

Modulacija složenog sekundarnog metabolizma u bakteriji *Streptomyces rimosus* pomoću genetičkog inženjerstva

SAŽETAK

Pozadina istraživanja. Brojne biosintetske genske nakupine koje kodiraju sintezu nepoznatih sekundarnih metabolita otkrivene su u genomima različitih mikroorganizama, što predstavlja potencijalno bogat izvor novih prirodnih spojeva. Međutim, čini se da većina identificiranih biosintetskih genskih nakupina nije aktivna, jer ne možemo identificirati odgovarajuće metabolite. Stoga je bolje razumijevanje regulacije i biosinteze sekundarnih metabolita kodiranih ovim takozvanim „tihim“ biosintetskim genskim nakupinama od velike važnosti.

Ekperimentalni pristup. U radu smo proveli bioinformatičku analizu soja *Streptomyces rimosus* ATCC 10970, koji proizvodi antibiotik oksitetraciklin. Usredotočili smo se na ekspresiju identificiranih biosintetskih genskih nakupina. Zatim smo usporedili eksperimentalno određene strukture spojeva sa strukturama koje smo predvidjeli pomoću podataka o genomu i sličnosti s poznatim metabolitima. Analizirali smo dostupne podatke o regulaciji dvaju glavnih metabolita - oksitetraciklina i rimocidina, i eksperimentalno procijenili učinak delecije dvaju biosintetskih metaboličkih puteva koji se natječu s procesom biosinteze oksitetraciklina. Na kraju smo procijenili utjecaj prekomjerne ekspresije biosintetskih genskih nakupina koje kodiraju biosintezu karotenoida izorenieratena, spoja kojeg nismo mogli identificirati u kulturi divljeg soja.

Rezultati i zaključci. U genomu bakterije *Streptomyces rimosus* ATCC 10970 identificirali smo 48 biosintetskih genskih nakupina. Međutim, samo je otprilike 15 struktura sekundarnih metabolita predviđeno ili identificirano u kulturi ovog soja. Transkripcijska analiza identificiranih biosintetskih genskih nakupina pokazala je vrlo visoku varijabilnost u jačini ekspresije. Zanimljivo je da je oko 30 % tih nakupina bilo neaktivnih („tihih“). *In trans* prekomjerna ekspresija jedne takve neaktivne biosintetske genske nakupine, koja kodira biosintezu karotenoida izorenieratena, rezultirala je jakom proizvodnjom ovog metabolita, što sugerira da su te „tihan“ nakupine vjerojatno bile još uvijek funkcionalne. Također smo pokazali da biosintetski putevi dviju biosintetskih genskih nakupina koje kodiraju biosintezu dvaju glavnih metabolita, oksitetraciklina i rimocidina, nisu kompetitivni putevi, iako su oba metabolita građena od iste građevne jedinice - malonil-koenzima A (malonil-CoA). Iznenadujuće je da delecija jedne neaktivne biosintetske genske nakupine, koja je također biosintetizirana iz malonil-CoA, ima vrlo snažan pozitivan utjecaj na biosintezu oksitetraciklina.

Novina i znanstveni doprinos. Primijetili smo da jačina ekspresije gena iz biosintetskih genskih nakupina identificiranih u bakteriji *Streptomyces rimosus* ne odgovara eksperimentalnim podacima dobivenim pomoću transkripcijske analize genski modificiranih sojeva, što sugerira na mnogo složenije regulatorne mehanizme nego što se ranije mislilo. Genski modificirani sojevi bakterije *Streptomyces rimosus* stoga predstavljaju vrlo dobar modelni sustav za proučavanje ekspresije „tihih“ biosintetskih genskih nakupina.

Ključne riječi: biosintetske genske nakupine; oksitetraciklin; rimocidin; regulacija gena; redukcija genoma