

Załącznik 2

AUTOREFERAT

1. **Imię i nazwisko** : Beata Podgórska

2. **Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:**

- 2002 r. - stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia, Pomorska Akademia Pedagogiczna w Słupsku, Wydział Matematyczno - Przyrodniczy
- 1992 r. - tytuł zawodowy magistra biologii, Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii
- 1984 r. - dyplom Medycznego Studium Zawodowego w Gdańsku

3. **Informacje o zatrudnieniu w jednostkach naukowych:**

- od października 2011 r. do chwili obecnej Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Ewolucji Molekularnej, adiunkt
- 2008 - 2011 r. Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Mikrobiologii, adiunkt
- 2002 – 2008 r. Instytut Oceanologii PAN w Sopocie, Pracownia Biologii Molekularnej i Biotechnologii Morskiej, adiunkt
- 1992 – 2002 r. Centrum Biologii Morza PAN w Gdyni, Pracownia Mikrobiologii, asystent

4. **Osiągnięcie naukowe wynikające z art. 16, ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)**

Jako moje główne osiągnięcie naukowe uważam wyniki badań opisanych w cyklu prac, ujętych pod wspólnym tematem: „**Nowy test wykrywania substancji mutagennych w środowisku, z wykorzystaniem zjawiska bioluminescencji bakterii *Vibrio harveyi***”. Badania te prowadzone były w ramach projektu KBN 2P04G 011 26, którego byłam kierownikiem.

a) autorzy*, rok wydania, tytuły publikacji, nazwa wydawnictwa:

1. Podgórska, B., Węgrzyn, G. 2006. A modified *Vibrio harveyi* mutagenicity assay based on bioluminescence induction. *Letters of Applied Microbiology*, 42: 578 - 582.
2. Chęć, E., Podgórska, B., Węgrzyn, G. 2006. Direct addition of cultures of tester bacteria into semipermeable membrane devices (SPMDs) as a modified procedure for

- preliminary detection of mutagenic pollution of marine environment using microbiological mutagenicity assays. *Mutation Research*, 611: 17 - 24.
3. Podgórska, B., Pazdro, K., Pempkowiak, J., Węgrzyn, G. 2007. The use of a novel *Vibrio harveyi* luminescence mutagenicity assay in testing marine water for the presence of mutagenic pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 54: 808 - 814.
 4. Podgórska, B., Pazdro, K., Węgrzyn, G. 2007. The use of the *Vibrio harveyi* luminescence mutagenicity assay as a rapid test for preliminary assessment of mutagenic pollution of marine sediments. *Journal of Applied Genetics*, 48: 409 – 412.
 5. Chęć, E., Podgórska, B., Węgrzyn, G. 2008. Comparison of the use of mussels and semipermeable membrane devices for monitoring and assessment of accumulation of mutagenic pollutants in marine environment in combination with a novel microbiological mutagenicity assay. *Environmental Monitoring and Assessment*, 140: 83 - 90.
 6. Podgórska, B., Królicka, A., Łojkowska, E., Węgrzyn, G. 2008. Rapid detection of mutagens accumulated in plant tissues using a novel *Vibrio harveyi* mutagenicity assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70: 231 - 235.
 7. Podgórska, B., Węgrzyn, G. 2007. The use of marine bacteria in mutagenicity assays. *Polish Journal of Microbiology*, 56: 227 - 231.
 8. Kotlarska, E., Podgórska, B., Węgrzyn, G., Niemirycz, E., Bolałek, J. 2010. Testy mikrobiologiczne. W: „Fizyczne, biologiczne i chemiczne badania morskich osadów dennych” red. Bolałek, Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk, 160- 190.

* Oświadczenia współautorów prac wraz określeniem indywidualnego wkładu każdego z nich w powstanie poszczególnych prac znajdują się w załącznikach nr 4 i 5.

b) omówienie celu naukowego w.w. prac oraz wyników wraz z omówieniem ich wykorzystania:

Celem prowadzonych badań było opracowanie nowego testu biologicznego, wykrywającego substancje mutagenne w środowisku.

