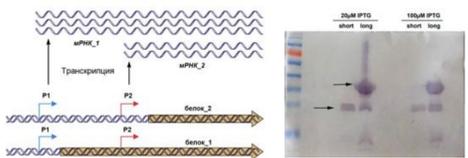


Alex Astashkin, Aleksandra Bazykina, Yakov Bogantsev, Kseniya Giniatullina, Kseniia Khorunzheva, Ivan Randoshkin, Olga Kuznetsova, Daria Nikolaeva, Masha Tutukina, Sofya Garushyants

Introduction Введение

YjJM is a bacterial transcription factor that reportedly regulates virulence. It has been found that its activity is contingent on the presence of particular carbohydrates in the medium and is blocked in pathogenic bacteria dependent on motility. It has two functional open reading frames, of which shorter one was annotated in some pathogenic bacteria.

YjJM — бактериальный фактор транскрипции, возможно, регулирующий переключение образа жизни бактерий со свободноживущего на инфицирующий. Ранее было обнаружено, что его активность зависит от присутствия конкретных сахаров в среде, а у патогенных бактерий, инфицирующих организм хозяина посредством флагеллинов, YjJM неактивен. Он имеет 2 функциональные рамки считывания, при этом у некоторых патогенных бактерий аннотирована только короткая.



Aims Цели

- identify genes regulated by each form of YjJM during *E. coli* growth on different sugars;
- estimate efficiency of the biofilm formation in the presence of each of the two YjJM isoforms;
- compare efficiency of the biofilm formation in the presence of different sugars;
- test the ability of *E. coli* containing different YjJM forms to attach to the epithelial cells (HeLa) and explore the effects of different sugars.

- выявить гены, регулируемые каждой из форм YjJM при росте *E. coli* на разных сахарах;
- посмотреть на эффективность образования биоплёнок в присутствии каждой из двух форм YjJM;
- сравнить эффективность образования биоплёнок в среде с разными сахарами;
- оценить способность *E. coli* с разными формами YjJM прикрепляться к эпителиальным клеткам в присутствии различных сахаров.

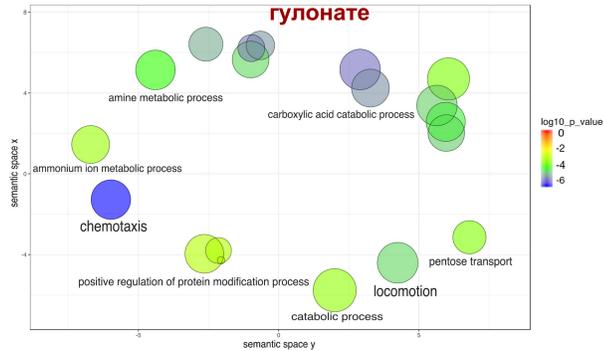
Conclusions Выводы

- YjJM binds the regulatory regions of genes coding for sigma subunit FecI, AntiFlhDC and global regulator SdiA, thus affecting expression of many genes of iron transport and metabolism, bacterial motility and chemotaxis.
- Biofilm formation was inhibited with either deletion of *yjJM* or its long form, but the strongest effect was caused by addition of the 6x-histidines on the YjJM-CTD.
- D-glucuronate or D-galacturonate additionally inhibited biofilm formation, while D-glucuronic lacton and L-gulonate gave no significant effects
- D-glucuronate decreases the amount of attached bacterial cells for all strains. It binds the pocket in YjJM-long and can modulate its activity. The absence of YjJM-long dramatically inhibits the ability of *E. coli* to attach.

- Связываясь с регуляторными областями генов, кодирующих сигма-субединицу FecI, AntiFlhDC и глобальный регулятор SdiA, YjJM влияет на экспрессию многих генов транспорта и метаболизма железа, подвижности и хемотаксиса.
- Удаление *yjJM* или выключение YjJM-long снижало образование биоплёнок, но наибольший эффект давал 6xhis-tag на С-конце YjJM.
- D-глюкуронат и D-галактуронат ингибировали образование биоплёнок, D-глюкуроновый лактон и L-гулонат не оказывали достоверного эффекта.
- D-глюкуронат снижает количество прикрепленных бактерий независимо от штамма. Он связывается с карманом в длинной форме YjJM-long и может моделировать его активность. Удаление YjJM-long сильно снижает способность *E. coli* к адгезии.

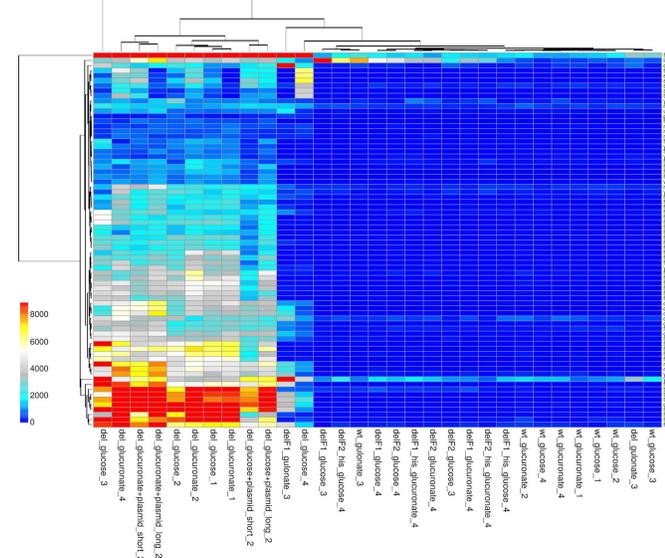
Results Результаты

The long form of YjJM acts as a repressor on gulonate/ Длинная форма YjJM работает как репрессор на гулонате



