

# 140 lat modelowego organizmu bakterii *Escherichia coli* jako „workhorse of molecular biology and biomedicine”

## STRESZCZENIE

Przedstawiono bakterię *Escherichia coli*, od jej odkrycia w 1885 roku przez niemiecko-austriackiego mikrobiologa i pediatrę Theodora Eschericha, po współcześnie prowadzone badania z zastosowaniem najnowocześniejszych eksperymentalnych i bioinformatycznych technik włączając AI i uczenie maszynowe. Bakteria *E. coli* towarzyszy człowiekowi od urodzenia jako komensalny organizm mikrobioty jelitowej, niemniej część szczepów *E. coli* wykazuje właściwości patogenne, wywołując schorzenia jelitowe i pozajelitowe, niekiedy zagrażające zdrowiu, a nawet życiu gospodarza. Jednocześnie, po upływie 140 lat od odkrycia bakterii *E. coli* jest to najlepiej zbadany jednokomórkowy organizm na świecie. Biolodzy molekularni, bakteriologowie, czy biochemicy wskazują na ogromne znaczenie *E. coli* jako modelowego organizmu w poznaniu molekularnych mechanizmów kluczowych procesów życiowych zarówno w warunkach zdrowia jak i choroby oraz jego wykorzystania w biotechnologii na skalę przemysłową. Stąd bakteria *E. coli* określana jest jako „workhorse of molecular biology and biomedicine”, zaś badacze pracujący ze szczepami *E. coli* zostali docenieni i uhonorowani za swoje odkrycia wieloma Nagrodami Nobla.

## WPROWADZENIE

Rok 2025 to jubileusz 140. rocznicy odkrycia bakterii *Escherichia coli* (*E. coli*), którą współcześni badacze traktują jako podstawowy model biologii molekularnej i biotechnologii, włączając w to jej ogromne znaczenie w wielu gałęziach przemysłu [1,2]. Obecnie, bakteria *E. coli* pod względem filogenetycznym zaliczana jest do rodziny *Enterobacteriaceae*, rzędu *Enterobacterales*, klasy *Gamma*proteobacteria, typu *Proteobacteria*, królestwa *Eubacteria* i domeny *Bacteria* [3].

Początkowo eksperymentatorzy i klinicyści wybierali bakterię *E. coli* do swoich badań z powodu jej podstawowych zalet, takich jak łatwość w pozyskiwaniu i hodowli. Dzisiaj, po upływie 140 lat od pierwszego jej opisanego przez wybitnego niemiecko-austriackiego mikrobiologa i pediatrę Theodora Eschericha, zaletą bakterii jest ogromna wiedza na jej temat, zgromadzona przez kilka kolejnych pokoleń naukowców [4,5]. Opracowano wiele zaawansowanych technik eksperymentalnych dla *E. coli*, a od 1997 roku znana jest sekwencja jej genomu, charakteryzującego się znaczną różnorodnością genetyczną i plastycznością. Istnieją dobrze ugruntowane fundamentalne koncepcje genetyczne i potężne narzędzia molekularne dotyczące mikrobiologicznej biosyntezy z jej udziałem. Pojawiają się nowe wyzwania eksperymentalne i teoretyczne związane z inżynierią metaboliczną i konstruowaniem coraz bardziej wydajnych szczepów wykorzystywanych na skalę przemysłową [5,6]. Bakteria *E. coli* stała się ważnym modelowym organizmem dla wielu badaczy, biotechnologów i klinicystów w przeszłości, a jej znaczenie pozostaje niezmiennie aktualne również obecnie. W świetle nowych odkryć (np. wykorzystania organoidów jelitowych jako zaawansowanych platform modelowania interakcji gospodarz-mikrobiota w homeostazie i chorobie), *E. coli* pozostaje nadal atrakcyjną perspektywą w rozwoju współczesnych bionauk, włączając najnowsze bioinformatyczne narzędzia, wirtualne technologie i sztuczną inteligencję wraz z uczeniem maszynowym [7-9].

Zauważmy, że obok tej bardzo popularnej pałeczki *E. coli* naukowcy wykorzystują i inne organizmy, zaś Nagrody Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny często są przyznawane za odkrycia dokonane z użyciem organizmów modelowych reprezentujących zróżnicowany świat [10]:

- Bakterii - podstawowym modelowym organizmem jest właśnie *E. coli* (wiele Nagród Nobla przyznanych uczonym pracującym nad i z *E. coli* opisano w dalszej części pracy),
- Wirusów - modelowym organizmem jest np. bakteriofag lambda (Nagrody Nobla: 1965 r. - za odkrycia dotyczące genetycznej kontroli syntezy enzymów

dr n. med. Beata Sokołowska ✉

Pracownia Bioinformatyki, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk, Warszawa

<https://doi.org/10.18388/k2p7j927>

✉ Autor korespondencyjny:  
beta.sokolowska@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-0547-303X>

**Słowa kluczowe:** *Escherichia coli* (*E. coli*); komensalne i patogenne szczepy; zdrowie publiczne; modelowy organizm; nowoczesne technologie; sztuczna inteligencja (AI) i uczenie maszynowe (ML)

**Wykaz skrótów:** AIEC - adherentne inwazyjne *E. coli* (ang. *adherent invasive E. coli*); DAEC - dyfuzyjno-adherentne *E. coli* (ang. *diffusely adherent E. coli*); EAEC - enteroagregatywne *E. coli* (ang. *enteroaggregative E. coli*); EHEC - enterokrwiotoczne *E. coli* (ang. *enterohemorrhagic E. coli*); EIEC - enteroinwazyjne *E. coli* (ang. *Shigella/ enteroinvasive E. coli*); EPEC - enteropatogenne *E. coli* (ang. *enteropathogenic E. coli*); ETEC - enterotoksyczne *E. coli* (ang. *enterotoxigenic E. coli*); ExPEC - patogenne pozajelitowe *E. coli* (ang. *extraintestinal pathogenic E. coli*); InPEC - patogenne jelitowe *E. coli* (ang. *intestinal pathogenic E. coli*); LTEE - długoterminowy eksperyment ewolucyjny (ang. *long-term evolution experiment*) Richarda E. Lenskiego; NMEC - *E. coli* wywołujące noworodkowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (ang. *neonatal meningitis E. coli*); SEPEC - *E. coli* związane z sepsą (ang. *sepsis-associated E. coli*); STEC - *E. coli* wytwarzające toksyny charakterystyczne dla rodzaju *Shigella* (ang. *Shiga toxin-producing E. coli*); UPEC - uropatogenne *E. coli* (ang. *uropathogenic E. coli*).

u *E. coli* i faga; 1969 r. - za badania nad mechanizmami replikacji wirusów i przekazywania informacji genetycznej),

- Grzybów - tutaj modelowymi organizmami są np. *Saccharomyces cerevisiae* (Nagrody Nobla: 1969 r. - za poznanie kodu genetycznego i jego funkcji w syntezie białek u *E. coli* i *S. cerevisiae*; 2001 r. - za odkrycia kluczowych regulatorów cyklu komórkowego w *S. cerevisiae* i jeżowcu morskim; 2009 r. - za odkrycie w jaki sposób chromosomy są chronione przez telomery i enzym telomerazę w *Tetrahymena* i *S. cerevisiae*; 2013 r. - za poznanie mechanizmów regulujących ruch pęcherzyków, głównego systemu transportowego w komórkach u *S. cerevisiae* i myszy),
- Roślin - tutaj podstawowym modelem eksperymentalnym jest *Arabidopsis thaliana* - rzodkiewnik pospolity, a jego genom jako pierwszej rośliny został zsekwencjonowany w 2000 r.,
- Zwierząt:
  - dla bezkręgowców modelowymi organizmami są np. *Drosophila melanogaster* - muszka owocowa (Nagrody Nobla: 1933 r. - za odkrycia dotyczące roli chromosomu w dziedziczeniu; 1946 r. - za odkrycie mutacji indukowanych napromieniowaniem rentgenowskim; 1995 r. - za odkrycia związane z kontrolą genetyczną na poziomie wczesnego rozwoju embrionalnego; 2011 r. - za odkrycia dotyczące odporności wrodzonej) oraz model *Caenorhabditis elegans* - nicienie (Nagrody Nobla: 2002 r. - za odkrycia dotyczące genetycznej regulacji rozwoju narządów i programowanej śmierci komórki - apoptozy; 2006 r. - za odkrycie interferencyjnego iRNA i zjawiska wyciszania genów z jego udziałem),
  - wśród kręgowców modelowymi organizmami są: dla przedstawicieli ryb - np. *Danio rerio* - danio pręgowany, płazów - np. *Xenopus laevis* - żaba szponiasta (np. Nagroda Nobla w 1935 r. za przełomowe badania nad indukcją embrionalną, które wykazały, jak komórki komunikują się, aby kształtować zarodek), ptaków - np. *Gallus gallus* - kura domowa czy *Taeniopygia guttata* - zeberka,
  - wśród ssaków jest to np. *Mus musculus* - mysz domowa i *Sus scrofa domestica* - świnia domowa (wielu badaczy także otrzymało Nagrody Nobla, np. w 2012 r. za odkrycie mechanizmu przeprogramowania komórek somatycznych w komórki pluripotencjalne u żaby szponiastej i myszy).

Spośród tej listy modelowych organizmów [11-13] niektóre z nich są szczególnie często używane w badaniach z obszaru bionauk. Należą do nich *Saccharomyces cerevisiae* (drożdże piekarskie, piwowarskie lub winiarskie), które zyskały ogromną popularność w 1978 r., gdy po raz pierwszy na świecie przeprowadzono transformację komórki eukariotycznej - wprowadzając do komórki drożdży plazmid pochodzący z bakterii *E. coli*. *S. cerevisiae* był też pierwszym eukariontem, którego genom został w pełni zsekwencjonowany w 1996 r. i jest obecnie kluczowym modelem dla zrozumienia biologii komórki eukariotycznej. Drożdże łatwo poddają się manipulacjom genetycznym, co przyczy-

niło się do pozyskiwania licznych mutantów. Badania na drożdżach z gatunku *S. cerevisiae* umożliwiły poznanie uniwersalnych dla organizmów eukariotycznych procesów, takich jak np.: cykl komórkowy i jego regulacja, transkrypcja, transport pęcherzykowy i autofagia, biologia telomerów, sygnalizacja uszkodzeń DNA i mechanizmy jego naprawy, proces starzenia, metabolizm glukozy, odpowiedź na stres środowiskowy lub biogeneza wielu struktur subkomórkowych. Model drożdżowy znajduje zastosowanie m.in. w badaniach nad chorobami nowotworowymi, starzeniem i długowiecznością, w analizach genetycznego podłoża ludzkich chorób. W genomie *S. cerevisiae* około 23% genów ma homologiczne odpowiedniki u ludzi. Obecnie wyselekcjonowane i zmodyfikowane szczepy *S. cerevisiae* są wykorzystywane na skalę przemysłową, m.in. w produkcji preparatów farmaceutycznych oraz w przemyśle winiarskim, piwowarskim, gorzelnicznym i przy wypieku pieczywa.

Kolejnym często stosowanym modelowym organizmem jest bezkręgowiec *Caenorhabditis elegans* (nicienie), który w laboratorium jest zwykle hodowany na szalkach agarowych pokrytych warstwą bakterii *E. coli*, stanowiących jego pożywienie. *C. elegans* charakteryzuje się prostą budową ciała ze stałą liczbą komórek, i od początku XX wieku wykorzystywany jest jako model w badaniach z zakresu embriologii, a także genetycznej regulacji rozwoju narządów i apoptozy. Dzięki niemu odkryto i rozwinięto metodologię używania białka zielonej fluorescencji (ang. *green fluorescent protein*, GFP), nagrodzonej w 2008 r. Nagrodą Nobla w dziedzinie chemii [10]. Jeden z laureatów, amerykański biolog Martin Chalfie, przeprowadził ekspresję tego białka także w *E. coli*. Jest to rewolucyjne narzędzie współczesnej biologii molekularnej używane m.in. (i) jako molekularny marker do wizualizacji w czasie rzeczywistym białek, organelli i innych struktur komórkowych, (ii) do monitorowania różnych procesów biologicznych: ekspresji genów, podziałów komórkowych czy migracji komórek nowotworowych, (iii) oraz stosowane jako biosensory reagujące na zmiany pH, stężenia jonów i innych parametrów komórkowych. Inżynieria genetyczna umożliwiła już stworzenie fluorescencyjnych różnokolorowych wariantów tego białka, a nawet emitujących fluorescencję zwierząt laboratoryjnych. W genomie *C. elegans* ok. 60-80% genów jest homologicznych do ludzkich, a obecnie nicienie włączono do badań nad chorobami neurodegeneracyjnymi, jak choroba Alzheimera, Huntingtona czy Parkinsona.

Z kolei klasycznym modelem dla genetyki i biologii rozwoju, o długiej, bo ponad wiekowej historii, jest *Drosophila melanogaster* (muszka owocowa), niewielki owad z rzędu muchówek, także jeden z najpowszechniejszych modeli wśród organizmów bezkręgowych. Po raz pierwszy jako modelu użył jej w swoich badaniach genetycznych amerykański biolog i genetyk Thomas Hunt Morgan, dowodząc, że „częstki dziedziczności” (nazwane później genami, a opisane przez „ojca genetyki” Gregora Johanna Mendla) mieszczą się w chromosomach, jak również sformułował chromosomową teorię dziedziczności. Za te przełomowe badania otrzymał on w 1933 roku Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny [10]. Atrakcyjność modelu muszki owocowej wynika nie tylko z jej prostej budowy i łatwej hodowli, ale i ogromnej wiedzy zgromadzonej na jej

Tabela 1. Ogólna charakterystyka bakterii *E. coli*.

Cechy <i>E. coli</i>	Opis
<b>Kształt i wielkość</b>	Kształt pałeczkowaty, długość 1-3 μm, średnica rzędu 0,4-0,8 μm
<b>Zróżnicowana ruchliwość</b>	Szczepy mogą nie wykazywać ruchliwości, bądź zdolne są do poruszania się dzięki perytrychalnemu urzęsieniu komórek, np. fimbriom (odpowiedzialnym za zdolności adhezyjne komórek) lub pilusom (uczestniczącym w procesie koniugacji bakterii)
<b>Gram-ujemne bakterie</b>	Posiadają jednowarstwową ścianę komórkową oraz dwuwarstwową zewnętrzną błonę połączoną z warstwą mureiny
<b>Beztlenowy typ metabolizmu</b>	Bakterie katalazo-dodatnie, oksydazo-ujemne, zdolne do redukcji azotanów oraz przemiany tryptofanu w indol; nie prowadzą hydrolizy mocznika, nie wytwarzają siarkowodoru czy acetoiny; nie wykorzystują żelatyny jako źródła węgla
<b>Pozyskiwanie energii</b>	Pozyskują energię na drodze fermentacji węglowodanów (glukozy, laktozy, arabinozy lub mannitolu); syntetyzują przy tym produkty kwasowe (octan, mrówczan, mleczan, bursztynian), a niekiedy również gazowe (np. dwutlenek węgla). Ale także równolegle zdobywają energię oddychając i to zarówno tlenowo jak i beztlenowo; oddychanie jest znacznie wydajniejsze niż fermentacja
<b>Warunki przetrwania (nie wytwarzają przetrwalników)</b>	Bakterie mezofilne o optymalnej temperaturze wzrostu 37°C (ale rozwijają się w szerokim zakresie temperatur 15-45°C, co pozwala na kolonizację wielu środowisk); podział komórkowy w sprzyjających warunkach trwa około 20 minut; giną po 20 minutach ogrzewania w temperaturze 60°C (jednakże w środowisku o temperaturze niższej i odpowiedniej wilgotności utrzymują się miesiącami), wrażliwe na wszystkie znane środki dezynfekujące
<b>Przeżywalność w zależności od temperatury, zależy od podłoża na jakim bakterie rosną</b>	Prototrofy tolerujące środowisko o pH 4,5-9,0 (optymalnie 6,0-8,0), najlepiej rozwijają się w pH zbliżonym do neutralnego; niektóre szczepy mogą przetrwać kilka godzin w warunkach znacznego zakwaszenia (pH<3) lub wykazywać wzrost w środowisku silnie zasadowym (pH=9)
<b>Miejsca bytowania (przede wszystkim w organizmie gospodarza)</b>	Bakterie bytują w organizmach zwierząt stałocieplnych, gadów, ryb i roślin, oraz w glebie i wodzie (ale do gleby i wody dostaje się głównie z odchodami ludzi i zwierząt); u człowieka <i>E. coli</i> stanowi 0,1-5% mikrobioty jelita grubego, zasiedlając cienką warstwę wyścielającego go śluzu; natomiast w warunkach środowiska niekorzystnego do wzrostu lub braku nowego gospodarza populacja <i>E. coli</i> ginie
<b>Genom i podstawowe grupy szczepów wg klasyfikacji filogenetycznej</b>	Genom <i>E. coli</i> składa się, w zależności od szczepu, z ok. 4000-5500 genów, zaś pangenom obejmuje ponad 120000 genów; obecnie wyróżnia się osiem głównych grup: A, B1, B2, C, D, E, F i G, u ludzi komensalne <i>E. coli</i> najczęściej reprezentują grupę A lub B1, infekcje jelitowe - grupę D, infekcje pozajelitowe - B2 i D, szczepy środowiskowe, zasiedlające wodę i glebę, należą w równym stopniu do wszystkich grup filogenetycznych; z kolei ważne klinicznie geny oporności zlokalizowane są na plazmidach, co sprzyja ich poziomemu transferowi (ang. <i>horizontal gene transfer</i> , HGT)

temat i rozwiniętej unikatowej metodyce. Współcześnie jest to uznany modelowy organizm w neurobiologii, mający zastosowanie szczególnie w badaniach nad chorobami neurodegeneracyjnymi. Genomy człowieka i *D. melanogaster* mają prawie 70% wspólnych genów, a ok. 75% ludzkich genów związanych z chorobami genetycznymi ma swoje odpowiedniki u *D. melanogaster*.

