

CHARAKTRYZACJA PĘCHERZYKÓW BŁONY ZEWNĘTRZNEJ ZE SZCZEPU *PECTOBACTERIUM* PRODUKUJĄCEGO BIAŁKO GFP

Aleksandra Steć¹, Joanna Jońca², Agata Płoska³, Leszek Kalinowski³, Bartosz Wielgomas¹,
Małgorzata Waleron⁴, Krzysztof Waleron², Szymon Dziomba¹

¹Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny

²Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny

³Zakład Medycznej Diagnostyki Laboratoryjnej, Katedra Analityki Klinicznej

Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny

⁴Zakład Ochrony i Biotechnologii Roślin, Instytut Biotechnologii, Uniwersytetu Gdańskiego,

Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed

Pęcherzyki zewnątrzkomórkowe (ang. *external vesicles*, EVs) to sferyczne struktury biologiczne uwalniane przez komórki prokariotyczne. Wielkość EVs zależy od szczepu i przeważnie przybiera wartości w przedziale od 20 do 300 nm. Pęcherzyki bakteryjne zbudowane są z lipopolisacharydu, fosfolipidów oraz białek błonowych. EVs posiadają zdolność przenoszenia m. in. kwasów nukleinowych, białek cytoplazmatycznych oraz białek z przestrzeni periplazmatycznej. Gatunek oraz warunki hodowli determinują skład ilościowy i jakościowy pęcherzyka. Pęcherzyki pełnią wiele funkcji, m.in. biorą udział w odpowiedzi na czynniki stresogenne i transportują szereg związków chemicznych poza obręb komórki, w tym także czynniki wirulencji [1].

W prezentowanej pracy charakteryzowano EVs uwalniane przez szczep patogenu roślinnego *Pectobacterium zantedeschiae* 9M, transformowany plazmidem pPROBE-AT-gfp kodującym białko GFP. Pęcherzyki z hodowli szczepu modyfikowanego i natywnego izolowano metodą wirowania różnicowego. Izolaty charakteryzowano pod względem zawartości białka, z wykorzystaniem techniki strefowej elektroforezy kapilarnej oraz analizy śledzenia nanocząstek. Zaobserwowano istotne różnice w ilości EVs wydzielanych przez szczep modyfikowany i natywny, a także pod względem rozkładu wielkości i ruchliwości elektroforetycznej pęcherzyków. Pęcherzyki izolowane z hodowli obu szczepów wykazywały fluorescencję na skutek wzbudzenia światłem o długości fali 488 nm, przy czym fluorescencja EVs ze szczepu modyfikowanego była znacząco wyższa.

Uzyskane różnice wskazują na aktywne wydzielanie białka GFP przez szczep modyfikowany za pośrednictwem EVs.

Finansowanie: NCN 2019/35/B/NZ9/01973

PIŚMIENNICTWO:

[1] Klim J., Godlewska R. „Zastosowanie bakteryjnych pęcherzyków zewnątrz błonowych w konstrukcji szczepionek”. w: Postępy Mikrobiol. 2017, 56(1):43-55.