

ABSTRAKT

Pleiotropní efekt proteinů s WD-40 doménami na buněčnou diferenciaci a produkci sekundárních metabolitů u *Streptomyces coelicolor*

WD-40 domény, také známé jako beta-transducinové repetice, jsou vysoce konzervované aminokyselinové repetice, které se nacházejí v mnoha odlišných eukaryotních proteinech, kde plní širokou škálu funkcí. Koncem 90. let minulého století byly identifikovány první proteiny s WD-40 doménami u prokaryot, ale o jejich funkci není známo téměř nic.

Streptomyces coelicolor je grampozitivní bakterie s komplikovanou buněčnou morfologií a fyziologickou diferenciací během životního cyklu. Genom *Streptomyces coelicolor* kóduje 6 pravděpodobných genů kódujících proteiny s WD-repetitivními motivy. Pro bližší porozumění funkce dvou z těchto WD-40 genů (*wdpB* a *wdpC*) byly připraveny jejich disruptivní mutanty, u kterých byl stanoven fenotypový projev a provedena transkripční analýza. Oba mutantní kmeny vykazovaly aberantní fenotyp závislý na použitém kultivačním médiu s nejvýraznějším fenotypovým projevem mutantů na modifikovaném R3 agaru. Fenotypové studie odhalily, že delece genu *wdpB* způsobuje značnou redukci tvorby vzdušného mycélia a sníženou produkci undecylprodigiosinu. Kromě toho dochází u mutantů $\Delta wdpB$ k neobvyklému větvení vzdušného mycélia a k defektní sporulaci projevující se předčasnou lyzí vláken a nepravidelnou či opožděnou tvorbou přepážek mezi spórami. Mutant $\Delta wdpC$ vykazuje předčasnou lyzi vláken a opožděnou sporulaci s rovnými hyfami bez typického spirálovitého stáčení v časně fázi sporulace. Disrupce genu *wdpC* způsobuje snížení produkce undecylprodigiosinu a opoždění produkce aktinorodinu. Analýzou globálního transkriptomu bylo zjištěno, že delece genu *wdpB* ovlivňuje expresi genů zodpovědných za formování vzdušného mycélia (shluk *ram*, chapliny, rodliny, gen *nepA*), sporulaci (*whiH*, *whiI*, *rsfA*) a za syntézu sekundárních metabolitů (kalcium-dependentní antibiotikum, coelichelin, karotenoidy, geosmin a methylisoborneol). Z výsledků transkripční analýzy vyplývá, že WdpB reprimuje přímo či nepřímo vlastní transkripci a také expresi sousedního genu SCO5954. Delece genu *wdpC* způsobuje represí transkripce sporulačního genu *whiE-ORFIII* a několika biosyntetických genových shluků sekundárního metabolismu (aktinorodinu, kalcium-dependentního antibiotika a genového shluku *cpk*). Podobně jako u WdpB, také WdpC reprimuje přímo či nepřímo vlastní transkripci a transkripci sousedního genu SCO2245 a několika dalších genů (SCO2217, SCO4214, operon SCO4173-5). Zatímco nadprodukce genu *wdpB* v divokém typu neměla vliv na fenotyp, nadprodukce genu *wdpC* způsobila zvýšenou biosyntézu aktinorodinu. Tento kmen s vyšší genovou dávkou genu *wdpC* vykazoval opačný trend relativní genové exprese vybraných genů u mutantu $\Delta wdpC$. Transkripce obou testovaných genů se zdá být konstitutivně exprimována během životního cyklu. Hladina proteinu WdpC je závislá na stádiu buněčného cyklu *S. coelicolor* s maximem na počátku sporulace. Přítomnost proteinu WdpB se nepodařilo detekovat.

Podle získaných výsledků lze předpokládat, že geny *wdpB* a *wdpC* mají pleiotropní účinek na produkci sekundárních metabolitů a hrají důležitou úlohu v buněčné diferenciaci.