

Rola nieorganicznego polifosforanu w regulacji aktywności deacetylazy CobB *Escherichia coli* podczas głodu aminokwasowego

mgr inż. Magdalena Sroka

Nieorganiczny polifosforan (PolyP) jest powszechnie występującym polimerem, składającym się z od kilkuset do tysiąca reszt fosforanowych połączonych ze sobą za pomocą wysokoenergetycznych wiązań fosforanowych. W bakteriach odpowiedzialny jest on za regulację szeregu procesów fizjologicznych, jednak jego główną rolę przypisuje się odpowiedzi na stres komórkowy i warunki głodu aminokwasowego. Molekularny mechanizm, za pomocą którego tak prosta w budowie cząsteczka wykazuje tak wiele efektów, jest prawdopodobnie związany z jej zdolnością do interakcji ze specyficznymi białkami, głównie poprzez oddziaływania jonowe. Do tej pory opublikowano jedynie kilka analiz proteomicznych granuli PolyP oraz badań na temat znaczenia oddziaływań PolyP-białko.

W pracy przedstawiono dwie metody izolacji i identyfikacji białek z bakterii *Escherichia coli*, które oddziałują z PolyP. W pierwszej metodzie użyto PolyP przytwierdzonego do złoża magnetycznego, który następnie posłużył jako przynęta w eksperymencie typu pull-down do ściągnięcia oddziałujących z nim białek. Druga opisana metoda wykorzystuje właściwości rekombinowanej domeny wiążącej PolyP z egzopolifosfatazy z *E. coli* do wiązania i wychwytywania łańcuchów PolyP wraz z oddziałującymi z nimi białkami.

Jednym z 21 białek zidentyfikowanych jako potencjalnie wiążące PolyP w komórkach była deacetylaza CobB. Interakcja pomiędzy PolyP i długą izoformą CobB (CobB-L) została potwierdzona za pomocą trzech niezależnych metod. Wyniki te sugerują, że za wiązanie PolyP odpowiada N-końcowy fragment CobB-L, nieobecny w izoformie krótkiej (CobB-S). Aktywność CobB jest istotna w kontekście powrotu komórki do stanu sprzed stresu. Jednym z białek ulegającym inaktywacji za sprawą acetylacji łańcuchów bocznych lizyn, jest białko DnaA, będące inicjatorem replikacji DNA. Przeprowadzone badania wskazują, że wiązanie się PolyP zarówno do deacetylazy jak i jej substratu hamuje reakcję deacetylacji, w wyniku czego wpływa na poziom acetylacji białka DnaA. Wyniki te dodają nowy wątek do plejotropowego efektu PolyP na replikację DNA komórek bakteryjnych i kontrolę aktywności CobB. Dodatkowo wspierają nową koncepcję, według której chromosom oraz granule PolyP służą jako alternatywne rusztowania, które mogą kierować poszczególne białka do różnych lokalizacji komórkowych i zmieniać ich aktywność w czasie niekorzystnych warunków środowiskowych.