

## Abstrakt

Cílem práce bylo přispět k poznání funkce alternativních sigma faktorů RNA polymerasy  $\sigma^H$  a  $\sigma^M$  při stresové odpovědi u *Corynebacterium glutamicum*, zejména při transkripci genu *sigM*, který kóduje  $\sigma^M$ , a operonu *dnaK-grpE-dnaJ-hspR*, jehož geny kódují proteiny účastníci se odpovědi buňky *C. glutamicum* na tepelný stres. Promotory těchto testovaných genů byly klonovány do „promoter-probe“ vektoru pET2 a jejich aktivita byla stanovována měřením specifické aktivity reportérového enzymu chloramfenikolacetyltransferasy. Byl zjištěno, že tepelný stres má slabý pozitivní efekt na aktivitu promotoru genu *sigM* (P-*sigM*), zatímco efekt oxidativního stresu působením diamidu nebyl potvrzen. Bylo prokázáno, že delece samotného genu *sigH* nebo *sigM* nevede ke snížení aktivity promotoru P-*sigM* za standardních podmínek ani po tepelném stresu. Naproti tomu u kmene *C. glutamicum*  $\Delta sigH\Delta sigM$  došlo k úplnému potlačení aktivity tohoto promotoru. Promotor genu *sigM* je tedy rozeznáván za standardních podmínek i po tepelném stresu jak sigma faktorem  $\sigma^H$ , tak sigma faktorem  $\sigma^M$ , ale nikoli primárním sigma faktorem  $\sigma^A$ . Bylo zjištěno, že mutageneze v -10 oblasti promotoru genu *sigM* vede k jeho inaktivaci a byla prokázána nezbytnost trinukleotidu GTT 8 bp „upstream“ od počátku transkripce genu *sigM* pro funkci promotoru P-*sigM*. Z těchto výsledků vyplývá, že gen *sigM* je přepisován z jediného promotoru. Zjištění, že v kmenech *C. glutamicum*  $\Delta sigH$  a *C. glutamicum*  $\Delta sigM$  došlo po tepelném stresu k výraznému snížení promotorové aktivity fragmentů s promotory operonu *dnaK-grpE-dnaJ-hspR* poukazuje na to, že po tepelném stresu je funkční převážně promotor P2-*dnaK*, který je, stejně jako P-*sigM*, rozeznáván zřejmě nejen sigma faktorem  $\sigma^H$ , ale i sigma faktorem  $\sigma^M$ . U obou testovaných promotorů byla tedy poprvé prokázána vzájemná zastupitelnost dvou alternativních sigma faktorů *C. glutamicum* při transkripci z promotorů rozeznávaných alternativními sigma faktory.

Klíčová slova: *Corynebacterium glutamicum*, sigma faktor, promotor, transkripce, *cat*, tepelný stres