

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: RNDr. Imrich Barák, DrSc.	Evidenčné číslo projektu: ESF-EC-0001-06
Názov projektu: Development and exploitation of Bacillus subtilis as a host for the production of protein complexes and membrane proteins (BACELL EuroSCOPE)	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Ústav molekulárnej biológie, SAV
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	Prof. Dr. Jan Maarten van Dijl, University of Groningen The Netherlands
	Dr. Vesa P. Kontinen, National Public Health Institute, Finland
	Prof. Dr. Arnold Driessen, University of Groningen The Netherlands
	Prof. Dr. Michael Hecker, University of Greifswald Germany

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače): <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	I. Barak, A.J. Wilkinson (2007) Division site recognition in Escherichia coli and Bacillus subtilis. FEMS Microbiol. Reviews 31: 311-326. (CC-časopis, IF = 8.691).
	J.C. Zweers, I. Barák, D. Becher, A.J.M. Driessen, M. Hecker, V.P. Kontinen, M.J. Saller, E. Vavrová, and J.M. van Dijl (2008) Development of Bacillus subtilis as a cell factory for membrane proteins and protein complexes. Microbial Cell Factories 7: 10 (CC-časopis, IF = 3.36).
	I. Barák, K. Muchová, A.J. Wilkinson, P.J. O'Toole and N. Pavlendová (2008) Lipid spirals in Bacillus subtilis and their role in cell division. Molecular Microbiology 68: 1315-1327. (CC-časopis, impakt faktor 5.634).
	P. Florek, K. Muchová, P. Pavelčíková and I. Barák (2008) Expression of functional Bacillus SpoIISAB toxin-antitoxin modules in Escherichia coli. FEMS Microbiol. Letters 278: 177-184. (CC-časopis, IF = 2.068).
	D. Mullerová, D. Krajčíková, and I. Barák. (2009) Interactions between Bacillus subtilis early spore coat morphogenetic proteins. FEMS Microbiol. Letters 299: 74-85. (CC-časopis, IF = 2.068).
V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu:	Najvýznamnejším výsledkom tohto projektu je príprava efektívnych nadprodukcčných kmeňov B. subtilis na produkciu membránového proteínového komplexu ako aj cytoplazmatického deliaceho proteínu. Získané výsledky potvrdzujú, že B. subtilis je nielen výhodným hostiteľom na produkciu proteínov, ktoré sú sekretované, ale môže byť plne využiteľný aj na produkciu

cytoplazmatických proteínov a proteínových komplexov.

Charakteristika výsledkov

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Pripravili sme nadprodukčné kmene *B. subtilis* na produkciu toxín-antitoxínového komplexu SpoIIISA-SpoIISB a deliaceho proteínu DivIVA. Produkcia týchto proteínov v uvedených kmeňoch je postačujúca na izoláciu a purifikáciu dostatočného množstva bielkovín na ďalšie biochemické experimenty. Purifikáciou DivIVA na NiNTA kolone sme pripravili čistý proteín, ktorý bude použitý na štúdium štruktúry pomocou elektrónovej transmisnej mikroskopie za účelom porovnania tejto štruktúry so štruktúrou proteínu izolovaného z heterologického expresného systému *E. coli*, ktorú sme získali v našej predchádzajúcej práci. Vyvinuli sme systém na vyhľadávanie mutácií, ktoré ovplyvňujú produkciu sporulačných proteínov. Týmto systémom sme získali a analyzovali viacero efektívne sporulujúcich klonov SpoIIIE produkčného kmeňa. Študovali sme tvorbu lipidických membránových štruktúr v kmeňoch nadprodukujúcich membránové proteíny. Zistili sme významné rozdiely v organizácii týchto štruktúr v porovnaní s divným typom.

Summary of the project results and the fulfillments of the project goals (max. 20 lines) -english:

We have prepared efficient *B. subtilis* expression strains for production of toxin-antitoxin complex SpoIIISA-SpoIISB and division protein DivIVA. Production of mentioned proteins in these strains is sufficient for isolation and purification of required amount of proteins for further biochemical analysis. Using chromatography on NiNTA column we have obtained pure sample of DivIVA, which will be used for electron microscopy structural studies to compare its structure with the previously obtained structure of the protein isolated from heterologous *E. coli* expression system. An efficient screening system was developed for searching mutations that influence the production of the sporulation-specific proteins. Using this system we have obtained and analyzed several effectively sporulating clones of SpoIIIE expression strain. We have studied the membrane lipid organization in *B. subtilis* strains over-expressing membrane proteins. We have observed significant differences in membrane lipid organization in comparison to the wild type strain.

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.

Podpis zodp. riešiteľa:

Podpis štatutárneho zástupcu:

Dátum:

Pečiatka: