

## Charakterystyka procesu replikacji chromosomu u drapieżnej bakterii

### *Bdellovibrio bacteriovorus*

#### Streszczenie

*B. bacteriovorus* jest niewielką bakterią Gram-ujemną, której cechą charakterystyczną jest pasożytowanie na innych bakteriach Gram-ujemnych, w tym organizmach chorobotwórczych, np. *Helicobacter pylori* czy *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteria wykazuje dwufazowy cykl życiowy: w fazie ataku aktywnie poszukuje swojej ofiary, aby w fazie wzrostu, przedostając się do jej peryplazmy, namnażać się w niej, prowadząc do lizy komórki gospodarza. *B. bacteriovorus* w peryplazmie gospodarza tworzy wydłużony filament, z którego w wyniku septacji powstaje 3-6 komórek potomnych. Mimo intensywnych badań nad biologią tej drapieżnej bakterii, niewiele było wiadomo na temat jednego z głównych etapów jej cyklu życiowego – replikacji chromosomu.

Pierwszy etap badań nad procesem replikacji chromosomu *B. bacteriovorus* skupiał się na identyfikacji miejsca inicjacji, regionu *BdoriC* (*B. bacteriovorus origin of chromosomal replication*) i scharakteryzowaniu jego oddziaływania z białkiem inicjatorowym BdDnaA. Metodą *in silico* wyznaczono przypuszczalną lokalizację regionu *oriC* na chromosomie *B. bacteriovorus*, a metodami EMSA (*Electrophoretic mobility shift assay*) oraz immunoprecypitacji potwierdzono wiązanie się białka inicjatorowego do wyznaczonego regionu *BdoriC* w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Zastosowanie techniki footprintingu DNA pozwoliło na dokładną identyfikację miejsc wiązania BdDnaA w obrębie *BdoriC* (BdDnaA-boksy) oraz wyznaczenie miejsca rozplecenia nici DNA w regionie inicjacji replikacji, tzw. region DUE (*DNA unwinding elements*).

W drugim etapie badań stworzono system TLFM (*Time-lapse fluorescence microscopy*) do obserwacji dynamiki procesu replikacji chromosomu *B. bacteriovorus* na poziomie pojedynczej komórki w czasie rzeczywistym. Wyniki badań wykazały, że replikacja chromosomu tej drapieżnej bakterii zaczyna się na biegunie komórki z pilusami komórkowymi i trwa do czasu zreplikowania kilku kompletnych kopii chromosomu. W czasie replikacji można zaobserwować kilka replisomów. Replikacja chromosomu *B. bacteriovorus* nie jest związana z podziałem komórkowym i kończy się krótko przed synchroniczną septacją filamentarnej postaci drapieżnika w bdelloplacie.

Wyniki prezentowanych badań pozwoliły na charakterystykę procesu replikacji chromosomu *B. bacteriovorus* oraz poszerzyły wiedzę na temat replikacji chromosomu bakteryjnego.