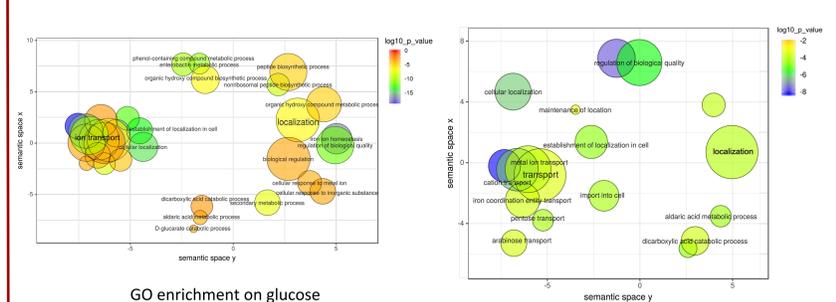
- In the presence of L-gulonate in the medium, the mutant containing only YjJM-short form overexpresses genes associated with locomotion and chemotaxis. Therefore, YjJM-long acts as their repressor.
- При наличии гулоната в среде в штамме без YjJM-long гены, связанные с движением и хемотаксисом, экспрессируются активнее. Следовательно, длинная форма YjJM репрессирует эти гены.

YjJM acts as a repressor on glucose/YjJM работает как репрессор на глюкозе



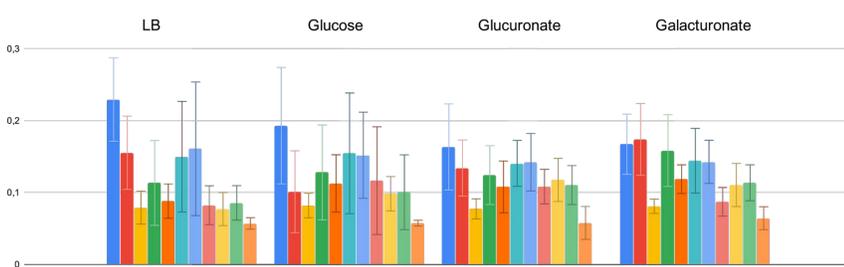
- Heatmap showing genes upregulated in the *yjJM* knockout mutants relative to the wild type when glucose is present in the medium (FDR cutoff = 0.001) (YjJM - repressor).
- Тепловая карта, показывающая гены, которые активируются при росте на глюкозе в делеционном мутанте по *yjJM* относительно дикого типа (порог FDR = 0.001) (YjJM - репрессор).

YjJM ChIP-seq in two different conditions/ChIP-seq YjJM в разных условиях



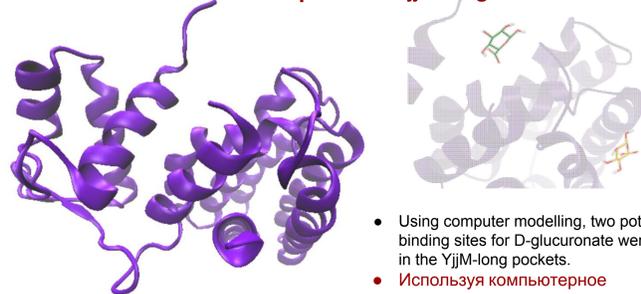
- On glucuronate, YjJM no longer regulates ion transport genes and cell localization genes. That explains cell mobility on glucuronate due to which bacteria are unable to form biofilms.
- На глюкуронате YjJM перестаёт регулировать гены транспорта ионов и локализации. Этим объясняется подвижность клеток на глюкуронате, из-за которой они не могут образовывать биоплёнки.

Biofilm assay: dependency on sugar presence and YjJM form/ Образование биоплёнок: зависимость от сахаров и формы YjJM



- Biofilm assay: absorption at 470 nm of the *E. coli* strains growing on different carbohydrates (value of absorption depends on efficiency of biofilm formation).
- Поглощение при длине волны 470 нм для *E. coli*, растущих на средах с разными сахарами (величина поглощения зависит от эффективности формирования биоплёнок).

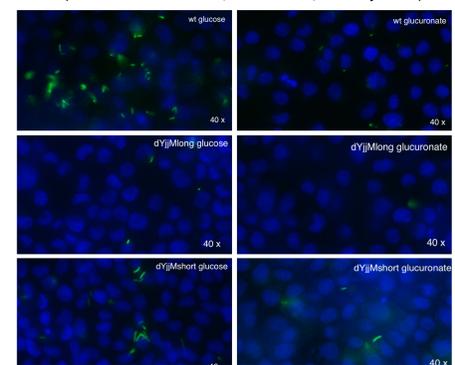
Prediction of the D-glucuronate binding site on the YjJM-long surface/Предсказание сайтов связывания D-глюкуроната на поверхности YjJM-long



- Using computer modelling, two potential binding sites for D-glucuronate were predicted in the YjJM-long pockets.
- Используя компьютерное моделирование, мы предсказали два сайта связывания для D-глюкуроната в карманах YjJM-long.

Bacterial adhesion assay/ Эффективность клеточной адгезии

Bacterial adhesion assay in the presence of different carbohydrates in the medium/Адгезия на клетках HeLa в присутствии разных сахаров в среде (Hoechst stained HeLa/eGFP-*E. coli*, 40x objective)



Bacterial adhesion assay in the presence of different carbohydrates in the medium/Адгезия на клетках HeLa в присутствии разных сахаров в среде (Giemsa staining, 100x objective)

