

A pályázat az *Escherichia coli* baktérium genomszerkezetének vizsgálatára irányult, és változatos genomátalakítási kísérletekre épült. Arra voltunk kíváncsiak, a jól ismert genetikai faktorokon túl a genomszerkezet sajátosságai is befolyásolják-e a gének kifejeződésének mértékét.

1. A fő témával (a genom számos pozíciójába véletlenszerűen integrált, környezetétől elszigetelt, fluoreszcens marker gén konstrukciók expressziójának mérése, majd az expresszió mértékéből architekturális hatásokra következtetés) a tervezettnél lassabban haladtunk részben kapacitáshiány, részben technikai nehézségek miatt. Az is szerepet játszott, hogy rivális laboratóriumok hasonló témában közöltek eredményeket. Végül némileg módosítva az eredeti terveket, elkészültek a fluoreszcens fehérjéket expresszáló kazetták, ezeket transzpozonos mutagenézissel juttatjuk jelenleg a genom véletlenszerű pozícióiba. A munkát a pályázat lezárása után is folytatjuk.

2. A tervezettnél jelentősebb előrelépés történt a munka másik ágában, és itt különösen érdekesnek bizonyult a riboszomális RNS (rrn) operonok és a genomarchitektúra kapcsolatának vizsgálata. Jelentősen átalakított genomú, különféle rrn operon számmal rendelkező *E. coli* törzseket készítettünk, majd ezeket többféle aspektusból jellemeztük. Számos kísérletet végeztünk a különféle izogenikus törzsek fiziológiai paramétereinek és makromolekuláris összetételének nagy pontosságú, statisztikailag korrekt megállapításához. Egy sor kompetíciós kísérletet végeztünk a törzsek relatív fitneszének méréséhez. Az eredményeket összefoglalva: kimutattuk, hogy a vad típusú baktérium rrn operon száma egy evolúciós kompromisszum eredménye, és azt tükrözi, hogy a baktérium eredeti élőhelyén (a bélrendszerben) mind fluktuáló („feast and famine”), mind viszonylag stabil (pl. biofilm) életkörülményekkel szembesül. Gyakorlati következmény, hogy speciális feladatra tervezett, félszintetikus baktériumok rrn operonszámát a feladat függvényében lehet optimalizálni (pl. stabil körülményeket tervezve csökkentett operonszámmal gyorsabb növekedést elérni). Az eredményeket egy *Nucleic Acids Research* publikációban közzeltük. Az operonszámon hatásán túl azt is vizsgáljuk, hogy az egyes operonok genomi pozíciója hogyan befolyásolja expressziójukat. Ehhez további genomvariánsokat készítettünk, melyekben azonos operonszám mellett ezek fizikai pozíciója különbözik. Az összehasonlító kísérletek (pl. növekedési paraméterek, kompetíciós kísérletek változatos körülmények között) jelenleg is folynak.

A munka egy másik, szintén jelentős érdeklődésre számot tartó ágához, az rrn operonok sejten belüli fizikai lokalizációjának vizsgálatához a szükséges genomi variánsokat elkészítettük, kollaborációs partnerünk - fluoreszcens fehérjét kötve az rrn operonokhoz - a nagy felbontású mikroszkópos kísérleteket elvégezte. Megállapította, hogy a természetes rrn operonok két fókuszba csoportosulnak, és ez - korábbi feltételezésekkel szemben - minden növekedési fázisban tapasztalható. A mesterségesen, több genomi pozícióban elhelyezett rrn operonok is ebbe a két fókuszba orientálódnak, de kisebb mértékben, mint a természetes operonok. Az még vizsgálat tárgya, hogy milyen erők (fehérjék?) tartják össze fizikailag a genom különböző részein kódolt rrn operonokat. A munkából elkészült egy kéziratváltozat, kollaborációs partnereinken múlik, mikor lesz belőle közlés.

3. További, nem tervezett eredmény, hogy kollégáinkkal kollaborációban a jelenlegi és az ezt megelőző OTKA-pályázat teljesítése során összegyűlt nagy mennyiségű adatból (deléciós törzssorozat, fiziológiai paraméterek, génexpressziós és energiaháztartási adatok), valamint új, kiegészítő munkákból a genomevolúció egy általános jelenségével (genome streamlining: a genom fokozatos egyszerűsödése) foglalkozó, annak evolúciós hajtóerejét kísérletesen demonstráló cikket állítottunk össze. A megosztott levelező szerzőségű, közlésre elfogadott publikáció a *Molecular Biology and Evolution* folyóiratban jelenik meg 2016 elején.

4. Az evolúcióbíológus kollégákkal közösen készült még egy *Nature Reviews Genetics* „perspectives” cikk (The dawn of evolutionary genome engineering), mely a genomarchitektúra kérdéseivel is foglalkozik.