

Abstrakt

Regulace transkripce sigma faktory RNA polymerasy s extracytoplazmatickou funkcí (ECF) představuje velmi účinný nástroj pro adaptaci buňky na stresové podmínky vyvolané změnami ve vnějším prostředí. Gram-pozitivní, aerobní bakterie *Corynebacterium glutamicum* je významným producentem aminokyselin. V genomu *C. glutamicum* se nachází 7 genů kódujících sigma faktory: primární sigma faktor SigA, sigma faktor SigB označovaný jako *primary-like* sigma faktor a 5 ECF sigma faktorů (SigC, SigD, SigE, SigH a SigM). Gen *sigH*, kódující sigma faktor SigH se nachází v těsné blízkosti genu *rshA* kódujícího jeho anti-sigma faktor. Anti-sigma faktory se reverzibilně vážou k příslušným sigma faktorům, čímž blokují jejich aktivitu. Za stresových podmínek je vazba mezi oběma proteiny rozrušena a uvolněný sigma faktor se může vázat k jádru RNA polymerasy a aktivovat iniciaci transkripce.

V práci byla studována především regulace exprese genů kódujících nejvýznamnější ECF sigma faktor SigH a jeho anti-sigma faktor RshA a geny patřící k jeho regulonu.

Transkripční analýzou operonu *sigH-rshA* byly identifikovány čtyři vegetativní promotory genu *sigH* a jeden SigH-dependentní promotor genu *rshA*.

Účast komplexu SigH-RshA na regulaci exprese genů byla zkoumána s použitím delečního kmene *C. glutamicum* $\Delta rshA$. Metodou DNA Microarray byly porovnány transkripční profily delečního kmene a divokého kmene *C. glutamicum*. Bylo zjištěno, že celkem 83 genů u delečního kmene, neprodukuujícího anti-sigma faktor RshA, vykazovalo zvýšenou míru transkripce v porovnání s divokým kmenem, a je tedy možné je považovat za SigH-dependentní. Některé z těchto genů byly již dříve identifikovány jako SigH-dependentní s použitím delečního kmene *C. glutamicum* $\Delta sigH$. Tyto geny se účastní buněčné odpovědi na disulfidový stres, tepelný šok, buněčné SOS odpovědi při poškození DNA nebo jsou součástí buněčného proteasomu.

Byly stanoveny promotorové aktivity vybraných nově identifikovaných SigH-dependentních genů (*dnaJ2*, *uvrA* a *uvrD*), identifikovány jejich transkripční počátky a následně odvozeny promotorové motivy -10 a -35.

Použitím *in-vitro* transkripčního systému bylo zjištěno, že typický vegetativní promotor *Pper* interaguje jak s primárním sigma faktorem SigA, tak se sigma faktorem SigB. U SigH-dependentních promotorů genů *clgR*, *dnaK* a *dnaJ2* pak bylo zjištěno, že jsou specificky rozeznávány i ECF sigma faktorem SigE. Bylo tak poprvé u *C. glutamicum* prokázáno, že jeden promotor může být současně rozeznáván více než jedním sigma faktorem.