowotworów, szczególnie tych wywodzących się z tkanek hormonozależnych, jak rak piersi. Bisfenole mogą również wpływać na procesy komórkowe poprzez zaburzenie procesów epigenetycznych takich jak proces potranslacyjnej modyfikacji histonów. Jedną z takich modyfikacji jest metylacja lizyny 9 histonu H3, która prowadzi do represji genów i katalizowana jest przez metylotransferazy lizynowe SUV39H1 i SUV39H2<sup>1,2</sup>. W niektórych typach raków piersi obserwuje się podwyższony poziom ekspresji tych enzymów, dlatego celem prowadzonych badań było określenie wpływu BPA i BPS na ekspresję *SUV39H1* i *SUV39H2* na poziomie mRNA i białka oraz na całkowity poziom trimetylowanego na lizynie 9 histonu H3.

Komórki raka piersi linii MCF-7 i MDA-MB-231 traktowano 1 i 10 nM BPA lub BPS. Następnie w komórkach traktowanych badanymi związkami i komórkach kontrolnych została określona ekspresja genów *SUV39H1* i *SUV39H2* na poziomie mRNA (Metodą Real Time PCR) oraz białka (metodą Western blot).

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono istotny statystycznie wzrost ekspresji na poziomie mRNA i białka metylotransferazy histonowej *Suv39H1* w komórkach raka piersi linii MCF-7 traktowanych 1 i 10 nM BPA i PBS, przy czym BPS silniej indukował ekspresję badanego genu. BPA i BPS w obu stosowanych stężeniach nie wpływał na ekspresję *Suv39H1* w komórkach MDA-MB-231. Ponadto nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian ekspresji *Suv39H2* w komórkach raka piersi linii MCF-7 i MDA-MB-231 pod wpływem stosowanych stężeń BPA i BPS.

1. Stillwater BJ, Bull AC, Romagnolo DF, Neumayer LA, Donovan MG, Selmin OI. Bisphenols and Risk of Breast Cancer: A Narrative Review of the Impact of Diet and Bioactive Food Components. *Front Nutr.* 2020 Nov 19;7:581388
2. Saha N, Muntean AG. Insight into the multi-faceted role of the SUV family of H3K9 methyltransferases in carcinogenesis and cancer progression. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021 Jan;1875(1):188498

## **Wpływ nadekspresji domeny NICD oraz $\beta$ -kateniny na różnicowanie ludzkich mezenchymalnych komórek zrębowych i mioblastów**

Małgorzata Kozłowska<sup>1\*</sup>, Edyta Brzóska-Wójtowicz<sup>2</sup>, Bartosz Mierzejewski<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Studenckie Koło Naukowe Chorób Cywilizacyjnych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź*

<sup>2</sup> *Zakład Cytologii, Wydział Biologii Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa*

<sup>3</sup> *Zakład Cytologii, Wydział Biologii Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa*

\* email autora do korespondencji: [malgorzata.kozlowska@umed.lodz.pl](mailto:malgorzata.kozlowska@umed.lodz.pl)

Numery ORCID: MK: 0009-0000-5674-7195; EB: 0000-0002-7886-0436; BM: 0000-0001-7517-349X

Prawidłowe funkcjonowanie całego organizmu zależy od zdolności do samoodnowy i naprawy poszczególnych narządów czy tkanek. W przypadku tkanki mięśniowej regeneracja zachodzi między innymi w wyniku urazów. Unipotencjalne komórki satelitarne odgrywają główną rolę w naprawie uszkodzonej tkanki mięśniowej. Komórki te mimo dużego potencjału do różnicowania mają małą zdolność do migracji w obrębie tkanki, co ogranicza ich wykorzystanie w praktyce klinicznej. Kandydatem pozwalającym na potencjalne wykorzystanie we wspomaganie regeneracji wydają się być mezenchymalne komórki zrębowe, mimo że nie posiadają potencjału miogenicznego. W prawidłowym funkcjonowaniu tkanek kluczową rolę odgrywają różne ścieżki sygnalizacyjne, w tym związane z receptorem NOTCH oraz  $\beta$ -kateniną. Ścieżki te odgrywają również ważną rolę w indukcji miogenezy.

