

**Martyna Gongerowska-Jac**

Tytuł rozprawy doktorskiej: Współdziałanie topoiizomeraz i białek wiążących DNA w kontrolowaniu topologii chromosomu, regulacji transkrypcji i odpowiedzi na stres u *Streptomyces*

### Streszczenie

*Streptomyces* to Gram-dodatnie, wolnożyjące bakterie, które przechodzą złożony cykl życiowy obejmujący wytwarzanie strzępek oraz zarodników. Tryb życia, jak również złożoność cyklu rozwojowego tych organizmów związane są ze skomplikowanymi mechanizmami regulacji ekspresji genów, obejmującymi produkcję szerokiej gamy białek regulatorowych. Do czynników regulujących ekspresję genów należy również superskręcenie DNA. W komórkach superskręcenie DNA jest warunkowane przez działanie enzymów, zwanych topoiizomerazami. Genom *S. coelicolor*, modelowego gatunku do badań *Streptomyces*, koduje tylko trzy topoiizomerazy: topoiizomerazę I (TopA), gyrazę oraz topoiizomerazę IV. Białko TopA usuwa negatywne superskręty DNA i jest niezbędne dla przeżycia *S. coelicolor*. Zwiększenie superskręcenia chromosomu, wywołane obniżeniem poziomu białka TopA prowadzi u *S. coelicolor* do znacznego opóźnienia wzrostu oraz zahamowania procesu wytwarzania zarodników. Dla utrzymania homeostazy topologicznej w komórkach istotna jest dokładna regulacja poziomu białka TopA w komórkach oraz jego współdziałanie z innymi białkami w utrzymywaniu prawidłowej struktury chromosomu.

Celem niniejszych badań było zbadanie mechanizmu regulacji poziomu TopA oraz współdziałania TopA z innymi białkami w utrzymaniu homeostazy topologicznej i regulacji ekspresji genów. Dzięki zastosowaniu losowej mutagenyzy transpozonowej przygotowano dwie biblioteki, których przeszukania umożliwiły znalezienie potencjalnych regulatorów wpływających na transkrypcję genu *topA* oraz białek wpływających na zahamowanie sporulacji w odpowiedzi na wysokie superskręcenie DNA. Podczas badań zostało zidentyfikowane białko SCO4804 jako potencjalny regulator transkrypcji. Białko to odpowiada za aktywację promotora *topA*, natomiast w wyniku mutacji kodującego je genu obserwuje się znaczny spadek poziomu TopA w komórkach. Poszukiwanie supresorów deplecji TopA wskazało na potencjalną rolę białka Lsr2 oraz ParB w regulowaniu topologii chromosomu. Dodatkowo, zidentyfikowano nowy system dwuskładnikowy SCO3390-SCO3389 (SatKR), który wpływa na aktywację genów z regionu *shc* aktywnowanego przez zwiększone superskręcenie. Region ten jest silnie aktywowany również

w odpowiedzi na podwyższoną ilość regulatora odpowiedzi SCO3389 (SatR). Sugeruje się, że w obrębie tego regionu kodowane są geny przyczyniające się do silnych zmian fenotypowych zachodzących podczas zwiększania superskręcenia chromosomów, w tym do zablokowania sporulacji.