Wśród kręgowców i roślin najczęściej stosowanymi modelowymi organizmami są *Danio rerio* (danio pręgowany - model kręgowca do badań nad wzrostem i rozwojem; jego genom stanowi połowę wielkości mysiego i ludzkiego genomu), *Mus musculus* (mysz domowa o znacznym podobieństwie genetycznym i fizjologicznym do człowieka - używana w modelowaniu ludzkiej fizjologii i chorób), czy *Arabidopsis thaliana* (rzodkiewnik pospolity - kluczowy modelowy organizm w biologii roślin, wykorzystywany w badaniach ich fizjologii, rozwoju, genetyki molekularnej i funkcjonalnej oraz w biotechnologii). Ta wielość modelowych organizmów pozwala na wszechstronne badania uwzględniające wielokomórkowość, bioróżnorodność, przy czym genomy najpopularniejszych modelowych organizmów zostały już w pełni zsekwencjonowane umożliwiając także zaawansowane badania transkryptomiczne, proteomiczne lub metabolomiczne (multi-omiczne) na wielką skalę. W porównaniu z genomami modelowych organizmów, genom człowieka (*Homo sapiens*) jest znacznie

większy i bardziej złożony, składa się z 23 par liniowych chromosomów, zawierających około 3,2 miliarda par zasad kodujących ok. 20000-25000 genów [14].

Warto podkreślić, że przełomowych odkryć w biologii i biochemii dokonano w latach 40. XX wieku z użyciem eksperymentalnego modelu bakterii *E. coli* i to one przyczyniły się do powstania wielu fundamentalnych koncepcji biologicznych, w tym i tej - obecnie tak oczywistej - że procesy znane już z występowania w złożonych organizmach są zachowane i w bakteriach [5]. W konsekwencji, wielu uczonych w swoich badaniach - z wyboru - używa nie tych bardziej złożonych (eukariotycznych) modeli, ale znacznie prostszych organizmów modelowych, np. bakteryjnych. Porównanie genomów wielu gatunków dowodzi też, że geny odpowiadające za najważniejsze funkcje biologiczne zachowały się w procesie ewolucji i obecnie można je odnaleźć w różnych gatunkach, od bakterii do człowieka. Dodatkowo, bioinformatyka dostarcza precyzyjnych informacji, które geny są wspólne dla modelowych organizmów i człowieka. A rozwój technik modyfikowania genów w oparciu o informacje z zsekwencjonowanych genomów pozwala nawet na precyzyjne modyfikowanie informacji genetycznej wewnątrz żywych organizmów. Co więcej, ludzkie geny mogą być wstawiane do genomu innych organizmów, które różnią się genetycznie lub anatomicznie od człowieka. Finalnie okazuje się - na tle tych fascynujących osiągnięć współczesnych

bionauk - że modelowa prokariotyczna komórka *E. coli* z ogromnym sukcesem odnajduje się w każdym z wymienionych obszarów najnowszych odkryć i ich wielu zastosowań. Dlatego w niniejszym artykule skupiono się na losach tej niezwyklej bakterii, przyjaznej i groźnej zarazem, od momentu jej odkrycia po dzień dzisiejszy. Badania bazujące na tym modelowym organizmie przyczyniły się do zrozumienia fundamentalnych procesów życiowych. Faktem jest też, na co wskazują sami naukowcy, iż od wielu lat „gwiazda mikrobiologii” jaką stała się *E. coli* utrzymuje się na szczycie „listy” organizmów modelowych, i ta jej pozycja wydaje się być nie tylko nie zagrożona, ale nawet się umacnia.

Celem pracy jest przedstawienie bakterii *Escherichia coli* jako kluczowego organizmu modelowego, który umożliwił rozwój współczesnej biologii molekularnej i biotechnologii włączając i jej rolę w ochronie zdrowia publicznego.

## ODKRYCIE BAKTERII *E. coli* PRZEZ MIKROBIOLOGA I PEDIATRĘ THEODORA ESCHERICHA, JEJ CHARAKTERYSTYKA I ZAGROŻENIA DLA ZDROWIA PUBLICZNEGO

### BADANIA THEODORA ESCHERICHA NAD MIKROBIOTĄ JELITOWĄ NOWORODKÓW

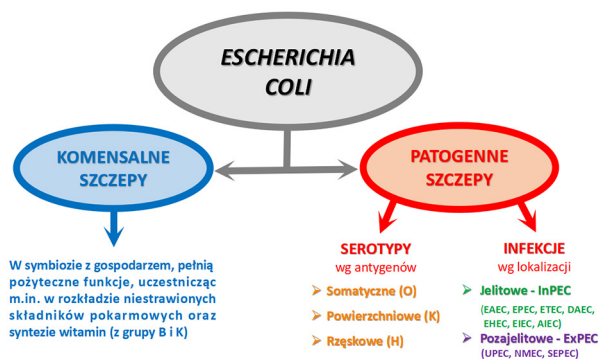
Odwołując się do źródeł historycznych, w latach 1884-1886 znany niemiecko-austriacki mikrobiolog i pediatra Theodor Escherich (ur. 29 listopada 1857 roku w Ansbach, zm. 15 lutego 1911 w Wiedniu) prowadził badania nad mikrobiotą jelitową noworodków oraz czynnikami wywołującymi biegunkę i schorzenia układu moczowego [15,16]. W 1885 roku odkrył on i opisał bakterię, którą nazwał *Bacterium coli commune*, która w 1919 r. została przemianowana na *Escherichia coli* i stała się jednym z najważniejszych modelowych organizmów w dziedzinie biologii molekularnej i bakteriologii [5,17,18]. Przy czym, gdy zsekwencjonowano genom oryginalnego szczepu z laboratorium dr. T. Eschericha, okazało się, że w rzeczywistości wyizolował on łagodnego członka mikrobioty jelitowej, szczep NCTC86, który pozbawiony jest wysp patogeniczności i znanych czynników wirulencji [19,29]. Genom *E. coli* zawiera ok. 4,6 miliona par zasad i koduje, w zależności od szczepu, ok. 4000-5500 genów [21,22]. Otwarty pangenom (czyli zbiór wszystkich genów spotykanych we wszystkich szczepach danego gatunku) *E. coli* obejmuje ponad 120000 genów [13]. Poszczególne szczepy *E. coli* mogą wykazywać znaczne różnice genotypowe (wynoszące nawet setki tysięcy par zasad) [23]. Bakterię *E. coli* cechuje plastyczność genomu, która sprzyja szybkiej ewolucji nowych szczepów.

### PODSTAWOWA CHARAKTERYSTYKA BAKTERII *E. coli*

W Tabeli 1 i na Rycinie 1 przedstawiono podstawową charakterystykę bakterii *E. coli*, którą cechuje różnorodność fizjologiczna i metaboliczna. *E. coli* towarzyszy człowiekowi od urodzenia jako komensalna bakteria. Niepatogenne komensalne warianty szczepów *E. coli* należą do naturalnej mikrobioty jelitowej jelita grubego ludzi i zwierząt stałocieplnych. Bakteria *E. coli* kolonizuje ludzki organizm już kilka godzin po porodzie i towarzyszy mu przez całe życie. W jelicie grubym pełni pozytywne funkcje, uczestnicząc w rozkładzie niestrawionych składników pokarmowych i w

syntezie witamin z grupy B oraz witaminy K. Komensalne szczepy *E. coli* koegzystują z organizmem człowieka z reguły nie powodując chorób u zdrowych osób. Zasadniczo relacja ta przynosi korzyści obu gatunkom, a te korzystne szczepy nie tylko wzmacniają mikrobiotę, ale odgrywają kluczową rolę w konkurencyjnym wypieraniu, uniemożliwiając kolonizowanie jelit przez chorobotwórcze drobnoustroje [21,24]. Jednak część szczepów *E. coli* wykazuje zdolności patogenne, skutkujące wywoływaniem chorób, niekiedy zagrażających ludzkiemu zdrowiu [1,25]. Najbardziej niebezpieczne szczepy (będące przyczyną wielu chorób zakaźnych z sepsą włącznie) mogą wpływać na różne narządy i układy, powodując ich dysfunkcje, uszkodzenie, a czasem i śmierć gospodarza [26].

Zauważmy, że łatwo może dojść do zakażenia bakterią *E. coli*, zarówno przez przeniesienie jej z własnego jelita grubego, jak i przez skażoną żywność (np. surowe mięso, mleko, nabiał, warzywa i owoce) lub wodę [2,16,27]. Obecność w produktach spożywczych patogennych szczepów *E. coli* może wynikać z braku właściwych procedur eliminujących te bakterie w procesie produkcyjnym. Drugą istotną przyczyną jest wtórne zanieczyszczenie żywności bakteriami podczas dalszego jej przechowywania i bezpośredniego przetwarzania w niewłaściwych warunkach [2,28]. Ponadto, wśród czynników rozprzestrzeniania się patogennych *E. coli* badacze wyróżniają niskie standardy higieny, długie drogi transportu żywności oraz nawyki żywieniowe ludności (np. tradycyjne spożywanie surowego mięsa) [29]. Kontakt ze zwierzętami-nosicielami (dzikimi i hodowlanymi) lub ich odchodami jest także jedną z głównych dróg rozprzestrzeniania się zakażeń bakterią *E. coli* [30,31]. Do przenoszenia bakterii może dochodzić również przez bezpośredni kontakt z osobą zakażoną [27]. Przy czym osoby te, szczególnie w warunkach rolniczych, mogą być nosicielami bez objawów i przenosić chorobotwórcze *E. coli* na tak wrażliwe populacje jak dzieci i ludzie starsi. Poznanie dynamiki bezobjawowego nosicielstwa ma zatem istotne znaczenie, np. w zarządzaniu epidemiologią zakażeń wywołanych przez *E. coli* i w opracowaniu kompleksowych strategii dotyczących zdrowia publicznego.



**Rycina 1.** Ogólna klasyfikacja szczepów *E. coli*. Użyte symbole dla szczepów jelitowych InPEC (ang. *intestinal pathogenic E. coli*): EAEC (ang. *enteroaggregative E. coli*), EPEC (ang. *enteropathogenic E. coli*), ETEC (ang. *enterotoxigenic E. coli*), DAEC (ang. *diffusely adherent E. coli*), EHEC (ang. *enterohemorrhagic E. coli*), EIEC (ang. *enteroinvasive E. coli*), AIEC (ang. *adherent invasive E. coli*) oraz dla szczepów pozajelitowych ExPEC (ang. *extraintestinal pathogenic E. coli*): UPEC (ang. *uropathogenic E. coli*), NMEC (ang. *neonatal meningitis-causing E. coli*), SEPEC (ang. *human sepsis-associated E. coli*). At landi iminihi ctuorem aut quidit rendes es

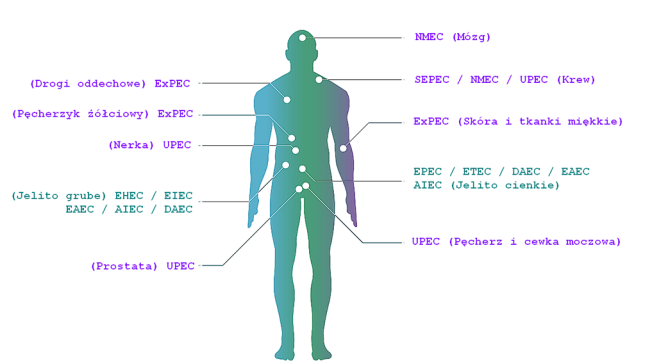
Potencjał chorobotwórczy bakterii *E. coli*, łatwość jej rozprzestrzeniania się oraz narastająca oporność na antybiotyki [1,2,16] powodują, że niezbędne jest monitorowanie obecności *E. coli* w rolnictwie, w produktach spożywczych oraz w otoczeniu (glebie i wodzie) [22]. Od czasu odkrycia *E. coli* nadal dochodzi do masowych zatruc z jej udziałem, stąd podkreślana jest potrzeba (i) rozwoju nowoczesnych systemów nadzoru mikrobiologicznego, (ii) doskonalenia protokołów higienicznych oraz (iii) edukacji osób zajmujących się żywnością (włączając i konsumentów), celem ograniczenia rozprzestrzeniania się chorobotwórczych *E. coli* w łańcuchu żywnościowym [16,28].

Podjęte krajowe i międzynarodowe działania doprowadziły do wypracowania systemów wczesnego ostrzegania przed zagrożeniami mikrobiologicznymi oraz do ustalania odpowiednich norm detekcji *E. coli* w żywności [28]. Obecnie do wczesnego ostrzegania przed zagrożeniami zdrowotnymi powodowanymi przez żywność lub pasze w Europie służy system RASFF [28]. Dane na temat zagrożeń epidemiologicznych występujących w Polsce spowodowanych występowaniem w żywności patogennych *E. coli*, opracowuje i ocenia ryzyko Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH (Państwowy Zakład Higieny) - Państwowy Instytut Badawczy, czyli NIZP-PZH-PIB [32]. Instytucją odpowiedzialną za wydawanie norm mikrobiologicznych określających metody wykrywania i ilościowych oznaczeń bakterii *E. coli* w produktach spożywczych jest Polski Komitet Normalizacyjny (PKN odpowiada za organizację działalności normalizacyjnej w kraju). Przykładem norm wykorzystywanych do oznaczania *E. coli* w żywności są normy PN-ISO 16649 oraz PN-ISO 7251. Do wykrywania w żywności patogennych szczepów może być stosowana norma PN-EN ISO 16654:2002. Woda przeznaczona do spożycia przez ludzi podlega urzędowej kontroli zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 7 grudnia 2017 roku. Badanie na obecność *E. coli* prowadzone jest według metod opisywanych w PN-EN ISO 9308.

#### PODSTAWOWA KLASYFIKACJA SZCZEPÓW *E. coli* I ICH CHARAKTERYSTYKA

Ogólnie rozróżnia się szczepy *E. coli* niepatogenne, komensalne (ang. *commensal E. coli strains*) oraz patogenne (patogenność określa zdolność do wywoływania choroby), jak zilustrowano na Rycinie 1. Wśród patogennych szczepów *E. coli*, ze względu na ich strukturę antygenową, można wyróżnić trzy serotypy: somatyczny „O”, powierzchniowy „K” i rzęskowy „H”. Z kolei ze względu na rodzaj wytwarzanych czynników wirulencji i miejsca infekcji, wyróżniamy szczepy *E. coli* patogenne jelitowo „InPEC” (ang. *intestinal pathogenic E. coli*) i patogenne pozajelitowo „ExPEC” (ang. *extra-intestinal pathogenic E. coli*) [2]. Grupę InPEC dzieli się na sześć szczepów:

1. enteropatogenne (ang. *enteropathogenic E. coli*, EPEC),
2. enterotoksygenne (ang. *enterotoxigenic E. coli*, ETEC),
3. enteroinwazyjne (ang. *enteroinvasive E. coli*, EIEC),
4. enteroagregacyjne (ang. *enteroaggregative E. coli*, EAEC, dawniej był to szczep enteroadherentny-enteroagregacyjny, EAaggEC),



**Rycina 2.** Przykłady miejsc kolonizacji przez chorobotwórcze bakterie *E. coli* w ludzkim gospodarzu. Patogenne *E. coli* jelitowe i pozajelitowe mogą kolonizować i zakażać wiele typów tkanek w ludzkim organizmie. Patogenne *E. coli* jelitowe (InPEC) oznaczono zieloną czcionką, zaś patogenne *E. coli* pozajelitowe (ExPEC) oznaczono fioletową czcionką. Przy czym, na podstawie filogenezy i markerów genetycznych niektóre bakterie DAEC związane z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i AIEC związane z chorobą Leśniowskiego-Crohna mogą być klasyfikowane jako ExPEC (za [1]).

5. enterokrwtoczne (ang. *enterohemorrhagic E. coli*, EHEC, nazywany też VTEC, ang. *verocytotoxinproducing E. coli*),
6. adherencyjne (ang. *diffusely adhering E. coli*, DAEC) [2,33].

Na Rycinie 2 zilustrowano miejsca kolonizacji przez *E. coli* w ludzkim gospodarzu, w Tabeli 2 opisano podstawowe patogenne typy *E. coli* oraz choroby z nimi związane. Wskazane kryteria podziału bakterii *E. coli* odzwierciedlają jej zróżnicowane oddziaływanie na zdrowie człowieka, obejmujące korzystny komensalizm (jako członka naturalnej mikrobioty jelitowej) oraz chorobotwórczość związaną z przewodem pokarmowym (wywoływanie chorób biegunkowych) i patologiami pozajelitowymi (np. infekcje dróg moczowych). Współcześnie choroby biegunkowe stanowią poważny problem zdrowia publicznego na całym świecie i są główną przyczyną zachorowalności i śmiertelności wśród niemowląt i małych dzieci, głównie w krajach rozwijających się [34].

Warto odnotować, że kluczową cechą *E. coli* jest to, że jest bakterią, która łatwo adaptuje się i w efekcie potrafi przetrwać, rozwijać i namnażać w zróżnicowanych środowiskach. Stąd komensalne *E. coli*, dzięki zdolności adaptacji do różnych żywicieli i środowisk, zdolne są do ewolucji i mogą przekształcić się w patogenne szczepy poprzez nabycie czynników wirulencji związanych z zakażeniami jelitowymi (InPEC) lub pozajelitowymi (ExPEC). Co więcej, niektóre szczepy, tzw. hybrydowe *E. coli*, mogą wytwarzać czynniki wirulencji właściwe zarówno dla patogennych InPEC jak i ExPEC, przez co zwiększa się jeszcze ich potencjał zjadliwości [1]. Jednocześnie unaocznia to ważny fakt, że *E. coli* jest uniwersalną bakterią i istnieje „cienka” granica pomiędzy jej komensalizmem a chorobotwórczością [35].

Wirulencja (zjadliwość) oznacza zdolność bakterii do zakażenia gospodarza i wywoływania chorób, zaś wytwarzane przez bakterie czynniki wirulencji umożliwiają kolonizację jego komórek. Geny kodujące czynniki wirulencji tworzą specyficzne regiony na DNA (wyspy patogeniczności) lub mogą być przenoszone na plazmidach poprzez poziomy transfer genów pomiędzy bakteriami (ang. *horizontal gene*

Tabela 2. Charakterystyka głównych patogennych *E. coli* i wywoływane przez nie choroby.

