

## **Analýza signální dráhy proteinkinasy StkP u *Streptococcus pneumoniae***

*Streptococcus pneumoniae* je nejen významný lidský patogen, ale také vhodný modelový organismus ke zkoumání buněčného dělení u ovoidních bakterií. Tato bakterie postrádá oba systémy výběru místa buněčného dělení Min a NO, a tedy mechanismus, jakým určuje místo, ve kterém nastane buněčné dělení, je neznámý. Navíc ve svém genomu kóduje jedinou serin/threoninovou proteinkinasu eukaryotického typu nazývanou StkP a jedinou serin/threoninovou proteinfosfatasu PP2C typu nazývanou PhpP. StkP je jedním z hlavních regulátorů buněčného dělení a pravděpodobně ovlivňuje průběh buněčného dělení i fosforylací svých substrátů, mezi které mimo jiné patří proteiny buněčného dělení FtsZ, FtsA, DivIVA, MacP, Jag/KhpB/EloR a LocZ/MapZ.

První projekt této disertační práce se zabývá určením funkce proteinu LocZ v rámci buněčného dělení. Souhrnně, *locZ* sice není esenciální, ale účastní se procesu výběru místa dělení u *S. pneumoniae* a naše výsledky napovídají, že patří mezi pozitivní regulátory umístění Z-kruhu. Buňky s deplecí LocZ jsou schopny tvořit Z-kruh, ale ten je prostorově špatně umístěn, což má za následek defekty v buněčném dělení, deformity buněčného tvaru a tvorbu nerovnoměrně rozdělených dceřiných buněk, které občas neobsahují žádnou DNA. LocZ má unikátní lokalizační vzor. Do buněčného středu přichází časně, ještě dříve než FtsZ a FtsA. Stejně tak i z buněčného středu odchází, časně a dříve než FtsZ a FtsA, přičemž putuje s ekvatoriálními kruhy, které značí budoucí místo buněčného dělení. Domníváme se, že za tuto lokalizaci je zodpovědná extracelulární doména proteinu. Zajímavé je, že homology proteinu LocZ se vyskytují pouze u streptokoků, enterokoků a laktokoků, což naznačuje, že tato skupina fylogeneticky blízkých bakterií si vyvinula unikátní mechanismus, jak určit buněčný střed.

Druhý projekt této disertační práce se zabývá esencialitou a funkcí proteinfosfatasy PhpP v neopouzdřeném kmene *S. pneumoniae* Rx1, ve kterém byl gen *phpP* dříve postulován jako esenciální. Přípravou životaschopného kmene  $\Delta phpP$  a následným testem transformační kinetiky jsme vyvrátili esencialitu *phpP*. Demonstrujeme, že PhpP negativně řídí úroveň fosforylace u *S. pneumoniae* a to přímou defosforylací svých substrátů a současně defosforylací kinasy StkP. Nepřítomnost anebo katalytická inaktivace PhpP má za následek hyperfosforylací substrátů StkP a fenotypové změny včetně citlivosti k určitým environmentálním stresům. Morfologicky se deplece PhpP projevuje tvorbou menších kulatých buněk, což reflektuje fenotyp pozorovaný u buněk kmene nadprodukcujícího StkP. A naopak nadprodukce PhpP má za následek elongaci

buněk, což mimikuje fenotyp  $\Delta\text{stkP}$  kmene. Naše výsledky dokazují, že PhpP a StkP společně regulují buněčné dělení u *S. pneumoniae*.

**Klíčová slova:** LocZ, MapZ, Spr0334, serin/threoninová proteinkinasa, StkP, serin/threoninová proteinfosfátasa, PhpP, buněčné dělení, *Streptococcus pneumoniae*, fosforylace.