Za najważniejsze osiągnięte rezultaty uważam:

- opracowanie nowego, prostego, szybkiego i taniego biologicznego testu wykrywania substancji mutagennych w środowisku,
- wykazanie skuteczności testu w wykrywaniu substancji mutagennych w wodzie, osadach, oraz w tkankach flory i fauny morskiej,
- zastosowanie półprzepuszczalnych membran do zagęszczania substancji mutagennych w wodzie morskiej wraz z testem mutagenności *Vibrio harveyi*,
- przygotowanie zoptymalizowanej procedury wykonania testu wykrywania substancji mutagennych w środowisku morskim i jej opisanie w ramach w.w. publikacji oraz rozdziału przewodnika metodycznego.

Krótkie streszczenie prac poświęconych skonstruowaniu, charakterystyce i wykorzystaniu do badań środowiska morskiego nowego testu umożliwiającego wykrywanie substancji mutagennych, przedstawiam poniżej.

Wzrost populacji ludzi, szybko rozwijający się przemysł i rolnictwo przyczyniają się do zanieczyszczenia i destrukcji środowiska naturalnego. Szczególnie zagrożone są morza i oceany, które spełniają rolę ostatecznego odbiornika odpadów działalności człowieka. W środowisku morskim prawie 5% zanieczyszczeń antropogennych stanowią związki mutagenne, które kumulują się w organizmach zwierząt oraz roślin. Ponieważ są one kancerogenne to mogą być przyczyną powstawania u nich nowotworów. W ostatnich latach zanotowano duży wzrost częstości pojawiania się nowotworów w tkankach ryb, także konsumowanych przez człowieka. Mimo, że niektóre z nich mogą być pochodzenia wirusowego, to większość jest jednak wynikiem zanieczyszczenia mórz i oceanów. Bardzo poważne konsekwencje dla funkcjonowania ekosystemów mogą mieć mutacje w komórkach zarodkowych, które nie ograniczają się wyłącznie do osobnika na nie narażonego, ale są przekazywane na kolejne pokolenia. Mutacje te mogą powodować efekty letalne dla komórek zarodka (zredukowana płodność) i płodu (poronienia) lub prowadzić do deformacji płodu i powstawania chorób genetycznych, a w efekcie końcowym nawet do zmniejszenia bioróżnorodności organizmów w środowisku.

Zanieczyszczenie środowiska naturalnego substancjami mutagennymi jest jednym z poważniejszych problemów ekologicznych, stąd bardzo ważna jest możliwość szybkiego ich wykrywania. W środowisku morskim substancje mutagenne występują w bardzo niskich stężeniach i stanowią jedynie niewielką frakcję pośród związków zanieczyszczających. Stanowi to poważną trudność w ich wykrywaniu i identyfikacji metodami chemicznymi, które są drogie i bardzo czasochłonne. Z tego względu szczególnie użyteczne są testy biologiczne, pozwalające na szybkie wykrywanie w środowisku różnych mutagenów bez konieczności przeprowadzania skomplikowanych analiz chemicznych.

W chwili obecnej dostępnych jest wiele testów, pozwalających na wykrywanie zanieczyszczeń mutagennych, które powstały na bazie różnych, także genetycznie modyfikowanych, mikroorganizmów [22]. Istnieje jednak problem ich wykorzystania w badaniach monitoringowych środowiska morskiego. Wysokie zasolenie wpływa niekorzystnie na wzrost stosowanych w testach mikroorganizmów, stąd do badań tego środowiska najlepszymi są testy oparte na bazie mikroorganizmów morskich. Opracowałam prosty,

