

**Marta Kołodziej**  
**„Rola białka Lsr2 w organizacji chromosomu**  
**i regulacji ekspresji genów u *Mycobacterium smegmatis*”**

**Streszczenie**

Białka związane z nukleoidem (NAP, *nucleoid-associated proteins*) są odpowiedzialne za utrzymanie wysoce zorganizowanej i równocześnie dynamicznej struktury chromosomu bakteryjnego. Bakterie rodzaju *Mycobacterium* mają swoisty zestaw białek NAP, w tym Lsr2, które jest strukturalnym i funkcjonalnym homologiem H-NS z *E. coli*. Białko Lsr2 wiąże się do DNA preferencyjnie w regionach bogatych w pary AT powodując zbliżanie relatywnie odległych fragmentów chromosomu. Ponadto, jest ono zaangażowane w regulację procesu transkrypcji.

W niniejszej pracy doktorskiej pokazano, że delecja genu *lsr2* ma plejotropowy wpływ na morfologię komórek *Mycobacterium smegmatis*, saprofitycznej bakterii, która jest organizmem modelowym w badaniach dotyczących biologii prątków. Komórki pozbawione Lsr2 są krótsze, szersze i sztywniejsze niż komórki typu dzikiego. Zaobserwowane defekty morfologiczne są prawdopodobnie spowodowane zmianami w profilu transkrypcji genów i dlatego zbadano również rolę białka Lsr2 jako czynnika transkrypcyjnego. Analiza danych pochodzących z eksperymentów ChIP-seq i RNA-seq wykazała, że Lsr2 działa głównie jako represor, kontrolując ekspresję genów bezpośrednio poprzez wiązanie regionów promotorowych lub pośrednio przez tworzenie pętli i opłaszczanie DNA. Jeden z genów podlegających represji przez Lsr2, koduje syntazę poliketydów (MSMEG\_4727), która bierze udział w syntezie lipooligosacharydów (LOS). Szczep *M. smegmatis* pozbawiony genu *lsr2* wytwarza więcej LOSów, co wpływa na zmiany składu otoczki komórkowej i jej właściwości fizyczne.

W dalszych badaniach, w których wykorzystano mikroskopię fluorescencyjną w czasie rzeczywistym (TLFM *time lapse fluorescent microscopy*), wykazano, że białko Lsr2 bierze również udział w utrzymaniu struktury chromosomu i wpływa na proces replikacji DNA. Pokazano, że znakowane fluorescencyjnie białko Lsr2 tworzy duże, dynamiczne kompleksy nukleoproteinowe. Wykazano, że N-końcowa domena oligomeryzacyjna białka Lsr2 jest niezbędna do powstawania charakterystycznych, jasnych skupisk fluorescencji widocznych podczas obserwacji mikroskopowych. Ponadto, delecja *lsr2* znacząco wpływa na czas replikacji chromosomu i dynamikę replisomów. Jedną z rozważanych hipotez dotyczących wpływu Lsr2 na

organizację chromosomu zakłada, że białko to jest odpowiedzialne za uporządkowanie nowo zreplikowanego DNA.

W komórkach *M. smegmatis* niedawno zidentyfikowany został paralog białka Lsr2 - białko MSMEG\_1060, które nie występuje u chorobotwórczego gatunku *M. tuberculosis*. W niniejszej pracy wykazano, że białka Lsr2 i MSMEG\_1060 wykazują różną swoistość wiązania DNA i lokalizację subkomórkową. Przeprowadzone eksperymenty wskazują na to, że białka te pomagają komórkom *M. smegmatis* przetrwać stres spowodowany obniżonym poziomem tlenu czy ekspozycją na antybiotyki.