



## **Białko FtsK odgrywa kluczową rolę w podziałach komórkowych bakterii. Praca przeglądowa**

FtsK protein plays a key role in bacterial cell divisions.  
Review paper

Kalina Sadzińska, Aleksandra Kowalczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Genetyki Drobnoustrojów, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii,  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki

Rola i udział autorów

Kalina Sadzińska – B, C, D, E

Aleksandra Kowalczyk – A, B, C, F

### **Streszczenie**

Należące do superrodziny AAA białko FtsK występuje w postaci heksameru u większości eubakterii i składa się z trzech domen: konserwatywnej domeny C-końcowej FtsK<sub>C</sub>, na którą składają się trzy podjednostki:  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ , domeny łącznikowej FtsK<sub>L</sub> oraz N-końcowej FtsK<sub>N</sub>, której cztery transbłonowe segmenty zakotwiczą białko w błonie komórkowej. FtsK jest zależną od ATP najszybszą znaną translokazą DNA zdolną przemieścić go między tworzącymi się komórkami w tempie ponad pięciu kb/s. Uczestniczy ona w podziale komórkowym na różnych jego etapach, przede wszystkim podczas tworzenia dywisomu i przenoszenia materiału genetycznego z komórki macierzystej do potomnej. Wchodzi w bezpośrednią interakcję z TopoIV i rekombinazą XerCD, ułatwiając im dekatezację chromosomu bakteryjnego, a także umożliwiając rozdział dimerów chromosomowych. Jest również zaangażowane w mechanizm SOS, którego promotor *dinH* kontroluje ekspresję genu *ftsK*, która jest indukowana podczas odpowiedzi tego typu. Przypuszcza się jednak, iż nie są to

wszystkie pełnione przez to białko funkcje. Ze względu na kluczową rolę, jaką odgrywa w komórce FtsK, może ono obok białka FtsZ stanowić potencjalny cel molekularny dla nowych leków przeciwbakteryjnych.

### Słowa kluczowe

białko FtsK, podziały komórkowe, replikacja, segregacja chromosomów, topoisomeraza IV

### Abstract

*The FtsK protein has a hexameric structure, it belongs to the AAA superfamily and is present in most eubacteria. It consists of three domains: a conservative C-terminal FtsK<sub>C</sub> domain consisting of three subdomains:  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ , the FtsK<sub>L</sub> linker domain and N-terminal FtsK<sub>N</sub> domain, which anchors the protein in the cell membrane with its four transmembrane segments. FtsK is an ATP-dependent, the fastest known DNA translocase, which is able to transport it at a rate of over five kb/s. It takes part in different stages of cell division, especially during divisome formation and translocation of genetic material from the mother to the daughter cell. It interacts with TopoIV and XerCD recombinase, helping in chromosome decatenation and enabling division of chromosome dimers. It is also engaged in the SOS mechanism. As the SOS promoter *dinH* controls the *ftsK* gene expression, the FtsK protein is SOS-inducible. However, it is thought that these are not all the functions of FtsK. Considering its key role in the bacterial cell, FtsK is a prospective molecular target for new antibacterial drugs along with the FtsZ protein.*

### Keywords

*FtsK protein, cell division, replication, chromosomes segregation, topoisomerase IV*

### Wprowadzenie

Gen *ftsK* kodujący białko FtsK został odkryty w roku 1995 przez K. Bega, S. Dewara i W. Donachiego z Instytutu Biologii Komórki i Biologii Molekularnej University of Edinburgh, co zostało przez nich opisane w artykule zatytułowanym „A New *Escherichia coli* Cell Division Gene, *ftsK*” opublikowanym w czasopiśmie „Journal of Bacteriology” [1]. Przeprowadzone przez badaczy eksperymenty wykazały, iż mutacja we wspomnianym genie u bakterii *E. coli* powoduje zależne od temperatury zatrzy-

manie podziału komórkowego na jego późnych etapach, jednocześnie nie wpływając na replikację ani segregację chromosomów. Naukowcom udało się również opisać strukturę i wielkość polipeptydu FtsK oraz wykazać jego znaczne podobieństwo do rodziny białek obecnych u wielu prokariotów. Po zsekwencjonowaniu ich genomu konserwatywny gen *ftsK* znaleziono u ponad 70 różnych gatunków bakterii. Cztery lata po odkryciu wymienionego genu opublikowano artykuł autorstwa grupy badaczy pod kierunkiem W. Steinera, w którym opisana została rola białka FtsK w rozdziale dimerów chromosomowych. Dimery te tworzą się bowiem u ok. 15% komórek *E. coli* w każdym pokoleniu, a ich rozdzielanie, konieczne do prawidłowego zajścia podziału komórkowego, nie jest możliwe bez udziału FtsK [1, 2, 3, 4, 5, 6].

Ponieważ w komórkach eukariotycznych ze względu na odmienny przebieg podziału komórkowego nie występuje homolog białka FtsK, a jednocześnie jest ono bardzo rozpowszechnione w świecie bakterii, stanowi zatem potencjalny cel dla leków przeciwbakteryjnych o szerokim spektrum działania, a jednocześnie bezpiecznych dla ludzi i zwierząt [3, 4, 6].

