

**ДНК-гираза меняет свое положение на сайтах генома *Escherichia coli* в соответствии с изменениями транскрипционного профиля в разных фазах роста культуры бактерии**

**Научный руководитель – Северинов Константин Викторович**

*Сутормин Дмитрий Александрович*

*Аспирант*

Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

*E-mail: sutormin94@gmail.com*

Представитель второго класса топоизомераз, ДНК-гираза, конвертирует положительные супервитки ДНК в отрицательные с затратой энергии гидролиза АТФ<sup>1</sup>. Гириза является незаменимым ферментом для клетки и необходима для удаления топологических затруднений, возникающих при транскрипции и репликации<sup>2,3</sup>. Ранее нами был разработан метод Toro-Seq, позволяющий определить сайты активности фермента на ДНК (GCS - Gyrase Cleavage sites) с нуклеотидным разрешением. В данном подходе ДНК-гираза фиксируется на ДНК в процессе катализа за счет специфических ингибиторов, затем ковалентные комплексы фермента с нуклеиновой кислотой выделяются и ДНК секвенируется, маркируя геномный сайт. Мы показали, что в экспоненциальной фазе роста культуры (EP) ДНК-гираза имеет тысячи сайтов активности в геноме *E. coli* и протяженный вырожденный мотив связывания, отражающий способность ДНК оборачиваться вокруг С-концевого домена фермента<sup>4</sup>.

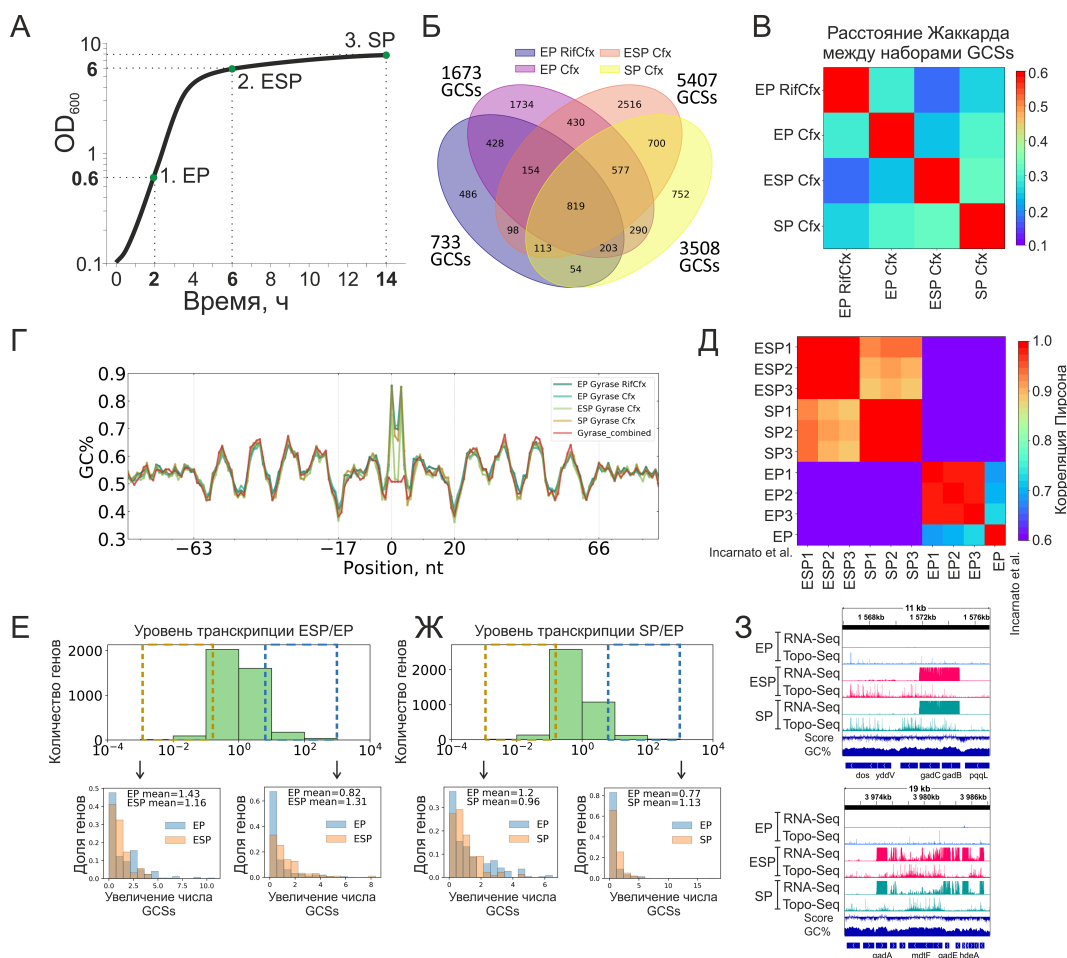
В данной работе, с помощью Toro-Seq с ципрофлоксацином (Cfx) в качестве ингибитора фермента, мы определили сайты ДНК-гиразы для стационарной фазы роста культуры (SP), а также в точке перехода культуры бактерий из экспоненциальной фазы в стационарную (ESP) (**Рисунок 1А**). Мы продемонстрировали, что несмотря на отсутствие репликации, гириза активна в стационарной фазе и распределена по тысячам сайтов генома (**Рисунок 1Б-В**). Мотив связывания фермента также одинаков для всех исследованных фаз роста (**Рисунок 1Г**). Дополнительно, с помощью RNA-Seq, для перечисленных временных точек был определен уровень транскрипции генов (**Рисунок 1Д**). Сопоставление транскрипционных профилей и данных Toro-Seq показало, что ДНК-гираза всегда обогащена в нижележащих областях активных генов, где накапливаются положительные супервитки, и следует за изменениями в транскрипции (**Рисунок 1Е-З**). Интересно, что в стационарной фазе роста сигнал ДНК-гиразы на сильных сайтах связывания (топосайтах) определяется даже в отсутствие ингибитора, что говорит о том, что фермент долгое время может проводить в комплексе с ДНК, если этому не мешает транскрипция или репликация.