Celem pracy było określenie wpływu nadekspresji domeny NICD receptora NOTCH oraz  $\beta$ -kateniny na różnicowanie ludzkich mezenchymalnych komórek zrębowych oraz mioblastów. W tym celu transfekowano obie populacje komórek modyfikowanym mRNA kodującym NICD oraz mRNA kodującym  $\beta$ -kateninę, a następnie weryfikowano ekspresję transkryptów i poziomu białek charakterystycznych dla tych szlaków oraz różnicowania miogenicznego.

Otrzymane wyniki potwierdziły aktywację obu szlaków sygnałowych w komórkach zrębowych szpiku kostnego, a na poziomie białka stwierdzono indukcję miogenezy w komórkach zrębowych oraz zahamowanie jej w mioblastach. Wobec powyższego, uzyskane wyniki sugerują możliwość zaindukowania miogenezy w komórkach, które pierwotnie takiego potencjału nie posiadają.



## Efektywność regulowania odpowiedzi sekrecyjnej keratynocytów i makrofagów przez białka modulatorowe w modelu *in vitro* ludzkiej tkanki skóry

Justyna Mostowy<sup>1\*</sup>, Marcin Włodarczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

\* email autorów do korespondencji: [justyna.mostowy@edu.uni.lodz.pl](mailto:justyna.mostowy@edu.uni.lodz.pl), [marcin.wlodarczyk@biol.uni.lodz.pl](mailto:marcin.wlodarczyk@biol.uni.lodz.pl)  
Numer ORCID: MW: 0000-0002-3323-7093

Atopowe Zapalenie Skóry (AZS) to powszechnie występująca w populacji nawrotowa choroba zapalna skóry. Ze względu na jej wieloczynnikową etiologię ustalenie dokładnego patomechanizmu stanowi istotny element badań nad chorobą. Aktualnie leczenie AZS ograniczone jest do miejscowego łagodzenia objawów poprzez stosowanie kremów lub maści umożliwiających odbudowę bariery naskórkowej, a w skrajnych przypadkach wykorzystywane jest działanie przeciwhistaminowe glikokortykosteroidów, które zmniejszają świąd.

Istotną rolę w wywoływaniu nadmiernej reakcji zapalnej skóry u osób z AZS odgrywa nieprawidłowe funkcjonowanie monocytów i makrofagów. W zdrowym organizmie komórki te odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy tkanek oraz w regulacji reakcji odpornościowych. Monocyty są prekursorami makrofagów, które są głównymi komórkami odpowiedzialnymi za fagocytozę i eliminację patogenów, a także za wydzielanie cytokin. W zależności od polaryzacji makrofagów (M1/M2) mogą one odpowiednio wspomagać rozwijanie reakcji zapalnej lub ją hamować. Zatem, wywołanie odpowiedniej zmiany polaryzacji makrofagów u pacjentów z AZS pozwoliłoby na ograniczenie wydzielania cytokin prozapalnych. W związku z tym, celem projektu jest zbadanie potencjalnego wykorzystania białek modulatorowych do ukierunkowania makrofagów na ścieżkę polaryzacji M2, co umożliwiłoby regulację sekrecji cytokin przeciwzapalnych oraz przywrócenie homeostazy naskórka. Białka modulatorowe wykorzystane do badań to demetylaza oraz deacetylaza. Enzymy te poprzez modyfikacje epigenetyczne histonów wprowadzają zmiany w funkcjonowaniu monocytów i makrofagów, pozwalając na kontrolowanie reakcji zapalnej obserwowanej w AZS. W badaniach zastosowano oryginalne modele 3D ludzkiej skóry *in vitro*, składające się z linii epidermalnych keratynocytów (NHEK) oraz ludzkich fibroblastów (HDF), w których przeprowadzono symulację odpowiedzi zapalnej z wykorzystaniem koktajlu stymulatorów zapalnych. Do tak przygotowanych modeli dodano makrofagi, wyizolowane z kożuszków leukocytnych. Skuteczność hamowania procesu zapalnego przez białka modulatorowe oceniono na podstawie poziomu ekspresji istotnych markerów różnicowania keratynocytów: inwolukryny (IVL), filagryny (FLG), keratyny 5 (KRT5) oraz cytokeratyny 1 (CK1).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż AZS indukowane w modelach *in vitro* ludzkiej skóry powoduje dezintegrację struktury tkanki, natomiast zastosowanie deacetylazy przywraca integralność naskórka. Podczas obserwacji mikroskopowej zauważono wzrost ekspresji IVL, FLG oraz KRT5 na powierzchni keratynocytów.