Od momentu zsekwencjonowania genu kodującego białko FtsK nieprzerwanie prowadzone są – również z udziałem polskich naukowców – liczne badania nad funkcjami i mechanizmami działania tegoż białka, które pozwoliły lepiej poznać jego znaczenie dla komórek bakteryjnych, choć wiele z nich nadal pozostaje tajemnicą.

### **Rola podziału komórkowego w świecie organizmów żywych**

Jak powszechnie wiadomo, podział komórkowy jest ważnym zarówno dla prokariotów, jak i eukariotów procesem życiowym, od którego zależy przetrwanie danej komórki lub organizmu wielokomórkowego. W tym drugim przypadku umożliwia organizmowi wzrost i rozwój, regenerację oraz naprawę uszkodzonych tkanek. U prokariotów, w przeciwieństwie do komórek eukariotycznych, nie obserwuje się zachodzenia zjawisk mitozy ani mejozy. Podczas podziału z komórki macierzystej powstają dwie komórki potomne, co dla organizmów jednokomórkowych, jakimi są bakterie, jest tożsame z rozmnażaniem. W takim przypadku komórki potomne są pod każdym względem identyczne jak macierzysta. Podział komórki związany jest również z tworzeniem przetrwalników (spor) zawierających pełen materiał genetyczny bakterii je wytwarzających. Spo-

ry początkowo pozostają wewnątrz komórki wegetatywnej, po czym zostają uwolnione do środowiska, gdzie mogą pozostać w stanie uśpienia przez wiele lat [6, 7].

### Podział komórkowy u *E. coli*

Pałeczka *E. coli* jest jednym z najlepiej zbadanych organizmów na świecie, m.in. pod względem mechanizmu podziału komórkowego. Czas jej podziału w optymalnych warunkach przy temperaturze otoczenia równej 37°C wynosi ok. 40 min. Bakteria ta posiada DNA w postaci jednego kołowego chromosomu oraz plazmidów, a jej genom składa się z 4,6 mln par zasad. Wiele genów kodujących białka odpowiedzialne za tworzenie septum i enzymy syntetyzujące prekursor peptydoglikanu w cytoplazmie (oprócz FtsK) należy do klasteru genów *dcw* obecnego zarówno u Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych pałeczek [4, 8, 9].

### Replikacja DNA

Replikacja bakteryjnego DNA odbywa się dzięki zestawowi białek określanemu jako replisom. Rozpoczyna się w miejscu *oriC*, począwszy od krótkich starterowych fragmentów RNA syntetyzowanych przez prymazę, a kończy w miejscu *ter*, gdzie spotykają się biegnące w przeciwnych kierunkach widełki replikacyjne. Na początku procesu białko DnaA wiąże się do kilku swoistych sekwencji nukleotydowych we wspomnianym regionie *oriC*, oligomeryzuje i prowadzi do rozplecenia helisy DNA. Zarówno u bakterii, jak i eukariontów synteza DNA odbywa się w kierunku 5'→3' przy udziale polimerazy DNA. Nić wiodąca syntetyzowana jest w sposób ciągły, nić opóźniona – odcinkami DNA zwanymi fragmentami Okazaki, które łączy ze sobą ligaza [10]. Po replikacji DNA następuje przeniesienie go w okolice biegunów komórki, która zaczyna się wydłużać do momentu, gdy osiągnie długość dwukrotnie większą niż początkowa. Tworzy się przewężenie w centralnej części komórki i odbywa się synteza ściany komórkowej [8].

### Tworzenie dywisomu

W procesie podziału komórkowego u *E. coli* uczestniczy duży kompleks białkowy – dywisom – składający się z ponad 30 białek. Dokładny mechanizm ich współpracy i formowania tej struktury nie jest do końca jasny. Umiejscowienie dywisomu w komórce bakteryjnej może być determi-

wane m.in. przez mechanizmy wykorzystujące lokalizację chromosomu, takie jak ten związany z białkiem SlmA, lub odwrotnie – lokalizacja chromosomu może zależeć od miejsca powstania dywisomu, tak jak w przypadku białka FtsK. W celu ustalenia lokalizacji dywisomu wykorzystywany może być również mechanizm Ter i białka Min. U *E. coli* białko MinC odgrywające rolę inhibitora podziału komórkowego wraz z aktywującym je białkiem MinD zapobiega tworzeniu kompleksu białkowego przez FtsZ. MinC ma zdolność wiązania się z błoną komórkową, czemu przeciwdziałą białko MinE [4, 8, 11, 12, 13].

Tworzenie hiperstruktury dywisomu inicjowane jest przez tworzące filamenty białko FtsZ. U *E. coli* tworzy ono pierścień Z, zwany też pierścieniem cytokinetycznym, łącząc się z pozostałymi białkami dywisomu za pomocą swojej domeny C-końcowej. W zapewnieniu integralności tego pierścienia ważną rolę odgrywa natomiast białko FtsA, które razem z ZipA zakotwicza FtsZ w błonie komórkowej, a także białka Zap. Następnie dochodzi do rekrutacji kompleksu FtsEX będącego transporterem typu ABC i towarzyszącego mu białka EnvC oraz kolejnych białek wchodzących w skład dywisomu. Podobnie jak białka Zap i ZipA, kompleks FtsEX i białko EnvC nie są jednak niezbędne do utworzenia i prawidłowego działania dywisomu [7, 8, 12, 13].

