

## **Streszczenie**

Badania interakcji gospodarz-patogen są istotną częścią nauk immunobiologicznych. Dokładne analizy wzajemnego oddziaływania w układzie owad–mikroorganizm mogą zaowocować, m.in (i) odkryciem nowych związków bioaktywnych; (ii) poznaniem strategii odpornościowych owadów oraz, w przypadku patogenów, strategii infekcyjnych; (iii) identyfikacją nieznanymi mikroorganizmów patogennych; (iv) opracowaniem nowych bioinsektycydów. Ponadto biorąc pod uwagę, że wrodzone mechanizmy odpornościowe owadów i ssaków mają wiele wspólnych elementów, niektóre z odkryć mogą przyczynić się do poznania nowych właściwości układu odpornościowego człowieka.

W ramach niniejszej pracy przeprowadzono analizę wybranych aspektów humoralnej odpowiedzi odpornościowej barciaka większego *Galleria mellonella* na zakażenie bakteriami *Pseudomonas entomophila* poprzez wrota infekcji, jakimi może być uszkodzona okrywa ciała. Analiza przeżywalności owadów po iniekcji różnych dawek bakterii, pokazała korelację pomiędzy ilością podawanych bakterii a śmiertelnością owadów. Na podstawie uzyskanych wyników wyodrębniono trzy dawki infekcyjne: 10 CFU, 50 CFU oraz 500 CFU na gąsienicę, zwane dalej umownie dawkami: niską, wysoką oraz właściwą, które posłużyły do dalszych badań.

Analiza histologiczna przekrojów poprzecznych zakażonych larw wykazała destrukcję ciała tłuszczowego. Ponadto udokumentowano, że mimo dostania się bakterii bezpośrednio do hemocelu, mikroorganizm przemieszcza się do światła jelita, a następnie powoduje destrukcję tego organu. Badanie aktywności efektorów humoralnych po zakażeniu dawką 10 CFU i 50 CFU wykazało indukcję ekspresji wybranych genów kodujących białka i peptydy odpornościowe oraz pojawienie się i wzrost aktywności przeciwbakteryjnej hemolimfy. Było to skorelowane z indukcją oraz aktywnością przeciwbakteryjną niskocząsteczkowych (<10 kDa) składników hemolimfy zakażonych owadów. Natężenie wymienionych parametrów odpornościowych było wprost proporcjonalne do dawki iniekcyjnej.

W pracy wykazano także obecność zjawiska specyficznego piętnowania immunologicznego larw *G. mellonella* bakteriami *P. entomophila*. Udokumentowano wyższy potencjał przeciwbakteryjny hemolimfy gąsienic piętnowanych, który skorelowany był z większą ilością transkryptów genów kodujących białkowe efekторы odpornościowe. W konsekwencji infekcja postępowała wolniej u owadów piętnowanych, zaś przeżywalność gąsienic była wyższa.

Analiza niskocząsteczkowego proteomu owadów po zakażeniu: (i) niską (10 CFU) lub wysoką (50 CFU) dawką bakterii oraz (ii) dawką właściwą (500 CFU) gąsienic niepiętnowanych i piętnowanych, pozwoliła na identyfikację białek i peptydów, których ilość modulowana jest w analizowanych warunkach. Wśród nich znajdują się związki znane, takie jak galiomycyna, peptyd defensyno-podobny, peptydy prolinowy-1 i -2, anionowy-1, peptyd cekropino D-podobny i lizozym oraz trzy dotąd niepoznane białka. Są to: inhibitor proteaz serynowych dipetalogastino-podobny (IPSD), którego ilość zwiększała się po zakażeniu bakteriami; białko homeoboksowe 5-podobne, którego obecność w hemolimfie uwarunkowana była zakażeniem oraz peptyd kazalowy Pr13a, którego ilość była podwyższona w hemolimfie owadów mających ponowny kontakt z patogenem. Wykazano działanie przeciwbakteryjne zidentyfikowanych białek względem *P. entomophila*, któremu towarzyszyły zmiany parametrów biofizycznych i topograficznych powierzchni bakterii. Ponadto białko IPSD posiadało aktywność inhibitora proteaz serynowych, hamowało bowiem działanie trypsyny i elastazy.

Odkrycie trzech nowych związków bioaktywnych w hemolimfie *G. mellonella* wzbogaca naszą wiedzę dotyczącą odporności tego owada i otwiera nowe możliwości badań poznawczych i aplikacyjnych.