Cechy <i>E. coli</i>	Opis
<b>InPEC (ang. <i>intestinal pathogenic E. coli</i>) patogenne jelitowe <i>E. coli</i></b>	
AIEC (ang. <i>adherent invasive E. coli</i> ), adherentne inwazyjne <i>E. coli</i>	AIEC jest związany z etiopatogenezą nieswoistych zapaleń jelit, a w szczególności choroby Leśniowskiego-Crohna (rola nie jest jeszcze jasna) i ziarniniakowego zapalenia jelit; mają zdolność do adhezji i inwazji komórek nabłonka jelita gospodarza, mogą syntetyzować hemolizynę $\alpha$ , cytotoksyczny czynnik nekrotyzujący CNF-1 (ang. <i>cytotoxic necrotizing factor</i> )
EAEC (ang. <i>enteroaggregative E. coli</i> ), enteroagregatywne <i>E. coli</i>	Wywołują u dzieci i dorosłych wodniste, krwawe lub niekrwawe, ostre, samoograniczające się biegunki, którym może towarzyszyć ból brzucha, wymioty lub lekka gorączka; (zakażenie jelita cienkiego; odpowiedzialne za biegunki podróżnych); zdolne do przylegania (wytwarzają adhezyny) do większości komórek nabłonkowych
EPEC (ang. <i>enteropathogenic E. coli</i> ), enteropatogenne <i>E. coli</i>	Jedna z najlepiej poznanych i opisanych grup patogennych <i>E. coli</i> , powoduje głównie ostre, wodniste biegunki u niemowląt i małych dzieci (poniżej 1 roku życia); niektóre prawdopodobnie wywołują też krwawe biegunki u dorosłych (zakażenie jelita cienkiego); w celu zakażenia gospodarza wykorzystują system sekrecyjny typu III, w który są zaangażowane m.in. białka z grupy ESP (ang. <i>enteropathogenic secreted proteins</i> )
ETEC (ang. <i>enterotoxigenic E. coli</i> ), enterotoksyczne <i>E. coli</i>	Wywołuje wodniste, ostre biegunki zarówno u dzieci jak i dorosłych; objawy podobne do przebiegu cholery: skurcze mięśni brzucha, wymioty, niewysoka gorączka (zakażenie jelita cienkiego; jedna z przyczyn biegunek podróżnych); wytwarzają termolabilne lub termoodporne enterotoksyny oraz adhezyjne czynniki kolonizacji wspomagające ich przyleganie do komórek jelita gospodarza
DAEC (ang. <i>diffusely adherent E. coli</i> ), dyfuzyjno-adherentne <i>E. coli</i>	Powodują ostre biegunki u dzieci poniżej 1 roku życia (zakażenie jelita cienkiego), ponadto mogą być odpowiedzialne za zakażenia dróg moczowych i komplikacje ciąży; podejrzewane też o działanie prozapalne mogące prowadzić do chorób zapalnych jelit; wytwarzają adhezyny
STEC (ang. <i>Shiga toxin-producing E. coli</i> ), <i>E. coli</i> produkujące toksyny charakterystyczne dla rodzaju <i>Shigella</i> , w tym: (1) EHEC (ang. <i>Enterohemorrhagic E. coli</i> ), enterokrwiotoczne oraz (2) EIEC (ang. <i>Shigella/enteroinvasive E. coli</i> ), enteroinwazyjne <i>E. coli</i>	Patotypy odpowiedzialne za zatrucia pokarmowe i krwawe biegunki o ciężkim przebiegu; w zależności od typów STEC dla (1) EHEC: biegunki u dzieci, czerwonka bakteryjna (krwotoczne zapalenie jelita grubego); wytwarzają toksynę Shiga; dla (2) EIEC (zakażenia jelita grubego): hemolityczna anemia, hemolityczny zespół mocznicowy, krwotoczne zapalenie okrężnicy, trombocytopenia; ogólnie zakażenia wywoływane przez STEC są poważnym problemem epidemiologicznym na całym świecie; wnikają do komórek nabłonka jelita i produkują inwazyjne
<b>ExPEC (ang. <i>extraintestinal pathogenic E. coli</i>) patogenne pozajelitowe <i>E. coli</i></b>	
NMEC (ang. <i>neonatal meningitis E. coli</i> ), <i>E. coli</i> wywołujące noworodkowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych	Patotyp odpowiedzialny za noworodkowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, stosunkowo częstym objawem są zaburzenia oddychania, z niewydolnością oddechową włącznie (zakażenie zazwyczaj jest następstwem sepsy); <i>E. coli</i> posiadają antygen otoczkowy K1 oraz geny warunkujące pozyskiwanie i transport żelaza, syntetyzują białka pełniące rolę ochronną w stosunku do mechanizmów obronnych organizmu
SEPEC (ang. <i>sepsis-associated E. coli</i> ), <i>E. coli</i> związane z sepsą	Szczepy należące do tej grupy mogą zakażać wszystkie ssaki (oraz ptaki); mogą wykazywać obecność antygenu otoczkowego K2, niektórych rodzajów fimbrii, toksyny CDT (ang. <i>cytolethal distending toxins</i> ), $\alpha$ -hemolizyny oraz cytotoksycznego czynnika nekrotyzującego CNF
UPEC (ang. <i>uropathogenic E. coli</i> ), uropatogenne <i>E. coli</i>	Patotyp wywołuje zakażenia układu moczowego, w tym odmiedniczkowe zapalenie nerek i zapalenie pęcherza; mogą wytwarzać wiele czynników wirulencji, w tym hemolizyny czy CNF; ponadto mogą posiadać fimbrie

transfer, HGT) [33,36]. Każdy patogenny typ *E. coli* cechują charakterystyczne mechanizmy patogeniczności i specyficzny profil wirulencji [1,33,36,37]. W pracy przeglądowej Geurtsena i wsp. [1] opisano z perspektywy historycznej, klinicznej i genetycznej: (i) choroby człowieka wywoływane przez patogenne *E. coli*, (ii) zawartość genomu bakterii, (iii) zdolność do nabywania, wymiany i utrzymywania genów oporności na antybiotyki oraz wskazano (iv) czynniki wirulencji, które pozwalają bakteriom na unikanie reakcji ze strony układu odpornościowego, ułatwiające im przenika-

nie przez bariery nabłonkowe i tkanki gospodarza (powodując przy tym uszkodzenia komórkowe, stany zapalne, a nawet martwicę tkanek).

Rozróżnia się następujące czynniki wirulencji:

1. cytozolowe (ułatwiają bakteriom przechodzenie szybkich zmian adaptacyjno-metabolicznych, morfologicznych i fizjologicznych),

2. wydzielnicze (toksyny bakteryjne pozwalające pokonać wrodzoną i nabytą odpowiedź immunologiczną gospodarza),
3. adhezyny (zwiększające zdolności adhezyjne bakterii do komórek żywiciela).

Patogenne *E. coli* wytwarzają wiele rodzajów adhezyn o różnych cechach morfologicznych i specyficzności receptorowej, takie jak:

1. fimbrie, u uropatogennych *E. coli* (UPEC) ułatwiają im tworzenie biofilmu - naturalnej bariery - która chroni je przed leczeniem przeciwdrobnoustrojowym i w efekcie umożliwia rozwój infekcji,
2. adhezyny afimbrialne, wytwarzane przez szczepy patogenne UPEC i DAEC wywołujące biegunki o ciężkim przebiegu oraz infekcje dróg moczowych (ang. *afimbrial adhesins*, *Afa*; *decay-accelerating factor*, *DAF*),
3. białka błony zewnętrznej (ang. *outer membrane proteins*, *OMP*).

Z kolei jelitowe szczepy STEC *E. coli* posiadające gen *stx* wytwarzają toksynę (typu AB<sub>5</sub>) Shiga, która inaktywuje rybosomy w komórkach eukariotycznych, co ostatecznie prowadzi do ich śmierci. Pozajelitowe patogenne *E. coli* produkują inną toksynę (cytolizynę) hemolizynę α (HlyA) są jedną z najczęstszych przyczyn (do 80%) niepowikłanych infekcji dróg moczowych u człowieka. Hemolizyna α jest wytwarzana przez szczepy *E. coli* z grup AIEC, UPEC, APEC. Główną funkcją toksyny HlyA jest niszczenie komórek gospodarza (przez lizę erytrocytów, leukocytów, monocytów, granulocytów lub komórek śródbłonna), co umożliwia bakteriom pozyskanie składników odżywczych oraz żelaza potrzebnego im do rozwoju. Ponadto żelazo pozyskiwane jest też przez *E. coli* wyposażone w system wychwytu żelaza oparty na sideroforach, organicznych chelatorach o bardzo silnym powinowactwie do Fe (III). Z kolei jelitowe patogenne AIEC *E. coli* mogą syntetyzować inną toksynę CNF-1, cytotoksyczny czynnik nekrotyzujący (ang. *cytotoxic necrotizing factor*), która indukuje apoptozę komórek gospodarza, poprzez przebudowanie szkieletu komórkowego, zaburzenie cyklu komórkowego i zmianę aktywności czynników transkrypcyjnych, co w efekcie powoduje wejście zainfekowanej komórki na szlak apoptozy.

Stopień zjadliwości bakterii można określić na podstawie jej serotypu. I tak, antygen somatyczny O, który stanowi najbardziej zewnętrzną część lipopolisacharydu (endotoksyny LPS, ang. *lipopolysaccharide*), kluczowego składnika zewnętrznej błony komórkowej bakterii Gram-ujemnych, ma za zadanie zapewnienie bakterii przewagi w kolonizowaniu danej niszy środowiskowej. Antygen powierzchniowy (otoczkowy) K uważany jest za podstawowy czynnik wirulencji *E. coli* (tj. otoczka o właściwościach antyfagocytarnych). Szczepy wytwarzające taką otoczkę osłabiają zdolność przeciwciał do przylegania do powierzchni komórki bakteryjnej oraz utrudniają komórkom fagocytarnym możliwość jej rozpoznania i pochłonięcia. Antygen rzęskowy H występuje tylko u ruchliwych form *E. coli* [33]. Czynniki zjadliwości u *E. coli* dotyczą przede wszystkim jej zdolności do przylegania do nabłonka przewodu pokarmowego i

wytwarzania toksyn przez niektóre szczepy (Tabela 2). Na przykład, adhezji sprzyjają fimbrie, z czego najgroźniejsze są typy I oraz P (o powinowactwie do dróg moczowych) oraz typ S (o powinowactwie do naczyń mózgowych). Szczepy hemolityczne bakterii są bardziej chorobotwórcze niż szczepy niehemolityczne. Hemolizyna ma bowiem właściwości toksyny o działaniu nie tylko hemolitycznym, ale także dermonekrotycznym i koagulującym plazmę. Niektóre typy, takie jak STEC - czyli *E. coli* wytwarzająca toksynę Shiga - mogą powodować od łagodnych po ciężkie w przebiegu choroby jelitowe, jak np. krwotoczne zapalenie jelit i zespół hemolityczno-mocznicy (ang. *hemolytic uremic syndrome*, HUS) [38]. U 25% pacjentów z HUS występują dodatkowo powikłania ze strony układu nerwowego. Z kolei szczep ETEC jest główną przyczyną chorób biegunkowych zarówno u dzieci jak i dorosłych [39]. W niektórych przypadkach *E. coli* może uszkodzić komórki małych naczyń krwionośnych wyściełających jelita, powodując krwawą biegunkę.

Obok istotnej roli czynników wirulencji wytwarzanych przez chorobotwórcze szczepy, coraz bardziej powszechna staje się oporność bakterii na antybiotyki [2,36,37]. Niewłaściwe ich stosowanie, w tym nadużywanie, doprowadziło do globalnego problemu odporności na antybiotyki w opiece zdrowotnej. Nabywanie oporności przez bakterie realizowane jest na dwa podstawowe sposoby, przez poziomy transfer genów pomiędzy bakteriami oraz mutacje w różnych genach. Genetyczne podstawy rozwoju oporności na antybiotyki, także u *E. coli*, obejmują cztery mechanizmy: ograniczenie wychwytu antybiotyku, modyfikację jego celu, inaktywację antybiotyku lub aktywne jego usunięcie. Są one przyczyną ograniczenia działania antybiotyków, a jednocześnie bakterie nabywają na nie oporność [40,41]. Obserwowane rosnące tempo rozprzestrzeniania się oporności na antybiotyki i zdolność bakterii *E. coli* do szybkiej ewolucji wymaga skoncentrowania się na bardziej skutecznych strategiach zapobiegania i kontroli epidemii związanych z patogennymi szczepami *E. coli*. Z kolei badania w obszarze genetyki populacyjnej na dużą skalę ujawniły różnorodność i złożoność szczepów *E. coli* w różnych środowiskach i niszach ekologicznych, na które dodatkowo wpływa wiele czynników środowiskowych. Dane te stanowią podstawę opracowywanych nowych koncepcji, teorii i modeli, w tym i oceny ryzyka związanego z patogennymi typami *E. coli* [42].

W podsumowaniu warto odnotować, iż otwartość i plastyczność genomu bakterii *E. coli* z łatwym horyzontalnym transferem genów i mutacjami genetycznymi, odporność na niekorzystne warunki środowiska z łatwą adaptacją do nich oraz oporność na antybiotyki sprzyja wywoływaniu przez nie epidemii na całym świecie [29,43].

#### PATOGENNE SZCZEPY *E. coli* I OCHRONA ZDROWIA PUBLICZNEGO

Wykrywanie i eliminowanie zakażeń chorobotwórczymi *E. coli* jest kluczowe dla ochrony zdrowia publicznego i jest procesem złożonym. Obejmuje zarówno ocenę kliniczną, badania laboratoryjne i nadzór epidemiologiczny, jak i stosowanie coraz skuteczniejszych strategii ich zwalczania.

Nadzór epidemiologiczny: systemy wykrywania i metody redukcji patogennych *E. coli*

Jak opisano powyżej, w celu zapobiegania globalnemu rozprzestrzenianiu się zakażeń, powoływane są systemy wczesnego ostrzegania (np. RASFF w Europie). Ich kluczowym elementem jest wykrycie patogennych szczepów i dotyczy przede wszystkim badań w zakresie bezpieczeństwa żywności, która stanowi jedną z podstawowych dróg rozprzestrzeniania się chorobotwórczych *E. coli*. Interesującym podejściem w tym obszarze jest wykorzystanie bardzo nowoczesnych technik (opartych m.in. na metodach biologii molekularnej, biochemii, bioinformatyki) oraz użycie innowacyjnych urządzeń służących wykrywaniu bakterii *E. coli*, w tym specjalistycznych biosensorów i opakowań żywności, oraz oferowanie różnorodnego oprogramowania, np. na smartfony klientów, które pozwalają kontrolować stan produktów i terminy ich przydatności do spożycia, etc. [44,45].

Ważnym etapem w procesie ochrony zdrowia publicznego jest zwalczanie zakażeń *E. coli*. Podstawową metodą pozwalającą na redukcję liczby patogennych bakterii występujących, np. w żywności, jest obróbka termiczna. Jakkolwiek, może być ona niewystarczająca ze względu na fakt, że niektóre szczepy *E. coli* wykazują dużą przeżywalność w wysokich temperaturach [46]. W związku z powyższym wykorzystywane są i nowsze technologie, takie jak obróbka z zastosowaniem światła ultrafioletowego (UV), wysokiego ciśnienia hydrostatycznego oraz neutralnej wody elektrolizowanej, obok stosowania i tych prostych (skutecznych) metod jak mycie produktów spożywczych z użyciem środków dezynfekujących (np. chloru i kwasu nadoctowego) [47]. Bardziej nowatorską i obiecującą metodą jest zastosowanie bakteriofagów, czyli wirusów bakteryjnych (fagów), które mogą zabijać bakterie zarówno te wrażliwe jak i odporne na antybiotyki [48]. To podejście pozwala na usunięcie lub ograniczenie rozprzestrzeniania się określonych drobnoustrojów w przemyśle spożywczym; i to zarówno w żywności pochodzenia zwierzęcego i roślinnego, jak i w różnych warunkach jej produkcji i konsumpcji. Ma to szczególne znaczenie z uwagi na globalnie większe spożycie świeżych produktów, jako bardziej korzystnych pod względem zdrowotnym i odżywczym.

Diagnostyka i strategie lecznicze zakażeń patogennymi *E. coli*

W praktyce klinicznej badania laboratoryjne stanowią podstawę wiarygodnej diagnozy, także tej dotyczącej bakterii *E. coli*. Współcześnie stosowane metody wykrywania bakterii w badanym materiale i identyfikacji potencjału chorobotwórczego wyizolowanych patogennych *E. coli* można podzielić na: (i) metody oparte na obserwacji hodowli, (ii) immunodetekcję oraz (iii) metody biologii molekularnej [34,49,50]. Hodowla próbek kału pozostaje wciąż tradycyjnym złotym standardem wykrywania chorobotwórczych drobnoustrojów, w tym i szczepów *E. coli*. Dzięki hodowli kolonii bakteryjnych na selektywnych podłożach, mikrobiolodzy izolują i identyfikują szczepy niepatogenne i patogene. Nowoczesne metody serotypowania pozwalają na rozpoznanie określonych grup serologicznych. Fratamico i wsp. [50] proponują dla klasyfikowania szczepów *E. coli* wg określonego serotypu bardziej zaawansowane techniki,

takie jak: sekwencjonowanie całego genomu, elektroforeza pulsacyjna, czy też metody oparte o analizę porównawczą sekwencji wybranych genów (np. techniki elektroforezy DNA bakteryjnego, uprzednio poddanego łańcuchowej reakcji polimerazy z użyciem odpowiednio dobranych starterów oligonukleotydowych). Standardową metodą analizy właściwości chorobotwórczych wyizolowanego szczepu *E. coli* jest użycie testów immunochemicznych, pozwalających na wykrycie antygenów związanych z mechanizmami patogenności bakterii. Właśnie techniki diagnostyki molekularnej - stosowane w celu identyfikacji genów oporności na antybiotyki, rozpoznania czynników wirulencji i określenia serotypu bakterii - zrewolucjonizowały metody testowania chorób zakaźnych [2,34,49,50]. Charakteryzują się one znacznie wyższą czułością i swoistością oraz krótszym czasem postawienia diagnozy, co istotnie wpływa na skuteczność podejmowanych interwencji leczniczych. Na przykład Gomes i wsp. [34] wśród wielu proponowanych metod wykrywania patogennych szczepów *E. coli* wymieniają: określanie cytotoksyczności zawiesinowej kultury bakteryjnej w odniesieniu do komórek eukariotycznych, technikę multipleks PCR, wykorzystanie sond DNA, testy aglutynacji, metody immunofluorescencyjne, immunoblotting, metodę ELISA, testy radioimmunologiczne oraz testy biochemiczne. W ramach tych ostatnich można badać np. produkcję indolu, fermentację cukrów lub wytwarzanie gazów przez komórki bakteryjne. Stosuje się także obserwację ruchliwości bakterii lub ich zdolności do dekarboksylacji lizyny, ornityny czy argininy [36].