FtsN, ostatnie białko rekrutowane w toku tworzenia dywisomu, aktywuje go i umożliwia rozpoczęcie syntezy peptydoglikanu. W dalszej kolejności pojawiają się natomiast różnego rodzaju białka związane z inwaginacją i remodelowaniem ściany komórkowej, które ułatwiają prawidłowe rozdzielanie komórki potomnej od macierzystej, np. amidazy [12].

Wbrew wcześniejszym doniesieniom białka tworzące pierścień Z u bakterii *E. coli* zachodzą na siebie, tworząc ciągłą strukturę. Tworzone przez nie filamenty białkowe przesuwają się względem siebie, co umożliwia kolejno zamknięcie i zaciśnięcie pierścienia, „wciągnięcie” błony komórkowej do środka, a w konsekwencji prowadzi do podzielenia komórki w połowie. Zwiększenie stężenia białek FtsZ i FtsA w komórce może prowadzić do pojawiania się dodatkowych pierścieni Z i nieprawidłowego jej podziału [7].

Geny kodujące białka związane z dywisomem noszą nazwę *fts* (ang. *filamentous temperature sensitive*), gdyż fenotyp mutantów *fts* jest w temperaturze permissywnej identyczny jak fenotyp komórek typu dzikiego, natomiast w niepermissywnej komórki te przyjmują formę wydłużonych filamentów [8, 14].

## Rodzina białek z rodziny FtsK

Występowanie białek z rodziny FtsK jest typowe dla większości eubakterii. Należą one do superrodziny AAA. Ich cechą charakterystyczną jest zdolność do transportu materiału genetycznego w trakcie wielu różnorodnych procesów, którym podlegają komórki bakterii: sporulacji, koniugacji, pakowania DNA wirusowego i segregacji DNA w chromosomach bakteryjnych [3, 5, 6].

### SpolIIE

Składające się z sześciu podjednostek białko występujące u bakterii *B. subtilis* związane z trzecim etapem procesu przetrwalnikowania było pierwszym odkrytym białkiem z rodziny FtsK. Ponieważ w czasie sporulacji komórka bakteryjna dzieli się asymetrycznie, a linia podziału przebiega na jej chromosomie, SpolIIE przemieszcza się w okolice miejsca podziału komórki, by przetransportować brakującą część chromosomu do powstającego przetrwalnika. Przypuszcza się, iż transport ten odbywa się po ukończonym podziale komórki, gdy błony komórkowe uległy już fuzji. SpolIIE zapoczątkowuje też zlewanie się błony komórkowej przetrwalnika w trakcie sporulacji i fuzję błony komórkowej komórki macierzystej podczas cytokinezy. Podobnie jak FtsK, translokaza SpolIIE odpowiada za transport dsDNA, potrafi rozpoznać jego polarność i wykazuje podobieństwo na poziomie kilkudziesięciu procent do wymienionego białka pod względem budowy domeny C-końcowej [5, 6, 15].

### SftA

Drugi obok SpolIIE homolog FtsK obecny u *B. subtilis*, związany z segregacją chromosomów w trakcie wegetatywnego podziału komórkowego we wcześniejszych jego stadiach. Tworzy też pory w warstwach lipidowych [6].

### TraB

Białko to, kodowane przez plazmidowe DNA, przyjmuje strukturę heksamery i bierze udział w koniugacji u *Streptomyces*. Po przemieszczeniu się w miejsce transferu genetycznego rozpoznaje specyficzną ośmiokleotydomową sekwencję DNA i wiąże się z nim, po czym przenosi go z czubka jednej pseudostrzępki grzybni do kolejnej. Podobnie jak białko

SftA zaangażowane jest w tworzenie porów w warstwach lipidowych [6, 15, 16].

### Struktura białka FtsK

Obecne u *E. coli* białko FtsK składa się z 1329 aminokwasów, jego średnica zewnętrzna wynosi 12 nm, masa zaś – 147 kDa. Można wyodrębnić w nim trzy domeny: FtsK<sub>N</sub>, FtsK<sub>C</sub> oraz FtsK<sub>L</sub>. FtsK<sub>N</sub> to transbłonowa domena N-końcowa będąca RecA-podobną ATP-azą, FtsK<sub>C</sub> zaś jest C-końcową domeną ATP-azy składającą się z ok. 500 aminokwasów. Domena łącznikowa FtsK<sub>L</sub> natomiast, będąca pomostem pomiędzy pozostałymi dwiema domenami, przejawia duże zróżnicowanie pod względem długości i składu u poszczególnych organizmów [1, 14, 17, 18, 19, 20, 21].

### Domena FtsK<sub>N</sub>

Długość hydrofobowej domeny N-terminalnej EcFtsK wynosi 180 aminokwasów. Cztery transbłonowe segmenty tej domeny zakotwiczą białko w błonie wewnętrznej komórki. Początkowa sekwencja 202 aminokwasów FtsK, obejmująca całą domenę FtsK<sub>N</sub>, wystarcza, aby białko mogło uczestniczyć w podziałach komórkowych [6, 14, 20, 22].

