

Celem badań jest poznanie funkcji białka OmpR, regulatora transkrypcji oraz OmrA, małego niekodującego RNA (sRNA), w regulacji pozyskiwania żelaza u *Yersinia enterocolitica* co rzuci nowe światło na znaczenie tych regulatorów w wirulencji oraz zdolnościach adaptacyjnych bakterii. *Y. enterocolitica* jest ludzkim enteropatogenem, czynnikiem etiologicznym jersiniozy - zoonozy, która stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi. Jest to heterogenny gatunek bakterii skupiający wiele biotypów o różnym stopniu wirulencji, tj. biotypy 2-5 o niskiej wirulencji, najczęściej izolowane w Europie oraz biotyp 1B, o wysokiej wirulencji izolowany najczęściej w USA. Od kilku lat notujemy na terenie Polski wzrost liczby infekcji wywołanych biotypem 1B, co budzi niepokój epidemiologów. *Y. enterocolitica* jest zdolna do wzrostu zarówno w organizmie gospodarza jak i w środowisku zewnętrznym dzięki funkcjonowaniu różnorodnych mechanizmów regulatorowych. Umiejętność pozyskiwania żelaza, które występuje w środowisku w formie związanej, a przez to niedostępnej dla bakterii, należy do jednych z najważniejszych właściwości adaptacyjnych i decyduje o wirulencji *Y. enterocolitica*. Wysoka zjadliwość szczepów biotypu 1B *Y. enterocolitica* jest związana z obecnością unikatowego dla tego biotypu systemu pozyskiwania żelaza, w którym funkcjonuje siderofor (chelator żelaza) – jersiniabaktyna Ybt oraz specyficzny dla tego sideroforu receptor błony zewnętrznej, białko FyuA. Natomiast szczepy *Y. enterocolitica* o niskiej wirulencji nie są zdolne do syntezy sideroforów, ale mogą korzystać z sideroforów egzogennych dzięki obecności w błonie zewnętrznej komórki specyficznych receptorów (FcuA, FoxA, FecA) dla Fe-sideroforów. Obiektem badawczym w projekcie będą szczepy *Y. enterocolitica* należące do obu biotypów, tj. o wysokiej i niskiej wirulencji.

Białko OmpR jest regulatorem odpowiedzi komórkowej w szlaku sygnałowym EnvZ/OmpR, który uczestniczy w komórkach bakteryjnych w odbiorze oraz w przekazywaniu sygnałów pochodzących ze środowiska i pełni ważną funkcję regulatorową. Wyniki naszych dotychczasowych analiz, prowadzonych na szczepie *Y. enterocolitica* o niskiej zjadliwości, wykazały znaczenie białka OmpR, w modulowaniu wielu właściwości fizjologicznych i biochemicznych takich jak ruch, synteza adhezyn, zmiany przepuszczalności osłon komórkowych, czy oporność na surowicę ludzką. Ostatnio, analizy proteomiczne, pokazały, że OmpR wpływa na skład proteomu błony zewnętrznej *Y. enterocolitica*, w tym na zawartość kilku białek zaangażowanych w proces asymilacji żelaza, tj. receptora HemR dla hemu oraz receptorów FepA i FecA dla Fe-sideroforów, co sugeruje istnienie nieznaną dotychczas korelacji pomiędzy OmpR a procesem asymilacji żelaza. W ostatniej dekadzie pojawiło się szereg doniesień o funkcji regulatorowej sRNAs, które w asyście białka opiekuńczego Hfq wiążą się z określonym mRNA negatywnie regulując poziom syntezy wielu białek. U *Y. enterocolitica* biotypu 1B wykazano, że białko Hfq hamuje produkcję receptora FyuA oraz jersiniabaktyny Ybt co sugeruje, że sRNAs, mogą uczestniczyć w potranskrypcyjnej regulacji ekspresji receptorów jak i sideroforu u tej bakterii. Do regulatorowych sRNAs u *Escherichia coli* należą sRNA OmrA i OmrB, które hamują syntezę m.in. kilku receptorów błony zewnętrznej, uczestniczących w transporcie żelaza do komórki bakteryjnej. W genomie *Y. enterocolitica* zidentyfikowaliśmy tylko gen *omrA* i nie są znane cele działania sRNA OmrA u tego patogenu.

Przygotowany projekt badawczy powstał w oparciu o wyniki badań proteomicznych ale także analiz bioinformatycznych, które wskazały na obecność potencjalnych miejsc wiązania OmpR w regionie promotorowym genów kodujących receptory FepA, FecA, HemR, ale także sRNA OmrA oraz w genie kodującym białko Fur, główny regulator homeostazy żelazowej u bakterii. Celem projektu jest więc zweryfikowanie hipotezy według której OmpR bezpośrednio lub pośrednio poprzez wpływ na poziom syntezy sRNA OmrA i/lub regulatora Fur uczestniczyłby w regulacji procesu asymilacji żelaza.

W celu wyjaśnienia tych kwestii podjęte będą kompleksowe analizy genetyczne, biochemiczne i immunochemiczne, które pozwolą na analizowanie ekspresji genów na etapie transkrypcji i potranskrypcyjnie. Analizy *in vitro* polegające na ocenie zdolności wiązania OmpR z DNA pozwolą wyjaśnić czy OmpR w sposób bezpośredni czy pośredni kontroluje ekspresję badanych genów.

W projekcie udowodnimy nieznaną wcześniej funkcję OmpR i sRNA OmrA w regulacji asymilacji żelaza u *Y. enterocolitica*, co rzuci nowe światło na znaczenie tych regulatorów w zjadliwości oraz zdolnościach adaptacyjnych nie tylko tego patogenu ale także innych bakterii, w tym śmiertelnej dla ludzi pałeczki dżumy *Yersinia pestis*, posiadającej homologiczne do *Y. enterocolitica* systemy transportu żelaza. Otrzymane wyniki zyskają też szerszy wymiar z chwilą zweryfikowania hipotezy o roli białka OmpR w regulacji Fur, globalnego regulatora homeostazy żelazowej, który funkcjonuje u większości bakterii gramujemnych. Poznanie tych mechanizmów regulatorowych może mieć znaczenie dla opracowania nowych strategii walki z infekcjami bakteryjnymi poprzez ograniczanie pobierania żelaza i wzrostu bakterii patogennych.