Zauważmy jednak, że różnorodność szczepów bakteryjnych w połączeniu z utrudnionym dostępem do nowoczesnych badań mikrobiologicznych może prowadzić do trudności w prawidłowej diagnostyce [51]. Również narastająca oporność bakterii na antybiotyki stanowi coraz większe zagrożenie, ponieważ utrudnia skuteczne leczenie zakażeń bakteryjnych, także tych wywołanych przez chorobotwórcze *E. coli*. Dlatego też prowadzone są intensywne badania nad opracowaniem szczepionek przeciwko patogennym *E. coli*, które mogłyby w sposób skuteczny i niedrogi wpłynąć na zmniejszenie śmiertelności i zahamowanie szybkiego wzrostu zachorowań [39]. Aktualnie jest to jeden z kluczowych kierunków prowadzonych badań zmierzających ku rozwiązaniu obserwowanego już globalnego kryzysu zdrowotnego związanego z opornością drobnoustrojów na antybiotyki [52]. Ważną rolę w tym podejściu odgrywa biotechnologia mikrobiologiczna i inżynieria genetyczna, śmiało wkraczające do biomedycyny [53]. Ale badania nad szczepionkami nowej generacji koncentrują się przede wszystkim na najczęstszych chorobotwórczych szczepach *E. coli*, a przecież potencjał patogeny istnieje w całym gatunku bakterii. Proponowane są nowe obiecujące metody podawania szczepionki, jak np. immunizacja śródskórna, która wywołuje silną odpowiedź immunologiczną [52]. Badacze i klinicyści są zgodni w tym, że szczepienia stanowią długoterminową strategię ograniczania zakażeń związanych z *E. coli*, zarówno szczepów wrażliwych jak i opornych na dotychczas stosowane antybiotyki.

Jednakże z powodu braku szczepionek pozostaje nadal poszukiwanie nowych i rozwijanie dotąd skutecznych metod leczenia. W związku z tym, biokontrola bakteriofagowa

oraz terapia fagowa zyskuje na popularności w środowisku klinicznym (i weterynaryjnym), ponieważ charakteryzuje je wysoka aktywność przeciwbakteryjna i zasadniczo brak skutków ubocznych [54]. Klinicyści i badacze podkreślają, że ze względu na problemy związane z rosnącą opornością bakterii na obecne terapie antybakteryjne (skutkujące rosnącą liczbą nieuleczalnych infekcji bakteryjnych) konieczne są badania nad lekami przeciwbakteryjnymi nowej generacji - nie tylko jako alternatywy dla antybiotyków, ale też jako możliwe i skuteczne wsparcie ich działania. Wskazuje się, że być może właśnie terapie oparte na fagach w połączeniu z antybiotykami mogłyby skutecznie przyczynić się do ograniczenia rozprzestrzeniania się oporności na leki przeciwdrobnoustrojowe [55]. Ponadto, w przeciwieństwie do antybiotyków, fagi charakteryzują się wąskim zakresem specyficzności, co czyni je bezpiecznymi dla komensalnej mikroflory. Jednakże tylko niektóre z naturalnie występujących fagów mogą być brane pod uwagę w proponowanej fagoterapii. W związku z tym, przyszłościowy leczniczy potencjał takiego podejścia raczej dotyczyć będzie strategii ukierunkowanych na modyfikacje genomu izolatów fagowych (o pożądanym właściwościach) oraz modyfikacji *in situ* mikrobiomu ludzkiego [56,57].

Współcześnie prowadzone badania nad rolą mikroflory i mikrobiomu (genomu mikroflory) wskazują na kolejne możliwe zastosowania terapeutyczne, takie jak (i) użycie probiotyków oraz wspomniane (ii) prowadzenie ukierunkowanej modulacji mikrobiomu, celem uzyskania określonych produktów mikroflory kałowej bądź też specyficznych bioterapeutycznych szczepów bakteryjnych. Takie podejścia są strategią przeciwko patogennym szczepom *E. coli* i jednocześnie strategią oszczędzającą antybiotyki [53]. Odnotujmy jednakże, na co wskazują sami badacze i klinicyści, że kolonizacja bakteryjna jest bardzo złożonym zjawiskiem ekologicznym, które wciąż jest niedostatecznie zbadane i poznane, szczególnie w kontekście funkcjonowania ludzkich jelit [58].

W podsumowaniu, warto podkreślić, że bakterie *E. coli* to tylko jeden z przedstawicieli znacznie większej społeczności drobnoustrojów żyjących w (naszych) jelitach; dominują bakterie typu *Bacteroidetes*, ponadto występują *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Tenericutes* oraz *Verrucomicrobia*, stanowiąc ponad 90% bakteriobioty jelitowej [58]. Zaś *E. coli* (u człowieka) stanowi 0,1-5% bakteriobioty jelita grubego, zasiedlając cienką warstwę wyścielającego go śluzu. Mikrobiota jelita grubego między innymi wspiera układ immunologiczny, chroni przed kolonizacją przez drobnoustroje chorobotwórcze, pełni funkcje metaboliczne i troficzne, uczestniczy w syntezie witamin K, B1, B6, B12 i C oraz krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (ang. *short-chain fatty acids*, SCFA), degraduje niestrawione w jelicie cienkim składniki pokarmowe, przez co pozyskuje energię, a także przyczynia się do sprawniejszej motoryki jelit. Naukowcy właściwie dopiero zaczynają rozumieć jak ważny jest związek z tą społecznością mikroflory jelitowej dla zdrowia ludzkiego (gospodarza). A co znalazło odzwierciedlenie w dynamicznie rozwijającej się dziedzinie probiotyków - produktów zawierających żywe kultury bakterii naturalnie bytujących w jelitach, bądź takich związków (prebiotyków), które wspomagają ich wzrost, pomagają

tym samym w utrzymaniu zdrowych jelit [59]. Najnowsze oszacowania dotyczące stosunku liczby drobnoustrojów do liczby komórek w organizmie człowieka sugerują, iż wynosi on 1,3 do 1 (najprawdopodobniej są one porównywalne, ale konieczne są bardziej zaawansowane analizy), choć wcześniejsze oceny wskazywały nawet na relację 10:1 [60]. Badania w ramach Projektu Ludzkiego Mikrobiomu (*Human Microbiome Project* - HMP /2007-2016; <http://www.human-microbiome.org/>) - obejmujące nie tylko najliczniejszy mikrobiom jelitowy, ale i inne społeczności mikroorganizmów kolonizujące różne nisze ekologiczne, np. skórę, przewód pokarmowy oraz drogi oddechowe i moczowo-płciowe - wykazały, że w ludzkim organizmie może istnieć wiele milionów unikalnych genów powiązanych z różnymi drobnoustrojami. HMP był rozszerzeniem wcześniejszego projektu sekwencjonowania ludzkiego DNA - *Human Genome Project* - HGP /1990-2003/ (<https://www.genome.gov/human-genome-project>). Badacze sugerują, że ludzki mikrobiom może wносить do organizmu człowieka wkład genetyczny kilkaset razy większy niż jego własny genom, co oznacza, iż genów kodujących białka drobnoustrojów jest więcej niż genów człowieka. Zauważmy, że pod koniec XX wieku nastąpił dynamiczny rozwój technologii sekwencjonowania nowej generacji (ang. *next generation sequencing*, NGS), który umożliwia równoległy odczyt setek tysięcy - a nawet i więcej - fragmentów DNA lub RNA jednocześnie. Przyczyniło się to de facto do przejścia od ery analizy pojedynczych genów (związanej m.in. z pracami dwukrotnego noblisty w dziedzinie chemii Frederica Sangera, nagrodzonego w 1958 oraz 1980 r. [10]) do nowej ery sekwencjonowania genomów. Przez wiele lat metoda Sangera stanowiła złoty standard w biologii molekularnej, a jej modyfikacje stosowane są do dzisiaj (są to metody sekwencjonowania przez syntezę, ang. *sequencing by synthesis*, SBS). Najnowsze metody NGS i wysokoprzepustowe technologie omiczne, takie jak metagenomika, metatranskryptomika, metaproteomika, metabolomika etc., oferują nowatorskie podejścia do badania mikrobiomu człowieka. Współczesne pojęcie mikrobiomu jest rozumiane już znacznie szerzej (nie tylko jako genom mikroflory), obejmując mikroflorę oraz całe spektrum elementów struktury mikroflory, jej metabolity (cząsteczki sygnałowe, toksyny, różne związki organiczne i nieorganiczne) wraz z elementami otaczającego ją środowiska. W świetle tych niezwykłych osiągnięć i spersonalizowanym podejściu do pacjenta wyłania się nowy obiecujący kierunek rozwoju medycyny przyszłości opartej na mikrobiomie danej osoby. Obecnie bardzo dynamicznie rozwijają się badania nad złożonością oraz korzystnymi i szkodliwymi wpływami mikrobiomu na homeostazę ludzkiego organizmu (uwzględniając różnorodne grupy mikroorganizmów, czyli bakteriobiom (odgrywający kluczową rolę), mykobiom (stanowiący ok. 0,1% składu ludzkiego mikrobiomu), archeom, wirom i parazytom).

## BAKTERIA *E. coli* JAKO NOWOCZESNY I UNIWERSALNY EKSPERYMENTALNY MODEL I NARZĘDZIE BADAWCZE ORAZ JEJ KLUCZOWA ROLA W ROZWOJU BIOTECHNOLOGII

PODSTAWOWE OBSZARY WYKORZYSTANIA BAKTERII *E. coli*: PRAKTYKA KLINICZNA I OCHRONA ZDROWIA, BADANIA NAUKOWE ORAZ BIOTECHNOLOGIA

Rola bakterii *E. coli* w praktyce klinicznej i ochronie zdrowia publicznego

Jak przedstawiono powyżej, bakterie *E. coli* są gatunkiem ważnym z punktu widzenia (i) klinicznego (dzięki badaniom nad *E. coli* odkryto wiele czynników genetycznych i molekularnych leżących u podstaw różnych chorób) oraz (ii) epidemiologicznego (tworzone systemy wykrywania i zwalczania zakażeń patogenymi *E. coli*). Co związane jest z wpływem bakterii *E. coli* na zdrowie człowieka i zdrowie publiczne w skali globalnej (prowadzone są intensywne badania z *E. coli* nad mechanizmami oporności na antybiotyki, nad szczepionkami, nowymi lekami, etc.).

Rozwój badań nad drobnoustrojami

Od momentu odkrycia przez wybitnego naukowca i lekarza T. Escherichia, *E. coli* jest wykorzystywana jako model do badań nad fizjologią i genetyką drobnoustrojów. Odkrycia dokonane z jej udziałem przyczyniły się do szybkiego rozwoju genetyki drobnoustrojów, a jej badacze otrzymali Nagrody Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny. Noblistami zostali:

1. w 1958 r. - Amerykanie, genetyk i mikrobiolog Joshua Lederberg („za odkrycia dotyczące rekombinacji genetycznej i organizacji materiału genetycznego bakterii”) oraz genetycy Edward Lawrie Tatum i George Wells Beadle (za „odkrycie, że geny działają poprzez regulowanie określonych zdarzeń chemicznych”),
2. w 1965 r. - Francuzi, genetyk François Jacob, mikrobiolog André Lwoff i biochemik Jacques Monod („za odkrycia dotyczące genetycznej kontroli syntezy enzymów u wirusów”),
3. w 1969 r. - kolejni Amerykanie, genetyk, mikrobiolog i biofizyk Max Delbrück, mikrobiolog i genetyk Alfred Hershey oraz mikrobiolog Salvador Luria („za odkrycia dotyczące mechanizmu replikacji i struktury genetycznej wirusów”) [10].

Wszyscy ci wybitni uczeni są pionierami biologii molekularnej i genetyki.

Kluczowe odkrycia w biologii molekularnej i genetyce dokonane z użyciem modelowej *E. coli*

Wraz z dalszym dynamicznym rozwojem nauk biologicznych i badań z użyciem różnych organizmów modelowych, *E. coli* ugruntowała swoją pozycję jako podstawowy model do zgłębiania „tajemnic” fundamentalnych procesów życiowych. Jak wspomniano, nowe odkrycia z wykorzystaniem jej jako modelu przyczyniły się do powstania i szybkiego rozwoju biologii molekularnej i genetyki. W konsekwencji, *E. coli* stała się podstawowym modelem eksperymentalnym

w badaniach genetycznych i biochemicznych, w których to dokonano przełomowego odkrycia, iż podstawowe procesy biologiczne są zachowane między prostymi i złożonymi organizmami. Do najważniejszych przełomowych odkryć opartych na badaniach z bakterią *E. coli*, należą m.in.: (i) poznanie przepływu informacji genetycznej w komórce, (ii) poznanie kodu genetycznego oraz (iii) poznanie sposobów regulacji ekspresji genów. Przykłady nagrodzonych przez Komitet Noblowski badań z *E. coli* przedstawiono w Tabeli 3.

Rozwój inżynierii genetycznej z wykorzystaniem narzędzi opartych na technikach wypracowanych w badaniach nad/z *E. coli*

Równie ważny okazał się wkład modelowej bakterii *E. coli* w rozwój inżynierii genetycznej i opracowanie techniki rekombinacji DNA (zestawu metod molekularnych do łączenia fragmentów DNA, tworzenia nowych kombinacji genów i modyfikowania genomów), co umożliwiło powstanie nowoczesnej biotechnologii. Bowiem wraz z badaniami nad *E. coli* powstawało wiele nowych genetycznych i molekularnych narzędzi, które są nadal intensywnie rozwijane. Na przykład, *E. coli* była wykorzystana w eksperymentach dotyczących interakcji pomiędzy bakteriami i atakującymi je wirusami - bakteriofagami [10]. Dzięki tym badaniom odkryto istnienie dwóch systemów ochrony bakterii przed obcym DNA: (i) system restrykcji-modyfikacji oraz (ii) zaawansowany system „nabytej odporności” CRISPR-Cas (ang. *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*), w którym bakterie integrują fragmenty DNA fagów do własnego genomu i przy kolejnej infekcji system Cas rozpoznaje je i niszczy DNA faga.

System restrykcji-modyfikacji jest pierwotnym mechanizmem obronnym bakterii przeciwko wirusom (przed wirusowym DNA), celem uniemożliwienia włączenia materiału genetycznego bakteriofagów do genomu bakterii. W systemie tym enzymy restrykcyjne (nukleazy) rozpoznają i przecinają specyficzne sekwencje DNA (wirusowego). System modyfikacji (enzymy modyfikujące, metylazy) zabezpiecza własny DNA komórki poprzez przyłączenie grup metylowych do tych samych specyficznych sekwencji w DNA gospodarza (uniemożliwiając tym samym jego zniszczenie). Kluczowa jest w tym systemie równowaga między aktywnością restrykcyjną a modyfikacyjną, aby chronić własny materiał genetyczny, ale zniszczyć intruza. Systemy restrykcji-modyfikacji stały się szeroko wykorzystywanym narzędziem w inżynierii genetycznej, używanym do hydrolizy DNA w celach badawczych i modyfikacji genetycznych w biotechnologii.

Z kolei amerykańska biochemik Jennifer Anne Doudna wraz z francuską mikrobiolog, genetyk i biochemik Emmanuelle Charpentier opracowały system CRISPR-Cas9 jako narzędzie do edycji genów, za co otrzymały Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii w 2020 roku [10]. CRISPR to w swej istocie rewolucyjna technologia edycji genów, która działa jak molekularne nożyczki, umożliwiając precyzyjne cięcie i modyfikowanie DNA i wywodzi się właśnie z naturalnego systemu odpornościowego bakterii do zwalczania wirusów. System ten wykorzystuje białka nukleazy Cas

**Tabela 3.** Nagród Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny oraz chemii, przyznane naukowcom wykorzystującym lub opierającym się na badaniach z *E. coli* [10].

