

Streszczenie

Streszczenie w języku polskim

Halofile są niezwykle ciekawą i zróżnicowaną grupą mikroorganizmów. Można wśród nich znaleźć przedstawicieli każdej z domen życia. Dzięki rozwojowi technik biologii molekularnej oraz metod sekwencjonowania, w ostatnich latach poczyniono znaczny postęp w badaniach nad bioróżnorodnością halofili. Szczególne znaczenie w tym względzie mają metody metagenomiczne pozwalające na lepsze poznanie mikroorganizmów, dla których nie udało się dotychczas opracować metod hodowli w warunkach laboratoryjnych. Przykładem grup taksonomicznych poznanych dzięki tym metodom mogą być nadtypy Archaea takie jak Asgardarchaeota i DPANN.

W związku z koniecznością adaptacji do życia w warunkach wysokiego zasolenia halofile wytworzyły wiele unikatowych szlaków metabolicznych. Szlaki te są związane na przykład z biosyntezą osmoprotektantów takich jak ektoina lub hydroksyektoina czy też barwników o działaniu antyoksydacyjnych takich jak karotenoidy. Ponadto w genomach halofili znajdują się geny kodujące enzymy aktywne w warunkach wysokiego zasolenia a często również innych niesprzyjających warunkach takich jak wysoka temperatura czy skrajne pH. Dzięki tym właściwościom enzymy te znajdują zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu takich jak na przykład przetwórstwo żywności, przemysł papierniczy czy tekstylny. Mikroorganizmy halofilne są również producentami wielu substancji o potencjalnie farmaceutycznym. Można do nich zaliczyć zarówno wtórne metabolity jak i peptydy wykazujące aktywność przeciwdrobnoustrojową.

Celem przedstawionej pracy doktorskiej było scharakteryzowanie bioróżnorodności mikrobiomów wybranych środowisk o wysokim zasoleniu oraz ocena potencjału biotechnologicznego bytujących w nich mikroorganizmów w oparciu o dane genomiczne i metagenomiczne. Wygenerowane dane oraz przeprowadzone analizy pozwoliły na ocenę składu taksonomicznego mikrobiomu Kopalni Soli Bochnia oraz na identyfikację klastrów genów związanych z biosyntezą wtórnych metabolitów. Ponadto w analizowanych metagenomach zidentyfikowano 16 unikatowych MAGs, z których 15 nie ma swoich odpowiedników wśród dotychczas znanych sekwencji. W toku analiz zsekwencjonowano również genomy pięciu szczepów Eubakterii oraz trzech szczepów Archaea wyizolowanych z solanek pobranych na obszarze Przedgórze Karpackiego. Część z genomów należy najprawdopodobniej do nowych, nieopisanych dotychczas gatunków. W dalszej kolejności na podstawie danych metagenomicznych wytypowano trzy sekwencje, które potencjalnie mogły kodować peptydy przeciwdrobnoustrojowe. Zostały one zsyntezowane a ich właściwości zostały ocenione w warunkach laboratoryjnych. Wykazano, że peptyd P1 był aktywny przeciw *E. faecalis* 29212 a peptyd P3 przeciw *E. faecalis* 29212 i *S. aureus* 43300. Ponadto udowodniono, że oba analizowane peptydy nie mają właściwości cytotoksycznych ani nie wykazują aktywności hemolitycznej.

Podsumowując, w toku prac scharakteryzowano mikrobiom Kopalni Soli Bochnia oraz genomy szczepów mikroorganizmów wyizolowanych z solanek pobranych na obszarze Przedgórza Karpackiego. Ponadto wykazano, że wybrane peptydy kodowane w analizowanych metagenomach wykazują aktywność przeciwdrobnoustrojową i mogą być obiektem dalszych badań mających na celu ocenę możliwości wykorzystania ich w praktyce.

Streszczenie w języku angielskim

Halophiles are an extremely interesting and diverse group of microorganisms. Among them can be found representatives of each domain of life. Thanks to the development of molecular biology techniques and sequencing methods, significant progress has been made in research on the biodiversity of halophiles in recent years. Of particular importance in this field are metagenomic methods that allow for a better understanding of microorganisms for which methods of cultivation in laboratory conditions have not yet been developed. Archaeal superphyla such as Asgardarchaeota and DPANN can serve as an example of taxonomic groups discovered thanks to these methods.

Due to the need to adapt to life in conditions of high salinity, halophiles have developed many unique metabolic pathways. These pathways are related, for example, to the biosynthesis of osmoprotectants such as ectoine or hydroxyectoine, or pigments with antioxidant activity such as carotenoids. In addition, the genomes of halophiles contain genes encoding enzymes active in conditions of high salinity and often also in other unfavourable conditions such as high temperature or extreme pH. Thanks to these properties, halophilic enzymes are used in various industries, such as food processing, paper and textile industries. Halophilic microorganisms are also producers of substances with pharmaceutical potential. These include both secondary metabolites and peptides with antimicrobial activity.

The aim of the presented doctoral thesis was to characterize the biodiversity of microbiomes in selected environments with high salinity and to assess the biotechnological potential of microorganisms living in them based on genomic and metagenomic data. The generated data and the analyses made it possible to assess the taxonomic composition of the microbiome of the Bochnia Salt Mine and to identify biosynthetic gene clusters. In addition, 16 unique MAGs were identified in the analysed metagenomes, 15 of which have no equivalents among the previously known sequences. In the course of the analyses, the genomes of five strains of Bacteria and three strains of Archaea isolated from brines collected in the area of the Carpathian Foreland were also sequenced. Some of the genomes most likely belong to new, undescribed species. Subsequently, three sequences that could potentially encode antimicrobial peptides were selected based on metagenomic data. They were synthesized and their properties were evaluated under laboratory conditions. It was shown that the P1 peptide was active against *E. faecalis* 29212 and the P3 peptide against *E. faecalis* 29212 and *S. aureus* 43300. Moreover, both analysed peptides proved to be neither cytotoxic nor haemolytic.

In conclusion, in the course of the work, the microbiome of the Bochnia Salt Mine and the genomes of the strains of microorganisms isolated from brines collected in the area of the Carpathian Foothills were characterized. In addition, it has been shown that selected peptides encoded in the analysed metagenomes

exhibit antimicrobial activity and may be the subject of further research aimed at assessing the possibility of using them in practice.