**Mehanizmi dugotrajnog preživljavanja Francisella unutar ameba**



**Naslov projekta:** Mehanizmi dugotrajnog preživljavanja *Francisella*unutar ameba
**Izvor financiranja:** Hrvatska zaklada za znanost ([www.hrzz.hr](http://www.hrzz.hr/))
**Broj projekta:** HRZZ-IP-2022-10-8445
**Voditelj projekta:** prof. dr. sc. Marina Šantić, Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

**Suradnici:**

* Prof. dr. sc. Maja Abram, dr. med.,  Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci
* Doc. dr. sc. Mirna Mihelčić, Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci
* Dr. sc. Ina Viduka, Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci
* Dr. sc. Maša Knežević, Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci
* Dr. sc. Andreja Zubković, Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci
* Linda Jerinić, mag. sanit. ing., Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci
* Izv. prof. dr. sc. Dijana Detel, dr. med., Zavod za medicinsku kemiju, biokemiju i kliničku kemiju
* Prof. dr. sc. Jiri Stulik, Vojni institut, Fakultet vojnih medicinskih znanosti, Hradec Kralove, Češka
* Dr. sc. Jana Klimentova, Vojni institut, Fakultet vojnih medicinskih znanosti, Hradec Kralove, Češka
* Prof. dr. sc. Anders Sjostedt, Sveučilšte Umea, Zavod za kliničku mikrobiologiju, Umea, Švedska

**Ukupno financiranje:** EUR 199.031,17

**Kratki opis projekta:** *Francisella tularensis* je gram-negativna, visoko infektivna, fakultativno unutarstanična bakterija koja, u životinja i ljudi, uzrokuje tularemiju. Tularemija se sporadično javlja u mnogim europskim zemljama, prvenstveno u područjima u blizini izvora vode. Naša i druga *in vitro* istraživanja pokazala su da se *F. tularensis* subsp. *tularensis*, *F. holarctica* i *F. novicida* mogu razmnožavati u slobodnoživućim amebama *Acanthamoeba castellanii* i *Hartmanella vermiformis*, što sugerira da bi amebe mogle biti važan okolišni rezervoar za vrste *Francisella*. Smatra se da amebe služe kao okolišni spremnik u kojem se bakterije razvijaju i usavršavaju svoje strategije virulencije, što rezultira novim bakterijskim svojstvima, međutim, nije poznato koliko dugo *Francisella* može preživjeti u cistama ameba te mehanizmi preživljavanja i oporavka u stanicama sisavaca. Pretpostavljamo da proces transformacije ameba iz stadija trofozoita u ciste potpuno regulira *Francisella*na način neovisan o okolišu. Nadalje, nije poznato javlja li se *Francisella*u vijabilnom, ali ne i kultivabilnom obliku (engl. *viable but not culturable;* VBNC) u cistama ameba i mogu li se bakterije oživjeti, stoga očekujemo pronaći optimalne uvjete za oporavak bakterija iz cista u različitim uvjetima te odrediti hoće li *Francisella* uzgojena u cisti amebe izazvati pojačani ili smanjeni imunološki odgovor u modelu miša. Na temelju naših preliminarnih rezultata, očekujemo da ćemo pokazati da *Francisella* odgađa apoptozu i započinju ciklus autofagije za dugoročno preživljavanje u cistama. Koristeći nove metode proteomike, usredotočit ćemo se na obrasce ekspresije proteina u bakterijamai amebama koji se pokreću u ovoj fazi transformacije. Dodatno, proučavat će se promjene u strukturi mikrobnog lipopolisaharida i kapsule kao rezultat promijenjene bakterijske virulencije. Također, za daljnje razumijevanje promjena u ekspresiji gena tijekom životnog ciklusa *Francisella* u amebama ispitat ćemo njihov transkriptom. Tri vrste *Francisella* – *F. tularensis* subsp. *holarctica*soj LVS, *F. philomiragia* i*F. novicida* kao i ameba *A. castellanii*bit će uključeni u ovu studiju. U predloženom projektu kombinirat ćemo bakteriologiju, molekularnu biologiju, imunologiju, proteomske, genomske i stanične biološke pristupe kako bismo opisali i identificirali nove čimbenike virulencije *Francisella* na temelju njihovog unutarstaničnog životnog ciklusa u amebnim trofozoitima/cistama koji omogućavaju uspješan ciklus infekcije u stanica sisavaca, što će dovesti do boljeg razumijevanja molekularnih i staničnih mehanizama interakcije između ameba i *Francisella*, te značajno pridonijeti znanstvenom razumijevanju održivosti različitih sojeva *Francisella*u okolišu.

