

1. OPIS PROJEKTU DOKTOSKIEGO (4000 znaków max., łącznie z celami i planem pracy, do umieszczenia na stronie internetowej Szkoły)

Tytuł projektu: Badanie lipidowych determinantów antybiotykooporności u wielolekoopornych bakterii gram-ujemnych przy wykorzystaniu różnych technik spektrometrycznych

- 1.1. Cele projektu** Głównym celem projektu jest opracowanie nowego podejścia analitycznego do szybkiej i wiarygodnej identyfikacji wielolekoopornych patogenów gram-ujemnych w oparciu o profilowanie lipidów bakteryjnych uzyskane za pomocą różnych technik spektrometrii mas z desorpcją/ionizacją laserową (a) wspomaganą matrycą (MALDI) i (b) wspomaganą nanostrukturami (NALDI) w celu ujawnienia zmian lipidomicznych w komórkach bakteryjnych jako mechanizmu oporności na różne klasy antybiotyków. Cele szczegółowe obejmują: (i) ustalenie procedur ekstrakcji lipidów bakteryjnych do analizy LDI, (ii) wybór warunków desorpcji/ionizacji ekstraktów lipidowych, (iii) stworzenie bazy danych profili lipidomicznych bakterii, (iv) opracowanie modeli klasyfikacyjnych, (v) wskazanie i wyjaśnienie zmian zachodzących w składzie lipidowym komórek bakteryjnych w odpowiedzi na obecność środków przeciwdrobnoustrojowych
- 1.2. Ogólna charakterystyka projektu** Projekt dotyczy narastającego problemu antybiotykooporności, w szczególności u wielolekoopornych bakterii gram-ujemnych, stanowiących poważne zagrożenie dla zdrowia. Istnieje pilna potrzeba opracowania szybkich i wiarygodnych narzędzi analitycznych. Obecne metody oparte głównie na analizie proteomicznej (MALDI-TOF MS) mają ograniczone zastosowanie. Lipidomika, jako analiza składu lipidowego komórek bakteryjnych, wydaje się obiecującym podejściem, ponieważ profile lipidowe szczepów opornych i wrażliwych mogą się różnić. Projekt ma na celu opracowanie i walidację metod opartych o techniki MALDI-TOF MS i NALDI-TOF MS do profilowania lipidów bakteryjnych, stworzenie bazy danych profili lipidomicznych oraz zbadanie zmian lipidomu pod wpływem antybiotyków, w tym w warunkach biofilmu. Oczekuje się, że opracowane protokoły znajdą zastosowanie w rutynowych laboratoriach klinicznych.
- 1.3. Plan pracy** (w tym okres projektu min. 36 m max. 48 m) Plan pracy obejmuje cztery główne zadania badawcze: Zadanie 1 (Miesiące 1-6): Opracowanie procedur ekstrakcji lipidów bakteryjnych dla analizy LDI z pogłębioną charakterystyką lipidomiczną przy użyciu HRMS. Zadanie 2 (Miesiące 7-18): Opracowanie podejścia MALDI-TOF MS do badania lipidomów bakteryjnych. Zadanie 3 (Miesiące 19-30): Opracowanie podejścia NALDI-TOF MS do badania lipidomów bakteryjnych. Zadanie 4 (Miesiące 31-36): Badanie zmian w lipidomie u różnych typów bakterii MDR zaangażowanych w mechanizmy lekooporności.
- 1.4. Literatura** (max. 7 pozycji/sugestia lektury dla kandydatów)
-Spichler A, et al. *Microbiology of diabetic foot infections: From Louis Pasteur to "crime scene investigation."* BMC Med. 2015;13(1):2. doi:10.1186/s12916-014-0232-0
Sauer S, Kliem M. *Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria.* Nat Rev Microbiol. 2010;8(1):74-82. doi: 10.1038/nrmicro2243

-Croxatto A, et al. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol Rev.* 2012;36(2):380-407. doi:10.1111/j.1574-6976.2011.00298.x

-Leung LM, et al. Identification of the ESKAPE pathogens by mass spectrometric analysis of microbial membrane glycolipids. *Sci Rep.* 2017;7(1):1-10. doi:10.1038/s41598-017-04793-4

-Oviaño M, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for the rapid detection of antimicrobial resistance mechanisms and beyond. *Clin Microbiol Rev.* 2019;32(1). doi:10.1128/CMR.00037-18

-Liang T, et al. Rapid Microbial Identification and Antibiotic Resistance Detection by Mass Spectrometric Analysis of Membrane Lipids. *Anal Chem.* 2019;91(2):1286-1294. doi:10.1021/acs.analchem.8b02611

-Dortet L, et al. Rapid detection and discrimination of chromosome-And MCR-plasmid-mediated resistance to polymyxins by MALDI-TOF MS in *Escherichia coli*: The MALDIxin test. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(12):3359-3367. doi:10.1093/jac/dky330

- 1.5. **Wymagana wstępna wiedza i umiejętności kandydata/tki na doktoranta/kę**
Kandydat/ka na doktoranta/kę powinien posiadać co najmniej tytuł magistra biologii lub chemii. Wymagane jest doświadczenie w prowadzeniu badań z wykorzystaniem technik spektrometrii mas, potwierdzone publikacją z listy JCR lub certyfikatami uczestnictwa w tematycznych konferencjach naukowych.
- 1.6. **Oczekiwany rozwój wiedzy i umiejętności kandydata/tki na doktoranta/kę**
Doktorant/ka będzie odpowiedzialny/a za rozwój procedur analizy lipidomów bakteryjnych przy użyciu technik MALDI-TOF MS i NALDI-TOF MS. Będzie również zajmował/a się oznaczaniem poziomu lekooporności badanych szczepów bakterii metodą mikrorozcieńczeń w bulionie. Kluczowym elementem pracy doktoranta/tki będzie badanie zmian w składzie lipidowym komórek bakteryjnych pod wpływem ciśnienia antybiotykowego. Udział w projekcie umożliwi doktorantowi/tce rozwój wiedzy i umiejętności w zakresie nowoczesnych technik spektrometrii mas w zastosowaniu do lipidomiki bakterii, analizy danych biologicznych i chemicznych, a także pogłębienie wiedzy na temat mechanizmów lekooporności.