

**Magdalena Donczew**

## **TYTUŁ ROZPRAWY**

Analiza dynamiki wzrostu, różnicowania i segregacji chromosomów u  
*Streptomyces venezuelae*

## **STRESZCZENIE**

Bakterie rodzaju *Streptomyces* znane są z produkcji szeregu metabolitów wtórnych o znaczeniu przemysłowym, medycznym i farmaceutycznym w tym większości stosowanych antybiotyków pochodzenia naturalnego. Charakteryzują się one złożonym cyklem życiowym, obejmującym początkowo wytwarzanie wielogenomowej grzybni wegetatywnej, a po wyczerpaniu składników odżywczych w podłożu, grzybni powietrznej, która ulega różnicowaniu w łańcuchy jednogenomowych zarodników w procesie zwanym sporulacją. Sporulacja rozpoczyna się po zatrzymaniu wydłużania strzępki i wymaga synchronicznych podziałów komórki sporogenicznej. Proces podziału strzępki jest inicjowany przez białko FtsZ, którego polimery tworzą struktury pierścieni Z, wyznaczających miejsca tworzenia przegród poprzecznych w strzępce. Krótco przed sporulacją, po zakończeniu intensywnej replikacji chromosomów w wielogenomowych strzępkach grzybni powietrznej dochodzi do jednoczesnej kondensacji i segregacji kilkudziesięciu chromosomów. U *Streptomyces*, podobnie jak u większości bakterii modelowych, w proces segregacji chromosomów zaangażowane są białka ParA i ParB. Białko ParB wiąże specyficznje sekwencje *parS* znajdujące się w centralnej części chromosomu. Warunkuje to powstanie dużego kompleksu nukleoproteinowego, zwanego segrosomem. ParA jest słabą ATPazą i tworzy polimery rozciągające się wzdłuż strzępki, zaangażowane w prawidłową dystrybucję kompleksów ParB-*parS*. Pomimo intensywnych badań nad różnicowaniem *Streptomyces*, prowadzonych od ponad 60 lat, proces sporulacji nadal nie jest w pełni poznany.

W ramach niniejszej pracy doktorskiej, wykorzystując technikę filmów poklatkowych, zbadano wpływ białek segregacyjnych ParAB na szybkość wzrostu strzępek sporulujących, ich różnicowanie i tworzenie przegród poprzecznych. Badania prowadzono na nowym modelowym organizmie, *S. venezuelae*. Wykazano, że delecja genu kodującego białko ParA skutkuje znacznym

zwiększeniem szybkości wydłużania strzępek, natomiast eliminacja białka ParB wyraźnym spowolnieniem tempa wzrostu strzępki. Analiza lokalizacji białek fluorescencyjnych ParA-EGFP, ParB-EGFP i FtsZ-YPET dowiodła, że zatrzymanie wydłużania strzępki zbiega się w czasie z formowaniem regularnie rozmieszczonych segrosomów oraz pierścieni Z. Dodatkowo, wykorzystując technikę CHIP-seq dowiedziono, że ParA zwiększając wiązanie ParB do DNA, jest zaangażowane w organizację segrosomów. Wykazano również, że zmiany w organizacji chromosomu związane z usunięciem białek segregacyjnych ParA i/lub ParB lub zmienionym poziomem topoizomerazy I (TopA) przyczyniają się do zaburzeń w procesie formowania pierścieni Z. Delecja *parB* i *parAB* skutkowało wyraźnie wcześniejszym formowaniem pierścieni Z. Obniżenie poziomu TopA powodowało, że pierścienie Z tworzone były już krótko po rozpoczęciu wydłużania strzępki grzybni powietrznej.

Uzyskane wyniki pokazują, że białka ParAB są niezbędne nie tylko dla prawidłowej segregacji chromosomów ale także regulują tworzenie przegród poprzecznych w sporulujących strzępkach *S. venezuelae*. Wpływają one także na długość, szybkość wzrostu i różnicowanie strzępek.