szybki i tani test biologiczny, w którym jako organizm wskaźnikowy zastosowałam upośledzonego w emisji światła mutanta morskiej bakterii *Vibrio harveyi* nazwanego A16 [16]. Szczep *Vibrio harveyi* A16 posiada mutację w genie *luxE*, a pod wpływem rewersji lub pseudorewersji powodowanej przez oddziałujący na niego mutagen odzyskuje zdolność emisji światła. Szczep ten wybrałam, spośród różnych zgromadzonych szczepów bakterii morskich, na podstawie przeprowadzonych badań. Bakteria *Vibrio harveyi* posiada różne właściwości, które predestynują ją do wykorzystania jako organizmu wskaźnikowego wykrywania substancji mutagennych w środowisku morskim. Przede wszystkim jest bakterią halotolerancyjną, występuje zarówno w oceanach, morzach jak i estuariach, a więc w warunkach różnego zasolenia, nie sprawia trudności dla hodowli w warunkach laboratoryjnych, oraz nie jest mikroorganizmem patogennym dla człowieka, przez co jest całkowicie bezpieczna w pracy laboratoryjnej.

Wytypowany szczep bakterii *Vibrio harveyi* A16, wykazywał znaczny wzrost poziomu luminescencji po kilkugodzinnej inkubacji z różnymi mutagenami. Najlepsze rezultaty osiągałam po stosunkowo krótkim czasie (4 godziny) inkubacji hodowli z poszczególnymi mutagenami. Stanowi to dodatkowy atut testu, gdyż pozwala na szybkie stwierdzenie obecności mutagenu w badanej próbce. Uzyskane wyniki badań wykazały korelację wzrostu poziomu luminescencji ze wzrostem stężenia mutagenu.

Do optymalizacji testu *Vibrio harveyi* A16 zastosowałam, jako punkt odniesienia, takie związki chemiczne, które zostały określone jako mutagenne w powszechnie stosowanym teście mutagenności Ames'a. Test ten oparty jest o mutanty w genach operonu histydyny bakterii *Salmonella*. Wszystkie stężenia związków uznanych w teście Ames'a, że posiadają działanie mutagenne, powodowały dwukrotny bądź wyższy, co wskazuje na wyższą czułość testu luminescencyjnego, wzrost poziomu luminescencji bakterii *Vibrio harveyi* A16, w porównaniu z próbkami kontrolnymi, które nie zawierały dodatku tych związków. Przyjeliśmy więc, że dwukrotny wzrost poziomu luminescencji w naszym teście oznacza, że substancje te mają działanie mutagenne [16].

Następnym etapem prac było sprawdzenie przydatności opisanego powyżej bioluminescencyjnego testu mutagenności *Vibrio harveyi* A16 do badania różnych próbek pochodzących ze środowiska morskiego.

Badaniu testem mutagenności poddałam próbki wody morskiej pobrane z różnych stanowisk Zatoki Gdańskiej [20]. Jednocześnie te same próbki zostały poddane także analizom chemicznym, pozwalającym na wykrycie obecności oraz stężeń 23 różnych substancji chemicznych, w tym mutagennych. Najwyższy poziom luminescencji, który wskazywał na obecność relatywnie wysokich stężeń mutagenów, uzyskałam w próbkach wody pobranej z rejonów przemysłowych i bardzo zanieczyszczonych takich jak port morski czy w wodzie rzeki Wisły, a najniższe w próbach pobranych z okolic Helu od strony otwartego morza. W każdej z badanych próbek wody, w której odnotowałam podwyższony stopień luminescencji, stwierdzono także wysokie stężenie przynajmniej jednego z mutagenów oznaczonych metodami chemicznymi. Najwyższą korelację wyników uzyskanych w teście biologicznym oraz drogą analiz chemicznych zaobserwowaliśmy w przypadku benzo(α)pirenu, czynnika potencjalnie mutagennego i kancerogennego.

Z uwagi na kumulację materii organicznej i nieorganicznej, a także wszelkich zanieczyszczeń w osadach, materiał ten podczas badania nastęrcza szczególnie dużo problemów metodycznych. W związku z powyższym opracowaliśmy szczegółowy protokół oznaczania obecności substancji mutagennych w osadach morskich, z zastosowaniem bioluminescencyjnego testu mutagenności *Vibrio harveyi* [26], a jego praktyczne zastosowanie zostało przedstawione w formie publikacji [21]. Opisane wyniki badań dotyczą wykrywania substancji mutagennych w próbkach osadów, pochodzących ze stanowisk zlokalizowanych w różnych rejonach polskiej strefy brzegowej Morza Bałtyckiego. Jako pozytywną kontrolę zastosowałam próbkę standardowego osadu IAEA 383, zawierającego określone stężenia różnych związków chemicznych, w tym substancji mutagennych. W przypadku tej próbki bioluminescencyjny test mutagenności *Vibrio harveyi* A16 wykazał prawie czterokrotny wzrost poziomu luminescencji w stosunku do kontroli negatywnej, co upewniło nas o możliwości jego stosowania także do badania osadów.