## Technika wieloelektrodowych rejestracji EEG głębokich struktur mózgu u swobodnie poruszających się zwierząt w badaniach zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego wywołanych stresem

Klaudia Pszczółkowska<sup>1\*</sup>, Tomasz Kowalczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Neurobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

\* email autora do korespondencji: [klaudia.pszczolkowska@edu.uni.lodz.pl](mailto:klaudia.pszczolkowska@edu.uni.lodz.pl)

Numery ORCID: KP: 0009-0006-6073-4745; TK: 0000-0003-1375-4250

Stres jest powszechną reakcją fizjologiczną, obejmującą złożone interakcje między czynnikami neurobiologicznymi i psychologicznymi. Jego wpływ na poszczególne osobniki zależy od natury i natężenia stresogennych bodźców środowiskowych i indywidualnej podatności. Liczne badania podkreślają rolę stresu w stanach takich jak zaburzenia lękowe, depresja czy zespół stresu pourazowego (PTSD), ujawniając odmienną osobniczą podatność ośrodkowego układu nerwowego (OUN) na długotrwałe czynniki stresogenne. W badaniach etiologii i epidemiologii zaburzeń OUN wywołanych stresem, prowadzonych na modelach zwierzęcych, najczęściej wykorzystuje się techniki rejestracji aktywności elektroencefalograficznej (EEG) wybranych struktur mózgowych oraz specyficzne testy behawioralne.

Prezentowane badania miały na celu wprowadzenie nowych technik eksperymentalnych do badań reakcji stresowych. Proponowana technika badawcza polega na domózgowej implantacji wielokanałowej elektrody rejestrującej zapis EEG z głębokich struktur mózgowia. Sygnał EEG jest przesyłany drogą radiową do układu rejestrującego, co pozwala na swobodę ruchu zwierzęcia podczas różnorodnych testów behawioralnych. Równocześnie z zapisem EEG prowadzony jest zapis wideo zachowania zwierzęcia. Co istotne, każda pojedyncza klatka zapisu wideo jest ściśle sparowana z określonym fragmentem zapisu EEG, co pozwala na bardzo szczegółową analizę zachowania zwierzęcia w kontekście zmiennej aktywności bioelektrycznej określonych struktur mózgu.

Wykorzystanie proponowanych narzędzi badawczych, może pozwolić w przyszłości na określenie funkcji wybranych struktur mózgu w odpowiedzi organizmu na różnorodne bodźce stresogenne.

## **Wpływ zmiany poziomu metylacji lizyny 9 histonu H3 na proliferację i przejście epitelialno-mezenchymalne komórek raka piersi**

Kamil Reczulski<sup>1\*</sup>, Ewa Forma<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Katedra Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

\* email autora do korespondencji: [kamil.reczulski@edu.uni.lodz.pl](mailto:kamil.reczulski@edu.uni.lodz.pl)

Numery ORCID: KR: 0009-0004-5979-296X; EF: 0000-0003-0230-6831

Modyfikacje potranslacyjne histonów stanowią jeden z podstawowych mechanizmów epigenetycznej regulacji ekspresji genów zarówno w komórkach prawidłowych jak i nowotworowych. Jedną z potranslacyjnych modyfikacji histonów, która wpływa na represję genów jest di- i trimetylacja lizyny 9 histonu H3 (H3K9), która katalizowana jest przez metylotransferazy histonowe. Metylacja histonów jest modyfikacją odwracalną, a za usuwanie grup metylowych z histonów odpowiadają specyficzne demetylazy. Zaburzenia metylacji H3K9 prowadzą do nieprawidłowego różnicowania komórek, utraty tożsamości tkankowej, przedwczesnego starzenia i/lub procesu nowotworzenia. W różnych typach raka piersi obserwowano zaburzenia ekspresji wyżej wymienionych metylotransferaz histonowych oraz poziomu metylacji H3K9, jednakże brak jest informacji na temat w jaki sposób te zaburzenia wpływają na progresję i zdolność do przerzutowania komórek raka piersi.