### Domena FtsK<sub>L</sub>

Proteobakterie charakteryzują się obecnością stosunkowo długiej domeny łącznikowej białka FtsK. U *E. coli* ma ona długość 638 aminokwasów i jest bogata w glutaminę i prolinę. Przypuszcza się, że może uczestniczyć w tworzeniu multimetrów FtsK i porów w błonie komórkowej podczas podziału [6, 20, 22].

### Domena FtsK<sub>C</sub>

W EcFtsK<sub>C</sub> można wyodrębnić trzy subdomeny:  $\alpha$  – o długości 126 aminokwasów i budowie charakterystycznej jedynie dla FtsK,  $\beta$  – o długości 315 aminokwasów, podobną pod względem struktury do białka RecA oraz  $\gamma$ , której długość wynosi 70 aminokwasów. FtsK<sub>C $\alpha$</sub>  i FtsK<sub>C $\beta$</sub>  tworzą razem domenę motoryczną zwaną też modułem translokacji, subdomena FtsK<sub>C $\gamma$</sub>  nazywana jest natomiast subdomeną sensoryczną lub modułem orientacyjnym. Zmiana konformacyjna po hydrolizie przyłączonej do FtsK<sub>C</sub> cząsteczki ATP umożliwiająca białku translokację DNA polega na ruchu subdomeny  $\alpha$  względem  $\beta$  na zasadzie podobnej co ruch zawiasów,

który można też porównać z ruchem otwierających się szczęk [5, 6, 15, 19, 22].

Badania z wykorzystaniem zmutowanego, nietoksycznego białka  $E_c$ -FtsK<sub>C</sub> wykazały, iż domena FtsK<sub>C</sub> w stanie wolnym występuje w postaci monomerycznej, jednak w obecności dsDNA przyjmuje strukturę jednolitych heksamerycznych pierścieni, podobnie jak białko SpoIIIE u *B. subtilis*. Jak pokazały badania z wykorzystaniem stworzonych komputerowo trójwymiarowych modeli wymienionych części, wolna przestrzeń w środku tych pierścieni dokładnie odpowiada szerokości cząsteczki B-DNA i wynosi dwa nm. Białko pozbawione domeny FtsK<sub>C</sub> ma upośledzoną zdolność segregacji chromosomów i tworzenia przegrody międzykomórkowej [19, 23]. Pod koniec przeprowadzonej translokacji materiału genetycznego FtsK ulega demontażowi, jednak szczegóły tego mechanizmu nie są znane [6].

### Funkcje białka FtsK

Pod względem pełnionej w komórkach bakteryjnych funkcji białko FtsK można określić jako zależną od ATP translokazę zdolną do przenoszenia dsDNA podczas podziału komórkowego. Średnie tempo translokacji wynosi ok. pięciu kb/s w temp. od 20°C do 25°C i może zwiększyć się do ponad 17,5 kb/s w temp. 37°C, co czyni FtsK najszybszą znaną translokazą DNA. W warunkach *in vitro* podczas przenoszenia DNA w temperaturze pokojowej FtsK potrafi oprzeć się sile ponad 60 pN. Jest ono też w stanie generować pozytywne superskręcenia DNA w obecności ATP i obecnej u *E. coli* Topol [3, 6, 13, 22, 24].

Białko FtsK przemieszcza się wzdłuż cząsteczki DNA, nie rozwijając jej nici. Domena FtsK<sub>N</sub> uczestniczy w podziale komórkowym, kierując białko do powstającego septum i zakotwicząc je w błonie komórki. W wypadku jej upośledzenia rolę tę przejmują białka adaptorowe. Funkcją domeny FtsK<sub>C</sub> jest natomiast transport dsDNA i aktywacja rekombinazy XerCD, subdomeny zaś  $\alpha$  i  $\beta$  zawierają ATP-azy. Subdomenę  $\gamma$  FtsK<sub>C</sub> można zatem określić mianem modułu orientacyjnego, a subdomeny  $\alpha$  i  $\beta$  stanowią razem moduł translokacji, który wraz z domeną łącznikową jest konieczny do rozdziału dimerów chromosomowych. FtsK<sub>C</sub> uczestniczy również w przemieszczaniu DNA w kierunku biegunów komórki, by w jej centrum mogła utworzyć się przegroda międzykomórkowa [6, 19, 21, 25].



