

## **Opracowanie nowej metody bezpośredniej identyfikacji i absolutnej oceny ilościowej zdarzeń przedwczesnej terminacji transkrypcji, na przykładzie bakteryjnych ryboprzełączników.**

Bakterie wykazują niezwykle zdolności adaptacyjne w stosunku do zmieniających się warunków środowiska. Wiele z nich jest zdolne do wzrostu wykorzystując różne źródła węgla i azotu do syntezy wszystkich komponentów komórkowych. Taka plastyczność wymaga precyzyjnej kontroli na poziomie ekspresji genów. Bakterie wykorzystują w tym celu różne mechanizmy. Istotną część z nich stanowi przedwczesna terminacja transkrypcji. Dodatkowo, w specyficznych warunkach środowiskowych, jak zmiana temperatury czy brak składników odżywczych, bakterie mogą wywoływać ko-transkrypcyjne powstawanie alternatywnej struktury, w której dominującą rolę odgrywa spinka terminacyjna. W takim przypadku polimeraza RNA zatrzymuje się a następnie oddysocjowuje, powodując przedwczesną terminację transkrypcji. Taki mechanizm jest powszechnie wykorzystywany przez ryboprzełączniki – specyficzne sekwencje zlokalizowane w regionie nieulegającym translacji 5' (5'UTR), mające zdolność bezpośredniego wiązania niskocząsteczkowych metabolitów komórkowych (jak witaminy, nukleotydy, aminokwasy, jony metali) i wywoływania efektu regulatorowego w odpowiedzi na nie. Najczęściej w przypadku braku danego metabolitu, dominującą strukturą ryboprzełącznika jest spinka anty-terminacyjna, co pozwala na niezakłóconą transkrypcję i w efekcie produkcję brakującego metabolitu. Natomiast w przypadku obecności danego ligandu w komórce, wchodzi on w interakcję z ryboprzełącznikiem, co prowadzi do powstania struktury spinki terminacyjnej i obniżenie ekspresji genu przez przedwczesną terminację transkrypcji.

Znaczna skala występowania tego zjawiska świadczy o tym, że proces terminacji transkrypcji jest niezwykle ważny dla bakterii i wart głębszego poznania. Samo wykrycie takiego zdarzenia nie jest rzeczą prostą. Przede wszystkim skrócone transkrypty, jako, że występują jedynie tymczasowo, są mniej stabilne w komórce i ulegają szybkiej degradacji. Kolejną trudnością jest określenie poziomu skróconych transkryptów, jako że większość metod używanych rutynowo nie pozwala na precyzyjne określenie ich absolutnego poziomu, a jedynie określenie względnych wartości. Dlatego też uznałem, że konieczne jest stworzenie nowej, wiarygodnej metody identyfikacji zdarzeń przedwczesnej terminacji transkrypcji, która będzie pozbawiona powyższych ograniczeń.

Realizacja tego projektu pozwoli na lepsze zrozumienie procesu regulacji transkrypcji. Rozwinięta przeze mnie metoda pozwalająca na wiarygodną, a jednocześnie precyzyjną analizę ilościową produktów terminacji, zapewni wnikliwe wejrzenie w mechanizmy kontroli ekspresji genów. Co więcej, nowopowstała metoda nie będzie ograniczona jedynie do badań nad ryboprzełącznikami, lecz może stać się dobrym narzędziem do badań nad wszystkimi przypadkami terminacji transkrypcji. Moje podejście umożliwi bowiem pomiar absolutnych stężeń zarówno pełnych jak i skróconych produktów transkrypcji, co nie jest osiągalnie przez istniejące obecnie metody.

Ponadto, zdobyta podczas badań wiedza na temat regulacji genów u bakterii jest także istotna nie tylko z naukowego punktu widzenia, ale także medycyny. W dzisiejszych czasach prowadzi się intensywne i zaawansowane badania nad nowymi antybiotykami wycelowanymi w ryboprzełączniki. Jest to o tyle istotna kwestia, że wciąż obserwujemy narastającą antybiotykooporność wśród różnych szczepów bakterii. Dodatkowo, sama analiza zmian aktywacji ryboprzełącznika w czasie w warunkach *in vivo* jest ważna, bowiem niewiele jest prac poświęconych temu zagadnieniu. W moim przekonaniu rezultaty płynące z realizacji projektu przyczynią się w znacznym stopniu do poszerzenia wiedzy na temat procesów terminacji transkrypcji zachodzących w ciągu życia bakterii.