Rok	Nagrodzeni naukowcy	Opis odkryć
1958	George Wells Beadle ( <i>amerykański genetyk</i> ), Edward Lawrie Tatum ( <i>amerykański genetyk</i> ), Joshua Lederberg ( <i>amerykański genetyk i mikrobiolog</i> )	Odkrycie roli genów w regulacji procesów biochemicznych w komórkach; szczególnie mechanizmów rekombinacji genetycznej u bakterii
1959	Arthur Kornberg ( <i>amerykański biochemik i lekarz</i> ), Severo Ochoa de Albornoz ( <i>hiszpański biochemik, genetyk, biolog molekularny</i> )	Odkrycie mechanizmów syntezy kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA) i kwasu rybonukleinowego (RNA) w komórkach bakteryjnych; bazując na modelach <i>S. cerevisiae</i> , <i>E. coli</i> ; i odtworzenie ich w warunkach laboratoryjnych (w próbówce)
1965	François Jacob ( <i>francuski genetyk</i> ), André Michel Lwoff ( <i>francuski mikrobiolog</i> ), Jacques Monod ( <i>francuski biochemik</i> )	Odkrycia dotyczące aktywności regulacyjnej bakterii; odkrycie (i) mRNA i wyjaśnienie mechanizmu regulacji ekspresji genów oraz (ii) mechanizmów genetycznej kontroli działania komórek
1968	Robert William Holley ( <i>amerykański biochemik</i> ), Har Gobind Khorana ( <i>amerykański biolog molekularny</i> ), Marshall Nirenberg ( <i>amerykański biochemik i genetyk</i> )	Wyjaśnienie/ rozszyfrowanie, w jaki sposób kod genetyczny kontroluje syntezę białek, oraz ustalenie struktury tRNA
1969	Max Delbrück ( <i>niemiecki, a od 1945 amerykański genetyk, mikrobiolog i biofizyk</i> ), Alfred Day Hershey ( <i>amerykański mikrobiolog i genetyk</i> ), Salvador Luria ( <i>mikrobiolog amerykański pochodzenia włoskiego</i> )	Odkrycia dotyczące bakteriofagów, wirusów infekujących bakterie; obejmujące m.in. (i) odkrycie, że bakteria zainfekowana bakteriofagiem może ulegać spontanicznym mutacjom, co czyni ją odporną na działanie faga, (ii) odkrycie rekombinacji genetycznej u fagów, oraz (iii) spontanicznych mutantów fagowych
1978	Werner Arber ( <i>genetyk i mikrobiolog szwajcarski</i> ), Daniel Nathans ( <i>amerykański mikrobiolog</i> ), Hamilton Othanel Smith ( <i>amerykański mikrobiolog</i> )	Odkrycie enzymów restrykcyjnych i zastosowanie ich w genetyce molekularnej; co dało początek technologii rekombinacji DNA, która zrewolucjonizowała biologię molekularną i medycynę
1980	Baruj Benacerraf ( <i>amerykański immunolog wenezuelskiego pochodzenia</i> ), Jean Dausset ( <i>francuski immunolog</i> ), George Davis Snell ( <i>amerykański genetyk oraz pionier immunologii</i> )	Odkrycia dotyczące genetycznej regulacji odpowiedzi immunologicznej i zgodności tkankowej
1989	John Michael Bishop ( <i>amerykański immunolog i mikrobiolog</i> ), Harold Varmus ( <i>amerykański wirusolog</i> )	Odkrycie komórkowego pochodzenia retrowirusowych onkogenów; stwierdzo, że w wyniku włączenia do genomu genów wirusa, niektóre geny obecne w komórce (protoonkogeny) mogą powodować powstanie nowotworu
1997 <sup>c</sup>	Paul Boyer ( <i>amerykański biochemik</i> ), John Ernest Walker ( <i>brytyjski biolog molekularny</i> ), Jens Christian Skou ( <i>duński lekarz, chemik i biofizyk</i> )	Wyjaśnienie mechanizmu enzymatycznej syntezy adenosynotrifosforanu (ATP) i odkrycie enzymu transportującego jony (opisanego 40 lat wcześniej)
1999	Günter Blobel ( <i>niemiecki biolog</i> )	Odkrycie, że białka mają sygnały regulujące organizację komórkową; tj. badania nad mechanizmem i identyfikacją wewnętrznych sygnałów kierujących transportem i lokalizacją białek w komórkach
2006	Andrew Zachary Fire ( <i>amerykański patolog i genetyk</i> ), Craig Cameron Mello ( <i>amerykański biochemik</i> )	Odkrycie mechanizmu interferencji RNA, wyciszenia genów za pomocą dwuniciowego RNA u <i>C. elegans</i> ; badania również u <i>E. coli</i>
2008 <sup>c</sup>	Osamu Shimomura ( <i>japoński biochemik</i> ), Martin Chalfie ( <i>amerykański biolog</i> ), Roger Tsien ( <i>amerykański biochemik chińskiego pochodzenia</i> )	Odkrycie i rozwój zielonego białka fluorescencyjnego (ang. <i>green fluorescent protein</i> , GFP) znacznika dla śledzenia składników komórkowych); M. Chalfie dokonał ekspresji białka w <i>E. coli</i> i <i>C. elegans</i>
2015 <sup>c</sup>	Tomas Lindahl ( <i>szwedzki chemik</i> ), Paul Modrich ( <i>amerykański biochemik</i> ), Aziz Sancar ( <i>amerykański biolog molekularny pochodzenia tureckiego</i> )	Przełomowe badania nad mechanizmami naprawy DNA; dzięki którym komórki – od bakterii do człowieka – naprawiają uszkodzenia DNA celem utrzymania stabilności genomu
2024	Victor Ambros, Gary Ruvkun ( <i>amerykańscy biologowie molekularni</i> )	Odkrycie mikroRNA i jego roli w potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów; trzy dekady wcześniej opublikowano wyniki będące podstawą tego odkrycia; interesujące jest, że pierwsze dowody pochodziły z <i>E. coli</i> , a potem kontynuowano badania z <i>C. elegans</i>

(które hydrolizuje dwuniciową sekwencję DNA) kierując je do określonego miejsca w genomie za pośrednictwem cząsteczki gRNA (ang. *guide RNA*). Po hydrolizie DNA komórka próbuje naprawić uszkodzenie, co pozwala eksperymentatorom na wprowadzenie pożądaných zmian, takich jak usunięcie, dodanie lub zamiana genu. Technologia CRISPR stosowana jest w medycynie (leczenie chorób genetycznych), biologii (tworzenie modeli chorób w celu poznania

ich mechanizmów) oraz rolnictwie (modyfikowanie roślin i zwierząt celem zwiększenia ich odporności na choroby, wydajności, do optymalizacji upraw, modelowania wzrostu roślin, etc.) [10].

Warto odnotować istotne fakty dotyczące bakterii *E. coli*, a mianowicie, (i) istnieje już rozwinięty zestaw narzędzi genetycznych (precyzyjne edytowanie DNA), (ii) zgroma-

dzono bogatą wiedzę o jej genomie (jest prosty i szybko sekwencjonowalny) oraz (iii) cechuje ją uniwersalność metaboliczna (poznane procesy komórkowe, szybkie rozmnażanie i łatwość w przyjmowaniu obcego materiału genetycznego, np. poprzez plazmidy, co ułatwia klonowanie i tworzenie białek). Wszystko to przyczyniło się do wykreowania następnego nowego i fascynującego obszaru zastosowań bakterii *E. coli* jako fundamentalnego modelowego organizmu w biologii syntetycznej (w konstruowaniu nowych genetycznych regulatorów i systemów w celu kontroli funkcji komórkowych) oraz w inżynierii metabolicznej (w modyfikowaniu metabolizmu poprzez przeprogramowanie bakterii celem uzyskania różnych związków).

Rozwój biotechnologii: wykorzystanie *E. coli* w laboratoriach zarówno naukowych jak i mikrobiologii przemysłowej

Współcześnie szczepy *E. coli* są już wykorzystywane na skalę przemysłową w produkcji wielu ważnych związków, z których korzystamy na co dzień (biopaliw, leków, enzymów) [61-63]. Na przykład, naukowcy używając wektorów plazmidowych, mogą wprowadzać do komórek *E. coli* badane przez siebie fragmenty DNA, na przykład geny pochodzące z innych organizmów. Bakterie rosnąc namnażają własny materiał genetyczny oraz wprowadzone przez eksperymentatora obce DNA. Badacz może odpowiednio zaprojektować system plazmidowy by wprowadzone DNA służyło bakterii jako matryca do syntezy określonego białka. Ta ostatnia możliwość jest wykorzystywana nie tylko w laboratoriach naukowych, ale i w firmach farmaceutycznych oraz biotechnologicznych. Wiele mających zastosowanie w medycynie białek, takich jak hormony (np. insulina, ludzki hormon wzrostu), białka odpowiedzi immunologicznej czy czynniki krzepnięcia krwi, jest produkowanych na masową skalę w komórkach *E. coli*.

#### CECHY BAKTERII *E. coli* JAKO MODELOWEGO ORGANIZMU W BIONAUKACH I NOWOCZESNEJ BIOTECHNOLOGII

Przestawione fakty dokumentują, że bakteria *E. coli* to najpopularniejszy modelowy organizm o szerokim zakresie wykorzystania zarówno w nauce jak i w przemyśle. Jej kluczowymi zaletami są:

- niewielkie rozmiary fizyczne i genomowe,
- niskie koszty hodowli i utrzymania,
- krótki cykl życiowy,
- prostota organizmu z zachowanymi fundamentalnymi procesami biologicznymi,
- łatwość modyfikacji genetycznych w warunkach laboratoryjnych,
- plastyczność genomiczna i metaboliczna (co ułatwia manipulacje genetyczne i metaboliczne),
- jest to najlepiej poznany organizm w mikrobiologii, z ogromną zgromadzoną wiedzą na temat jej biochemii i fizjologii, wraz z nowoczesnymi molekularnymi i genetycznymi narzędziami jej dedykowanymi,
- multidyscyplinarność zastosowań, w fizjologii, biologii molekularnej, biochemii, genetyce, mikrobiologii, biotechnologii, bioinformatyce i (bio)medycynie.

Już od momentu odkrycia *E. coli* jej podstawowymi zaletami była łatwość w pozyskiwaniu i hodowli. Niskie koszty i szybkość takiej hodowli pozwalają na uzyskiwanie dużej liczby bakterii na niewielkiej powierzchni. Bakteria *E. coli* może dzielić się co 20 minut w laboratorium w warunkach tlenowych i bogatych w składniki odżywcze (w środowisku naturalnym proces ten zachodzi co 15 godzin) [64]. U *E. coli* w warunkach laboratoryjnych możliwe i łatwe są modyfikacje genetyczne i ich identyfikacja, co sprawia, że jest ona doskonałym narzędziem do badań inżynierii genetycznej i biologii syntetycznej. Jako bakteria, *E. coli* jest prostym organizmem, który dzieli wiele fundamentalnych procesów z bardziej złożonymi organizmami. Człowiek i inne organizmy wyższe składają się z bilionów współpracujących ze sobą komórek, zaś *E. coli* składa się z pojedynczej komórki. Procesy biologiczne, które byłyby trudne lub nieetyczne do zbadania u ludzi lub zwierząt, można po prostu łatwiej badać u *E. coli*, przez co staje się ona cennym organizmem modelowym do eksploracji procesów biologicznych wspólnych dla organizmów żywych. Wśród nich, ważna jest na przykład rola bakterii *E. coli* jako modelowego układu do poznania molekularnych mechanizmów naprawy DNA u organizmów eukariotycznych [9,65]. Dotąd odkryto pięć głównych ścieżek zaangażowanych w naprawę eukariotycznego DNA, tj. (1) naprawę wycinania zasad (ang. BER, *base excision repair*), (2) naprawę wycinania nukleotydów (ang. NER, *nucleotide excision repair*), (3) naprawę błędnie sparowanych zasad (ang. MMR, *mismatch repair*), (4) łączenie końców niehomologicznych (ang. NHEJ, *non-homologous end joining*) oraz (5) rekombinację homologiczną (ang. HR, *homologous recombination*) [9]. Naukowcy podkreślają, że mechanizmy te obecne są w ewolucji od bakterii do człowieka.

Warto odnotować jednakże, że istnieją nadal nie poznane właściwości *E. coli*. Na przykład Blount w swoim interesującym przeglądzie [21], opierając się na najnowszych wynikach badań wskazał, iż niewiele wiemy o „dzikiej” naturze *E. coli* (ang. *wild strains of E. coli*). Autor trafnie podsumowuje, że bakteria *E. coli* to (i) niezwykle zróżnicowany organizm, zajmujący złożoną, wielopłaszczyznową niszę w środowisku naturalnym oraz zwraca uwagę, że (ii) zrozumienie naturalnej historii *E. coli* (dotyczącej jej ekologii, biologii ewolucyjnej) jeszcze zwiększa jej wartość jako modelowego organizmu we wszystkich obszarach obecnych i przyszłych zastosowań. Niewątpliwie jest to nowe spojrzenie na przeszłość badań nad i z *E. coli*. Tutaj wiodącym przykładem, z obszaru eksperymentalnej ewolucji genomicznej (badającej procesy ewolucyjne poprzez obserwację zmian w genomach w warunkach laboratoryjnych lub naturalnych), jest długoterminowy eksperyment ewolucyjny (ang. *long-term evolution experiment*, LTEE) Richarda Eimera Lenskiego (amerykańskiego biologa ewolucyjnego), właśnie z użyciem bakterii *E. coli*. W tym (wciąż trwającym) eksperymencie hodowanych jest (niezależnie) dwanaście linii bakterii w identycznych warunkach laboratoryjnych od 24 lutego 1988 roku [66,67]. LTEE został zaprojektowany przez R.E. Lenskiego celem badania dynamiki i powtarzalności ewolucji fenotypowej i genetycznej, a jego hodowle *E. coli* (z linii Lurii-Delbrücka) po 37 latach osiągnęły już ponad 80000 pokoleń ewolucyjnych w prostym i dobrze

kontrolowanym środowisku. Eksperyment Lenskiego jest równocześnie przełomowym badaniem ewolucji bakterii *E. coli*, które demonstruje spontaniczne pojawienie się nowych cech, takich jak zdolność do metabolizowania cytrynianu. Eksperymentatorzy co 500 pokoleń zamrażają próbki i przechowują „zamrożony zapis kopalny” bakterii z różnych pokoleń, co pozwala im na cofanie się w czasie i obserwację kolejnych mutacji celem analizy postępu ewolucyjnego. W tym zaproponowanym modelowym podejściu dokonano historycznego odkrycia mutacji pozwalającej na wykorzystanie cytrynianu. Jedna z populacji rozwinęła zdolność do jego metabolizowania w warunkach beztlenowych, co jest niezwykle dla *E. coli* i było efektem serii mutacji, które stopniowo zwiększały jej zdolności adaptacyjne. Wyniki te potwierdzają pogląd o ewolucji adaptacyjnej bez ingerencji z zewnątrz, pokazując równocześnie, jak proste mutacje (poprzez ich akumulację) prowadzą w sposób naturalny do złożonych funkcji. Sam Lenski podkreśla, że LTEE służy jako model dla innych badaczy zainteresowanych projektowaniem i przeprowadzaniem eksperymentów w celu zgłębiania procesów ewolucyjnych w ogólności, a ewolucji bakterii w szczególności. Eksperyment Lenskiego jest uznawany za jeden z najważniejszych dowodów na działanie ewolucji w czasie rzeczywistym. I jak dotąd jest to jedyny najdłużej trwający eksperyment dotyczący ewolucji, który może jeszcze przynieść jakieś zaskakujące wyniki.

Podnoszone i krytyczne opinie współczesnych mikrobiologów na temat badań z modelowymi drobnoustrojami

Dzięki swoim korzystnym modelowym właściwościom (szybki wzrost, zdolność adaptacji, podatność na manipulacje genetyczne, uniwersalność, etc.) bakteria *E. coli* od lat utrzymuje się na szczycie listy organizmów modelowych, również wśród drobnoustrojów. Jednakże, wokół nas, w nas samych i na nas bytuje mnogość bakterii, w związku z czym mikrobiolodzy zwracają uwagę na to, że prowadzone badania skoncentrowane są przede wszystkim na *E. coli* i niewielkiej liczbie popularnych modelowych drobnoustrojach, a wśród 10 najpopularniejszych modeli eksperymentalnych są: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Helicobacter pylori*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* i *Haemophilus influenzae* [68]. Nasuwa się zatem oczywiste pytanie, ile z tego co wiemy o *E. coli* odnosi się do licznych bakterii zamieszkujących Ziemię? Drobnoustroje stanowią około 60% masy planety. Przetwały one i ewoluowały na Ziemi przez ponad 3,7 miliarda lat, zostały znalezione w niemal każdym środowisku. Różnorodność i zakres dostosowania do środowiska oznacza, że mikroorganizmy dawno temu „rozwiązały” wiele problemów, których rozwiązań wciąż poszukują uczeni [69,70]. Ponadto, większość drobnoustrojów nie odpowiada za choroby u ludzi, zwierząt lub roślin.

Na przykład amerykański mikrobiolog Paul Jensen z Uniwersytetu Michigan dokonując przeglądu literatury odkrył, że zaledwie dziesięć wskazanych powyżej gatunków bakterii odpowiada aż za połowę wszystkich publikacji w bazie danych Pubmed, podczas gdy prawie trzy czwarte bakterii (spośród ponad 43000 znanych bakterii) nie doczekało się ani jednego artykułu [69]. Większość bakterii z

listy modelowych drobnoustrojów powiązana jest z ludzkim zdrowiem, znacznie mniej to organizmy środowiskowe. Zdaniem mikrobiologa niezliczone procesy bakteryjne, funkcje i sposoby istnienia na świecie pozostają tajemnicą i mogą być całkowicie odmienne od tego, co wiemy o *E. coli*. Również obserwowane są różnice pomiędzy laboratoryjnymi i naturalnymi szczepami *E. coli* [21]. Badania różnorodności i sekwencjonowanie metagenomiczne ujawniły, że popularne modelowe gatunki często występują w środowisku w małej liczebności, a co więcej istnieją taksony drobnoustrojów, które mają charakter wyłącznie środowiskowy [70]. W związku z tym pojawiają się sugestie, że i one powinny znaleźć się wśród stosowanych modeli w przyszłości, dla zwiększenia w mikrobiologii realizmu i skalowalności, i proponuje się np. włączenie bakterii *Nitrosopumilus maritimus*, *Pelagibacter ubique*, *Hadesarchaea* lub *Bathymarchaea*, i innych jeszcze [70]. Mikrobiolodzy sugerują, że niezbadany ogromny świat bakterii z różnych ekosystemów może ujawnić procesy i funkcje cenne nie tylko dla rozwoju współczesnej bakteriologii, ale i dla poprawy zdrowia człowieka.

W świetle tych i podobnych rozważań podejmowane są wśród uczonych interesujące wątki odnoszące się do podejścia badawczego opartego głównie na pojedynczych modelowych organizmach i ekstrapolowaniu wiedzy na inne gatunki, i że być może jest ono niewystarczające. Pozostaje więc otwarte pytanie, co powinno stanowić model w przyszłości. Sugeruje się kierunek rozwoju w stronę badań laboratoryjnych z modelami bliższymi naturze. Obecnie wśród mikrobiologów toczą się ożywione dyskusje na ten temat, i wyrażany jest pogląd, że mikrobiolodzy mogliby czerpać inspirację właśnie z natury i badać społeczności drobnoustrojów. Bo, jak sugeruje znany amerykański mikrobiolog Brett J. Baker „Często te organizmy nie chcą żyć same” [70]. Współcześnie prowadzone są już badania uwzględniające proponowane nowe podejście, a dotyczą na przykład poznania ludzkiego mikrobiomu, w tym i roli *E.coli*.

Na obecny zaś moment, bakteria *E. coli* wciąż owocnie służy uczonym w dotychczasowym paradygmacie badawczym modelowego organizmu wraz ze swoją bogatą historią dokonanych (z jej udziałem) wielu przełomowych odkryć w nauce i medycynie.

#### PRZYKŁADY PRZEŁOMOWYCH BADAŃ Z MODELOWYM ORGANIZMEM BAKTERIĄ *E. coli* I PULI PRYZNANYCH NAGRÓD NOBLA

Jak wspomniano, wielu uczonych wykorzystujących w badaniach bakterie *E. coli* zostało za swoje odkrycia uhonorowanych Nagrodami Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny, nie wykluczając chemii lub fizyki. Jest to zarazem znakomita ilustracja wyjątkowego znaczenia modelowego organizmu *E. coli* w bionaukach, medycynie i biotechnologii (Tabela 3). Przykłady przedstawione w Tabeli 3 pokazują jak ważne były i nadal są badania z *E. coli*, która - jak wcześniej opisano - jest najlepiej i najwszechstronnie poznany organizmem w świecie nauki. Dobrym przykładem jest szczep *E. coli* K-12, od dziesięcioleci wykorzystywany jako modelowy organizm w podstawowych badaniach eksperymentalnych [71].