## Transport DNA

Gdy dsDNA znajduje się już wewnątrz pierścienia FtsK<sub>C</sub>, subdomena FtsK<sub>Ca</sub> za pomocą pętli wewnątrz kanału kontaktuje się z nim, a subdomena FtsK<sub>Cβ</sub> odłącza się od niego. Wiązanie i hydroliza ATP oraz następujące po nich wydzielanie ADP powodują zmiany konformacyjne, rozpoczynając translokację DNA. Pod koniec cyklu katalitycznego obejmującego translokację fragmentu DNA odpowiadającego jednemu obrotowi jego podwójnej helisy jest on silniej wiązany przez subdomenę β. W ten sposób subdomeny te na zmianę wiążą DNA w trakcie wspomnianego cyklu. Częsteczka DNA przemieszcza się w kierunku od subdomeny β do α i praktycznie nie podlega ruchowi obrotowemu względem kanału wewnątrz FtsK ani innym zmianom w czasie translokacji. Do tej pory nie ustalono mechanizmu transportu kolistego chromosomu bakteryjnego przez błonę komórkową pod koniec podziału komórkowego. Proponowane modele uwzględniają dwa różne sposoby, w jakie FtsK mogłoby przeprowadzać translokację DNA. W pierwszym przypadku cząsteczki FtsK tworzą osobne pory w błonie komórkowej, przez które transportowane jest dsDNA. Pod koniec translokacji cząsteczki FtsK zderzają się ze sobą, a pory w błonie zlewają się w wyniku zamykania przegrody międzykomórkowej, umożliwiając pozostałemu fragmentowi chromosomu pasywnie przeniknąć do komórki potomnej. Drugi model przewiduje natomiast współpracę wielu cząsteczek FtsK, które jednocześnie transportują cały chromosom bakteryjny do komórki potomnej przez nieuformowaną do końca przegrodę międzykomórkową [6, 8, 19].

Kierunek transportu DNA przez EcFtsK determinowany jest przez KOPS – specyficzną ośmionukleotydową sekwencję 5'-GGGNAGGG-3', rozpoznawaną przez podjednostkę EcFtsK<sub>Cγ</sub>, która nakierowuje białko w kierunku sekwencji *ter* na chromosomie bakteryjnym. Sekwencja KOPS różni się u poszczególnych gatunków bakterii. Znajduje się ona na obu ramionach chromosomu i biegnie w przeciwnych kierunkach na każdym z nich. Białko FtsK, zazwyczaj w stanie związanym z ADP, rozpoznaje sekwencję KOPS w wyniku przypadkowych kolizji z DNA i zostaje załadowane na jedno ramię chromosomu. Umożliwia to przesunięcie miejsca *dif* w kierunku dywisomu przy rozdziale dimerów chromosomowych. Gdy FtsK zacznie już przemieszczać się wzdłuż DNA, nie jest w stanie znów rozpoznać kolejnej sekwencji KOPS [5, 6, 13, 15, 19, 20, 21, 26].

### Interakcje z białkami wiążącymi DNA

FtsK jest w stanie przesunąć i omijać związane z DNA bakteryjnym białka, takie jak streptawidyna i obecne u *E. coli* MatP (ang. *macrodomain Ter protein*). Wśród tych białek wymienić można również EcoRI, represor Lac (LacI), związane z zakończeniem replikacji białko Tus, kompleks białkowy RecBCD oraz polimerazę RNA (RNAP), które mogą stanowić przeszkodę w translokacji i powodować zatrzymanie widełek replikacyjnych. Badania *in vitro* wykazały, że im białko mocniej związane z DNA, tym mniejsza szansa, że zostanie przesunięte wzdłuż DNA i że FtsK zawróci po napotkaniu go [6, 21].

### Interakcje z rekombinazą XerCD

Białko FtsK stymuluje aktywność miejscowo specyficznej rekombinazy tyrozynowej XerCD po jej związaniu z miejscem *dif* – 28-nukleotydową sekwencją znajdującą się wewnątrz regionu zakończenia replikacji chromosomu (*ter*), aby dimery chromosomowe powstające podczas homologicznej rekombinacji mogły zostać przekształcone do monomerów przed podziałem komórki. Mówiąc precyzyjniej, subdomena FtsK<sub>Cy</sub> wchodzi w bezpośredni kontakt z wymienioną rekombinazą, aktywując jej składową XerD. Rekombinaza XerCD ma aktywność topoizomerazy typu I. Uczestniczy ona w tworzeniu HJ, najbardziej efektywnie w obecności FtsK i katalizuje konserwatywne reakcje wymiany dwóch par fragmentów nici DNA, co umożliwi rozdzielenie dimerów chromosomowych, a także ułatwia dekatencję chromosomu [3, 15, 19, 20, 21, 22].

### Interakcje z topoizomerazą IV

Topoizomeraza IV jest drugą obok gyrazy topoizomerazą typu II – enzymem składającym się z dimeru ParE z domeną ATP-azową oraz dimeru ParC zawierającego domeny wiążące i tnące dwie skręcone ze sobą nici DNA, które składają się na chromosom bakteryjny. Podjednostki te przez większość czasu trwania cyklu komórkowego mają różną lokalizację – ParE występuje z dala od miejsc, gdzie znajduje się DNA, a ParC – w ich pobliżu, gdyż odpowiada za wiązanie DNA. Funkcją TopoIV jest relaksacja pozytywnego superskręcenia DNA oraz rozdział dimerów chromosomowych. Miejsce, gdzie tnie cząsteczkę DNA, znajduje się blisko *dif*. Jej aktywność związana z dekatencją jest stymulowana przez białko FtsK, które rekrutuje ją do centrum komórki. We współdziałaniu FtsK i Topo-

IV pośredniczą podjednostki ParC TopoIV i domena C-końcowa FtsK [15, 18, 20].