**Publikacije:**

* Rožmanić, C; Lisnić, B; Pribanić Matešić, M; Mihalić, A; Hiršl, L; Park, E; Lesac Brizić, A; Indenbirken, D; Viduka, I; Šantić, M; Adler, B; Yokoyama, W M; Krmpotić, A; Juranić Lisnić, V; Jonjić, S; Brizić I. Perinatal murine cytomegalovirus infection reshapes the transcriptional profile and functionality of NK cells. Nature Communications volume 14, Article number: 6412 (2023.)Q1
* Cvek M, Šegota D, Piletić K, Begić G, Knežević M, Tomić Linšak D i sur. Komarci u Hrvatskoj, bolesti koje prenose, načini prevencije i suzbijanja. Šumarski list [Internet]. 2023. 147(9-10):465-476. Q3.
* Marecic V, Shevchuk O, Link M, Viduka I, Ozanic M, Kostanjsek R, Mihelcic M, Antonic M, Jänsch L, Stulik J, Santic M. *Francisella novicida*-Containing Vacuole within *Dictyostelium discoideum*: Isolation and Proteomic Characterization. Microorganisms. 2024 Sep 26;12(10):1949. Q2.
* Price CTD, Hanford HE, Al-Quadan T, Santic M, Shin CJ, Da'as MSJ, Abu Kwaik Y. Amoebae as training grounds for microbial pathogens. mBio. 2024 Aug 14;15(8):e0082724. doi: 10.1128/mbio.00827-24.Q1

**Pozvana predavanja:**

* prof. dr. sc. Marina Šantić, How probiotics affect Gut Microbiota, 4. simpozij Suvremeni značaj crijevne mikrobiote, Pula, 15.-17. ožujka 2024.
* prof. dr. sc. Marina Šantić, Legionella pneumophila - journey from the environment to human macrophages. XIII CONGRESS OF MICROBIOLOGISTS OF SERBIA - MIKROMED REGIO 5 “From Biotechnology to Human and Planetary Health”, Belgrade, Serbia, 4th-6th of April, 2024.
* dr. sc. Maša Antonić, FMT lakši način/ liofilizat ili kapsula? Kako nam mikrobiolozi mogu pomoći?, 4. simpozij Suvremeni značaj crijevne mikrobiote, Pula, 15.-17. ožujka 2024.

