



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-0203-11

Molekulárne mechanizmy biosyntézy, regulácie a horizontálneho prenosu génov zodpovedných za produkciu biologicky aktívnych látok u streptomycét

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Ján Kormanec, DrSc.**

Príjemca **Ústav molekulárnej biológie SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Ústav molekulárnej biológie SAV
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

- 1.
- 2.
- 3.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Kutas, P., Feckova, L., Rehakova, A., Novakova, R., Homerova, D., Mingyar, E., Rezuchova, B., Sevcikova, B., Kormanec, J. (2013) Strict control of auricin production in *Streptomyces aureofaciens* CCM 3239 involves a feedback mechanism. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97, 2413-2421. [IF2012 = 3.337].
2. Novakova, R., Knirschova, R., Farkasovsky, M., Feckova, L., Rehakova, A., Mingyar, E., Kormanec, J. (2013) The gene cluster *aur1* for the angucycline antibiotic auricin is located on a large linear plasmid pSA3239 in *Streptomyces aureofaciens* CCM 3239. *FEMS Microbiology Letters* 342, 130-137. [IF2012 = 2.049].
3. Kormanec, J., Novakova, R., Mingyar, E., Feckova, L.: Intriguing properties of the

angucycline antibiotic auricin and complex regulation of its biosynthesis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98 (2014) 45-60. [IF2013 = 3.337].

4. Mingyar, E., Feckova, L., Novakova, R., Bekeova, C., Kormanec, J.: A gamma-butyrolactone autoregulator-receptor system involved in the regulation of auricin production in *Streptomyces aureofaciens* CCM 3239. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99 (2015) 309-325 [IF: 3,337].

5. Bekeova C, Rehakova A, Feckova L, Vlckova S, Novakova R, Mingyar E, Kormanec J: Characterisation of the genes involved in the biosynthesis and attachment of the aminodeoxysugar D-forosamine in the auricin gene cluster of *Streptomyces aureofaciens* CCM3239. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (2015) in press. doi: 10.1007/s00253-015-7214-9 [IF: 3,337].

Uplatnenie výsledkov projektu

Príprava reportérového systému pBPSA1 s využitím charakterizovaného génu *bpsA* kódujúceho biosyntetický proteín pre modrý pigment indigoidine. Príprava systému pAMR4 na účinnú deleciiu génov u streptomycét na báze toho istého génu *bpsA*.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Stanovili sme nukleotidovú sekvenciu (241077 bp) veľkého lineárneho plazmidu pSA3239 v kmeni *Streptomyces aureofaciens* CCM3239. Jej bioinformatická analýza odhalila 235 otvorených čítacích rámcov. pSA3239 je unikátny vzhľadom k veľkosti koncových TIR, ktoré sú neobvykle krátke (13 bp). Na ich konci je kovalentne naviazaný terminálny proteín TpgSa. Identifikovali sme viaceré génové klastre pre sekundárne metabolity na pSA3239 a charakterizovali sme dva takéto metabolity. Polyketidové antibiotikum auricin a jeho génový klastre *aur1*, a peptidový modrý pigment indigoidine syntetizovaný NRPS kódovanou génom *bpsA*. Gén *bpsA* sme využili pre prípravu reportérového systému pBPSA1 a systému pAMR4 na účinné rozrušenie génov v streptomycétach. Charakterizovali sme gény na pSA3239 s úlohou v replikácii, stabilite a segregácii. Výsledky naznačili odlišný mechanizmus replikácie ako u ostatných lineárnych plazmidov. Charakterizovali sme reguláciu auricinového klastra *aur1*. Okrem komplexnej dráhovo-špecifickej regulácie na dvoch úrovniach prostredníctvom auricin-špecifických regulátorov *Aur1P*, *Aur1R*, *Aur1O*, *Aur1PR3*, *Aur1PR4* sme dokázali aj úlohu globálneho gamma-butyrolaktónového systému *SagA/SagR*. Charakterizovali sme mnohé biosyntetické gény auricinového klastra. Dokázali sme úlohu *aur1T*, *aur1Q*, *aur1S*, *aur1V*, *sa14*, *sa50*, *sa52*, *sa59*, *sa46* a *sa53* v procese biosyntézy D-forozamínu a jeho pripojenia na auricin. Rovnako sme dokázali úlohu génov *sa10*, *sa11*, *sa12*, *sa13*, *sa15*, *sa45*, *sa48*, *sa51* v biosyntéze auricínu. Charakterizovali sme reguláciu klastra génov *sa1-bpsA* zodpovedného za biosyntézu modrého pigmentu indigoidine. Zistili sme, že je prepojená s reguláciou auricinového klastra prostredníctvom regulátora *Aur1P*.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

Nucleotide sequence (241077 bp) of the large linear plasmid pSA3239 was determined in *Streptomyces aureofaciens* CCM3239. It bioinformatic analysis revealed 235 open reading frames. pSA3239 is unique by very short length of its TIR (13 bp). Terminal protein PpgSa is covalently bound at their ends. Several gene clusters for secondary metabolites were identified in pSA3239 and two of them characterised. The first one is a polyketide antibiotic auricin a its gene cluster *aur1*. The second one is a peptide blue pigment indigoidine synthesized by NRPS encoded by the gene *bpsA*. The *bpsA* gene was exploited for preparation of a reporter system pBPSA1 and the system pAMR4 for efficient deletion of genes in streptomycetes. The pSA3239 genes involved in replication, stability and segregation were characterised. The results indicated a different mechanism of replication like in other linear plasmids. The regulation of auricin gene cluster *aur1* was characterised.

Besides complex pathway-specific regulation at two levels by auricin-specific regulators Aur1P, Aur1R, Aur1O, Aur1PR3, Aur1PR4, the role of a global gamma-butyrolactone system SagA/SagR was found. Several auricin biosynthetic genes were characterised. The genes aur1T, aur1Q, aur1S, aur1V, sa14, sa50, sa52, sa59, sa46 and sa53 have a role in the biosynthesis of D-forsamine and its attachment to the auricin aglycon. Likewise, the genes sa10, sa11, sa12, sa13, sa15, sa45, sa48, sa51 have a role in biosynthesis of auricin. The regulation of the gene cluster sa1-bpsA responsible for the biosynthesis of blue pigment indigoidin was also characterised. We found that it is interconnected with the regulation of auricin cluster by the positive regulator Aur1P.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

RNDr. Ján Kormanec, DrSc.

V Bratislave 20.01.2016

Štatutárny zástupca príjemcu

RNDr. Ján Kormanec, DrSc.

V Bratislave 20.01.2016

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu