

## Pęcherzyki zewnątrzkomórkowe i lipidomy *Cutibacterium* spp. o potencjale terapeutycznym i diagnostycznym

Bakterie z rodzaju *Cutibacterium* należą do względnie beztlenowych drobnoustrojów wchodzących w skład mikrobioty skóry człowieka. Jednocześnie są także oportunistycznymi patogenami i mogą stanowić zagrożenie dla osób z deficytami immunologicznymi. Najważniejszym i zarazem najlepiej opisanym gatunkiem należącym do tego rodzaju jest *Cutibacterium acnes* (dawniej *Propionibacterium acnes*) o udokumentowanej roli w przebiegu trądziku pospolitego. Ze względu na dynamiczny wzrost antybiotykooporności tych drobnoustrojów oraz ich szerokie rozpowszechnienie, niezbędne jest skuteczne zapobieganie zakażeniom *C. acnes* u ludzi oraz precyzyjna diagnostyka.

Pęcherzyki zewnątrzkomórkowe są sferycznymi nanostrukturami wydzielanymi przez komórki prokariotyczne, które transportują białka, kwasy nukleinowe, metabolity komórkowe, bakteryjne czynniki wirulencji i są mediatorami komunikacji międzykomórkowej. Z tego względu mogą selektywnie stymulować układ immunologiczny gospodarza, co pozwala na wykorzystanie ich jako składników szczepionek.

Celem pracy była kompleksowa analiza lipidomu bakterii należących do rodzaju *Cutibacterium* i poszukiwanie specyficznych markerów lipidowych o potencjale diagnostycznym dla rozróżniania poszczególnych gatunków i filotypów. Zadaniem komplementarnym była szczegółowa analiza wydzielanych przez komórki *C. acnes* pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, obejmująca ich charakterystykę morfologiczną oraz analizę porównawczą profilów białkowych i lipidowych, co umożliwiło przygotowanie platformy badawczej dla potencjalnego zastosowania tych struktur w szczepionkach.

Rozprawę doktorską stanowi cykl trzech powiązanych tematycznie publikacji naukowych: pracy przeglądowej i dwóch prac oryginalnych.

W pracy przeglądowej (Postepy Hig. Med. Dosw., 2020, 74, 572-588), podsumowano aktualny stan wiedzy dotyczący pęcherzyków zewnątrzkomórkowych wydzielanych przez komórki bakteryjne jako mediatorów komunikacji międzykomórkowej.

W pierwszym etapie realizacji projektu doktorskiego, opisanym w pracy oryginalnej (Int. J. Mol. Sci., 2022, 23, 5797), wyizolowano pęcherzyki zewnątrzkomórkowe z trzech filotypów *C. acnes* (IA1, IB i II), które zostały poddane analizie morfologicznej, oraz

porównano ich profile białkowe i lipidowe. Wykazano wyraźne różnice w profilach białkowych i lipidowych badanych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, co sugeruje obecność potencjalnych struktur antygenowych mogących selektywnie indukować odpowiedź immunologiczną. Jest to cenna cecha, która wskazuje na potencjał pęcherzyków jako adiuwantów lub składowych szczepionek.

Dynamiczny rozwój lipidomiki sprawił, że związki lipidowe nie są postrzegane jedynie jako składniki strukturalne błon komórkowych, ale także jako antygeny i cząstki sygnałowe. W drugim etapie realizacji projektu doktorskiego opisanym w pracy (mSphere, 2024, 10.1128/msphere.00054-24) przeprowadzono porównawczą analizę lipidomiczną ośmiu szczepów *Cutibacterium*: czterech filotypów *C. acnes*, dwóch szczepów *C. granulorum*, oraz *C. avidum* i *C. namnetense*. Otrzymane wyniki pozwoliły na wyselekcjonowanie lipidów markerowych specyficznych dla badanych szczepów. Obecność niektórych związków lipidowych, takich jak kardiolipiny oraz amidy kwasów tłuszczowych, zidentyfikowano u *Cutibacterium* spp. po raz pierwszy.

Na podstawie przeprowadzonych badań szczegółowo scharakteryzowano pęcherzyki zewnątrzkomórkowe *C. acnes*. Wykazano, że odmienność genotypowa i fenotypowa filotypów *C. acnes* ma odzwierciedlenie w odmienności białek i lipidów budujących pęcherzyki zewnątrzkomórkowe. Porównawcza charakterystyka lipidomu rodzaju *Cutibacterium* wraz z identyfikacją specyficznych markerów molekularnych ujawnia ich potencjał diagnostyczny istotny dla mikrobiologii klinicznej.