

ABSTRAKT

Biofilmy jsou běžným způsobem růstu kvasinek, při kterém buňky adherují jak k sobě navzájem tak i k abiotickým povrchům za vzniku složitých mnohobuněčných struktur. Společné soužití v biofilmech poskytuje buňkám několik výhod ve srovnání s planktonními kulturami. Mezi ně patří nepochybně ochrana a odolnost vůči antimikrobiálním látkám, stresovým faktorům prostředí nebo imunitnímu napadení hostitele. Biofilmy se nacházejí v mnoha prostředích a hrají důležité role v komerčních průmyslových odvětvích. Mohou však být také extrémně nebezpečné v klinickém prostředí. Existuje tedy velký zájem o studium biofilmů a o to, jak je eliminovat.

V této studii jsme použili biofilm divokého kmene kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* jako ideální systém pro zkoumání potenciálních funkcí komplexu transkripčních korepresorů Cyc8-Tup1 při regulaci buněčné adheze a tvorby biofilmu na agarovém médiu a na rozhraní pevné látky a kapaliny. Neočekávaně jsme zjistili, že Cyc8p a Tup1p antagonisticky řídí tvorbu strukturovaných biofilmových kolonií na pevných médiích prostřednictvím modulace exprese genu *FLO11*. Samotný Cyc8p působí jako klíčový represor *FLO11*, zatímco Tup1p podporuje tvorbu biofilmových kolonií a indukuje expresi *FLO11* inhibicí represivní funkce Cyc8p a zároveň zabraňuje degradaci Flo11p možnou inhibicí extracelulární proteázy. Kromě toho jsou pomocí Cyc8p a Tup1p nepřímo regulovány i další vlastnosti typické pro biofilmové kolonie jako je tvorba vláken propojujících buňky a invazivní růst. Na druhou stranu oba proteiny shodně potlačují flokulaci buněk, protože snížená exprese *CYC8* a delece *TUPI* vedly k produkci makroskopických vložek (shluků buněk).

Antagonistická role Cyc8p a Tup1p popsaná výše v souvislosti s regulací tvorby biofilmu na agarovém médiu byla také pozorována při tvorbě biofilmů na

rozhraní mezi pevným podkladem a kapalinou. Poskytli jsme experimentální důkazy o tom, že Cyc8p a Tup1p jsou klíčovými regulátory ve dvou krocích vývojového cyklu biofilmu *S. cerevisiae* - adheze buněk následovaná tvorbou biofilmu a disperze biofilmu. První krok adheze a organizace biofilmu je protichůdně regulován Tup1p (aktivační funkce) a Cyc8p (represe funkce), zatímco disperze biofilmu je řízena pouze Cyc8p a je závislá na hladině glukózy v prostředí. Ukázali jsme, že i nízká hladina glukózy (srovnatelná například s hladinou glukózy v krvi) je dostatečná pro narušení biofilmu a uvolnění planktonických buněk.

Naše proteomická data nejen identifikovala stovky genů, o kterých je známo, že jsou regulovány pomocí Cyc8p a Tup1p, ale poprvé identifikovala několik dalších sad genů kódujících proteiny, které se podílejí na procesech, jako je opětovné skládání proteinů a sestavení proteinového komplexu, chronologické stárnutí buněk a apoptóza. Data ukázala, že globální účinky Cyc8p a Tup1p na regulaci genové exprese v kvasinkách. Kde Cyc8p a Tup1p mohou působit společně nebo působit nezávisle na řízení genové exprese. Ještě zajímavější je, že mohou působit opačně při regulaci několika cílových genů, jako jsou FLO11, MET17 a URA2.

Zjištění v této práci potvrdila, že Flo11p je klíčovým faktorem abiotické adheze a tvorby biofilmu a dalších typických rysů biofilmových kolonií, které jsou pozitivně regulovány pomocí Tup1p a negativně pomocí Cyc8p.