Na kumulację zanieczyszczeń, w tym także mutagenów i pro- mutagenów narażone są organizmy żyjące w tym środowisku, fauna i flora morska. Szczególnie zagrożone są rośliny ponieważ nie posiadają efektywnych mechanizmów umożliwiających im wydalanie mutagenów poza organizm.

Opracowany i opisany powyżej bioluminescencyjny test *Vibrio harveyi* A16 z powodzeniem pozwolił na wykazanie obecności mutagenów skumulowanych w tkankach

roślinnych [25]. Rośliny pochodziły z hodowli *in vitro* (*Petunia hybrida*, *Nicotiana tabacum*, *Solanum brevidens*) w pożywkach z dodatkiem różnych stężeń wybranych mutagenów, a także z kilku stanowisk zlokalizowanych w różnych rejonach Zatoki Gdańskiej.

Niskie stężenia substancji mutagennych w wodzie morskiej są przyczyną problemów technicznych podczas wykonywania różnorodnych analiz pozwalających na wykazanie ich obecności, także przy stosowaniu testów biologicznych. Z tego powodu w celu umożliwienia ich wykrywania, stosuje się obecnie dwie strategie. Pierwszą jest badanie organizmów morskich, głównie mięczaków, które są filtratorami wody morskiej, stąd w ich tkankach gromadzą się wszelkie zanieczyszczenia. W drugiej natomiast stosuje się półprzepuszczalne membrany wypełnione trioleiną.

Półprzepuszczalne membrany wypełnione trioleiną są powszechnie wykorzystywane do zagęszczania różnych substancji hydrofobowych, w tym mutagenów i ich wykrywania w środowisku, metodami chemicznymi. Podczas analiz chemicznych wykorzystuje się ekstrakty tych zanieczyszczeń uzyskiwane dzięki zastosowaniu rozpuszczalników organicznych. Ponieważ wykazaliśmy negatywny wpływ tych rozpuszczalników na wzrost i luminescencję testowego szczepu bakterii, co uniemożliwiało stosowanie ekstraktów, bakterie *Vibrio harveyi* A16 umieszczaliśmy wewnątrz membrany i inkubowaliśmy w wodzie morskiej. W ten sposób bakterie miały bezpośredni kontakt z mutagenami zaabsorbowanymi przez trioleinę z wody morskiej, a my uniknęliśmy stosowania ekstraktów. Jednocześnie pozwoliło to także na znaczne skrócenie procedury ich wykrywania, gdyż pozyskiwanie ekstraktów jest bardzo pracochłonne i długotrwałe. Wyniki optymalizacji metody wykrywania niskich stężeń substancji mutagennych w próbkach wody oraz jej praktycznego zastosowania do badania próbek wody morskiej pochodzącej z rejonów o znacznym zanieczyszczeniu substancjami mutagennymi przedstawiliśmy w pracy [17].

Porównaliśmy także skuteczność, wspomnianych powyżej, dwóch strategii zagęszczania niskich stężeń mutagenów w środowisku morskim, które umożliwiają ich wykrywanie przy pomocy dalszych analiz chemicznych, bądź testów biologicznych. W tym celu pobraliśmy wodę morską z rejonów o dużym zanieczyszczeniu substancjami mutagennymi, co zostało potwierdzone analizami chemicznymi, w której inkubowaliśmy półprzepuszczalne membrany oraz pobrane ze środowiska małże. Woda była codziennie wymieniana. Po okresie inkubacji przy pomocy testu mutagenności sprawdziliśmy obecność

mutagenów skumulowanych przez membrany jak i tkanki małży. Podwyższoną luminescencję bakterii *Vibrio harveyi* A16 obserwowaliśmy badając zarówno membrany jak i małże, przy czym test wykazał wyższy poziom luminescencji bakterii w przypadku półprzepuszczalnych membran. Potwierdziło to możliwość ich skutecznego stosowania do monitoringu zanieczyszczenia środowiska substancjami mutagennymi, zamiast wykorzystywania organizmów żywych [24].

