

Pupylacja i acetylacja, dwie potranslacyjne modyfikacje lizyny i ich rola w regulacji topologii chromosomu u *Streptomyces*

Jeszcze do niedawna sądzono, że potranslacyjne modyfikacje białek (PMB) są cechą typową dla komórek eukariotycznych. Jednak liczne prace ostatnich lat pokazują, że również białka bakteryjne ulegają modyfikacjom. **Dzięki przyłączaniu dodatkowych grup funkcyjnych do łańcuchów bocznych aminokwasów budujących białko, PMB pozwalają na szybkie, odwracalne i precyzyjne kontrolowanie aktywności białek.** Pośród wielu zidentyfikowanych u bakterii PMB, modyfikacje lizyny są najliczniej opisywane, a ich rolę wykazano m. in. w kontroli metabolizmu pierwszorzędowego, replikacji DNA, transkrypcji oraz w odpowiedzi na stres środowiskowy. **W ramach projektu zbadamy dotąd słabo poznaną funkcję modyfikacji lizyny w regulacji przestrzennej struktury chromosomu bakteryjnego.**

Obiektem naszych badań są glebowe bakterie *Streptomyces*. *Streptomyces* to Gram dodatnie bakterie należące do promieniowców (*Actinobacteriaceae*), znane z produkcji wielu związków wykorzystywanych w przemyśle i medycynie, w tym szeregu antybiotyków. Cykl rozwojowy *Streptomyces* jest złożony i obejmuje wzrosty w postaci wielogenomowej, rozgałęzionej grzybni, a także tworzenie jednogenomowych zarodników (spor). W trakcie rozwoju organizacja liniowych chromosomów u *Streptomyces* podlega dynamicznym zmianom. Podczas wzrostu wegetatywnego chromosomy wewnątrz kompartmentów komórkowych pozostają nieskondensowane, natomiast sporulacji towarzyszy stopniowe kompaktowanie i przestrzenne rozdzielanie chromosomów. **Zmiany w topologii DNA są ściśle kontrolowane przez topoizomerazy, w tym białko TopA oraz białka związane z nukleoidem (NAP),** pośród których najliczniejszą grupę stanowią białka HU. Podczas gdy topoizomerazy kontrolują globalne superskręcenie chromosomu, białka HU zaangażowane są w lokalne utrzymanie struktury chromosomu i jego organizację w formie przestrzennie niezależnych mikrodomen.

Ostatnie doniesienia, jak również wyniki uzyskane w naszym laboratorium, wskazują, że **białko TopA oraz homologii białka HU (HupA i HupS) u *Streptomyces* podlegają potranslacyjnym modyfikacjom lizyny – acetylacji oraz pupylacji.** Odwracalna acetylacja lizyny jest modyfikacją powszechną u bakterii, polegającą na dodaniu grupy acylowej, co w przypadku białek wiążących się z DNA obniża ich powinowactwo do DNA. W przeciwieństwie do acetylacji, pupylacja białek jest modyfikacją słabo poznaną i zidentyfikowaną dotąd jedynie u promieniowców. Bakteryjna pupylacja przypomina pod względem funkcjonalnym eukariotyczną ubikwitynylację i polega na dołączeniu poprzez grupę aminową lizyny białka Pup (prokaryotyczny ubiquitin-like protein), co kieruje pupylowane białka do degradacji w bakteryjnych odpowiednikach proteasomów.

Celem projektu jest zbadanie regulacji białek kontrolujących topologię chromosomu poprzez ich modyfikacje potranslacyjne, a także charakterystyka roli PMB podczas wzrostu i różnicowania się *Streptomyces* oraz w odpowiedzi tych bakterii na środowiskowe czynniki stresowe. W ramach projektu przeprowadzimy szereg analiz biochemicznych z wykorzystaniem potranslacyjnie zmodyfikowanych białek. Ponadto, wykorzystując zaawansowane techniki mikroskopowe zbadamy, jak zorganizowany jest chromosom *Streptomyces* w mutantach z zaburzonymi procesami acetylacji i pupylacji.