

STRESZCZENIE

Błona zewnętrzna (OM) bakterii Gram-ujemnych stanowi niezbędną asymetryczną barierę, której integralność wymaga zrównoważonej syntezy lipopolisacharydu (LPS) i fosfolipidów (PL). Równowaga ta jest regulowana przede wszystkim przez kontrolowaną proteolizę białka LpxC, które katalizuje pierwszy etap biosyntezy lipidu A, pośredniczoną przez proteazę FtsH, która do swojej funkcji wymaga białka błony wewnętrznej (IM) LapB. LapC (YejM/PbgA), niezbędne białko IM, wykrywa ilość LPS, aby stabilizować LpxC, wykorzystując swoją niezbędną N-kończącą kotwicę transbłonową, która może oddziaływać zarówno z LapB, jak i LPS, regulując tempo biosyntezy LPS zgodnie z jego zapotrzebowaniem. LapD to kolejne białko tworzące kompleks wielobiałkowy, który koordynuje biogenezę otoczki. Badania typu pull-down wykazały, że LapD współczyszczcza się z kompleksem LapA/LapB, proteazą FtsH, białkami składania i transportu LPS oraz ważnymi enzymami biosyntezy kwasów tłuszczowych (FA) i PL. Mutanty $\Delta lapD$ wykazują wrażliwość na temperaturę, defekty przepuszczalności OM, aberracyjną morfologię komórek i obniżone poziomy białka LpxC. LapD staje się niezbędny, gdy LPS jest niedoacylowany, gdy rdzeń LPS jest skrócony lub gdy biosynteza PL jest zaburzona, o czym świadczy letalność syntetyczna z delecją genu *lpxM* lub *waaC* lub brakiem genu *clsA*. Mutacje supresorowe ratujące letalność $\Delta(lapD waaC)$ są zmapowane w genie *lptD*, co może wpływać na translokację LPS, oraz w genie *nlpI*, łącząc funkcję LapD z homeostazą peptydoglikanu (PGN). Mutacje supresorowe przezwyciężające letalność $\Delta(lapD clsA)$ zmapowano w genach *pgsA* i *cdsA*, które biorą udział w biosyntezie PL. Analiza wielokopijnych supresorów wykazała, że LapD odgrywa ważną rolę w metabolizmie kwasów tłuszczowych. Zgodnie z tą rolą, nadekspresja genu *acpP*, kodującego białko transportujące acyl, tłumila defekty bakterii $\Delta lapD$. Podobnie nadekspresja genów kodujących tioesterazy (*menI* i *tesA'*) powodowała zmniejszenie ilości PL. Równoległa analiza wielokopijnych supresorów bakterii *lapC190* (pozbawionych domeny peryplazmatycznej LapC) zidentyfikowała geny, które po nadekspresji mogły przezwyciężyć defekty fenotypowe, takie jak fenotyp wrażliwości na temperaturę (Ts) szczepu mutantu *lapC*. Co więcej, nadekspresja genów *srrA*, *marA*, *yceJ* i *yfgM* może powodować supresję fenotypu Ts bakterii *lapC190* poprzez przywrócenie poziomu LpxC. Nadprodukcja nienaruszonego LapD hamuje fenotyp Ts bakterii *lapC190*, ale nie w przypadku mutacji w LapD: N-kończowym transbłonowym regionie kotwiczącym, C-kończowym (100–132 reszty aminokwasowe) lub specyficznych konserwowanych ewolucyjnie resztach aminokwasowych w domenie C-końcowej. Badania wykazały również, że geny *lapD*, *marA*, *srrA* i *pldA* są niezbędne dla bakterii z mutacją *lapC190*, definiując podstawową sieć genetyczną. Zatem białka Lap mogą fizycznie i funkcjonalnie integrować moduł regulacyjny ze szlakami metabolicznymi biosyntezy FA i PL.

Słowa kluczowe: *Escherichia coli*, lipopolisacharyd (LPS), fosfolipid (PL), biogeneza błony zewnętrznej, LpxC, LapD, LapC, AcpP.

Dziedzina nauki i techniki, zgodnie z wymogami OECD: nauki ścisłe i przyrodnicze, nauki chemiczne