

Abstrakt

Bacillus subtilis je gram-pozitivní půdní bakterie. Ve svém přirozeném prostředí je neustále vystavena změnám chemických a fyzikálních podmínek, včetně změn osmolality. Buňka reaguje na zvýšení osmolality prostředí příjmem draselných iontů a následně transportem a/nebo syntézou kompatibilních solutů. V předchozích letech byl v naší laboratoři s využitím nespecifické inzerční mutagenese (mini *Tn10*) izolován a charakterizován kmen *Bacillus subtilis* L-42. Tento kmen vykazuje sníženou schopnost růstu a osmolabilitu na médiích s koncentrací draselných iontů < 1 mmol/l. Inzercí transpozonu došlo k přerušení genu *yxkO* kódujícího protein prozatím neznámé funkce. Další výsledky získané v naší laboratoři navíc naznačovaly možný vliv přerušení genu *yxkO* na expresi genu *hag* kódujícího protein flagelin - majoritní protein vlákna bakteriálního bičíku.

Cílem této diplomové práce bylo objasnit, zda přerušení genu *yxkO* ovlivňuje motilitu, a zda je ovlivněna exprese genu *hag* na transkripční úrovni.

S využitím integračního vektoru pMUTIN4 byl připraven mutantní kmen se specificky zavedenou mutací v genu *yxkO* v kmeni *Bacillus subtilis* 1A839, jehož genotyp zajišťuje vyloučení známé transkripční regulace genu *hag*. Následně byla sledována motilita buněk s využitím světelné a elektronové mikroskopie. Získané výsledky dokazují vliv přerušení genu *yxkO* na motilitu. Zároveň ukazují, že ztráta motility *Bacillus subtilis* po vystavení buněk osmotickému stresu je způsobena postupnou degradací bičíku a nikoli regulací jeho pohybu. Sledováním změn transkripce genů *hag* a *yxkO* s využitím Northern a Southern blotu se nepodařilo získat průkazné výsledky. Pomocí PCR reakcí byla zjišťována alespoň přítomnost/nepřítomnost transkriptů. Přestože data dokumentující změny transkripce vybraných genů nejsou úplná, zdá se, že protein YxkO nereguluje transkripci genu *hag*. Jeho vliv na motilitu je pravděpodobně způsoben přímou či nepřímou regulací flagelinu na posttraslační úrovni. Navíc bylo zjištěno, že přerušení genu *yxkO* má pleiotropní efekt vedoucí nejen ke změnám motility, ale i ke snížené schopnosti osmoadaptace při nízké koncentraci draselných iontů v prostředí (< 1 mmol/l) a k narušení buněčného cyklu, resp. ztrátě schopnosti sporulovat.