

## Streszczenie

Białka związane z nukleoidem (NAP, *nucleoid-associated proteins*) są odpowiedzialne za utrzymanie wysoce zorganizowanej i 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*. Wykazuje ono większe powinowactwo do sekwencji DNA bogatych w pary AT i jest w stanie zbliżać odległe fragmenty chromosomu poprzez tworzenie mostków. Lsr2 bierze również udział w regulacji transkrypcji genów.

W niniejszej pracy doktorskiej pokazano, że delecja genu *lsr2* ma plejotropowy wpływ na morfologię *M. smegmatis*, saprofitycznej bakterii, która jest organizmem modelowym w badaniach dotyczących biologii prątków gruźlicy (*M. tuberculosis*) i innych chorobotwórczych mykobakterii. 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 badano również rolę białka Lsr2 jako czynnika transkrypcyjnego. Analiza danych ChIP-seq i RNA-seq wskazała, 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.

Lsr2 bierze również udział w utrzymaniu struktury chromosomu i wpływa na proces replikacji DNA. Za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej w czasie rzeczywistym (TLFM, *time lapse fluorescent microscopy*) pokazano, że znakowane fluorescencyjnie białko Lsr2 tworzy duże, dynamiczne kompleksy nukleoproteinowe. Jego N-końcowa domena oligomeryzacyjna jest niezbędna do powstania charakterystycznych, masywnych skupisk fluorescencji widocznych podczas obserwacji mikroskopowych. Ponadto delecja *lsr2* znacząco wpływa na czas replikacji i dynamikę replisomów. Jedną z rozważanych hipotez dotyczących organizacji chromosomu przez Lsr2 zakłada, że białko to jest odpowiedzialne za uporządkowanie nowozreplikowanego DNA.

W przeciwieństwie do *M. tuberculosis*, u *M. smegmatis* występuje dodatkowo paralog białka Lsr2, MSMEG\_1060, który jest niedawno odkrytym białkiem NAP. Lsr2 i MSMEG\_1060 wykazują różną swoistość wiązania DNA i lokalizację subkomórkową. Przeprowadzone w ramach niniejszej pracy doktorskiej wyniki wskazują na to, że białka te pomagają komórce *M. smegmatis* przetrwać stres spowodowany obniżonym dostępem do tlenu czy ekspozycją na antybiotyki.