Bakteria *E. coli* została użyta jako podstawowy modelowy organizm w badaniach nad tak fundamentalnymi procesami życiowymi jak (Tabela 3):

- opisanie przepływu informacji genetycznej, czyli mechanizmu replikacji DNA, transkrypcji i translacji mRNA,
- rozszyfrowanie kodu genetycznego, czyli odkrycia kodonów, języka DNA i RNA, w którym zapisane są wszystkie geny,
- poznanie sposobów regulacji ekspresji genów, czyli zrozumienia, w jaki sposób pewne zestawy genów są włączane lub wyłączane w zależności od istniejących warunków.

Bardzo ważnym przełomem w badaniach biologicznych z wykorzystaniem modelowych organizmów, w tym i *E. coli*, było poznanie jak przekazywana jest informacja genetyczna w komórce i sformułowanie na tej podstawie centralnego dogmatu biologii molekularnej. W oparciu o poznane mechanizmy replikacji, transkrypcji i translacji jako kluczowych procesów ekspresji genów wraz z rozszyfrowaniem kodu genetycznego, został przedstawiony przepływ informacji w komórce w postaci klasycznego dogmatu DNA → RNA → białko. Czyli w tym klasycznym schemacie są to trzy etapy: replikacji DNA (tworzona jest dokładna kopia całego genomu DNA), transkrypcji (przepisania informacji genetycznej z DNA na cząsteczkę informacyjnego mRNA (ang. *messenger RNA*) oraz translacji (tworzenia białek na podstawie informacji zawartej w mRNA). Zatem tak sformułowany dogmat pozwala na wyjaśnienie jak geny w DNA kodują informacje o białkach wykonujących określone funkcje w komórce, a dzieje się to dzięki kolejnym procesom: (i) replikacji - syntetyzowania dwóch nowych nici DNA z jednej macierzystej, (ii) transkrypcji - kopiowania genów z DNA na RNA (mRNA), i (iii) translacji - tłumaczenia kodu genetycznego mRNA na sekwencję aminokwasów, które łącząc się w łańcuch polipeptydowy po jego sfałdowaniu tworzą funkcjonalne białko. Proces ten odbywa się na rybosomach i wymaga transportowego tRNA (ang. *transfer RNA*) do dostarczenia odpowiednich aminokwasów i przebiega przez etapy: inicjacji, elongacji (wydłużania) i terminacji (zakończenia). Poznane procesy komórkowe pozwalają na zrozumienie zarówno ekspresji genów, jak i dziedziczenia oraz powstawania wielu chorób na poziomie molekularnym. Chociaż z czasem odkryto wyjątki od tego klasycznego dogmatu, jak np. odwrotna transkrypcja (retrowirusy potrafią przepisywać RNA z powrotem na DNA) oraz poznano dodatkowe jeszcze ścieżki, np. bezpośrednią syntezę białek z RNA (niektóre wirusy używają RNA jako własnego materiału genetycznego) [10].

U podstaw tych doniosłych odkryć w biologii były *de facto* badania fizjologiczne i biochemiczne prowadzone na przełomie lat 30/40. XX wieku z *E. coli*, które przyczyniły się do rozwoju genetyki bakterii i powstania biologii molekularnej [5,72]. Warto podkreślić, że w zasadzie zadziało się to wraz z założeniem w 1940 roku grupy „*Phage Group*” przez (pionierów i późniejszych noblistów) M. Delbrücka, S.E. Lurii i A.D. Hersheya w Cold Spring Harbor. Odbywały się tam - organizowane przez nich - coroczne Sympozja (z wyjątkiem okresu wojny 1943-1945), na których omawiano

najważniejsze postępy w biologii, i publikowano materiały w kolejnych tomach sympozjalnych. Tomy te są w istocie zapisem całej historii biologii molekularnej (od roku 1941 do 1966, a jest ich w sumie dziewięć, począwszy od „Genów i chromosomów” do „Kodu genetycznego”) [72]. *Phage Group* popularyzowała użycie *E. coli* w badaniach nad naturą kwasów nukleinowych i mutagenezą. W tym samym czasie *E. coli* i jej wirusy stały się materiałem badawczym w podstawowych badaniach z genetyki molekularnej. Wśród uczonych związanych z *Phage Group* było wielu przyszłych noblistów, których odkrycia okazały się kluczowe dla rozwoju biologii. W latach 40. XX wieku, pracując nad bakterią *E. coli* i jej wirusami, Luria i Delbrück odkryli spontaniczną naturę mutacji bakteryjnych, a Hershey opisał rekombinację u bakteriofagów i wraz z M. Chase'em wykazał, że materiałem genetycznym infekującym bakterie jest DNA. Przełomową okazała się praca Lurii i Delbrücka opublikowana w czasopiśmie *Genetics* w 1943 r. [73], podkreślano nawet, że wykazuje ona, iż teoria Darwina dotycząca doboru naturalnego po losowych mutacjach ma zastosowanie nawet do bakterii (a badaną przez nich była właśnie bakterie *E. coli*). Ten kluczowy artykuł to początek współczesnej genetyki bakterii. W tym samym czasie S. Benzer zdefiniował strukturę „funkcjonalnej jednostki genetycznej”, a J. Lederberg i E. Tatum odkryli rekombinację płciową pomiędzy bakteriami. Kilka lat później grupa Lederberga odkryła cząsteczki pozachromosomalne - plazmidy oraz nową metodę transferu genów przez bakteriofagi - transdukcję. Wkrótce potem F. Jacob i E. Wollman rozwikłali mechanizm procesów płciowych u *E. coli* i ustalili kolistość chromosomu bakteryjnego. W latach 60. XX wieku J. Monod i F. Jacob na podstawie analizy genetycznej układu laktozy *E. coli* zaproponowali model operonowy regulacji genów i wprowadzili koncepcję informacyjnego RNA. Wyjaśnienie struktury podwójnej helisy DNA w 1953 roku przez F. Cricka i J. Watsona miało doniosłe konsekwencje, jak ustalenie mechanizmu replikacji (M. Meselson i F. Stahl), odkrycie natury kodu genetycznego (S. Brenner) prowadzące do jego rozszyfrowania. *E. coli* i jej fagi odegrały też kluczową rolę w rozwoju technologii rekombinacji DNA opartej na odkryciu systemu restrykcyjno-modyfikacji przez W. Arbera [10].

Odnotujmy ponadto, że przedstawiony wczesny okres rozwoju biologii molekularnej to czasy, kiedy jeszcze nie było wcale jasne, co tak naprawdę robią geny. Dopiero G.W. Beadle i E.L. Tatum wykazali, że geny określają białka i w ich teorii zostało to sformułowane jako „jeden gen - jeden enzym”. Podobnie, nie było jasne czy bakterie zawierają geny podobne do tych już opisanych u eukariontów. Wśród ówczesnych liderów-pionierów biologii molekularnej noblistami zostali: (i) w 1958 r. - Amerykanie, genetycy G.W. Beadle i E.L. Tatum oraz genetyk i mikrobiolog J. Lederberg, (ii) w 1965 r. - Francuzi, genetyk F. Jacob, mikrobiolog A.M. Lwoff i biochemik J. Monod oraz w 1969 r. - Amerykanie (założyciele *Phage Group*) genetyk, mikrobiolog i biofizyk M. Delbrück, mikrobiolog i genetyk A.D. Hershey i mikrobiolog S. Luria (Tabela 3).

Komitet Noblowski dostrzegł też i nagrodił równie przełomowe odkrycie jakim było bez wątpienia poznanie kodu genetycznego (1968 r.). Odkrycie kodonów, czyli trójek nukleotydów kodujących aminokwasy, było kluczowe

dla rozszyfrowania kodu genetycznego. Na przykład Francis Crick i wsp. użyli szczepów *E. coli* do jego wyjaśnienia [74]. Jednakże kluczowe badania nad poznaniem kodu genetycznego prowadzili Amerykanie, biochemik i genetyk Marshall Nirenberg, biolog molekularny Har Gobind Khorana i biochemik Robert William Holley w latach 1961–1966, za co otrzymali Nagrodę Nobla w 1968 r. w dziedzinie fizjologii i medycyny [10]. Nieco wcześniej, bo w latach 50. XX wieku George Gamow sugerował trójki nukleotydów, które mogłyby kodować 20 znanych aminokwasów. Zaś badania M. Nirenberga z H. Matthaei i H.G. Khorany pozwoliły na przypisanie sekwencji kodonów do konkretnych aminokwasów, odkrywając równocześnie, jak informacja z DNA jest tłumaczona na białka. Odkrycia te miały przełomowe znaczenie, gdyż nie tylko ustalono, że (i) trzy nukleotydy (kodon) w mRNA odpowiadają za jeden aminokwas w białku, ale też (ii) stworzono pełną tabelę kodu genetycznego, która pokazuje, które kodony kodują jakie aminokwasy, oraz (iii) poznano fundamentalny mechanizm translacji, syntezy białka. Komitet Noblowski nagrodził (1965 r.) także inne ważne odkrycie związane z poznaniem sposobów regulacji ekspresji genów, która ma fundamentalne znaczenie dla życia, umożliwiając komórkom adaptację, rozwój i specjalizację. Regulacja ekspresji genów to złożony proces kontrolujący, które geny w komórce są aktywne, włączenie tylko potrzebnych genów, wyłączenie zbędnych, zatem dopasowanie ich aktywności zgodnie z potrzebami komórki lub organizmu. U Eukariontów regulacja ekspresji genów jest bardziej skomplikowana niż u Prokariotów (np. bakterii). U bakterii często występuje grupowanie genów w operony, co pozwala na jednoczesne włączanie/wyłączanie całej grupy genów i regulacja jest głównie na poziomie transkrypcji. W tym obszarze badań nagrodzono w 1965 roku (już wspomnianych) trzech wybitnych francuskich uczonych związanych z *Phage Group*, czyli F. Jacoba, A. Lwoffa i J. Monoda. Ruiz i Silhavy [5] w interesującym przeglądzie na temat historii badań i wykorzystania bakterii *E. coli* trafnie wskazują, że wraz z gromadzeniem wiedzy i tworzeniem narzędzi eksperymentalnych, pętla dodatniego sprzężenia zwrotnego w istocie ustaliła centralną rolę *E. coli* w badaniach jako kluczowego modelu eksperymentalnego. Co więcej dogmaty biologii molekularnej zostały ostatecznie „rozszyfrowane” przy wykorzystaniu modelu *E. coli* oraz w oparciu o logikę i niezwykłą pomysłowość ówczesnych badaczy. Współcześnie uczeni, podobnie jak i ich poprzednicy, dokonują równie interesujących i przełomowych odkryć z użyciem modelowych organizmów, w tym i *E. coli*, przykładem mogą być nagrody Nobla z 2015 i 2024 roku (Tabela 3).

W 2015 roku w dziedzinie chemii przyznano nagrodę Nobla trzem wybitnym eksperymentatorom, których rezultaty znalazły przełomowe zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej [10]. Otrzymali ją (i) szwedzki biochemik Tomas Robert Lindahl, pracujący nad alkilacyjnymi i oksydacyjnymi uszkodzeniami DNA oraz mechanizmami ich naprawy u *E. coli* i eukariontów (w tym i u człowieka), (ii) amerykański biochemik Paul Lawrence Modrich, prowadzący badania nad naprawą MMR (naprawą błędnie sparowanych zasad) u *E. coli* i człowieka (jako że właśnie system MMR jest istotny dla prawidłowego działania leków przeciwnowotworowych) oraz (iii) turecki biolog

molekularny Aziz Sancar, za badania nad naprawą uszkodzeń UV poprzez mechanizm NER (naprawę wycinania nukleotydów; a co więcej jest to jedyny mechanizm w komórkach zwierząt służący do ich obrony przed szkodliwym działaniem promieniowania słonecznego) oraz nad naprawą poprzez mechanizm fotoreaktywacji (ang. *photoreactivation*), który z kolei nie występuje u zwierząt. W dodatku, postęp i wyniki współcześnie prowadzonych badań sugerują, że ocena naprawy DNA mogłaby być efektywnym biomarkerem w nowoczesnej praktyce klinicznej, np. poprzez powiązanie poziomu naprawy DNA z etiologią choroby [9]. W tym kontekście mówi się już o nowej dziedzinie, adduktomice DNA (ang. *DNA adductomics*) jako nowym narzędziu o obiecującym potencjale zastosowania w naukach biologicznych i środowiskowych oraz w (bio)medycynie, z wykorzystaniem najnowszych technologii wirtualnej i pogłębionej rzeczywistości (ang. *virtual and augmented reality, VR/AR*). Własne badania w tym obszarze, również oparte na modelu *E. coli*, łączą metody biomodelowania eksperymentalnego (*in vitro, in vivo*) z modelowaniem metodami dynamiki molekularnej (*in silico*) wraz z użyciem metod sztucznej inteligencji opartych, na przykład na algorytmach uczących się na podstawie danych eksperymentalnych (ang. *machine learning, ML*) [9,63]. AI/ML znakomicie odnajdują się w diagnostyce i ocenie efektów podejmowanych interwencji terapeutycznych w kontekście opisanych patogennych *E. coli*, oferując wysoką dokładność, czułość i specyficzność nowych metod. Na przykład umożliwiając analizę sekwencji DNA lub struktury białek z niespotykaną dotąd dokładnością, co w praktyce oznacza łatwiejsze wykrywanie mutacji i projektowanie genetycznych terapii w spersonalizowanej medycynie przyszłości [8,9,42].

Interesujące są losy Nagrody Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny z 2024 roku, przyznanej amerykańskim biologom molekularnym Victorowi Ambrosowi i Gary’emu Ruvkunowi za badania dokonane trzy dekady wcześniej i dotyczące odkrycia mikroRNA. Przy czym pierwsze dowody ich odkrycia pochodziły właśnie z badań prowadzonych nad *E. coli*, a kontynuowano je z *C. elegans*, wyniki opublikowano w 1993 roku. Ich badania doprowadziły do przełomowego odkrycia nowej zasady regulacji genów, w której pośredniczył nieznan wcześniej typ RNA, który nazwano mikroRNA (miRNA) [10]. Cząsteczki miRNA działają na poziomie posttranskrypcyjnym, czyli po przepisaniu informacji genetycznej z DNA na mRNA (zanim jeszcze powstanie białko), miRNA wiążąc się z określonymi fragmentami mRNA uniemożliwiają proces translacji przez zahamowanie syntezy białka. Ta zdolność precyzyjnego „wyciszania” genów sprawia, że miRNA pełnią funkcję regulacyjną w wielu procesach komórkowych, takich jak różnicowanie komórek, rozwój organizmów, a także utrzymanie homeostazy w organizmie. Co więcej, pojedynczy miRNA może regulować ekspresję wielu różnych genów, a jednocześnie pojedynczy gen może być regulowany przez wiele miRNA. Dysregulacja miRNA może leżeć u podłoża rozwoju wielu chorób, w tym nowotworów, chorób sercowo-naczyniowych, a także neurodegeneracyjnych. W istocie, odkrycie miRNA zrewolucjonizowało dotychczasową wiedzę na temat regulacji genów, a w przyszłości ich wykorzystanie w terapiach celowanych, pozwoliłoby może „wyciszyć” wadliwe geny odpowiedzialne za rozwój wielu chorób.

Reasumując, bardzo cennym modelem oraz narzędziem badawczym dla uczonych jest *E. coli*, a podkreśla to jeszcze fakt, że była również jednym z pierwszych organizmów wybranych do zsekwencjonowania kompletnego zestawu genów (genomu) [4]. Co więcej, kiedy opracowano techniki wstawiania genów innych organizmów do *E. coli*, to właśnie ona stała się ważnym modelowym narzędziem do badania funkcji i regulacji genów. Był to jednocześnie przełomowy moment, który pozwolił na rozwój nowoczesnej biotechnologii. W konsekwencji bakteria *E. coli* odgrywa kluczową rolę we współczesnej mikrobiologii i biotechnologii przemysłowej. Stąd określana bywa też jako „biotech bacterium”, a niektórzy z badaczy nazywają ją nawet „one of our favourite laboratory pets” [75]. Kolejne odkrycia odsłaniają nowe obiecujące perspektywy dla rozwoju nowoczesnej molekularnej diagnostyki i nowych strategii leczniczych, szczególnie tych dotyczących schorzeń o podłożu genetycznym.

#### BAKTERIE *E. coli* I NOWOCZESNA BIOTECHNOLOGIA

Jak wspomniano powyżej, potwierdzeniem znaczenia i szerokiego wykorzystania bakterii *E. coli* w obszarze komercyjnych wdrożeń przemysłowych jest wkład *E. coli* w wykreowanie i dynamiczny rozwój ery nowoczesnej biotechnologii. Odkryta plastyczność genetyczna i metaboliczna *E. coli* pozwoliła mikrobiologom przemysłowym wykorzystywać tę bakterię w syntezie wielu ważnych związków biologicznych (obejmujących peptydy, hormony, enzymy, białka fuzyjne, fragmenty przeciwciał, szczepionki i inne jeszcze produkty biofarmaceutyczne) [63,71]. Mikrobiolodzy podkreślają, że bakteria *E. coli* jest jednym z najlepiej zbadanych organizmów w mikrobiologii. Długa historia hodowli laboratoryjnej oraz łatwość jej modyfikacji przyczyniła się do tego, że bakteria pełni tak ważną rolę w nowoczesnej inżynierii biologicznej i mikrobiologii przemysłowej. W latach 70. XX wieku, dwaj amerykańscy naukowcy Stanley Norman Cohen i Herbert Boyer, pracując z *E. coli* przeprowadzili pierwszy eksperyment z rekombinowanym DNA, wykorzystując w tym celu plazmidy i enzymy restrykcyjne, co z kolei uutorowało drogę późniejszym badaniom nad genetycznie zmodyfikowanymi organizmami [76]. Choć nie otrzymali oni Nagrody Nobla za swoje odkrycie to stało się ono bezpośrednio podstawą rozwoju nowoczesnej biotechnologii i produkcji pierwszej rekombinowanej insuliny w *E. coli* [61,63,77].