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych:

Moją działalność naukową rozpoczęłam jako studentka biologii Uniwersytetu Gdańskiego. Pracę magisterską dotyczącą ekspresji genów 51,27,28 kodujących białka centralnej części płytki podstawowej bakteriofaga T4 w systemie ekspresji promotor/polimeraza faga T7 wykonałam w Katedrze Mikrobiologii Uniwersytetu Gdańskiego, pod kierunkiem doktora Józefa Nieradko. Przeprowadzone badania potwierdziły tezę, że produkty genów 27 i 28 są składnikami strukturalnymi płytki podstawowej bakteriofaga T4, natomiast produkt genu 51 pełni funkcję katalityczną. Opisane wyżej wyniki, uzyskane podczas realizacji mojej pracy magisterskiej, po uzupełnieniu o dane pochodzące z innych doświadczeń, zostały opublikowane [1].

W 1992 roku obroniłam pracę magisterską i zostałam zatrudniona na stanowisku specjalisty w Centrum Biologii Morza Polskiej Akademii Nauk w Gdyni (CBM PAN), a od roku 1993 pracowałam w tej jednostce na stanowisku asystenta. W początkowym okresie pracy brałam udział w badaniach nad bakteriami redukującymi siarczany w Zatoce Gdańskiej i Puckiej. Bakterie redukujące siarczany odgrywają w środowisku morskim, szczególnie w jego strefie brzegowej, ogromną rolę w procesach mineralizacji materii organicznej i obiegu siarki. Uzyskane wyniki badań pozwoliły mi wykazać, że w osadach badanych akwenów dominującymi grupami bakterii redukujących siarczany były bakterie z rodzaju *Desulfovibrio* i *Desulfotomaculum*. Bakterie te redukują siarczany do siarczków i do toksycznego dla organizmów żywych siarkowodoru. Moje badania pozwoliły na wyznaczenie, w obrębie badanych akwenów, rejonów gdzie znaczącą rolę w mineralizacji materii organicznej pełniły bakterie redukujące siarczany. Wyniki tych prac zostały zamieszczone w publikacjach [2, 6].

Podczas pracy w Centrum Biologii Morza PAN zajmowałam się także badaniami nad bakterioplanktonem polskiej strefy brzegowej Morza Bałtyckiego. Wzrost eutrofizacji brzegowej strefy morskiej jest głównie powodowany przez wprowadzanie zanieczyszczeń z

