

DAMIAN TROJANOWSKI

Analiza dynamiki replisomów w trakcie cyklu komórkowego *Mycobacterium smegmatis*

Streszczenie

Rodzaj *Mycobacterium* obejmuje m. in. chorobotwórcze bakterie wywołujące zakażenia zarówno u ludzi (*M. tuberculosis*, *M. leprae*) jak i u zwierząt (*M. bovis*). Prątki są czynnikiem etiologicznym groźnych chorób zakaźnych w tym gruźlicy ludzi i zwierząt, w związku z tym stanowią istotny problem zdrowotny (i ekonomiczny) w większości krajów. Dotychczas prątki badano głównie w aspekcie ich chorobotwórczości. Niewiele jednak wiadomo o biologii komórki tych wolno rosnących bakterii. Najnowsze doniesienia wskazują na istnienie wielu unikalnych cech prątków. Komórki *Mycobacterium*, w przeciwieństwie do innych modelowych organizmów (*E. coli* i *B. subtilis*), wydłużają się na wierzchołkach, a asymetryczna lokalizacja przegrody podziałowej daje początek dwóm nierównocennym pod względem długości i szybkości wzrostu komórkom potomnym. Niepełna wiedza na temat cyklu komórkowego prątków, a zwłaszcza jego kluczowego etapu, replikacji chromosomu, skłoniły mnie do podjęcia badań nad dynamiką replikacji w komórkach *M. smegmatis* – niechorobotwórczym organizmie modelowym często wykorzystywanym do badania biologii prątków. W tym celu przygotowałem szereg fluorescencyjnych szczepów reporterowych, w których kluczowe białka biorące udział w replikacji (katalityczną podjednostkę alfa, białko DnaN – beta klamrę) poddano fuzji z białkami fluorescencyjnymi. Mikroprzepływową mikroskopia fluorescencyjna w czasie rzeczywistym pokazała, że replisomy w komórkach *M. smegmatis* są bardzo dynamiczne; widełki replikacyjne wielokrotnie rozdzielają się i łączą w cyklu komórkowym. Jednak w przeciwieństwie do replisomów *E. coli*, widełki replikacyjne *M. smegmatis* nie rozdzielają się na znaczącą odległość, lecz pozostają blisko siebie (10-20% długości komórki). Ponadto replisomy *M. smegmatis* lokalizują się asymetrycznie w komórce. Zjawisko to może być powiązane z asymetrycznym podziałem tych bakterii. W pracy wykazałem również, że populacja komórek *M. smegmatis* pod względem dynamiki procesu replikacji jest heterogenna. Obok bakterii, które inicjują swoją

replikację jeden raz w cyklu komórkowym, istnieje subpopulacja (do 18% wszystkich komórek), w której dochodzi do reinicjacji replikacji – zjawiska obserwowanego wcześniej jedynie u bakterii szybko rosnących. W niniejszej rozprawie opisano po raz pierwszy zjawisko inicjacji kolejnej rundy replikacji w tym samym cyklu komórkowym u bakterii wolno rosnących. Wyniki uzyskane przeze mnie przyczyniły się do lepszego zrozumienia cyklu komórkowego prątków.