

## **„Wpływ odpowiedzi ścisłej na zdolności przystosowawcze bakterii do zmiennych warunków środowiska”**

**mgr Klaudia Milewska**

Jednym z podstawowych procesów zachodzących w komórce bakteryjnej, od którego zależy przetrwanie organizmu, jest regulacja ekspresji genów. Efektem wystąpienia niekorzystnych warunków środowiskowych w komórkach modelowej bakterii *Escherichia coli* jest uruchomienie odpowiedzi ścisłej, mechanizmu regulującego globalne zmiany metabolizmu komórki, dzięki syntezie specyficznego nukleotydu, czterofosforanu guanozyny (ppGpp). Bakterie, jako organizmy jednokomórkowe, szczególnie narażone są na zmiany otoczenia, a ich przeżycie zależy od tego, czy będą w stanie szybko i skutecznie przystosować się do zmian, związanych najczęściej z niedoborem składników pokarmowych. Bakterie morskie są dobrze przystosowane do środowiska o ograniczonych zasobach, ale mimo tego nadal niewiele wiadomo o molekularnych mechanizmach umożliwiających im przetrwanie w zmiennych warunkach środowiskowych. Wyniki moich badań przeprowadzonych na trzech gatunkach bakterii morskich (*Shewanella baltica*, *Acinteobacter johnsonii* oraz *Vibrio harveyi*) wskazują, iż bakterie te posiadają białka niezbędne do syntezy ppGpp oraz zdolne są do indukcji odpowiedzi ścisłej w różnych warunkach stresu. Do czynników środowiskowych wywołujących u nich odpowiedź ścisłą należą m.in. głód aminokwasowy, węglowy i azotowy, szok temperaturowy, stres osmotyczny i zmiany pH a także uszkodzenia DNA. Przy czym każdy z tych czynników indukuje akumulację ppGpp na innym poziomie u poszczególnych gatunków bakterii, co jest związane z ich przystosowaniem do różnorodnych środowisk. Czterofosforan guanozyny oraz białko DksA, które są czynnikami odpowiedzi ścisłej, doprowadzają do zahamowania transkrypcji m. in. promotorów stabilnych RNA, w tym tRNA. Jak pokazały nasze badania, pArgX, pomimo obniżenia aktywności przez ppGpp i jej podwyższenia przez białko DksA, w obecności obu tych czynników podlega silnemu zahamowaniu. Co ważne, jest to pierwszy taki przykład wpływu DksA i ppGpp na działanie promotora. Wydajność transkrypcji danego promotora zależy również od sekwencji dyskryminatora (rejon pomiędzy kasetą -10 a +1). Uzyskane przeze mnie wyniki pokazują, że ppGpp i DksA wpływają na transkrypcje promotorów tRNA z różną siłą. W przypadku wszystkich analizowanych promotorów czynniki odpowiedzi ścisłej wykazują działanie antagonistyczne, gdzie ppGpp hamuje, a białko DksA aktywuje transkrypcję z tych promotorów. Wyjątek stanowi tutaj promotor serU. Natomiast wzrost stężenia ppGpp w komórce w większości przypadków całkowicie znosi efekt działania DksA,

a w pozostałych przypadkach zmniejsza efektywność jego działania. Zarówno ppGpp jak i DksA wpływają na ten proces na różnych jego etapach. Uzyskane przeze mnie wyniki wskazują, że czynniki odpowiedzi ścisłej, jakimi są ppGpp i DksA, mają istotny wpływ na regulację transkrypcji promotorów tRNA, przy czym regulacja ta jest zależna od sekwencji dyskryminatora. A także, że odpowiedź ścisła jest procesem kontrolującym globalne zmiany metabolizmu komórki, również u jak dotąd słabo poznanych bakterii morskich.