

DOKTORAND: Emily Helgesen
GRAD: Philosophiae doctor
FAKULTET: Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet
INSTITUTT: Farmasøytisk institutt
FAGOMRÅDE: Mikrobiologi
VEILEDERE: Kirsten Skarstad, Solveig Fossum-Raunehaug og
Ingvild Flåtten
DISPUTASDATO: 12.03.2015

AVHANDLINGENS *Dynamics of Replicating Chromosomes in*
TITTEL: *Escherichia coli*

I enhver organisme kreves det at alt DNA som befinner seg i cellene er korrekt organisert for å muliggjøre essensielle DNA transaksjoner slik som replikasjon (kopiering av DNA), transkripsjon (avlesning av DNA) og reparasjon. I dette studiet har vi funnet at SeqA proteinet, som binder nylig replikert DNA, organiserer de to nye DNA molekylene et godt stykke bak replikasjonsmaskineriet i modellorganismen *Escherichia coli*. Dette åpner for at viktige mekanismer som reparasjon og rekombinering av DNA kan skje på det mellomliggende DNA-strekket.

I dette prosjektet har vi jobbet med å karakterisere dynamikk og organisering av DNA i modellorganismen *Escherichia coli*. Etersom mange essensielle celleprosesser er bevart gjennom evolusjonen, kan funn i denne organismen også ha nytteverdi i studier av andre celletyper.

SeqA er et protein som binder og organiserer nylig replikert DNA i *E. coli*, i tillegg til å være en viktig faktor som regulerer igangsetting av replikasjon. SeqA multimeriserer og danner relativt store strukturer som dynamisk følger etter replikasjonsmaskineriet, og det har tidligere vært foreslått to modeller for SeqA's rolle i denne sammenhengen. Den første er at SeqA skiller og "dirigerer" de nye DNA molekylene (DNA-trådene) til korrekt posisjon i cellen, mens den andre er at SeqA bidrar til å holde de to søster DNA-trådene bak gaffelen sammen. Vi har utviklet et analyse-script som måler avstanden mellom SeqA og replikasjonsgaflene i mikroskopi-bilder av celler med fluoresensmerket SeqA og replisom. Vi har funnet at SeqA binder gjennomsnittlig 200-250 nm bak replikasjonsgaflene, noe som tilsvarer flere tusen baser med DNA. Ved å bruke superoppløsnings-mikroskop har vi også funnet at de to ny-replikerte DNA trådene sitter tett sammen bak replikasjonsgaffelen. Det vil si at SeqA ikke skiller og dirigerer det nyreplikert DNAet, men at det holdes sammen en periode etter at replikasjonsgaflene har passert. Det er sannsynlig at viktige mekanismer skjer på DNAet i denne perioden, som for eksempel DNA reparasjon og rekombinering. Vi har også funnet at det DNA-bindende proteinet H-NS kan ha signifikant betydning i å

modulere DNA-topologi for å understøtte rask vekst med høyt antall kromosomer i cellen. Avstanden mellom SeqA og replikasjonsgaflene øker når H-NS er borte, og det er derfor mulig at H-NS danner hårnål-strukturer på det mellomliggende DNAet i villtype celler.