

**Molekularny mechanizm krzyżowego działania dwóch czynników transkrypcyjnych:
białka C systemu restrykcyjno-modyfikacyjnego Csp231I oraz represora RacR
defektywnego profaga *Escherichia coli*.
mgr Aleksandra Wiśniewska**

Streszczenie

Podstawowe procesy życiowe u wszystkich organizmów żywych regulowane są najczęściej poprzez kontrolę ekspresji genów, która pozwala dostosować się do szybko zmieniającego się otoczenia, co zwiększa szansę przetrwania. Taka kontrola jest wielopoziomowa, ale w dużej mierze odbywa się na etapie ekspresji genów w procesie transkrypcji. U bakterii, regulacja ekspresji genów zwykle nie odbywa się dla pojedynczych genów, ale całych grup genów (operonów/regulonów), które razem tworzą komórkową globalną sieć transkrypcyjną. Jej sprawne funkcjonowanie, wzajemne powiązanie i koordynacja procesów regulatorowych opierają się głównie na działaniu czynników transkrypcyjnych (TF, ang. *transcription factor*), które zwykle są małymi białkami wiążącymi DNA. TF oddziałują z DNA poprzez rozpoznawanie specyficznych, docelowych sekwencji nukleotydowych (ang. *target sites; primary sites*), ale są w stanie również rozpoznawać inne sekwencje, poza swoim celem (ang. *off-target sites; secondary sites*), czasem w sposób bardziej rozluźniony. Nie jest jednak jasne do tej pory, jakie mechanizmy rządzą tymi interakcjami: docelowymi i poza swoim celem, i jak one wpływają na ogólną sieć regulatorową. Ważne jest to także w sytuacji, gdy komórka pobiera fragment DNA niosący genetyczny moduł DNA zawierający TF, np. na drodze horyzontalnego transferu genów. W toku naszych badań zauważyliśmy, że wprowadzenie genów systemu restrykcyjno-modyfikacyjnego (R-M) Typu II - Csp231I na plazmidzie, skutkuje ciekawym zjawiskiem tworzenia się drastycznie wydłużonych komórek *E. coli*.

Celem badań w przedstawianej rozprawie doktorskiej było zbadanie mechanizmu molekularnego odpowiedzialnego za proces formowania się wydłużonych komórek bakteryjnych (tzw. filamentów) w szczepie *Escherichia coli* MG1655 niosących geny systemu R-M Typu II Csp231I, pochodzącego ze spokrewnionej bakterii *Citrobacter* sp. RFL231. Badania wykazały, że białko regulatorowe C, odpowiedzialne za regulację ekspresji genów systemu R-M, bierze także udział w zakłócaniu transkrypcji w regulonie *E. coli* w obrębie rejonu profaga kryptycznego Rac. Pokazano, że dochodzi do zjawiska krzyżowego działania (ang. *transcriptional cross-talk*) pomiędzy dwoma czynnikami transkrypcyjnymi: białkiem C pochodzącym z systemu R-M oraz represorem RacR defektywnego profaga Rac. Zmapowano miejsce wiązania białka C w obrębie sekwencji DNA kodującej gen *racR*. Wykazano, że to wiązanie znacząco zmniejsza ekspresję represora RacR, i ten nie jest w

stanie dłużej blokować ekspresji sąsiednich genów *ydaS* oraz *ydaT*. Z kolei, ich de-represja powoduje powstawanie filamentów komórkowych prawdopodobnie przez ujawnienie się ekspresji genu *YdaT*, który w warunkach fizjologicznych jest kompletnie wyciszony i nie można wykryć jego transkryptu. W pracy doktorskiej zidentyfikowano elementy genetyczne biorące udział w deregulacji operonu *racR-ydaST* przez regulator C w warunkach *in vivo* oraz *in vitro*. Zbadano wpływ tego procesu na żywotność komórek gospodarza. Nie jest jasne czy te zjawiska są przypadkowe, ale otrzymane wyniki pokazują przykład zdarzenia horyzontalnego transferu genów, które może prowadzić do zmniejszenia żywotności komórek gospodarza, a nawet jego śmierci.