Celem badań było określenie czy zmiana poziomu metylacji H3K9 poprzez zastosowanie inhibitorów metylotransferaz histonowych i demetylaz histonowych specyficznych dla H3K9 wpływa na ekspresje genów związanych z przejściem epitelialno-mezenchymalnym komórek raka piersi różniących się statusem receptorów dla hormonów steroidowych. W prowadzonych badaniach zastosowane były inhibitory metylotransferaz SUV39H1/2 (chaetocin) i G9A/GLP (UNC0638). Ich wpływ na komórki raka piersi linii MCF-7 i MDA-MB-231 został określony testem MTT. Poziom metylowania lizyny 9 histonu H3 został określony metodą Western blot. Następnie przy użyciu metody Real-Time PCR analizowano wpływ zmiany poziomu metylacji H3K9 na ekspresje genów związanych z przejściem epitelialno-mezenchymalnym (*CDH1*, *SLUG*, *ZEB1*, *ZEB2*, *TWIST*).

Zmiany poziomu metylacji K9H3 poprzez zastosowanie inhibitorów metylotransferaz histonowych w istotny statystycznie sposób wpływały na ekspresję badanych genów związanych z przejściem epitelialno-mezenchymalnym, co może wpływać na proces przerzutowania nowotworów piersi.

## Nowe L-asparaginazy pochodzenia roślinnego oraz ich potencjalne zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej

Anna Ściuk<sup>1,2\*</sup>, Izabela Pieróg<sup>1,2</sup>, Marcin Surmiak<sup>3,4</sup>, Joanna Loch<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Jagielloński, Wydział, Chemii, Gronostajowa 2,30-387 Kraków

<sup>2</sup> Uniwersytet Jagielloński, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Wydział Chemii, Gronostajowa 2, 30-387 Kraków

<sup>3</sup> Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński, II Katedra Chorób Wewnętrznych, M. Jakubowskiego 2, 30-688 Kraków

<sup>4</sup> Centrum Rozwoju Terapii Chorób Cywilizacyjnych i Związanych z Wiekami (CDT-CARD), Skawińska 8, 31-066 Kraków

\* email autora do korespondencji: anna.sciuk@doctoral.uj.edu.pl

Numery ORCID: AS: 0000-0003-4515-9966; IP: 0009-0000-4831-0225; MS: 0000-0001-8396-1488; JL: 0000-0002-7345-4527

W ostatnich latach wzrasta znaczenie enzymów w leczeniu wielu chorób, w tym nowotworów<sup>1</sup>. Wśród biofarmaceutyków obecnie stosowanych w terapii przeciwnowotworowej można wyróżnić m.in. L-asparaginazy należące do amidohydrolaz<sup>2</sup>, które są wykorzystywane w leczeniu nowotworów krwi, w tym szczególnie ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL). Enzymy stosowane obecnie w terapii ALL, pomimo swojej skuteczności powodują u pacjentów poważne skutki uboczne. Z tego względu poszukiwane są nowe białka mogące zastąpić obecnie stosowane terapeutyki. Nowych enzymów terapeutycznych można poszukiwać wśród Ntn-amidohydrolaz pochodzenia roślinnego, tzw. L-asparaginaz typu III. L-asparaginazy typu III mają oprócz aktywności L-asparaginazowej, także aktywność  $\beta$ -aspartylo-peptydazową, ale obecnie nie jest znany wpływ tej dodatkowej aktywności na komórki zdrowe i nowotworowe.

Celem prowadzonych badań było uzyskanie czystych preparatów wybranych L-asparaginaz typu III oraz ich charakterystyka pod względem: kinetycznym, wykorzystując w tym celu metodę Nesslera oraz GOT; biochemicznym, w którym zbadano stabilność termiczną białek za pomocą nanoDSF; oraz biologicznym. Badania w układzie biologicznym obejmowały analizę wpływu badanych Ntn-amidohydrolaz na proliferację oraz apoptozę ludzkich komórek ostrej białaczki limfoblastycznej (MOLT-4) wykorzystując do tego celu cytometrię przepływową.

Wyniki proliferacji i apoptozy wskazują na skuteczność badanych enzymów poprzez zmniejszenie namnażania się komórek nowotworowych oraz sugerują potencjał terapeutyczny co daje możliwość wykorzystania w przyszłości tej klasy L-asparaginaz jako potencjalnych biofarmaceutyków.

Badania wykonano przy wsparciu finansowym Wydziału Chemii w ramach Programu Strategicznego Inicjatywa Doskonałości w Uniwersytecie Jagiellońskim oraz w ramach grantu NCN 2020/38/E/NZ1/00035.

