

## Abstrakt

*Bacillus subtilis* je gram-pozitivní sporulující bakterie. Za nepříznivých životních podmínek zahajuje sporulační proces, jehož výsledkem jsou rezistentní spory. Hlavním regulátorem iniciace sporulace je transkripční faktor Spo0A. Charakteristickým znakem sporulace je tvorba asymetrického septa na buněčném pólu, které rozděljuje buňku na větší mateřskou buňku a menší prespóru. Asymetrické septum je umístěno v 1/6 od nejbližšího pólu buňky, a proces lokalizace je komplexní. Jedním z aktérů podílejících se na této lokalizaci je protein RefZ, který reguluje protein FtsZ, tvořící Z-kruh. Z-kruh je důležitý pro formování vegetativního (uprostřed buňky) i asymetrického septa. RefZ konkrétně napomáhá relokizaci Z-kruhu ze středu buňky k pólům v rané fázi sporulace. Kromě toho je RefZ protein vázající se na DNA, který se váže na vazebné motivy RefZ (*RefZ binding motives* [RBMs]) v blízkosti počátků replikace (*ori*) chromozomů, čímž podporuje přesné umístění ramen chromozomů během sporulace.

Celý proces sporulace je regulován kaskádou prostorově specifických sporulačních faktorů  $\sigma$ , které rozpoznávají specifické konzervované (konsenzus) sekvence v promotorových oblastech genů, čímž umožňují RNA polymeráze interagovat s promotorem konkrétního genu a zahájit jeho transkripci. Takto faktory  $\sigma$  zajišťují prostorově a časově řízenou expresi genů v buňce. Přestože je tento proces intenzivně studován, řada aspektů sporulace je stále enigmatická.

Cílem této práce bylo přispět k hlubšímu pochopení vybraných aspektů sporulace. Prvním hlavním cílem této práce pak bylo charakterizovat expresi a lokalizaci proteinu RefZ v modelovém organismu *Bacillus subtilis*. Pro identifikaci potenciálních promotorů genu *refZ* byla zvolena bioinformatická analýza, která identifikovala dva promotory – jeden závislý na  $\sigma^H$ , a druhý závislý na  $\sigma^{F/G}$  a dále vazebná místa pro transkripční faktor Spo0A. Aktivita nalezených promotorů a jejich závislost na Spo0A byla určena metodou transkripce *in vitro*. Dále byla pomocí mikroskopie SIM charakterizována exprese a lokalizaci proteinu RefZ (RefZ-GFP) *in vivo* ve třech sporulujících vývojových stádiích u kmenů s genem pro *refZ-gfp* v ektopickém lokusu a s genem pro *refZ-gfp* v nativním lokusu. Ve druhé části práce byli identifikováni interakční partneři (interaktom) proteinu RefZ během sporulace. Shrnuto, tyto výsledky přispěly k časoprostorovému obrazu exprese, lokalizace a interakcím proteinu RefZ během sporulace.

**Klíčová slova:** transkripce, promotor, sporulační faktory sigma, sporulace, Spo0A, RefZ.