

Kompetycja pomiędzy białkami ProQ, Hfq i FinO wiążącymi RNA u *Escherichia coli*

Ważną rolę w regulacji ekspresji genów u bakterii pełnią małe regulatorowe RNA, które uczestniczą w adaptacji bakterii do zmian w środowisku zewnętrznym, w utrzymywaniu homeostazy wewnątrzkomórkowej, oraz w kontroli wirulencji bakterii. U bakterii *Escherichia coli* w regulacji zależnej od RNA uczestniczą białka ProQ i Hfq, które wiążą liczne cząsteczki RNA, oraz plazmidowe białko FinO, które rozpoznaje niewielką liczbę cząsteczek RNA. Białko Hfq jest zbudowane w postaci pierścienia złożonego z sześciu identycznych podjednostek, posiadającego na swojej powierzchni trzy regiony wiązania RNA. Natomiast białka ProQ i FinO należą do rodziny białek z domeną FinO, które występują u licznych gatunków β - i γ -proteobakterii. W białku ProQ domena FinO jest połączona za pomocą sekwencji linkerowej z C-końcową domeną Tudor. Natomiast w plazmidowym białku FinO domena FinO połączona jest z N-końcowym regionem bogatym w aminokwasy o ładunku dodatnim.

Niedawne badania globalnego wiązania cząsteczek RNA pokazały, że białka ProQ i Hfq wiążą w większości odrębne pule cząsteczek RNA w komórkach *E. coli* oraz *Salmonella enterica*. Ponieważ motywem RNA rozpoznawanym przez oba te białka są między innymi struktury terminatorów transkrypcji niezależnych od białka Rho prowadzi to do interesującego pytania, w jaki sposób oba białka rozpoznają odrębne pule cząsteczek RNA. Zaskakującym odkryciem dokonany niedawno w naszym laboratorium było stwierdzenie, że motywy sekwencji bogate w adenozyne, które występują w cząsteczkach RNA najczęściej wiązanych przez ProQ w *E. coli*, zapobiegają wiązaniu tych cząsteczek RNA przez białko Hfq. Oznacza to, że zdolność do rozpoznawania właściwych cząsteczek RNA przez ProQ zależy nie tylko od wiązania odpowiednich motywów struktury RNA przez białko ProQ, ale także od kompetycji o wiązanie tych RNA z białkiem Hfq.

Aby wyjaśnić znaczenie kompetycji pomiędzy białkami ProQ, Hfq i FinO o wiązanie cząsteczek RNA, w proponowanym projekcie zamierzamy zbadać w jaki sposób nadekspresja każdego z tych białek w komórkach *E. coli* wpływa na to z jakimi cząsteczkami RNA wiążą się pozostałe białka. Badania te zamierzamy przeprowadzić przy pomocy metod opartych o globalne sekwencjonowanie RNA. Ponadto chcemy wyjaśnić jakie cechy cząsteczek RNA decydują o tym, czy są one wiązane przede wszystkim przez jedno z tych białek, czy też mogą podlegać kompetycji pomiędzy białkami wiążącymi RNA w komórkach *E. coli*. W tym celu porównamy wiązanie do białek ProQ, Hfq i FinO cząsteczek RNA, które preferencyjnie wiążą się z różnymi białkami u *E. coli*, a także takich, które są najbardziej podatne na kompetycję pomiędzy nimi. Porównamy także wiązanie do tych białek takich cząsteczek RNA, do których wprowadzimy mutacje w regionach, które mogą być istotne dla proponowanych oddziaływań z tymi białkami.

Spodziewamy się, że badania planowane w tym projekcie pozwolą na wyjaśnienie znaczenia kompetycji pomiędzy białkami wiążącymi RNA w modulowaniu mechanizmów regulacji ekspresji genów u bakterii. Ponadto pozwolą na lepsze poznanie funkcji biologicznych białek należących do szeroko rozpowszechnionej i zachowanej ewolucyjnie rodziny białek z domeną FinO.