

## **Różnorodność bakteriofagów w ściekach komunalnych: morfologia, fizjologia, genomika i metagenomika**

Agata Jurczak-Kurek

Fagi – wirusy infekujące organizmy prokariotyczne (bakterie oraz archeony) – stanowią najliczniejszą grupę obiektów biologicznych na Ziemi. Jednym z większych rezerwuarów fagów są ścieki komunalne, będące mieszaniną ścieków bytowo-gospodarczych, przemysłowych oraz wód opadowych. Duża liczba gatunków bakterii obecnych w ściekach decyduje o różnorodności zakażających je wirusów (bakteriofagów) w tym środowisku. Celem niniejszej pracy była analiza różnorodności fagów pochodzących ze ścieków komunalnych na poziomie morfologicznym, fizjologicznym, genomicznym i metagenomicznym. W toku badań stworzyłam kolekcję 83 fagów zakażających laboratoryjne, kliniczne oraz środowiskowe szczepy różnych gatunków bakterii. Wyizolowane przeze mnie ze ścieków fagi wykazały dużą różnorodność morfologiczną oraz fizjologiczną. Analiza wykonana za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej pozwoliła zaklasyfikować wszystkie wirusy do rzędu Caudovirales, przy czym najliczniejszą grupę stanowiły fagi wykazujące cechy charakterystyczne dla jednej z trzech rodzin tego rzędu – Siphoviridae. Wyizolowane wirusy prezentowały wąski zakres gospodarza oraz bardzo zróżnicowaną tolerancję na działanie badanych czynników fizykochemicznych (temperatura, pH, szok osmotyczny, obecność detergentu lub rozpuszczalników organicznych). Największą wrażliwość na badane czynniki wykazały podowirusy, natomiast najmniej wrażliwa okazała się być większość myowirusów. Indywidualna charakterystyka każdego z fagów umożliwiła wyselekcjonowanie fagów do badań genomicznych, polegających na sekwencjonowaniu i analizie genomów. Pirosekwencjonowanie oraz analiza bioinformatyczna umożliwiły uzyskanie pełnych sekwencji genomów ośmiu wybranych bakteriofagów, z których jeden wykazał niskie podobieństwo do fagów znanych. Z kolei wykorzystanie podejścia metagenomowego do badania różnorodności fagów w ściekach komunalnych pozwoliło na stworzenie bibliotek metagenomowych liczących ponad półtora tysiąca klonów. Częściowe sekwencjonowanie bibliotek wykazało, że zdecydowana większość wstawek była pochodzenia fagowego. Stworzenie przeze mnie kolekcji fagów, scharakteryzowanych pod względem morfologii i fizjologii oraz częściowo genomiki, stanowić może dobrą bazę dla dalszych badań nad różnorodnością i ekologią wirusów bakteryjnych. Natomiast lepsze rozumienie złożonego problemu wrażliwości bakteriofagów na czynniki zewnętrzne może

być użyteczne w kontekście zastosowania tych fagów w przemyśle, rolnictwie czy fagoterapii.