

Adaptace cytoplazmatické membrány neprodukčního kmene

Bacillus subtilis 168 k surfaktinu

Surfaktin, jedna z nejúčinnějších povrchově aktivních látek a antibiotikum, je sekundární metabolit bakterií rodu *Bacillus*. Díky amfipatické povaze interaguje surfaktin s membránovou dvojvrstvou, což vede k její destabilizaci a permeabilizaci. Nabízí se tedy otázka jak se producent surfaktinu toxickému působení této látky brání; mechanismus rezistence producenta k surfaktinu není doposud znám. Hlavním cílem této diplomové práce byla proto charakterizace adaptivních procesů v cytoplazmatické membráně neprodukčního kmene *B. subtilis* 168, ke kterým dochází v přítomnosti surfaktinu. Kultivace *B. subtilis* probíhala na živném agaru s přidavkem surfaktinu, který byl získán z produkčního kmene *B. subtilis* ATCC 21332. Bylo zjištěno, že 400 g surfaktinu/ml inhibuje růst bakterií *B. subtilis* 168, zatímco 300 g surfaktinu/ml růst stimuluje. Nejprve procházejí obě bakteriální kultury tří hodinovou lag fází, po které následuje exponenciální růst, a to pomalejší u inhibiční koncentrace a urychlený u stimulační koncentrace surfaktinu oproti kontrole. V přítomnosti obou koncentrací surfaktinu se v cytoplazmatické membráně bakterií zvýšilo zastoupení fosfatidylserinu. Změny zaznamenané na povrchu membrány byly provázeny radikální obměnou mastných kyselin fosfolipidů. Zcela se obrátil poměr nevětvených a větvených mastných kyselin a celkový obsah vysokotajících mastných kyselin 16:0 a 18:0 se zvýšil na 67%. Předpokládaná rigidizace vnitřní části membrány byla potvrzena měřením ustálené anizotropie fluorescence sondy DPH. Ve vzorcích membrán bakterií inhibovaných surfaktinem byla objevena přítomnost nového proteinu, který byl metodou hmotnostní spektrometrie MS-MALDI identifikován jako MntA (manganese-binding lipoprotein). Získaná data ukazují na rozsáhlé změny ve složení cytoplazmatické membrány v odpovědi na surfaktin a přispívají k porozumění její adaptace na tuto membránově aktivní látku.

Klíčová slova: *Bacillus subtilis*, surfaktin, cytoplazmatická membrána, rezistence