Było to przełomowe odkrycie w biologii molekularnej i kolejne niezwykle narzędzie inżynierii genetycznej, ale także kamień milowy w leczeniu cukrzycy. Wcześniejsze poszukiwania leku dla osób chorujących na cukrzycę doprowadziły do odkrycia i opisanie insuliny, a jej badaczy nagrodzono aż trzema Nagrodami Nobla, tj. w 1923 r. otrzymali ją Frederick Banting i John Macleod za odkrycie insuliny, w 1958 r. - Frederic Sanger za wyznaczenie sekwencji aminokwasów insuliny, zaś w 1969 r. - Dorothy Crowfoot Hodgkin za określenie jej budowy przestrzennej. Zaś kolejny istotny przełom w leczeniu chorych nastąpił bezpośrednio dzięki badaniom nad produkcją rekombinowanej ludzkiej insuliny w *E. coli* [61,63,77]. Wcześniej insulina była pozyskiwana z trzustek świń i krów (a nawet rekinów), co

więzało się z dwoma poważnymi problemami. Niektórzy pacjenci źle reagowali na odzwierzęcą insulinę (jej budowa chemiczna różniła się od tej naturalnie wytwarzanej przez człowieka). Ponadto, jej pobieranie ze zwierzęcych organów było pracochłonne i kosztowne. Dla uzyskania kilograma insuliny, potrzeba było ponad 7 ton świńskich lub bydłych trzustek. W 1978 r. dzięki wstawieniu ludzkiego genu kodującego insulinę do *E. coli*, ludzka insulina mogła być już niedrogo produkowana w dużych ilościach. Dzisiaj dla diabetyków dostępna jest rekombinowana ludzka insulina, która w ten sposób stała się pierwszym w historii światowej medycyny lekiem wyprodukowanym metodami inżynierii genetycznej. Został on zatwierdzony do stosowania u ludzi już w 1982 roku. W procesie produkcyjnym tej insuliny wykorzystuje się komórki *E. coli*, którym wstrzykuje się plazmid (laboratoryjną cząsteczkę pozachromosomowego DNA kodującą gen ludzkiej insuliny). W tak zmodyfikowanych bakteriach produkuje się insulinę, którą następnie oczyszcza się i wykorzystuje do produkcji właściwego leku. Współcześnie tworzone są, także metodami inżynierii genetycznej, bardziej skuteczne analogi insuliny ludzkiej, poprzez wprowadzanie zmian w jej strukturze (polegające na dodaniu nowych aminokwasów lub zamianie miejscami aminokwasów w łańcuchu insuliny). To pozwala na otrzymanie korzystniejszego profilu jej działania w porównaniu z ludzką insuliną. Ta nowa insulina działa szybciej i dłużej, przez co leczenie jest efektywniejsze i dostosowane do indywidualnych potrzeb pacjentów. Z perspektywy czasu dzisiejsza insulina to zupełnie inny lek niż ten sprzed stu lat. Co więcej, nie jest to jedna insulina, ale wiele jej rodzajów o zróżnicowanym profilu działania, bardziej skutecznych i bezpiecznych. Dzięki technologii produkcji rekombinowanej insuliny wykorzystującej bakterie *E. coli* możliwe są dostawy insuliny dla diabetyków na całym świecie i produkowanie jej łatwiej i w dużych ilościach.

Podobnie podpuszczka - używana w produkcji sera - jest przykładem komercyjnego produktu wytwarzanego w *E. coli*, który wcześniej był pozyskiwany z żołądków cieląt, a obecnie jest produkowany głównie przez wyspecjalizowane szczepy *E. coli*. Współcześnie *E. coli* stała się popularną platformą ekspresyjną do produkcji różnych rekombinowanych białek mających zastosowanie w terapii wielu schorzeń [78]. Wśród nich popularne są szczepy *E. coli* K-12 i ich pochodne (DH1, DH5 $\alpha$ , MG1655, RV308 i W3110) często wykorzystywane w przemyśle biotechnologicznym i medycynie. Na przykład niepatogenne szczepy *E. coli* Nissle 1917 (EcN, Mutaflor) oraz *E. coli* O83:K24:H31 (Colinfant) są stosowane jako środki probiotyczne w klinice, głównie w leczeniu różnych chorób przewodu pokarmowego, w tym w chorobach zapalnych jelit [78]. Podkreślimy, większość bakterii *E. coli* jest niepatogenna i ważna dla prawidłowego funkcjonowania (zdrowych) jelit.

W świetle przytoczonych faktów wyłania się obiecująca przyszłość technologii rekombinowanych białek, która charakteryzuje się ich szybkim wzrostem, łatwością manipulacji genetycznej i „stosunkowo wysoką” wydajnością [63,77,78]. Jednakże obok wymienionych zalet tych białek, ujawniają się i istotne wady, takie jak ich toksyczność oraz brak eukariotycznych modyfikacji potranslacyjnych, które mogą prowadzić do tworzenia nieprawidłowo sfałdowanych,

nierozpuszczalnych lub dysfunkcyjnych białek, a nawet ich agregacji w postaci ciałek inkluzyjnych w cytoplazmie, a w konsekwencji do niskiej ich sekrecji. Aby temu przeciwdziałać opracowano szereg metod łagodzenia tej „słabości” technologicznej wykorzystując najnowsze osiągnięcia inżynierii genetycznej, mutagenezy i biologii syntetycznej [79]. Na przykład, przez wykorzystanie innowacyjnych strategii takich jak: modyfikacja błony komórkowej, współekspresja białek opiekuńczych lub optymalizacja pożywki. Rozwijana jest technologia tzw. ekspozycji powierzchniowej *E. coli*, która umożliwi stabilną prezentację docelowych peptydów i białek na powierzchni bakterii poprzez fuzję z białkami kotwiczącymi, i która już stała się potężnym i wielostronnym narzędziem zarówno w biotechnologii, jak i biomedycynie [79]. Proponowana strategia ekspozycji powierzchniowej u *E. coli* stanowi unikalną alternatywę dla klasycznych wewnątrzkomórkowych i zewnątrzkomórkowych systemów ekspresji. Właśnie ta wyjątkowa cecha stała się nowym paradygmatem w dziedzinie biokatalizy, pozwalając na wykorzystanie komórki z enzymami eksponowanymi na powierzchni do katalizowania konwersji substratów. Co więcej, strategia ta pozwala na skuteczne wyeliminowanie konieczności oczyszczania enzymów, pokonanie ograniczeń związanych z transbłonowym transportem substratów, także poprawia aktywność i stabilność enzymów oraz znacznie obniża koszty oczyszczania produktów na dalszych etapach realizowanego procesu; przez co umożliwia szerokie wykorzystanie tego nowego podejścia w biokatalizie.

Reasumując, modyfikowane komórki *E. coli* wykorzystywane są już w opracowywaniu szczepionek, bioremediacji, produkcji biofarmaceutyków czy biopaliw. Proponowane są szybkie i dokładne metody wykrywania patogennych *E. coli*, co jest niezbędne dla zachowania zdrowia publicznego i bezpieczeństwa żywnościowego [44]. Przełomowym podejściem o dużym potencjale, aby znacząco ograniczyć narażenie na zakażenia rozprzestrzeniające się drogą pokarmową, jest wykorzystanie nowoczesnych technik i technologii w wykrywaniu i ilościowym oznaczaniu bakterii *E. coli*, np. użycie biosensorów, inteligentnych opakowań czy smartfonów zintegrowanych z czynnikiem dla (różnych) produktów globalnego rynku [45]. Z drugiej strony, poważnym globalnym zagrożeniem dla zdrowia jest oporność szczepów *E. coli* na antybiotyki. Właśnie te szczepy są powiązane ze zwiększoną zachorowalnością i śmiertelnością oraz wyższymi kosztami opieki zdrowotnej, ponieważ ograniczają skuteczność standardowych terapii antybiotykowych. Sytuację tę pogłębia jeszcze (i) nadużywanie i niewłaściwe stosowanie antybiotyków zarówno w placówkach ochrony zdrowia i opieki społecznej, dodatkowe zagrożenia wiążą się z (ii) rozprzestrzenianiem chorobotwórczych bakterii w ramach istniejących globalnych powiązań, międzynarodowych podróży (biegunki podróżnych), międzynarodowego handlu i dystrybucji żywności [80,81]. Ta sytuacja wymaga coraz efektywniejszych systemów nadzoru, doskonalszych narzędzi diagnostycznych i skutecznych metod leczniczych. Proponowane innowacyjne strategie terapeutyczne (np. terapie fagowe, nowatorskie ich kombinacje z antybiotykami, tworzone platformy biomodelowania interakcji z nowymi lekami), opierają się m.in. na bakterii *E. coli*, ale tym razem jako modelowym organizmie jelitowym o oportunistycznym patotypie w świecie drobnoustrojów [40,82]. Wyniki

tych nowoczesnych badań dają nadzieję na przełom w walce z chorobotwórczymi szczepami *E. coli*, a w perspektywie i na sprostanie kolejnym nowym wyzwaniom dotyczącym spersonalizowanej opieki medycznej [83].

## PRZYSZŁOŚĆ W ERZE DYNAMICZNIER ROZWIJAJĄCEJ SIĘ SZTUCZNEJ INTELIGENCJI

W przedstawionej wizji przyszłości badań z wykorzystaniem również bakterii *E. coli* ujawnia się jeszcze - warta podkreślenia - możliwa rola sztucznej inteligencji. AI w nauce zyskuje coraz większe znaczenie w przyspieszaniu postępu naukowego. W wyniku tego AI może zrewolucjonizować wiele dziedzin nauki, w tym biologię, chemię, fizykę, czy biotechnologię i bioinżynierię, włączając również medycynę oraz ochronę zdrowia publicznego (istnieją już koncepcje związane z futurystycznymi ideami świata lub wielu światów cyfrowego metawersu) [44,84,85]. Naukowcy intensywnie pracują nad tym, aby AI, dzięki rosnącej mocy obliczeniowej i tworzonym zaawansowanym algorytmom samouczącym się (ang. *machine/deep learning*, ML/DL), wsparła wykorzystanie zgromadzonej już ogromnej ilości danych (ang. *big data*, *data science*) [42]. Na przykład przez zastosowanie (i) AI w diagnostyce do rozpoznawania wzorców w genomach i rozszerzeniem diagnozy o opcje proponowanych strategii leczenia, jak i możliwości, że (ii) AI w podejmowanej terapii „dopasuje” skuteczny lek i jego dawkę do aktualnego stanu pacjenta [84,85]. Zauważmy, że prowadzone analizy genetyczne, proteomiczne oraz cyfrowe przechowywanie wyników tych badań i pomiarów generują ogromne zbiory danych, które zawierają ważne i często jeszcze nieodkryte fakty i powiązania, a które jednocześnie przekraczają możliwości tradycyjnych metod ich obróbki i analizy. Natomiast AI już teraz oferuje bardzo zaawansowane procedury i algorytmy obliczeniowe wraz z technikami efektywnego uczenia się z danych. Dodatkowo nowoczesne metody modelowania i symulacji, prognozowania, podejmowania decyzji oraz rozwiązywania problemów, przyspieszają proces dokonywania nowych odkryć i rozumienia zjawisk [40,86]. AI kreuje też „inteligentne” projektowanie eksperymentów, poprzez prowadzenie eksperymentów wirtualnych, symulacji prototypów i testowania wygenerowanych struktur molekularnych [87-89]. Tego typu innowacyjne podejścia z AI nie tylko znacząco skracają czas i koszty prowadzonych badań, ale także poszerzają ich zakres i poziom skomplikowania w obrębie analizowanych (bio)układów i (bio)procesów.

Zwiastunem skuteczności nowego trendu w rozwoju nauki, który umożliwia badaczom osiągać sukcesy, jeszcze dekadę temu dla nich niedostępne, jest na przykład Nagroda Nobla w dziedzinie chemii z 2024 roku. Otrzymali ją w 9 października 2024 roku brytyjski badacz i przedsiębiorca zajmujący się AI Demis Hassabis i amerykański chemik i informatyk John Jumper z Google Deep Mind „za przewidywanie struktury białek” oraz amerykański biochemik i biolog David Baker z Uniwersytetu Waszyngtońskiego „za obliczeniowe projektowanie białek” [10]. Opracowali oni (nagrodzony) system AlphaFold2, który przewiduje strukturę przestrzenną białek przy użyciu sztucznych sieci neuronowych (ang. *deep learning*, DL). Kolejne wersje ich AlphaFold bazowały na ogromnych zasobach danych i wie-

dzy zgromadzonej przez dekady. Interesujące jest, że była to druga Nagroda Nobla związana z AI. Pierwszą przyznano dzień wcześniej (8 października 2024) w dziedzinie fizyki dwóm badaczom, amerykańskiemu fizykowi Geofreyowi Hinton (z Uniwersytetu w Toronto) i brytyjsko-kanadyjskiemu informatykowi, kognytywiście i psychologowi Johnowi J. Hopfield (z Uniwersytetu Princeton), jako pionierom badań nad sieciami neuronowymi i ich zastosowań w uczeniu maszynowym, podkreślając przy tym, iż są to „fundamentalne odkrycia i wynalazki, które umożliwiają uczenie maszynowe z wykorzystaniem sztucznych sieci neuronowych” [10].

Jednocześnie pojawiają się i poważne obawy, czy tak szybki i niekontrolowany rozwój AI wraz z nowymi wyzwaniami, nie niesie ze sobą równocześnie pewnych zagrożeń i konsekwencji natury etycznej. Na przykład Komisja Europejska w swoim raporcie na temat „Wytucznych w zakresie etyki dotyczące godnej zaufania sztucznej inteligencji” [90] wskazała zarówno na moralną jak i prawną odpowiedzialność twórców AI oraz na konieczność tworzenia przez nich transparentnych systemów wraz z wglądem w ich motywacje i rekomendacje dla AI. Podejmowane są też prace m.in. nad (i) standaryzacją procesów przechowywania i etykietowania danych, (ii) wypracowaniem procedur cyberbezpieczeństwa (np. ochrony danych, na których systemy się uczą), (iii) zarządzania istniejącym i potencjalnym ryzykiem (np. możliwości popełniania błędów przez AI i niejasnej odpowiedzialności za nie) oraz (iv) regulacjami prawnymi zastosowania AI (np. dostępność nowych technik i technologii, dbałość o zdrowie i życie użytkowników jako priorytet, czy bilansowanie potencjalnych korzyści i możliwych strat, etc.) [84,91].

## PODSUMOWANIE I PRZYSZŁOŚĆ BADAŃ Z WYKORZYSTANIEM BAKTERII *E. coli*

W przeszłych, współczesnych i przyszłych badaniach nad/z pałeczką *E. coli* oraz w ich zastosowaniach istotna jest dostępność oraz uniwersalność bakterii. Właściwości te wynikają przede wszystkim ze zmienności i plastyczności jej genomu, warunkujących niezwykłą zdolność jej adaptacji do różnych środowisk. Ogromne znaczenie *E. coli* wzmacnia jeszcze jej zróżnicowany wpływ na zdrowie człowieka, przede wszystkim jako komensalnej bakterii mikrobioty jelitowej, ale też i patogennych szczepów. Włączając w to ich oddziaływanie na zdrowie publiczne szczególnie w kontekście globalnych kryzysów zdrowotnych, także tych wynikających z zagrożeń mikrobiologicznych.

Jednocześnie jako najlepiej poznany organizm jednokomórkowy bakteria *E. coli* jest atrakcyjnym i dostępnym modelem do badania wielu kluczowych molekularnych procesów życiowych w ramach eksperymentalnych i teoretycznych bionauk: biologii molekularnej, biochemii, biofizyki, genetyki czy bioinformatyki. Ponadto jest ona wykorzystywana w nowoczesnej mikrobiologii klinicznej oraz dynamicznie rozwijającej się biotechnologii przemysłowej.

Przegląd niezwykłych jej losów od odkrycia - dokonanego 140 lat temu - przez Theodora Escherichia ukazuje bakterię *E. coli* jako pierwszy najlepszy model mikrobiologiczny oraz

potwierdza, iż *E. coli* niezmiennie pozostaje tym „workhorse of molecular biology and biomedicine”. Niemniej należy podkreślić, że choć *E. coli* jest jednym z najlepiej zbadanych gatunków bakterii to wciąż istnieją luki w wiedzy na temat jej ekologii i historii naturalnej oraz znaczenia dla człowieka i środowiska, zarówno w warunkach fizjologii jak i patologii.

Nie ulega też wątpliwości, że organizm bakterii *E. coli* pozostanie jednym z kluczowych narzędzi nowoczesnej biologii i biotechnologii, a jej znaczenie w nowej erze sztucznej inteligencji będzie nadal rosło.

