Katarzyna Pawlikiewicz

Rola kondensyny SMC w organizacji chromosomu *Streptomyces venezuelae* podczas sporulacji i kiełkowania zarodników

STRESZCZENIE

Streptomyces to Gram-dodatnie, bakterie glebowe, charakteryzujące się złożonym morfologicznie cyklem życiowym obejmującym wzrost wegetatywny w postaci wielogenomowych strzępek i sporulację, czyli wytworzenie jednogenomowych zarodników. Chromosom *Streptomyces* jest liniowy a jego organizacja jest zależna od etapu cyklu komórkowego. Obecność dużej liczby kopii chromosomów w komórkach *Streptomyces* wymaga precyzyjnego i wydajnego procesu ich kondensacji oraz segregacji podczas sporulacji. W segregacji chromosomów uczestniczy białko ParB, które również wykazuje istotną rolę w globalnej organizacji chromosomu. ParB wiąże sekwencje *parS* oraz wiąże i hydrolizuje cząsteczki CTP (cytydyno-5′- trifosforan). Dzięki oddziaływaniu z CTP i niespecyficznym oddziaływaniom z DNA, ParB jest w stanie akumulować się wzdłuż DNA, co prowadzi do powstania dużych kompleksów nukleoproteinowych. Co ciekawe, u kilku gatunków bakterii wykazano, że ParB rekrutuje kondensyny SMC. Rekrutacja SMC promuje jego oddziaływanie z DNA, zapewniając przestrzenną organizację chromosomu i wzrost kontaktów chromosomowych dalekiego zasięgu, obserwowanych jako kohezja ramion chromosomu. Zależną od SMC kohezję ramion chromosomu opisano także u *Streptomyces*. Do tej pory nie zbadano jednak, czy rekrutacja SMC wywiera wpływ na kompleksy ParB. Nie zbadano także, czy zależna od SMC kondesacja chromosomu w zarodnikach *Streptomyces* wpływa na proces ich kiełkowania i pozycjonowanie regionu *oriC* chromosomu podczas kiełkowania. Celem Pracy doktorskiej była odpowiedź na powyższe pytania.

W ramach pracy doktorskiej potwierdzono znaczenie białka ParB dla wiązania się SMC do centralnej części chromosomu podczas sporulacji. Co więcej, ujawniono wcześniej nieopisywany wpływ SMC na kompleksy ParB. W analizach *in vivo* pokazano, że usunięcie białka SMC przyśpiesza demontaż kompleksów ParB i zwiększa dynamikę ParB. Co więcej potwierdzono, że SMC promuje wiązanie ParB do *parS* oraz rozprzestrzenianie się od miejsca wiązania. W analizach *in vitro* potwierdzono, że SMC hamuje aktywność CTPazową białka

ParB w obecności sekwencji *parS*. Uzyskane wyniki wskazują na rolę SMC w stabilizacji kompleksów ParB u *S. venezuelae*.

Zbadano również wpływ SMC na organizację chromosomu podczas kiełkowania zarodników. Udowodniono, że eliminacja SMC zmienia organizację chromosomu i lokalizację regionu inicjacji replikacji względem nukleoidu w strzępkach wegetatywnych. Co więcej zaobserwowano, że brak białka SMC spowalnia przebieg replikacji chromosomów u *S. venezuelae*. Badania wskazują na rolę SMC w pozycjonowaniu regionu *oriC* w komórce oraz dla prawidłowego przebieg replikacji chromosomów.