

# WPLYW DELECJI GENU *HFQ* BAKTERII *ESCHERICHIA COLI* NA REGULACJĘ REPLIKACJI DNA ORAZ NA ROZWÓJ BAKTERIOFAGA P1VIR

GRZEGORZ CECH

Białko Hfq jest jednym z kluczowych czynników regulatorowych, działających w komórce na poziomie RNA. Początkowo białko to zostało opisane jako czynnik niezbędny do rozwoju bakteriofaga Q $\beta$ , jednak rola tego białka w rozwoju bakteriofagów nie była później wnikliwie badana. W kolejnych latach opisywano natomiast wiele jego ryboregulatorowych funkcji, które w dużej mierze skupiają się na umożliwianiu interakcji pomiędzy sRNA a mRNA, jak również na udziale w procesach degradacji jak i stabilizacji wielu transkryptów. Białko Hfq posiada zdolność do wiązania się z kwasami nukleinowymi i, choć zdecydowanie silniej oddziałuje z RNA, wykazano również, iż wiąże się ono z DNA. Właściwości te mogą wynikać z udziału białka Hfq w organizacji nukleoidu. Otworzyło to nową drogę do spekulacji na temat potencjalnej roli białka Hfq w regulacji replikacji DNA. Ponieważ białko Hfq wpływa na wiele procesów komórkowych, efekty delecji genu kodującego to białko mają charakter plejotropowy.

W niniejszej pracy postawiono sobie za cel zbadanie wpływu delecji genu *hfq* bakterii *Escherichia coli* na regulację replikacji DNA różnych replikonów oraz na rozwój bakteriofaga P1vir. Realizując to zadanie wykorzystano techniki wysokoprzepustowe, takie jak analiza z użyciem mikromacierzy fenotypowych, czy głębokie sekwencjonowanie RNA, w celu uzyskania odpowiedzi na pytanie, czy istnieje związek pomiędzy fenotypem mutantu  $\Delta hfq$  a ekspresją genów związanych z szeroko pojętym metabolizmem DNA. Dalej, wykorzystując metody analizy kinetyki replikacji DNA *in vivo*, zbadano, czy delecja genu *hfq* wpływa na proces regulacji replikacji chromosomalnego DNA oraz replikacji plazmidów zawierających różne *origin* replikacji. Dodatkowo, wykorzystując zarówno klasyczne metody mikrobiologiczne, jak i sekwencjonowanie RNA, zbadano, jaki jest wpływ braku funkcjonalnego białka Hfq na układ wirus-gospodarz na przykładzie bakterii *E. coli* oraz bakteriofaga P1vir.

Otrzymane wyniki wskazują, iż białko Hfq może brać udział w regulacji procesu replikacji DNA wielu replikonów, choć pełny, złożony mechanizm jego działania pozostaje nie do końca poznany. Dodatkowo stwierdzono, iż białko Hfq pełni istotną, globalną rolę w

prawidłowym rozwoju bakteriofaga P1vir poprzez modulację wielu procesów w komórce gospodarza, jak i mechanizmów regulujących rozwój bakteriofaga.