**Usavršavanja:**

* Maša Antonić. Webinar. A Beginner’s Guide to Spatial Transcriptomics. Soni Mohapatra. 23.04.2024.
* Maša Antonić. Webinar. Promocija otvorenog natječaja djelovanja Marie Skłodowska – Curie za Postdoktorske stipendije. Informativni dan za MSCA Postdoktorske stipendije. Agencija za mobilnost i programe EU. 17.05.2024.
* Maša Antonić. Webinar. Exploring the Microbial World: A Journey through Sequencing Applications. Novogene. 21.03.2024.
* Maša Antonić. Radionica. Professional Responsibility and the giving and receiving of feedback.  prof. dr. sc. Robert Harris, Academic Vice President of Doctoral Education, Chair of International Advisory Council- Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden. 26.09.2024. Medicinski fakultet u Rijeci.
* Ina Viduka. Webinar. Exploring the Microbial World: A Journey through Sequencing Applications. Novogene. 21.03.2024.
* Ina Viduka. Webinar. A Beginner’s Guide to Spatial Transcriptomics. Soni Mohapatra. 23.04.2024.
* Ina Viduka. Webinar. Promocija otvorenog natječaja djelovanja Marie Skłodowska – Curie za Postdoktorske stipendije. Informativni dan za MSCA Postdoktorske stipendije. Agencija za mobilnost i programe EU. 17.05.2024.
* Ina Viduka. Webinar. A Beginner’s Guide to Next Generation Sequencing Solutions for Epigenetics Research. 27.06.2024.
* Ina Viduka. Webinar. Long-read sequencing, the next era of genomics. 23.07.2024.
* Ina Viduka. Stručna Radionica. DIGITALNI PCR: Revolucija u Kvantifikaciji Nukleinskih kiselina. 04.07.2024. Rijeka (Labena).
* Ina Viduka. Radionica. Professional Responsibility and the giving and receiving of feedback.  prof. dr. sc. Robert Harris, Academic Vice President of Doctoral Education, Chair of International Advisory Council- Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden. 26.09.2024. Medicinski fakultet u Rijeci.
* Andreja Zubković. Radionica. Professional Responsibility and the giving and receiving of feedback. prof. dr. sc. Robert Harris, Academic Vice President of Doctoral Education, Chair of International Advisory Council- Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden. 26.09.2024. Medicinski fakultet u Rijeci.
* Andreja Zubković. Seminar. Primjena norme HRN EN ISO/IEC 17025:2017. Primjena norme HRN EN ISO/IEC 17025:2017. 24. - 26.01.2024. Zagreb.
* Andreja Zubković. Stručna radionica. Digitalni PCR: Revolucija u kvantifikaciji nukleinskih kiselina. 04.07.2024. Fakultet biotehnologije i razvoja lijekova. Rijeka.

**Odobreni projekti za financiranje:**

* Pomaci u crijevnoj mikrobioti, prisutnost infekcije *Helicobacter pylori* i crijevne razine kratkolančanih masnih kiselina u pacijenata s adenomatoznim polipima kolona, voditelj projekta: prof. dr. sc. Goran Hauser, suradnici: prof. dr. sc. Marina Šantić, dr. sc. Ina Viduka, dr. sc. Maša Antonić, 2023. - 2025.
* Uloga ∆igIF mutante *Francisella tularensis* na imuni odgovor u eksperimentalnoj tularemiji“ – projekt MEDRI Fonda za potporu istraživačima. Voditeljica projekta: dr. sc. Ina Viduka
* Liofilizacija bakterijske suspenzije s ciljem dugotrajnog skladištenja na višim temperaturama“- projekt MEDRI Fonda za potporu istraživačima. Voditeljica projekta: dr. sc. Maša Antonić
* Preživljavanja i oporavak francizela iz stanica ameba“ – UNIRI projekt za iskusne znanstvenike. Voditeljica projekta: prof. dr. sc. Marina Šantić
* Uloga ΔiglF mutante *Francisella tularensis* u patogenezi eksperimentalne tularemije“ – UNIRI projekt za mlade znanstvenike. Voditeljica projekta: dr. sc. Ina Viduka
* Osjetljivost *Francisella* na antibiotike nakon dugotrajnih interakcija s A. castellanii“ – UNIRI projekt za mlade znanstvenike. Voditeljica projekta: dr. sc. Maša Antonić
* Prostorna omika za profliranje heterogenosti kolorektalnog karcinoma, identifkaciju biomarkera, karakterizaciju mikrobiote i translaciju u personalizirani terapijski pristup - NPOO.C3.2.R3-I1.04.0266 (voditeljica: prof. dr. Vesna Eraković - Salvita). Suradnice na projektu: Marina Šantić, Ina Viduka, Mirna Mihelčić, Maša Antonić
* Detekcija i usporedba novih vrsta *Legionella* bakterija uporabom standardnih kultivacijskih metoda, masene spektrometrije, molekularnih metoda i elektronske mikroskopije - natječaj Stažiranje u gospodarstvu, NPOO.C3.2.R2-I1.05 (voditelj: PATHCON LABORATORIES EU). Voditeljica projekta: dr. Sc. Roberta Sauerborn Klobučar. Voditeljica sa strane MEDRI: prof. dr. sc. Marina Šantić.