

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0181****Vytváranie proteínových komplexov počas asymetrického bunkového delenia v sporulujúcich bunkách *Bacillus subtilis***Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Imrich Barák, DrSc.**Príjemca **Ústav molekulárnej biológie SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav molekulárnej biológie, SAV

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. University of York, Veľká Británia
2. Ecole Polytechnique Federale Lausanne, Švajčiarsko
3. Changchun Institute of Applied Chemistry, Čína
4. European XFEL (X-ray Free Electron Laser), Hamburg, Nemecko

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

-

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

1. I. Barak, K. Muchova, N. Pavlendova (2019) Asymmetric cell division during *Bacillus subtilis* sporulation. *Future Microbiology* 14: 353-363. (IF = 3.19)
2. M. Wiedorn, D. Oberthür, R. Bean, R. Schubert, N. Werner, ...I. Barak, et al (2018) Megahertz serial crystallography. *Nature Communications* 9:4025. (IF = 12.35)
3. K. Muchová, Z. Chromiková, R. Valenčíková, I. Barák (2018) Interaction of the morphogenic protein RodZ with the *Bacillus subtilis* Min system. *Frontiers in Microbiol.* 8: Art. 2650. (IF = 4.17)
4. R. Valenčíková, E. Krascenitsová, N. Labajová, J. Makroczyová and I. Barák (2018) Clostridial DivIVA and MinD interact in the absence of MinJ. *Anaerobe* 50:22-31. (IF = 2.28)
5. I. Barák, K. Muchová (2018) Positioning of the asymmetric septum during sporulation in *Bacillus subtilis*. *PLoS One* 13(8) (IF = 2.77)
6. D. Krajčíková, A. Szabo, V. Forgáč, I. Barák (2017) Exploring the interaction network of the *Bacillus subtilis* outer coat and crust proteins. *Microbiol. Research* 204: 72-80. (IF = 3.037)
7. Barak I. (2017) Editorial: Spores and Spore Formers. *Frontiers in Microbiol.* 8: article 1046. (IF = 4.17)
8. J. Jamroskovic, Z. Chromikova, C. List, B. Bartova, E. Suvorova, I. Barak, R. Bernier-Latmani (2016) Variability in DPA and calcium content in the spores of *Clostridium* species. *Frontiers in Microbiol.* 7:1-10 (IF = 4.17)

9. M. Gabriško, I. Barák (2016) Evolution of SpoIIABC, toxin-antitoxin-antitoxin system in Bacilli. *Toxins* 8:1-16 (IF = 3.57)
10. H. Liu, H. Qiao, D. Krajcikova, Z. Zhang, H. Wang, I. Barak, J. Tang(2016)Physical interaction and assembly between B.subtilis spore coat proteins CotE and CotZ studied by AFM. *J. Struct. Biol.*195:245-251(IF =2.57)
11. H. Liu, D. Krajcikova, Z. Zhang, H. Wang, I. Barak and J. Tang (2016) Forces and Kinetics of the Bacillus subtilis Spore Coat Proteins CotY and CotX Binding to CotE Inspected by Single Molecule Force spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* 120: 1041-1047 (IF = 3.19)
12. J. Makroczyová, J. Jamroškovič, E. Krascsenitsová, N. Pavlendová and I. Barák (2016) Oscillating Behaviour of Clostridium difficile Min Proteins in Bacillus subtilis. *Microbiol.Open* 5:387-401 (IF = 2.2)
13. Muchová K., Z. Chromíková, N. Bradshaw, A.J. Wilkinson, I. Barák (2016) Morphogenic Protein RodZ Interacts with Sporulation Specific SpoII E in Bacillus subtilis. *PlosOne* 11:1-21 (IF =3.06)
14. Melničáková J, Z. Bečárová, J. Makroczyová, I. Barák (2015) Analysis of the Bacillus cereus SpoII S antitoxin-toxin system reveals its three-component nature. *Frontiers in Microbiol.* 6: Art. 808 (IF =3.9)

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky tohto projektu sú dôležité hlavne pre pochopenie základných bunkových procesov v sporulujúcich baktériách ako *Bacillus subtilis* a *Clostridium difficile*. Pochopenie študovaných bunkových dejov ako bunkové delenie, diferenciácia buniek a programovaná bunková smrť na molekulárnej úrovni má aj potenciál využitia na prípravu nových liečiv proti patogénym baktériám ako *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Clostridium difficile* a ďalšie. Samotný študovaný modelový organizmus, *Bacillus subtilis*, je už v súčasnosti základom systémov na výrobu nových ľahko skladovateľných a použiteľných vakcín a nami študované spórové obalové proteíny majú veľký potenciál využitia v moderných nano-biotechnológiách.