### Pozostałe funkcje

W komórkach bakteryjnych, w których nastąpiła nadekspresja białka FtsK, zaobserwowano zwiększoną ich oporność podczas ekspozycji na czynniki powodujące uszkodzenie DNA, takie jak promieniowanie UV i mitomycyna C, jednak dokładny mechanizm tej oporności nie jest znany [27]. Pełen wachlarz funkcji translokazy FtsK nie został jeszcze w pełni poznany i na podstawie badań z użyciem mutantów zawierających uszkodzone białko przypuszcza się, że może ono odgrywać dużo większą rolę u posiadających je organizmów niż ta opisana do tej pory.

### Rola białka FtsK w mechanizmie SOS

Istnieją dwa rodzaje odpowiedzi na uszkodzenie materiału genetycznego komórki: niemutagenne, takie jak fotoreaktywacja, resynteza DNA i wycinanie jego uszkodzonych fragmentów oraz mutagenne, do których należy odpowiedź SOS [28].

Odpowiedź typu SOS u bakterii *E. coli* jest mechanizmem uruchamianym w wyniku uszkodzenia DNA przez promieniowanie UV i czynniki chemiczne lub powstania problemów z replikacją. Regulon SOS obejmuje ponad 50 różnych genów, a jego promotorem jest gen *dinH* (ang. *damage inducible*). Funkcją odpowiedzi typu SOS zarówno u bakterii, jak i eukariontów jest naprawa DNA, która następuje po zatrzymaniu replikacji. Konkretnie aktywacja mechanizmu SOS odbywa się w wyniku nagromadzenia zbyt dużej ilości ssDNA w komórce. Na regulację tego mechanizmu wpływ dodatni wykazuje białko RecA, będące produktem genu *recA*, ujemny zaś – białko LexA, produkt genu *lexA*. Białko LexA pełni funkcję regulacyjną względem genu *dinH* i blokuje transkrypcję polimerazy RNA, RecA z kolei wiąże ssDNA, tworząc kompleks nukleoproteinowy. Aktywowane przez ssDNA białko RecA stymuluje gen *lexA* do autoproteolizy, co umożliwia ekspresję kolejnych genów regulonu SOS i w konsekwencji uruchomienie tej odpowiedzi [17, 27, 29].

Ważnymi genami ulegającymi ekspresji w toku odpowiedzi typu SOS są m.in. geny *sulA*, *umuC* i *umuD*. Kodowane przez gen *sulA* białko SulA hamuje proces podziału komórkowego, umożliwiając naprawę uszkodzonego DNA, tak aby wadliwy materiał genetyczny nie został przekazany

komórce potomnej. Koordynuje również w czasie naprawę DNA i podział komórkowy, by uniknąć przecięcia nukleoidów w czasie podziału i złamania obu nici helisy DNA. Produkty genów *umuC* i *umuD* natomiast tworzą polimerazę o potencjale mutagennym naprawiającą DNA (ang. *translesion polymerase*). Składa się ona z homodimeru D' oraz monomeru C i nosi nazwę *UmuD'2C* lub PolV. Jej potencjał mutagenny wynika z braku aktywności edytorskiej, czyli umiejętności cofania się i naprawy popełnionych błędów oraz stosunkowo „luźnego” centrum aktywnego i polega na dobudowywaniu losowych zasad azotowych, najczęściej adeniny, naprzeciwko uszkodzonych miejsc w DNA. Częstość występowania błędów w trakcie działania PolV wynosi od  $10^{-3}$  do  $10^{-4}$  [17, 27, 29, 30, 31].

### **Białko FtsK jako część bakteryjnego mechanizmu SOS**

Gen *ftsK* jest pierwszym ważnym genem, jaki udało się odkryć, kontrolowanym przez promotor *dinH* i leży tuż za nim na chromosomie bakteryjnym [14, 17]. Białko FtsK może być zatem indukowane w trakcie odpowiedzi SOS.

Eksperymenty polegające na traktowaniu komórek *E. coli* kwasem naldyksowym udowodniły, że wzmożona ekspresja białka FtsK może być powodowana przez uszkodzenie bakteryjnego DNA i jest zależna od genów *lexA* i *recA*. Po potraktowaniu tym kwasem mutantów *recA* nie nastąpiło bowiem zwiększenie poziomu białek FtsK w przeciwieństwie do komórek o prawidłowo działającym genie *recA*, u których zaobserwowano większe stężenie wymienionych białek po kontakcie z kwasem. Analogiczne rezultaty uzyskano z wykorzystaniem przetrzymywanych w temp. 42°C mutantów *lexA* [14].

U mutantów posiadających nieprawidłowe geny *xerCD*, *div* lub *ftsK* obserwuje się wystąpienie mocno nasilonej odpowiedzi typu SOS po tym, jak podczas podziału komórkowego powstająca przegroda międzykomórkowa przecina nieprawidłowo rozdzielone chromosomy [27].

