

## **Hypotetický protein Spr1962 jako nový substrát signalizační dráhy Ser/Thr proteinkinázy StkP a fosfatázy PhpP**

Extracelulární lidský patogen *Streptococcus pneumoniae* kóduje ve svém genomu pouze jednu serin/threoninovou proteinkinázu eukaryotního typu (StkP) a příslušnou PP2C fosfatázu (PhpP), proto je unikátním modelovým organismem pro studium signalizačních drah u bakterií. Dosud bylo identifikováno a charakterizováno několik substrátů těchto signalizačních proteinů, mezi které patří například proteiny DivIVA, KhpB, FtsA, FtsZ, MacP, GlmM, GpsB, ComE a další. Jedná se o proteiny, které se účastní různých buněčných procesů, včetně buněčného dělení a syntézy peptidoglykanu. Pomocí globální fosfoproteomové studie založené na LC-MS analýze bylo zjištěno, že jedním z identifikovaných proteinů je hypotetický protein Spr1962, jehož fosforylace byla detekována pouze v hyperfosforylovaném kmeni s odstraněnou fosfatázou PhpP.

Cílem této práce byla charakterizace nového substrátu Spr1962 a objasnění jeho možné funkce. Vzhledem k významné strukturní podobnosti s flotilinovým proteinem bakterie *Bacillus subtilis* FloT bylo navrženo, že by se mohlo jednat o protein s analogickou funkcí u pneumokoka. Bylo zjištěno, že odstranění tohoto genu způsobuje fenotyp zvětšených buněk na různých genetických pozadích. Sledováním fúzního proteinu Spr1962 s fluorescenční značkou GFP pomocí fluorescenční mikroskopie byla zjištěna lokalizace, která odpovídá spotům po obvodu buněk a analýzou signálu bylo odhaleno, že během pozdní fáze buněčného dělení se nabohacuje na pólech a následně v buněčném septu dělicích se buněk. Bylo prokázáno, že podobně jako FloT u *B. subtilis* také pneumokokový protein Spr1962 je asociován s cytoplazmatickou membránou a ovlivňuje sekreci proteinů. Dále bylo na základě imunochemických metod prokázáno, že protein Spr1962 je substrátem proteinkinázy StkP, který je fosforylován na threoninu v pozici 273 *in vivo*. Mikroskopické sledování morfologie a testování schopnosti růstu za různých fyziologických podmínek vedlo k přiblížení možné funkce fosforylace proteinu Spr1962.

Výsledky této práce přispívají k objasnění funkce proteinu Spr1962 a přispívají k celkové charakterizaci signální kaskády řízené proteinkinázou StkP a fosfatázou phpP.

### **Klíčová slova:**

*Streptococcus pneumoniae*, proteinkináza StkP, fosforylace, protein Spr1962, fosfatáza PhpP, flotilin, funkční membránové mikrodomény