

Stresové proteiny cytoplazmatické membrány *Bacillus subtilis*

Grampozitivní bakterie *Bacillus subtilis* žije ve svrchních vrstvách půdy, kde se často setkává s výkyvy osmolarity a pH, změnami teploty či koncentrace živin. Během evoluce byly vyvinuty mechanismy, které bakteriím pomáhají se s těmito nepříznivými vlivy vyrovnávat. Mezi ně patří i tzv. obecná stresová odpověď. Při ní dochází ke zvýšení exprese přibližně 150 genů, jejichž produkty zvané GSP (obecné stresové proteiny) minimalizují poškození buněk. Přestože je známa velikost, struktura a regulace mnoha stresových proteinů, informace o membránových stresových proteinech často chybí.

V naší studii jsme se zaměřili na membránový proteom *Bacillus subtilis* 168 *trp2*. Buňky byly během svého růstu vystaveny dlouhodobému (20 h) působení pH 5,0; resp. přítomnosti 3% v/v etanolu 30 minut. K rostoucím buňkám byl 30 minut před ukončením kultivace přidán L-[³⁵S]-methionin. Po dosažení střední exponenciální fáze růstu byly bakterie rychle zfiltrány a izolovány cytoplazmatické membrány. Izolované membránové frakce byly analyzovány dvojrozměrnou elektroforézou. Z jednotlivých růstových situací byly provedeny 4 paralelní gely a porovnány s membránovým proteomem bakterií rostoucích za optimálních podmínek (tj. v komplexním médiu o pH 7,0 a teplotě 40°C). K počítačovému zpracování rozdělených membránových proteinů byl použit program PDQuest, vybrané stresové proteiny byly identifikovány hmotnostní spektrometrií MALDI-TOF.

Při pH stresu, resp. po přidání etanolu se růstová rychlost *B. subtilis* snižuje z hodnoty $\mu = 3,5 \text{ h}^{-1}$ na $\mu = 2,4 \text{ h}^{-1}$. V cytoplazmatické membráně se vlivem stresových faktorů změnilo množství nejméně 25 proteinů. K výrazně zvýšené syntéze ale došlo pouze u 5 proteinů v obou případech. Etanolové stresové proteiny byly identifikovány jako YdaP, Ctc, YfhM, YjcH and YwaC, zatímco proteiny pH stresu jako AcoB, YkwC, SodA, YjcH and YwaC.

Některé proteiny z výše uvedených jsou považovány za obecné stresové proteiny uplatňující se v signalizaci stresu. Jiné indukované proteiny jsou stresově specifické a hrají roli v metabolismu lipidů a detoxifikaci buněk.