wodami rzek, oraz z aglomeracji miejskich. Jedną z poważniejszych konsekwencji eutrofizacji jest deficyt tlenowy, który występując nawet okresowo może zagrażać organizmom żywym. Deficyt tlenowy jest powodowany poprzez wzmożone zużycie tlenu podczas rozkładu materii organicznej, które przewyższa produkcję tlenu przez fitoplankton. Materia organiczna pochodzenia allochtonicznego zagraża zatem naturalnej równowadze tego środowiska. Wieloletnie badania prowadzone w rejonie Zatoki Gdańskiej miały na celu zbadanie wpływu rzeki Wisły i wprowadzanej przez nią materii organicznej oraz związków mineralnych na funkcjonowanie brzegowego, epipelagicznego ekosystemu morskiego. W badaniach tych prowadzonych we współpracy z kolegami z Morskiego Instytutu Rybackiego w Gdyni, skoncentrowaliśmy się szczególnie na określaniu aktywności organizmów pętli mikrobiologicznej oraz udziale indywidualnych grup mikroorganizmów w przepływie energii w warunkach eutroficznych środowiska. Uzyskane wyniki jednoznacznie wykazały wpływ wprowadzanej z zewnątrz z wodami rzecznoimi materii organicznej na wydłużenie okresu produkcji pierwotnej w strefie przybrzeżnej, poddanej ich bezpośredniemu oddziaływaniu, w porównaniu z wodami otwartego morza, a także na wzmożoną aktywność mikroorganizmów, w tym bakterii. Wyrazem tego był wzrost produkcji bakteryjnej, oraz znacznie wyższy jej udział w stosunku do produkcji pierwotnej w wodach strefy brzegowej niż w akwenach otwartych. Nasze badania wykazały także, że na aktywność bakterii największy wpływ oprócz stężenia allochtonicznej materii organicznej, miały także takie czynniki jak temperatura oraz stężenie organicznych form azotu i fosforu. Najwyższą aktywność bakterii odnotowaliśmy w okresie wiosennym, na co miała wpływ wzmożona właśnie w tym czasie akumulacja materii organicznej. Szczegółowe wyniki tych badań są zamieszczone w pracach [3, 4, 5, 11].

W trakcie dalszej pracy w Centrum Biologii Morza PAN w Gdyni, moje zainteresowania naukowe objęły także badania mikroorganizmów w innym bardzo ciekawym ekosystemie jakim jest piaszczysta plaża morska. Plaże morskie są strefą buforową między morzem a lądem. Jest to bardzo dynamiczne środowisko, kształtowane przez wiatr, fale morskie, a także w bardzo dużym stopniu przez działalność człowieka. Najważniejszą ekologiczną funkcją plaż jest ich aktywny udział w regeneracji i recyklingu związków mineralnych. Proces ten odbywa się poprzez rozkład i mineralizację materii organicznej, która do piasku wprowadzana jest podczas filtracji wody morskiej, a także z lądu. Zaabsorbowana przez piasek podczas filtracji materia organiczna stanowi podstawę łańcuchów troficznych dla

żyjących w tym środowisku organizmów. Zasadnicze znaczenie w obiegu materii i energii, pomiędzy różnymi ogniwami poszczególnych łańcuchów troficznych ekosystemu plaży, ma proces rozkładu materii organicznej. Kluczową rolę w tym procesie odgrywają mikroorganizmy, a wśród nich szczególnie bakterie heterotroficzne. Bakterie poprzez rozkład materii organicznej umożliwiają jej transfer do wyższych poziomów łańcucha troficznego, a w sprzyjających warunkach mogą ją nawet całkowicie mineralizować do form nieorganicznych. Stąd mikroflora bakteryjna wpływa na naturalny proces samooczyszczania się plaż, które tym samym stają się filtrami oczyszczającymi cały ekosystem morski i w ten sposób zabezpieczają homeostazę tego środowiska.

Z uwagi na tak znaczącą funkcję mikroflory bakteryjnej w ekosystemach plażowych podjęłam badania mikrobiologiczne tego środowiska. Badania prowadziłam na plaży sopockiej, znajdującej się pod silnym eutrofizującym wpływem wód wprowadzanych do Zatoki Gdańskiej przez rzekę Wisłę i zanieczyszczeń wprowadzanych przez aglomerację Trójmiasta, oraz na plaży w rejonie Czolpina, zlokalizowanej na terenie Słowińskiego Parku Narodowego, która pozostaje pod nieznacznym wpływem czynników antropogennych. Uzyskane przeze mnie wyniki badań wykazały, że plaża sopocka poddana wyższemu poziomowi antropopresji niż plaża w Czolpinie, charakteryzowała się znacznie wyższą liczebnością mikroorganizmów heterotroficznych, wśród których dominującą grupą były bakterie heterotroficzne. Wskazywało to na znaczący wpływ materii organicznej zakumulowanej w piaszczystych osadach podczas filtracji wody morskiej. Potwierdziły to prowadzone równoległe analizy chemiczne, które wykazały wyższe stężenie materii organicznej i węgla organicznego w próbkach piasku plaży sopockiej niż czolpińskiej. Identyfikacja bakterii wyizolowanych z piasku wykazała, że dominowały bakterie z rodzaju *Acinetobacter* i *Micrococcus*.