### **Wykorzystanie FtsK jako tarczy dla leków przeciwbakteryjnych**

Ze względu na ważną rolę, którą odgrywa w komórce, białko FtsK razem z pozostałymi białkami tej rodziny może stać się celem dla nowej generacji leków przeciwbakteryjnych. Obecnie znany jest szereg substancji będących inhibitorami podziału komórkowego u *E. coli*, które wpływają na białko FtsZ, takie jak amikacyna, A189, berberyna, aldehyd cynamonowy

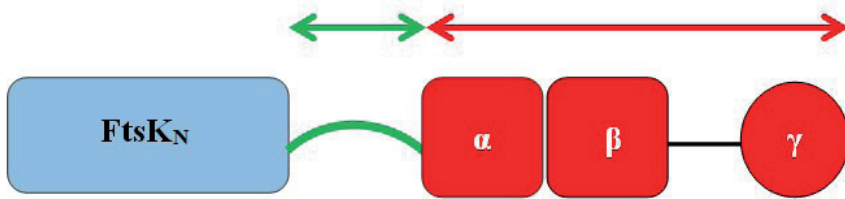
czy kurkumina [32]. Amikacyna uniemożliwia tworzenie się pierścienia Z, a pozostałe substancje hamują polimeryzację i aktywność GTP-azy (prócz pobudzającej ją kurkuminy). Istnieje również antybiotyk o nazwie viriditoxin wykazujący działanie hamujące podział komórkowy i uniemożliwiający polimeryzację FtsZ, który działa również na wankomycynoporne szczepy *Enterococci* [13, 32, 33].

Uzyskanie związku chemicznego działającego na białko FtsK również jest szansą na stworzenie skutecznej substancji o właściwościach antibakteryjnych, która utrudniałaby dekatencję chromosomów, uniemożliwiała ich prawidłowy rozdział do komórek potomnych i ingerowała w mechanizm SOS, jednocześnie zwiększając podatność większości eubakterii na czynniki uszkodzające DNA. Badania wykazały, że komórki *E. coli* pozbawione FtsK lub posiadające je w mocno upośledzonej formie występowały w postaci gładkich, wydłużonych filamentów i szybko traciły zdolność do podziału [3, 14].

Ponieważ FtsK nadal jest w stanie częściowo pełnić swoją funkcję w komórce bez prawidłowo ukształtowanej domeny FtsK<sub>C</sub>, cel potencjalnego leku powinna stanowić domena FtsK<sub>N</sub>, która mogłaby zostać przez niego upośledzona lub odcięta, szczególnie w rejonie początkowych 202 aminokwasów składających się na FtsK. Wykazano bowiem, iż pozbawione tych aminokwasów białko nie jest w stanie uczestniczyć w podziałach komórkowych [14]. Wspomniany lek mógłby stanowić atrakcyjną alternatywę dla popularnych antybiotyków ze względu na powszechne występowanie homologów FtsK u wielu bakterii i jednocześnie ich brak u ludzi i zwierząt, co przekładałoby się na brak niebezpiecznych skutków ubocznych jego stosowania. Jak wspomniano w Rozdziale IV, odkrycie pozostałych funkcji białka FtsK i jego znaczenia dla komórek bakteryjnych wymaga jednak przeprowadzenia dalszych badań *in vitro*.



Rysunek 1. Kolejność rekrutacji białek dywizomu

**FtsK<sub>L</sub>****FtsK<sub>C</sub>**

Rysunek 2. Schematyczne przedstawienie struktury białka FtsK

## Piśmiennictwo

1. Begg KJ, Dewar SJ, Donachie WD. A New *Escherichia coli* Cell Division Gene, *ftsK*. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177: 6211–6222.
2. Steiner W, Liu G, Donachie WD, Kuempel P. The cytoplasmic domain of FtsK protein is required for resolution of chromosome dimers. *Molecular Microbiology*. 1999, 31: 579–583.
3. Aussel L, Barre FX, Aroyo M, Stasiak A, Stasiak AZ, Sherratt D. FtsK Is a DNA Motor Protein that Activates Chromosome Dimer Resolution by Switching the Catalytic State of the XerC and XerD Recombinases. *Cell*. 2002, 108: 195–205.
4. Vicente M, Rico AI, Arteaga RM, Mingorance J. Septum Enlightenment: Assembly of Bacterial Division Proteins. *Journal of Bacteriology*. 2006, 188: 19–27.
5. Barre FX. FtsK and SpoIIIE: the tale of the conserved tails. *Molecular Microbiology*. 2007, 66: 1051–1055.
6. Demarre G, Galli E, Barre FX. The FtsK Family of DNA Pumps [w:] DNA Helicases and DNA Motor Proteins, Spies M. (red.). Springer Science & Business Media, Iowa City, 2012, 245–262.
7. Szwedziak P, Wang Q, Bharat TAM, Tsim M, Löwe J. Architecture of the ring formed by the tubulin homologue FtsZ in bacterial cell division. *eLife*. 2014, 3: 1–22
8. Skoog K. Cell division in *Escherichia coli*. US-AB, Sztokholm 2011.
9. Zaritsky A, Wang P, Vischer NOE. Instructive simulation of the bacterial cell division cycle. *Microbiology*, 2011, 157: 1876–1885.
10. Trojanowski D, Skut P, Hołówka J, Szafran MJ. W poszukiwaniu nowych antybiotyków – inhibitory replikacji chromosomów bakteryjnych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2014, 68: 701–714.

