

## Opět od začátku:

### Genová exprese a buněčná diferenciaci v průběhu germinace spor streptomycet

RNDr. Jan Bobek, Ph.D., Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN v Praze

Streptomycety jsou grampozitivní půdní bakterie s komplexním vývojovým cyklem, který zahrnuje morfologickou diferenciaci i produkci sekundárních metabolitů, jako jsou antibiotika a další bioaktivní látky. Germinace jejich spor představuje modelovou fází vývoje mnoha organismů, při níž se dormance mění na aktivní růst. Klíčovým momentem při germinaci je reaktivace intracelulárních struktur a makromolekul, k čemuž dochází po kontaktu s vodou a živinami. Mikroskopicky se tato fáze projevuje bobtnáním spor. Následně dochází k obnovení enzymatických aktivit a k aktivaci proteosyntézy. K první replikaci DNA dochází mezi 30–60 min kultivace. Po 120 min lze mikroskopicky pozorovat první klíčky, které jsou základem vegetativního růstu.

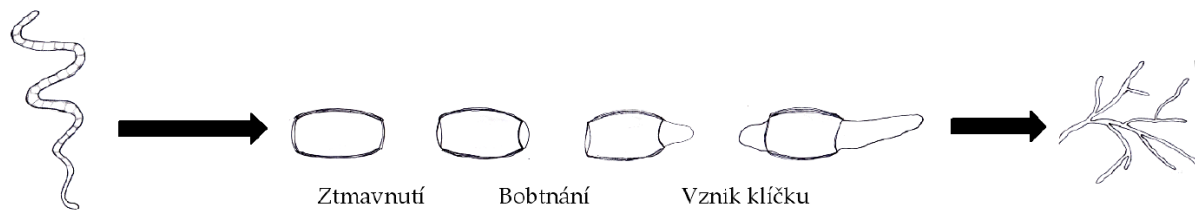
Komparativní analýza transkriptomů a proteomů mapovaných v jednotlivých časových úsecích klíčení spor odhalila zvýšené hladiny exprese genů zahrnutých především v energetickém metabolismu, citrátovém cyklu a v syntéze mastných kyselin. Získaná data také naznačují, že reaktivaci makromolekul napomáhají nově syntetizované chaperony, z nichž Trigger factor a DnaK jsou přímo asociovány s ribozomy. Lze usuzovat, že v této fázi vývoje chaperony umožňují skládání nascentních proteinů do aktivní konformace.

Bioinformatická analýza významných změn v intenzitě genové exprese odhalila, že v průběhu germinace se také aktivují specifické transkripční regulátory, zejména alternativní sigma faktory RNA polymerázy, které jsou spojovány se stresovou odpovědí<sup>1</sup>. Významně nadprodukovaný je sigma faktor SigE, který řídí přestavbu buněčné stěny, a SigR, který kontroluje reaktivaci agregovaných proteinů. Další sigma faktory syntetizované ve zvýšené míře (SigH, SigB, SigI, SigJ) regulují buněčné odpovědi na osmotický či oxidativní stres. Celkově úloha těchto alternativních sigma faktorů zřejmě spočívá v koordinaci transformace buněk při přechodu do vegetativní fáze růstu. Vegetativní fáze růstu je u streptomycet charakterizovaná větvením a rozrůstáním substrátového mycelia. Transkripce v této fázi je řízena především esenciálním sigma faktorem HrdB (analog  $\sigma^{70}$  *E. coli*), jenž je aktivován již v průběhu germinace a jehož regulon se nám s pomocí metod inzerční mutagenese a Chip-Seq analýzy podařilo u modelového kmene *Streptomyces coelicolor* zmapovat<sup>2</sup>.

Zajímavým poznatkem byla přítomnost transkriptů biosyntetických genových shluků, tedy takových, které se podílejí na sekundárním metabolismu. S pomocí HPLC-MS jsme u klíčících spor potvrdili produkci seskviterpenoidního antibiotika albaflavenonu, polyketidu germicidinu A a chalkonu. Překvapivé bylo zjištění, že přítomnost germicidinu A a chalkonu spíše tlumí germinaci dalších spor. Předpokládáme, že sekundární metabolity produkované v rané fázi růstu mohou synchronizovat vývoj producenta (quorum sensing) nebo hrát roli v potlačování konkurenční mikroflóry (quorum quenching) v jeho přirozeném prostředí<sup>3</sup>.

Naše dosavadní výsledky nasvědčují tomu, že germinace streptomycet je komplexně regulovaný proces zahrnující koordinaci genové exprese a buněčné diferenciaci, což buňkám umožňuje rychlou adaptaci na nové prostředí a zahájení růstu.

1. **Bobek J**, Strakova E, Zikova A, Vohradsky J. Changes in activity of metabolic and regulatory pathways during germination of *S. coelicolor*. *BMC Genomics*. 2014 Dec 23;15(1):1173. doi: 10.1186/1471-2164-15-1173. Q1 (2014); IF (2014) = 3.986
2. Šmídová K, Ziková A, Pospíšil J, Schwarz M, **Bobek J**, Vohradsky J. DNA mapping and kinetic modeling of the HrdB regulon in *Streptomyces coelicolor*. *Nucleic Acids Res*. 2019 Jan 25;47(2):621-633. doi: 10.1093/nar/gky1018. **D1**; Q1 (2019); IF (2019) = 11.502
3. Čihák M, Kameník Z, Šmídová K, Bergman N, Benada O, Kofroňová O, Petříčková K, **Bobek J**. Secondary Metabolites Produced during the Germination of *Streptomyces coelicolor*. *Front Microbiol*. 2017 Dec 13;8:2495. doi: 10.3389/fmicb.2017.02495. Q2 (2017); IF (2017) = 4.019



**Schéma germinace streptomycet.** Autorská ilustrace.

Převzato z (Bobek *et al.* Front Microbiol. 2017 Nov 13;8:2205) a upraveno.