Badania prowadziłam w cyklu miesięcznym, co pozwoliło na wykazanie dynamiki sezonowej. Maksymalne liczebności wszystkich badanych grup bakterii heterotroficznych, o zróżnicowanych właściwościach biochemicznych, zanotowałam w miesiącach letnio - jesiennych, a minimalne w okresie zimowo – wiosennym. Wyniki te różniły się w stosunku do wyników uzyskanych podczas równoległe prowadzonych badań wody morskiej, gdzie obserwowałam dwa okresy podwyższonej liczebności bakterii, to jest w okresie późnej wiosny i jesieni. Natomiast widoczny w piasku plaży tylko jeden szczyt, w okresie letnio-jesiennym, był związany z procesem akumulacji materii organicznej pochodzącej z

jesiennego zakwitu fitoplanktonu. Materia organiczna szczególnie w tym okresie podlega procesowi sedymentacji i nie wchodząc do obiegu w sieci pelagicznej znacznie wzbogaca osady.

Wśród bakterii heterotroficznych liczne były bakterie hydrolizujące związki wielkocząsteczkowe, głównie lipidy, białka, węglowodany, oraz związki niskocząsteczkowe, a wśród nich głównie aminokwasy. Najliczniejszą grupę bakterii w piasku obu plaż stanowiły bakterie amonifikacyjne, przy czym znacznie wyższą w piasku plaży sopockiej niż w piasku plaży w Czołpinie. Intensywność amonifikacji zależy od obecności w środowisku różnych form azotu organicznego występującego między innymi w białkach i aminokwasach. Uzyskane wyniki analiz chemicznych wykazały wyższe stężenie azotu organicznego w piasku plaży sopockiej, co pozwoliło na wyjaśnienie przyczyny tego zjawiska.

Prowadzone przeze mnie badania wykazały, że zarówno liczebność bakterii jak i ich aktywność enzymatyczna i metaboliczna (oddechowa) oraz produkcja bakteryjna były wyższe w powierzchniowych niż w głębszych warstwach piasku. Uzyskane wyniki przedstawiające aktywność bakterii pozwoliły na potwierdzenie dużego znaczenia mikroflory w procesach rozkładu i mineralizacji materii organicznej i jej obiegu w tym ekosystemie.

Część wyników badań opisanych powyżej stała się podstawą mojej pracy doktorskiej wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Zbigniewa Mudryka i obronionej w 2002 r. na Wydziale Matematyczno - Przyrodniczym Pomorskiej Akademii Pedagogicznej w Słupsku. Tematyka ta zaowocowała również cyklem późniejszych publikacji [7, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 18, 19, 23]. Część badań była wykonana w ramach projektu KBN nr 6P04F04918, którego byłam kierownikiem.

W 2002 r., z powodu restrukturyzacji, Centrum Biologii Morza PAN zostało włączone do Instytutu Oceanologii PAN w Sopotcie, gdzie automatycznie zostałam przeniesiona do Pracowni Biologii Molekularnej i pracowałam na stanowisku adiunkta. Jednym z moich zadań naukowych było przygotowanie biologicznego testu mutagenności, który umożliwiłby wykrywanie substancji mutagennych w środowisku morskim. Na prowadzenie tych prac zdobyłam fundusze w ramach projektu, który otrzymał finansowanie jako grant KBN nr 2P04G 011 26, a uzyskane wyniki badań wskazałam jako moje główne osiągnięcie naukowe i opisałam powyżej w punkcie 4.