#### **Источники и литература**

- 1) Nöllmann, M., Crisona, N. J. & Arimondo, P. B. Thirty years of *Escherichia coli* DNA gyrase: From in vivo function to single-molecule mechanism. *Biochimie* 89, 490–499 (2007).
- 2) Postow, L., Crisona, N. J., Peter, B. J., Hardy, C. D. & Cozzarelli, N. R. Topological challenges to DNA replication: Conformations at the fork. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, 8219–8226 (2001).
- 3) Chong, S., Chen, C., Ge, H. & Xie, X. S. Mechanism of Transcriptional Bursting in Bacteria. *Cell* 158, 314–326 (2015).

- 4) Sutormin, D., Rubanova, N., Logacheva, M., Ghilarov, D. & Severinov, K. Single-nucleotide-resolution mapping of DNA gyrase cleavage sites across the Escherichia coli genome. *Nucleic Acids Research* 47, 1–16 (2019).

**Иллюстрации**



**Рис. 1.** Рисунок 1. ДНК-гираза в разных фазах роста *E. coli* активна на разных сайтах генома, следуя за изменениями в транскрипции. А. Временные точки сбора образцов: EP – экспоненциальная фаза, ESP – фаза перехода к стационарной фазе, SP – стационарная фаза. Б. Диаграмма Вена, демонстрирующая пересечения между наборами сайтов гиразы (GCSs), определенных для разных фаз роста культуры. В. Матрица расстояний между наборами GCSs. Расстояние определено мерой Жаккарда. Г. Мотив ДНК-гиразы, определенный для разных фаз роста культуры. Д. Матрица расстояний между транскриптомными данными для разных фаз роста культуры. Расстояние определено как корреляция Пирсона между значениями уровня транскрипции генов *E. coli*. Е. Гены, увеличившие свою экспрессию в точке ESP по сравнению с точкой EP, имеют повышенное число сайтов гиразы в нижележащих областях (5кб). При этом, для генов экспрессию снизивших, число сайтов гиразы, наоборот, ниже. Ж. Гены, увеличившие свою экспрессию в точке SP по сравнению с точкой EP, имеют повышенное число сайтов гиразы в нижележащих областях (5кб). При этом, для генов экспрессию снизивших, число сайтов гиразы, наоборот, ниже. З. Репрезентативные регионы генома, демонстрирующие увеличение транскрипции генов в точках ESP и SP и соответствующий рост сигнала ДНК-гиразы в нижележащих областях активных генов.