11. Männik J, Bailey MW. Spatial coordination between chromosomes and cell division proteins in *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*. 2015, 6: 1–8.
12. Du S, Pichoff S, Lutkenhaus J. FtsEX acts on FtsA to regulate divisome assembly and activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2016, 113: 5052–5061.
13. Männik J, Woldringh CL, Zaritsky A. The Bacterial Cell: Coupling between Growth, Nucleoid Replication, Cell Division, and Shape. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1–3.
14. Wang L, Lutkenhaus J. FtsK is an essential cell division protein that is localized to the septum and induced as part of the SOS response. *Molecular Microbiology*. 1998, 29: 731–740.
15. Besprozvannaya M, Burton BM. Do the same traffic rules apply? Directional chromosome segregation by SpoIIIE and FtsK. *Molecular Microbiology*. 2014, 93: 599–608.
16. Jakimowicz D. Segregacja chromosomów i podziały komórkowe podczas wzrostu i różnicowania *Streptomyces*. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2007, 61: 565–575.
17. Dorazi R, Dewar SJ. The SOS promoter *dinH* is essential for FtsK transcription during cell division. *Microbiology*. 2000, 146: 2891–2899.
18. Espeli O, Lee C, Marians KJ. A Physical and Functional Interaction between *Escherichia coli* FtsK and Topoisomerase IV. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003, 278: 44639–44644.
19. Massey TH, Mercogliano CP, Yates J, Sherratt DJ, Löwe J. Double-Stranded DNA Translocation: Structure and Mechanism of Hexameric FtsK. *Molecular Cell*. 2006, 23: 457–469.



20. Bigot S, Sivanathan V, Possoz C, Barre FX, Cornet F. FtsK, a Literate Chromosome Segregation Machine. *Molecular Microbiology*, 2007, 64: 1434–1441.
21. Lee JY, Finkelstein IJ, Arciszewska LK, Sherratt DJ, Greene EC. Single-molecule Imaging of FtsK Translocation Reveals Mechanistic Features of Protein-Protein Collisions on DNA. *Molecular Cell*. 2014, 54: 832–843.
22. Grainge I. Simple topology: FtsK-directed recombination at the dif site. *Biochemical Society Transactions*. 2013, 41: 595–600.
23. Yu X, Weihe E. Role of the C Terminus of FtsK in *Escherichia coli* Chromosome Segregation. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180: 6424–6428.
24. Crozat E, Grainge I. FtsK DNA translocase: The fast motor that knows where it's going. *ChemBioChem*. 2010, 11: 2232–2243.
25. Popławska M, Dziadek J. Białka podziału komórkowego – drużyna pierścienia. *Postępy mikrobiologii*. 2007, 47: 5–19.
26. Lee JY, Finkelstein IJ, Crozat E, Sherratt DJ, Greene EC. Single-molecule Imaging of DNA Curtains Reveals Mechanisms of KOPS Sequence Targeting by the DNA Translocase FtsK. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012, 109:6531–6536.
27. Simmons LA, Foti JJ, Cohen SE, Walker GC. The SOS Regulatory Network. *Ecosal Plus*. 2008, 3: 1–48.
28. Fletcher HL, Hickey GI. *Molecular genetics [w:] Genetics*, Fletcher H.L., Hickey G.I. (red.). Garland Science, Nowy Jork 2012, s. 1–53.
29. Schlacher K, Leslie K, Wyman C, Woodgate R, Cox MM, Goodman M.F. DNA Polymerase V and RecA Protein, a Minimal Mutasome. *Molecular Cell*. 2005, 17: 561–572.

- 30 Waters LS, Minesinger BK, Wiltrout ME, D'Souza S, Woodruff RV, Walker GC. Eukaryotic Translesion Polymerases and Their Roles and Regulation in DNA Damage Tolerance. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*. 2009, 73: 134–154.
31. Hawver LA, Beuning PJ. UmuC D Lesion Bypass DNA Polymerase V [w:] *Encyclopedia of Biological Chemistry*, Lennarz WJ, Lane MD (red.). Academic Press, Londyn 2013, s. 477–481.
32. Monahan LG, D'Elia MA, Harry EJ. Mining Bacterial Cell Division for New Antibacterial Drugs[w:] *Emerging Trends in Antibacterial Discovery: Answering the Call to Arms*, Miller A.A., Miller P.F. (red.). Horizon Scientific Press, Poole, 2011, s. 35–76.
33. Wang J, Galgoci A, Kodali S, Herath KB, Jayasuriya H, Dorso K, Vicente F, González A, Cully D, Bramhill D, Singh S. Discovery of a Small Molecule That Inhibits Cell Division by Blocking FtsZ, a Novel Therapeutic Target of Antibiotics. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003, 278: 44424–44428.

**Address for correspondence / Adres do korespondencji**

Aleksandra Kowalczyk  
Zakład Genetyki Drobnoustrojów  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki  
Banacha 12/16, 90-237 Łódź  
e-mail: [aleksandra.strzelczyk@biol.uni.lodz.pl](mailto:aleksandra.strzelczyk@biol.uni.lodz.pl)