1. de la Fuente, M. et al. 'Enzyme therapy: Current challenges and future perspectives', *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 2021

## Analiza poziomu histonów pozajądrowych u modelach mysich

Adrianna Żukowska\*, Joanna Suszyńska-Zajczyk, Joanna Perła-Kaján

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Dojazd 11; 60-660 Poznań

\* email autora do korespondencji: [adrianna.zukowska@up.poznan.pl](mailto:adrianna.zukowska@up.poznan.pl)

Numerory ORCID: AŻ 0000-0002-3953-6932; JSZ 0000-0002-7560-9350; JPK 0000-0002-0791-5057

Wraz z rozwojem epigenetyki białka histonowe i ich modyfikacje potranslacyjne (PTM) zaczęły zyskiwać coraz większą uwagę jako potencjalne cele terapeutyczne. Histony wewnątrzjądrowe odgrywają ważną rolę w regulacji chromatyny i transkrypcji genów, natomiast histony uwalniane do cytoplazmy biorą udział w odpowiedzi na uszkodzenie DNA [1]. Histony zostały powiązane z patogenezą chorób człowieka, na przykład choroby Alzheimera, Huntingtona czy Parkinsona [2]. Podwyższony poziom homocysteiny (tHcy) jest czynnikiem rozwoju choroby Alzheimera, w której wykazano także, wzrost stężenia pozajądrowego histonu H1 [3].

W niniejszych badaniach testowano hipotezę, że w chorobach neurodegeneracyjnych dochodzi do zwiększenia poziomu histonów pozajądrowych. Do analiz zostały wybrane dwa modele mysie: *B6SJL SOD-1 G93A Tg SOD1 (SOD1)* i *B6.129P2-ApoE<sup>tm1Unc</sup> ApoE KO*. Myszy SOD1 wykazują ekspresję zmutowanej formy ludzkiej dysmutazy ponadtlenkowej 1 (SOD1) G93A są używane do badań stwardnienia zanikowego bocznego, natomiast myszy ApoE KO wykazują zwiększony poziom cholesterolu, dzięki czemu są przydatnym modelem do badań chorób sercowo-naczyniowych czy choroby Alzheimera. Poziom histonu łącznikowego H1 oraz histonu rdzeniowego H3 we frakcji cytoplazmatycznej wątroby myszy SOD1 (samce, n=5) i kontrolnych (samce, n=9) oraz w osoczu myszy ApoE KO (samce, n=8, samice, n=5) i kontrolnych (samce, n=6; samice, n=4) zmierzono metodą Western-blot. Stężenie tHcy analizowano metodą HPLC.

Stwierdzono 2-krotnie wyższy poziom zewnątrzkomórkowego histonu H1 w osoczu u samców oraz 1,6-krotnie u samic ApoE KO w porównaniu do myszy kontrolnych (samce p= 0,0478; samice p= 0,0259) i 1,35-krotnie wyższy poziom zewnątrzjądrowego histonu H1 w wątrobie SOD1 (p=0,0363) w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Została zauważona także tendencja wzrostowa histonu H3 w obu modelach, jednak różnica nie jest istotna statystycznie. Stężenie tHcy w osoczu myszy ApoE KO było 1,5-krotnie wyższe u samców i 1,35-krotnie u samic (p=0,047; p=0,026) w porównaniu z grupą kontrolną, natomiast w wątrobie SOD1 wykazano 2-krotnie wyższy poziom tHcy w porównaniu z myszami kontrolnymi (p=0,043).

Wzrost poziomu zewnątrzkomórkowego histonu H1 u myszy ApoE KO i zewnątrzjądrowego u myszy SOD1 może przyczyniać się odpowiednio do rozwoju miażdżycy i neurodegeneracji. Podwyższenie stężenia homocysteiny może wskazywać na deregulację metabolizmu jednostek jednowęglowych. Kolejnym etapem badań będzie analiza zmian poziomu poszczególnych wariantów histonu H1 i ich modyfikacji potranslacyjnych.

1. Richards CM, et al. (2023) Extracellular histones as damage-associated molecular patterns in neuroinflammatory responses.
2. Chen R, et al. (2014) Release and activity of histone in diseases.
3. Smith AD, et al. (2018) Homocysteine and Dementia: An International Consensus Statement.

**DZIĘKUJEMY  
I ZAPRASZAMY ZA ROK!**

**BIOCOPEN**