## PIŚMIENNICTWO

1. Geurtsen J, de Been M, Weerdenburg E, Zomer A, McNally A, Poolman J (2022) Genomics and pathotypes of the many faces of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Rev* 46(6): fuac031
2. Naidoo N, Zishir, OT (2025) Presence, Pathogenicity, Antibiotic Resistance, and Virulence Factors of *Escherichia coli*: A Review. *Bacteria* 4(1): 16
3. Scheutz F, Strockbine NA (2005) Genus I. *Escherichia*. W: Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (red.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume Two: The Proteobacteria. Part B: The Gammaproteobacteria. Springer International Publishing, New York (second edition), str. 607
4. Blattner FR, Plunkett G3rd, Bloch CA, Perna NT, Burland V, Riley M, Collado-Vides J, Glasner JD, Rode CK, Mayhew GF, Gregor J, Davis NW, Kirkpatrick HA, Goeden MA, Rose DJ, Mau B, Shao Y (1997) The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science* 277(5331): 1453-1462
5. Ruiz N, Silhavy TJ (2022) How *Escherichia coli* Became the Flagship Bacterium of Molecular Biology. *J Bacteriol* 204(9): e0023022
6. Ingerson-Mahar M, Reid A (2011) FAQ: *E. coli*: good, bad, and deadly. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562895/pdf/Bookshelf\\_NBK562895.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562895/pdf/Bookshelf_NBK562895.pdf)
7. Bansal S, Rodriguez CZ, Thompson-Witrick KA, Wang Y, Taft DH, Zhang B (2025) Machine Learning-Powered Multi-Omics for Food Microbiology and Smarter Food Safety. *TIFS* 2025: 105145
8. Meunier A, Govers SK (2025) Cell cycle regulation in *Escherichia coli*: from governing principles, checkpoints, and control variables to molecular mechanisms. *Curr Opin Microbiol* 86: 102616
9. Sokołowska B (2025) Ocena mechanizmów naprawy DNA w modelu *E. coli* z zastosowaniem klasyfikacji nadzorowanej i algorytmów uczących się. W: Kalbarczyk K, Pomajda P, Kinga Kalbarczyk (red.) *Współczesna mikrobiologia - aktualne wyzwania, zastosowania i kierunki badań*. Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, Lublin, str. 32-55
10. The official website of the Nobel Prize, <https://www.nobelprize.org/prizes/lists/all-nobel-prizes/> (Dostęp 2025-10-10).
11. Müller B, Grossniklaus U (2010) Model organisms - A historical perspective. *J Proteom* 73(11): 2054-2063
12. Włoch-Salamon D, Strzałka W, Labocha-Derkowska M, Górska-Andrzejak J, Rutkowska J, Grzmil P (2016) Poczёт modelowych organizmów badawczych. *Wszechświat* 117(7-9): 194-208
13. Park SC, Lee K, Kim YO, Won S, Chun J (2019) Large-Scale Genomics Reveals the Genetic Characteristics of Seven Species and Importance of Phylogenetic Distance for Estimating Pan-Genome Size. *Front Microbiol* 10: 834
14. Feuermann M, Mi H, Gaudet P, Muruganujan A, Lewis SE, Ebert D, Mushayamama T, Gene Ontology Consortium, Thomas PD (2025) A compendium of human gene functions derived from evolutionary modelling. *Nature* 640(8057): 146-154
15. Shulman ST, Friedmann HC, Sims RH (2007) Theodor Escherich: the first pediatric infectious diseases physician? *Clin Infect Dis* 45(8): 1025-1029
16. Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Włodarska M, Finlay BB (2013) Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 26(4): 822-880

17. Friedmann HC (2017) Escherich and Escherichia. *EcoSal Plus* 6(1): 1-34
18. García A, Fox JG (2021) A One Health Perspective for Defining and Deciphering *Escherichia coli* Pathogenic Potential in Multiple Hosts. *Comp Med* 71(1): 3-45
19. Dunne KA, Chaudhuri RR, Rossiter AE, Beriotta I, Browning DF, Squire D, Cunningham AF, Cole JA, Loman N, Henderson IR (2017) Sequencing a piece of history: complete genome sequence of the original *Escherichia coli* strain. *Microb Genom* 3(3): mgen000106
20. Khetrapal V, Mehershahi KS, Chen SL (2017) Complete Genome Sequence of the Original *Escherichia coli* Isolate, Strain NCTC86. *Genome Announc* 5(16): e00243-17
21. Blount ZD (2015) The unexhausted potential of *E. coli*. *eLife* 4: e05826
22. Rojaz-Lopez M, Monterio R, Pizza M, Desvaux M, Rosini R (2018) Intestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Insights for Vaccine Development. *Front Microbiol* 9: 440
23. Kaas RS, Friis C, Ussery DW, Aarestrup F (2012) Estimating variation within the genes ad interfering the phylogeny of 186 sequenced diverse *Escherichia coli* genomes. *BMC Genomics* 13: 57
24. Pennington H (2010) *Escherichia coli* O157. *Lancet* 376: 1428-1435
25. Foster-Nyarko E, Pallen MJ (2022) The microbial ecology of *Escherichia coli* in the vertebrate gut. *FEMS Microbiol Rev* 46(3): fuac008
26. Clermont O, Christenson JK, Denamur JK, Gordon DM (2013) The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environ Microbiol Rep* 5(1): 58-65
27. Póltorak K, Wieczorek K, Osek J (2016) Patogenne *Escherichia coli* – mechanizmy chorobotwórczości. *Med Weter* 72(6): 352-357
28. Pappelbaum K, Kasprzak J, Czaczyk K (2015) Występowanie werotoksycznych *Escherichia coli* w żywności, ze szczególnym uwzględnieniem serotypu O104:H4. *Żywn Nauka Technol Jakość* 5(102): 33-48
29. Assefa A, Bihon A (2018) A systematic review and meta-analysis of prevalence of *Escherichia coli* in foods of animal origin in Ethiopia. *Heliyon* 4(8): e00716
30. Law JW, Ab Mutalib N, Chan K, Lee L (2014) Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations. *Front Microbiol* 5: 770
31. Abdullahi IN, Trabelsi I (2025) Guts of healthy humans, livestock, and pets harbor critical-priority and high-risk *Escherichia coli* clones. *Epidemiol Health* 47: e2025013
32. Dąbrowska K, Matejczyk M (2019) Patogenne szczepy *Escherichia coli* i zagrożenia z nimi związane. *Postępy Nauk Technol Prz Rol-Spoż* 74(1): 1
33. Gniewosz M, Mamczur A, Andrzejczak-Grządło S (2025) Charakterystyka czynników wirulencji *Escherichia coli*. W: Kalbarczyk K, Pomajda P, Kinga Kalbarczyk (red.) *Współczesna mikrobiologia – aktualne wyzwania, zastosowania i kierunki badań*. Wydawnictwo Naukowe WYGIEL, Lublin, str. 56-69
34. Gomes TAT, Elias WP, Scaletsky ICA, Guth BEC, Rodrigues JF, Piaza RMF, Ferreira LCS, Martinez MB (2016) Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Braz J Microbiol* 47(Suppl 1): 3-30
35. Leimbach A, Hacker J, Dobrindt U (2013) *E. coli* as an all-rounder: the thin line between commensalism and pathogenicity. *Curr Top Microbiol Immunol* 358: 3-32
36. Kerek Á, Román I, Szabó Á, Kovács D, Kardos G, Kovács L, Jerzsele Á (2025) Antibiotic resistance genes in *Escherichia coli* - literature review. *Crit Rev Microbiol* 18:1-35
37. Nasrollahian S, Graham JP, Halaji M (2024) A review of the mechanisms that confer antibiotic resistance in pathotypes of *E. coli*. *Front Cell Infect Microbiol* 14: 1387497
38. Yun YS, Park DY, Oh IH, Shin WR, Ahn G, Ahn JY, Kim YH (2025) Pathogenic Factors and Recent Study on the Rapid Detection of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC). *Mol Biotechnol* 67(1): 16-26
39. Salvador-Erro J, Pastor Y, Gamazo C (2025) Targeting Enterotoxins: Advancing Vaccine Development for Enterotoxigenic *Escherichia coli* ETEC. *Toxins (Basel)* 17(2): 71
40. Zhang Z, Wei M, Jia B, Yuan Y (2024) Recent Advances in Antimicrobial Resistance: Insights from *Escherichia coli* as a Model Organism. *Microorganisms* 13(1): 51
41. Chetri S (2025) *Escherichia coli*: An arduous voyage from commensal to Antibiotic-resistance. *Microb Pathog* 198:107173
42. Koblitz J, Reimer LC, Pukall R, Overmann J (2025) Predicting bacterial phenotypic traits through improved machine learning using high-quality, curated datasets. *Commun Biol* 8(1): 897
43. Giuntini S, Stoppato M, Sedic M, Ejemel M, Pondish JR, Wisheart D, Schiller ZA, Thomas Jr. WD, Barry EM, Cavacini LA, Klemmner MS, Wang Y (2018) Identification and Characterization of Human Monoclonal Antibodies for Immunoprophylaxis against Enterotoxigenic *Escherichia coli* Infection. *Infect Immun* 86(8): e00355-18
44. Guo M, Lv X, Wang D, Chen H, Wei F (2025) Innovative integration of computer vision, IoT, and digital twin in food quality and safety assessment. *TIFS* 2025: 105176
45. Kumar D, Malviya R (2025) Biosensor to Detect and Analyse Food Quality: Integrating Chemical Sensors with Nanotechnology. *TIFS* 2025: 105337
46. Li H, Gänzle M (2016) Some Like It Hot: Heat Resistance of *Escherichia coli* in Food. *Front Microbiol* 7: 1763
47. de Carvalho RMPP, Gonzalez AGM, Ramos GLPA (2025) Quantitative microbiological risk assessment for Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food: A review. *Food Res Int* 214: 11664
48. Wójcicki M, Sokołowska B, Górski A, Jończyk-Matysiak E (2025) Dual nature of bacteriophages: friends or foes in minimally processed food products - a comprehensive review. *Viruses* 17(6):778
49. Jarzab A, Górski-Frączek S, Rybka J, Witkowska D (2011) Zakażenia pałeczkami jelitowymi – diagnostyka, oporność na antybiotyki i profilaktyka. *Postępy Hig Med Dośw* 65: 55-72
50. Fratamico PM, DebRoy C, Liu Y, Needleman DS, Baranzoni GM, Feng P (2016) Advances in Molecular Serotyping and Subtyping of *Escherichia coli*. *Front Microbiol* 7: 644
51. Quadri F, Svennerholm A, Faruque ASG, Sack RB (2005) Enterotoxigenic *Escherichia coli* in Developing Countries: Epidemiology, Microbiology, Clinical Features, Treatment and Prevention. *Clin Microbiol Rev* 18(3): 465-464
52. von Mentzer A, Svennerholm AM (2024) Colonization factors of human and animal-specific enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC). *Trends Microbiol* 32(5): 448-464
53. Santos-Beneit F (2024) What is the role of microbial biotechnology and genetic engineering in medicine? *Microbiologyopen* 13(2): e1406
54. Holzer K, Marongiu L, Detert K, Venturilli S, Schmidt H, Hoelzle LE (2025) Phage applications for biocontrol of enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Int J Food Microbiol* 439: 111267
55. Anastassopoulou C, Feros S, Petsimeri A, Gioula G, Tsakris A (2024) Phage-Based Therapy in Combination with Antibiotics: A Promising Alternative against Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens. *Pathogens* 13(10): 896
56. Łobocka M, Dąbrowska K, Górski A (2021) Engineered Bacteriophage Therapeutics: Rationale, Challenges and Future. *BioDrugs* 35(3): 255-280
57. Peng H, Chen IA, Qimron U (2025) Engineering Phages to Fight Multidrug-Resistant Bacteria. *Chem Rev* 125(2): 933-971
58. Manos J (2022) The human microbiome in disease and pathology. *APMIS: Acta Path Microbiol Immunol Scand* 130(12), 690-705
59. Bai X, Huang Z, Duraj-Thatte AM, Ebert MP, Zhang F, Burgermeister E, Liu X, Scott BM, Li G, Zuo T (2023) Engineering the gut microbiome. *Nat Rev Bioeng* 1(9), 665-679
60. Sender R, Fuchs S, Milo R (2016) Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol* 14(8): e1002533
61. McElwain L, Phair K, Kealey C, Brady D (2022) Current trends in biopharmaceuticals production in *Escherichia coli*. *Biotechnol Lett* 44(8): 917-931

62. Sharma S, Pathania S, Bhagta S, Kaushal N, Bhardwaj S, Bhatia RK, Walia A (2024) Microbial remediation of polluted environment by using recombinant *E. coli*: a review. *Env Biotechnol* 1(1): 8
63. İncir İ, Kaplan Ö (2025) *Escherichia coli* in the production of biopharmaceuticals. *Biotechnol Appl Biochem* 72(2): 528-541
64. Gibson B, Wilson DJ, Feil E, Eyre-Walker A (2018) The distribution of bacterial doubling times in the wild. *Proc Biol Sci* 285(1880): 20180789
65. Dylewska M, Dąbrowska I, Ćwiek K, Padoł K, Mielecki D, Sokołowska B, Poznański J, Maciejewska AM (2025) AlkA Glycosylase and AlkB Dioxygenase Constitute an Effective Protective System for Endogenously Arising Acrolein: *E. coli* AlkA Glycosylase Excises Acrolein Adduct to Adenine. *J Mol Biol* 437(2):168912
66. Lenski RE (2017) What is adaptation by natural selection? Perspectives of an experimental microbiologist. *PLoS Genet* 13: e1006668
67. Lenski RE (2023) Revisiting the Design of the Long-Term Evolution Experiment with *Escherichia coli*. *J Mol Evol* 91(3): 241-253
68. Callaway E (2025) These are the 20 most-studied bacteria - the majority have been ignored. *Nature* 637(8047): 770-771. doi: 10.1038/d41586-025-00038-x
69. Jensen PA. Ten species comprise half of the bacteriology literature, leaving most species unstudied. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2025.01.04.631297v1.full.pdf>.
70. Baker BJ, Hyde E, Leão P (2024) Nature should be the model for microbial sciences. *J Bacteriol* 206(9): e0022824
71. Ishihama A (2018) Building a complete image of genome regulation in the model organism *Escherichia coli*. *J Gen Appl Microbiol* 63(6): 311-324
72. Ullmann A (2011) *Escherichia coli* and the Emergence of Molecular Biology. *EcoSalPlus* doi:10.1128/ecosalplus.1.1.2
73. Luria SE, Delbrück M (1943) Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics* 28: 491-511
74. Crick FH, Barnett L, Brenner S, Watts-Tobin RJ (1961) General nature of the genetic code for proteins. *Nature* 192: 1227-1232
75. <https://www.sciencelearn.org.nz/resources/1899-e-coli-the-bio-tech-bacterium> (Dostęp 2025-12-09)
76. El-Gewely MR (2025) Recombinant DNA the Bio-Revolution, Between Promise, Hurdles, and Achievements. *Intl J Mol Sci* 26(14): 6611
77. Schlegel S, Genevaux P, de Gier J (2017) Isolating *Escherichia coli* strains for recombinant protein production. *Cell Mol Life Sci* 74(5): 891-908
78. İncir İ, Kaplan Ö (2024) *Escherichia coli* as a versatile cell factory: Advances and challenges in recombinant protein production. *Protein Expr Purif* 219: 106463
79. Lokireddy SR, Kunchala SR, Vadde R (2025) Advancements in *Escherichia coli* secretion systems for enhanced recombinant protein production. *World J Microbiol Biotechnol* 41(3): 90
80. Carroll SC, Castellanos ME, Stevenson RA, Henning L (2025) Incidence and risk factors for travellers' diarrhoea among short-term international adult travellers from high-income countries: a systematic review with meta-analysis of cohort studies. *J Travel Med* 32(2): taae008
81. Blake KS, Schwartz DJ, Paruthiyil S, Wang B, Ning J, Isidean SD, Burns DS, Whiteson H, Lalani T, Fraser JA, Connor P, Troth T, Porter CK, Tribble DR, Riddle MS, Gutiérrez RL, Simons MP, Dantas G (2024) Gut microbiome and antibiotic resistance effects during travellers' diarrhoea treatment and prevention. *mBio* 15(1): e0279023
82. Iacovelli R, Sokolova N, Haslinger K (2022) Striving for sustainable biosynthesis: discovery, diversification, and production of antimicrobial drugs in *Escherichia coli*. *Biochem Soc Trans* 50(5): 1315-1328
83. Aljohani MS, Harun-Ur-Rashid M, Selim S (2025) Emerging threats: Antimicrobial resistance in extended-spectrum beta-lactamase and carbapenem-resistant *Escherichia coli*. *Microb Pathog* 200: 107275
84. Sokołowska B (2024) Being in Virtual Reality and Its Influence on Brain Health-An Overview of Benefits, Limitations and Prospects. *Brain Sci* 14(1): 72
85. Raslan MA, Raslan SA, Shehata EM, Mahmoud AS, Sabri NA (2023) Advances in the Applications of Bioinformatics and Chemoinformatics. *Pharmaceuticals (Basel)* 16(7): 1050
86. Chen P, Chen J, Ye J, Yang L (2023) Identification of an Immune-Related Gene Diagnostic Model and Potential Drugs in Sepsis Using Bioinformatics and Pharmacogenomics Approaches. *Infect Drug Resist* 16: 5665-5680
87. Chang J, Wang H, Su W, He X, Tan M (2025) Artificial intelligence in food bioactive peptides screening: Recent advances and future prospects. *TIFS* 156, 104845
88. Gaye A, Paflo BN, Oware DA (2025) Assessing the reliability of AI-driven predictive models in food safety risk management. *Int J Comput Res* 6(2): 49-58
89. Kumar Y, Kaur I, Mishra S (2024) Foodborne disease symptoms, diagnostics, and predictions using artificial intelligence-based learning approaches: A systematic review. *Arch Comput Methods Eng* 31(2): 553-578
90. Link do Raportu Komisji Europejskiej dot. AI: [http://www.europart.europa.eu/meetdocs/2014\\_2019/plmrep/COMMITTEES/JURI/DV/2019/11-06/Ethics-guidelines-AI\\_PL.pdf](http://www.europart.europa.eu/meetdocs/2014_2019/plmrep/COMMITTEES/JURI/DV/2019/11-06/Ethics-guidelines-AI_PL.pdf) (Dostęp 2025-10-10)
91. Słowiński R (2025) Sztuczna inteligencja – jej rozwój, szanse i zagrożenia. W: Kaczorowski J (red.) *Człowiek wobec sztucznej inteligencji*. Wydawnictwo PAN, Poznań, str. 9-29

# 140 years of the model organism *Escherichia coli* as the “workhorse of molecular biology and biomedicine”

Beata Sokołowska✉

Bioinformatics Laboratory, Mossakowski Medical Research Institute, Polish Academy of Sciences, Warsaw

✉corresponding author: beta.sokolowska@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-0547-303X>

**Keywords:** *Escherichia coli* (*E. coli*); commensal and pathogenic strains; public health; model organism; novel technologies; artificial intelligence (AI) and machine learning (ML)

The *Escherichia coli* bacterium is presented from its discovery in 1885 by the German-Austrian microbiologist and pediatrician Theodor Escherich, to contemporary research using state-of-the-art experimental and bioinformatic techniques, including artificial intelligence and machine learning. *E. coli* accompany humans from birth as a commensal organism of the gut microbiota. However, some *E. coli* strains exhibit pathogenic properties, causing intestinal and extraintestinal diseases, sometimes threatening the health and even life of the host. At the same time, 140 years after the discovery of *E. coli* bacteria, it is the best-studied single-celled organism in the world. Molecular biologists, bacteriologists, and biochemists point to the enormous importance of *E. coli* as a model organism in understanding the molecular mechanisms of key life processes in both health and disease, as well as its use in industrial-scale biotechnology. That is why *E. coli* is called the “workhorse of molecular biology and biomedicine,” and scientists working with *E. coli* strains have been recognized and honored for their discoveries with numerous Nobel Prizes.