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

Detailné pochopenie bunkových procesov v modelovom mikroorganizme *Bacillus subtilis* na molekulárnej úrovni si vyžaduje poznanie vzťahu štruktúra - funkcia pre všetky proteíny a ich komplexy. V rámci tohto projektu sa nám podarilo dosiahnuť niekoľko výnimočných výsledkov.

Pravdepodobne najkontraverznejšie otázky týkajúce sa bunkového delenia modelového organizmu sa týkajú mechanizmov, ktoré zabezpečia správnu polohu deliacej prepážky, v strede bunky počas vegetatívneho rastu ale bližšie k jednému z pólův bunky počas sporulácie. Najdôležitejšie dosiahnuté výsledky projektu sa týkajú mechanizmov ako bunka nájde miesto delenia počas sporulácie. Určili sme presné miesto deliacej prepážky a jej presnosť mikroskopickými a štatistickými metódami. Určili sme, že sporulačná deliaca prepážka sa tvorí blízko 1/6 dĺžky bunky od jedného z pólův a to s veľkou presnosťou. Tiež sme určili, že proteíny SpoII E, RefZ a MinCD zohrávajú najdôležitejšiu úlohu v tejto presnej lokalizácii sporulačného septa. Naše výsledky podporujú myšlienku, že tvorba asymetrickej deliacej prepážky je veľmi presný a vysoko kontrolovaný proces a regulovaný zatiaľ neznámym mechanizmom.

Ďalšie dôležité výsledky sa dosiahli v oblasti skladania spórového obalu. Spóry *Bacillus subtilis* ako príklady výnimočne rezistentných a latentných buniek sú obalené hrubou proteínovou vrstvou, tiež nazývaným spórový obal. Viac ako 80 proteínův vytvára štyri rôzne obalové vrstvy, základnú vrstvu, vnútorný obal, vonkajší obal a kôra. Určili sme, že mnohé tieto obalové proteíny samo interagujú a tiež sme zistili mnohé nové interakcie, ktoré sme podrobnejšie analyzovali. Najdôležitejšie kontakty sú tvorené morfogenetickými proteínmi CotE, CotY a CotZ. Podrobná charakterizácia týchto proteín-proteín kontaktův je základom na pochopenie úlohy jednotlivých proteínův v morfogenéze obalu spóry.

Celkovo možno skonštatovať, že ciele tohto projektu základného výskumu boli splnené a v mnohých častiach značne rozšírené. Dosiahnutie cieľův projektu vyžadovalo modifikáciu mnohých experimentův, respektíve sa museli navrhnuť ďalšie alternatívne riešenia.

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

A detailed, molecular understanding of the life processes in model microorganism *Bacillus subtilis* requires an investigation of the structure - function relationship for all proteins and its complexes in the cell. We were successful by reaching a few unique results in frame of this project.

The most important results of the project obtained are related to mechanisms how cell finds the site of septation during sporulation. Probably one of the most controversial questions about the cell division of *Bacillus subtilis*, concerns the mechanism that ensures correct division septum placement – at mid-cell during vegetative growth but closer to one end during sporulation. We determined the positioning of the asymmetric septum and its accuracy by statistical analysis of the site of septation. We determined that the sporulation septum forms approximately 1/6 of a cell length from one of the cell poles with high precision and that SpoII_E, RefZ and MinCD have a crucial role in precisely localizing the sporulation septum. Our results strongly support the idea that asymmetric septum formation is a very precise and highly controlled process regulated by a still unknown mechanism.

The other important results were reached in the field of spore coat assembly. *Bacillus subtilis* spores, representatives of an exceptionally resistant dormant cell type, are encircled by a thick proteinaceous layer called the spore coat. More than 80 proteins assemble into four distinct coat layers: a basement layer, an inner coat, an outer coat and a crust. We determined self-interactions for many coat proteins and numerous novel interactions we have identified and further characterized. The most interesting contacts are those made with the morphogenetic proteins CotE, CotY and CotZ; these could serve as a basis for understanding the specific roles of particular proteins in spore coat morphogenesis.

Taken together, the aims of this basic science project were fulfilled and largely extended.

However, to reach the aims required many modifications in experimental approaches and/or alternative routes were accommodated.