W marcu 2008 r. zmieniłam miejsce zatrudnienia i podjęłam pracę w Katedrze Mikrobiologii Uniwersytetu Gdańskiego na stanowisku adiunkta. Zajmowałam się wykrywaniem aktywności endonukleaz typu II w szczepach bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* pochodzących z różnych środowisk. Endonukleazy restrykcyjne występują powszechnie u organizmów prokariotycznych. Ich biologiczna rola nie została dotąd w pełni poznana, jednak powszechnie uważa się, że są podstawowym mechanizmem obronnym komórki bakterii przed obcym DNA, szczególnie DNA bakteriofagów. Są to enzymy, których aktywność polega na przecinaniu dwóch nici w cząsteczce DNA, w obrębie sekwencji rozpoznawanej, bądź w pewnej od niej odległości. Wchodzi w skład systemów restrykcyjno-modyfikacyjnych, na których aktywność oprócz endonukleazy składa się również aktywność metylotransferazy DNA, enzymu który przenosi grupę metylową z S-adenozylu-L-metioniny (AdoMet) na resztę cytozyny lub adeniny w sekwencji rozpoznawanej przez endonukleazy. Metylacja DNA czyni go opornym na cięcie własnym enzymem restrykcyjnym, natomiast DNA bakteriofagów nie posiadające takiego zabezpieczenia jest niszczone dzięki jego aktywności.

W ramach projektu Badania Własne UG nr L 135-5-0101-9 przeprowadziłam skryning szczepów bakteryjnych z rodziny *Enterobacteriaceae* pochodzących z różnych środowisk, w kierunku wykrywania aktywności endonukleaz restrykcyjnych. Opracowałam także prostą, szybką mikrometodę oczyszczania lizatów komórkowych na mini kolumnkach ze złożami jonowymiennymi, która umożliwia pozbycie się aktywności niespecyficznych nukleaz, utrudniających bądź uniemożliwiających wykrywanie obecności specyficznych endonukleaz. W ekstraktach komórkowych wykryłam aktywność endonukleolityczną u 39 spośród 700 przebadanych szczepów bakterii wyizolowanych z różnych środowisk (próbki kliniczne, próbki pobrane z oczyszczalni ścieków oraz ze środowiska morskiego i rzecznoego) i były to izoschizomery enzymów: EcoRI, EcoRII, BspEI, BstEII, PstI, EcoVIII, EcoRV, Eco147I, MspI, Eco91I, BsuRI. Wyizolowane szczepy z aktywnością endonukleolityczną będą wykorzystane do badań dotyczących mechanizmów rozprzestrzeniania się tych systemów pomiędzy bakteriami, badań nad zjawiskiem izospecyficzności w obrębie systemów restrykcyjno - modyfikacyjnych typu II oraz badaniem układów modelowych oddziaływania typu białko-DNA.

W październiku 2011 zmieniłam miejsce pracy w Uniwersytecie Gdańskim na Katedrę Ewolucji Molekularnej. Tematyką którą będę realizowała jest badanie mechanizmów

horyzontalnego transferu genów na przykładzie przekazywania przez bakterie genów oporności na antybiotyki.

Horyzontalny przepływ genów ma fundamentalne znaczenie dla ewolucji bakterii. Wciąż nie do końca poznane są mechanizmy tego zjawiska, stąd obecnie moją uwagę zamierzam poświęcić temu tematowi i stawiam sobie jako moje zadanie naukowe. Materiał do badań będzie pochodził ze środowiska szpitalnego, w którym przekazywanie przez bakterie genów oporności na antybiotyki jest szczególnie ułatwione. Istnieją tam bowiem dogodne warunki rozprzestrzeniania bakterii, a co za tym idzie możliwości wymiany między nimi materiału genetycznego. W tym środowisku jest to zjawisko szczególnie niepokojące, gdyż bardzo utrudnia proces leczenia pacjenta. Interesującym mnie tematem są mechanizmy rozprzestrzeniania się genów oporności na antybiotyki wśród bakterii z niespokrewnionych grup taksonomicznych, więc obecnie zamierzam poświęcić swoją uwagę temu zagadnieniu.

W związku z dużym zainteresowaniem opracowanym testem mutagenności *Vibrio harveyi* A16, moje plany naukowe obejmują również kontynuację prac związanych z analizami mutagenności nowo syntetyzowanych związków chemicznych, które w przyszłości mogłyby stanowić zagrożenie dla środowiska.

Beata Radzińska