

Streszczenie

Małe bakteryjne sRNA kodowane w *trans* uczestniczą w odpowiedzi komórki na zmiany warunków środowiska. Działają poprzez komplementarne oddziaływanie z docelowymi mRNA, co prowadzi do aktywacji bądź inhibicji translacji. Białko opiekuńcze Hfq umożliwia oddziaływanie sRNA i mRNA poprzez ich wiązanie, co przyspiesza formowanie dupletu. W celu zapewnienia jednoczesnego wiązania sRNA i mRNA, Hfq posiada trzy powierzchnie wiązania: stronę proksymalną specyficzną do 3' terminalnych oligo(U) obecnych w sRNA, boczną wiążącą sekwencje bogate w reszty UA oraz dystalną, która rozpoznaje sekwencje bogate w adenozyne obecne zazwyczaj w sekwencjach mRNA. Taki model sugeruje, że wszystkie sRNA są wiązane przez Hfq w taki sam sposób. Jednak znacznie różnią się długością, sekwencją regionów jednoniciowych czy liczbą struktur typu spinka. W związku z tym dalsza charakterystyka specyficzności wiązania sRNA przez Hfq jest konieczna.

W celu określenia roli struktury sRNA w ich wiązaniu do Hfq, zaprojektowano chimericzne konstrukty sRNA złożone z motywów strukturalnych pochodzących z różnych sRNA i testowano je w eksperymentach kompetycji. Wyniki wykazały, że nie tylko struktura terminatora, ale także elementy strukturalne obecne na 5' końcu i w centralnej części sRNA są rozpoznawane przez Hfq.

Porównano także wiązanie sRNA do różnych powierzchni Hfq. Sześć z siedmiu badanych sRNA jest wiązanych przez strony boczną i proksymalną Hfq. Wyjątkiem jest sRNA ChiX, oddziałujący w unikalny sposób z Hfq poprzez jego powierzchnie proksymalną i dystalną. Ponadto ChiX był jednym z najsilniejszych kompetytorów, co sugeruje, że jednoczesne wiązanie do dwóch przeciwnych stron może zapewnić stabilne oddziaływanie z białkiem.

Różnice w wiązaniu sRNA do Hfq mają także wpływ na oddziaływanie z ich regulatorami - anty-sRNA. Ich asocjacja w różny sposób jest zależna od mutacji Hfq. Parowanie ChiX i *chbBC*-IGR jest zaburzone w obecności mutantu strony bocznej Hfq, asocjacja RybB-3'ETS^{leuZ} jest zależna od mutacji strony dystalnej, a oddziaływanie AgvB-GcvB jest hamowane zarówno przez mutację strony bocznej jak i dystalnej. Dane dowodzą także, że istnieje możliwość konkurencji anty-sRNA z sRNA o wiązanie do Hfq.