

Zmiany w proteomie bakterii symbiotycznych *Rhizobium leguminosarum* sv. *trifolii* wywołane stresem niskiej temperatury

Monika Janczarek, Paulina Adamczyk

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie; monika.janczarek@mail.umcs.pl



UMCS
INSTYTUT NAUK BIOLOGICZNYCH

WSTĘP

Rhizobium leguminosarum sv. *trifolii* to bakteria glebowa zdolna do nawiązywania symbiotycznych interakcji z roślinami *Trifolium* spp. Jednym z czynników odgrywających istotną rolę w przeżyciu tej bakterii w środowisku jest niska temperatura. Adaptacja do tego czynnika stresowego polega na syntezie szeregu niskocząsteczkowych białek CSP (ang. *Cold Shock Proteins*), które uczestniczą w regulacji ważnych procesów komórkowych w tych warunkach.

Celem badań było określenie wpływu niskiej temperatury na skład jakościowy i ilościowy proteomu bakterii *R. leguminosarum*.

METODY

Materiał do badań stanowił szczep bakterii *R. leguminosarum* sv. *trifolii* R137, pochodzący ze strefy subpolarnej (Tromsø, Norwegia). Bakterie hodowano z wytrząsaniem w płynnej pożywce 79CA w temperaturze 5°C przez 4,5 godz. Kontrolę stanowiły bakterie inkubowane w 25°C. Po zwirowaniu hodowli bakteryjnej osad przepłukano za pomocą 50 mM Tris-HCl, a następnie przeprowadzono lizę komórek z wykorzystaniem lizozymu i ultradźwięków. Mieszaninę białek uzyskaną po wirowaniu wykorzystano do identyfikacji białek i porównawczej analizy ilościowej z wykorzystaniem spektrometrii mas (technika „label free”). Wykonano analizę homologii białek z wykorzystaniem bazy UniProt i sekwencji dla szczepów referencyjnych *R. leguminosarum*.

WYNIKI

Wykazano, że stres niskiej temperatury powodował zwiększenie syntezy kilkudziesięciu białek ryzobiowych; m.in. białka szoku zimna CspA1, czynników transkrypcyjnych NrdR, GntR i MarR, białek strukturalnych małej (S18) i dużej podjednostki rybosomalnej (L21, L28, L30), niektórych komponentów flagellin (FlgL, FlgK, FlaD) i białek uczestniczących w metabolizmie różnych substratów (Rys. 2). Wśród białek produkowanych w mniejszej ilości w stresie w porównaniu do warunków kontrolnych zidentyfikowano inne składniki flagellin (FlaA, FlaB, FlaC, FlgE), regulator nodulacji NolR1, białka uczestniczące w syntezie sideroforu oraz metabolizmie fosforanowym i azotanowym. Ponadto, wykryto 103 białka, których synteza była indukowana i/lub wyciszana przez stres niskiej temperatury; m.in. białka błonowe, glikozylotransferazy uczestniczące w syntezie różnych polisacharydów (LpsB i LpcA), białka uczestniczące w replikacji (DnaA) i segregacji chromosomu (ScpA) oraz grupa białek z rodziny CSP (Rys.1).



	Size (amino acids)	Fold change CS_K	
Cold shock protein	cspA1	69	14,85
	cspAp11	69	-1
	cspA2	69	-1
	cspA4	71	1,02
	cspAp12	67	1,11
	RL1298	69	-1,10
	cspA5	192	-1,06
	cspA3	70	-1,06
	deaD	651	-1,00
	deaD	521	-1,03

Rys.1. Wpływ niskiej temperatury na obecność białek CSP w proteomie *R. leguminosarum* sv. *trifolii*.

Rys.2. Zmiana poziomu syntezy wybranych białek proteomu *R. leguminosarum* sv. *trifolii* pod wpływem stresu niskiej temperatury podana jako współczynnik Fold change CS/K (cold shock vs control).

WNIOSKI

Bakteria symbiotyczna *Rhizobium leguminosarum* sv. *trifolii* pochodząca ze strefy klimatu subpolarnego jest bardzo dobrze przystosowana do stresu niskiej temperatury, co objawia się zmianą indukcją lub zmianą w poziomie syntezy wielu białek związanych z ważnymi procesami komórkowymi, takimi jak: replikacja, transkrypcja, translacja i biogeneza rybosomów, tworzenie flagelli i ruchliwość komórek, synteza sideroforu, transport i metabolizm różnych źródeł węgla, azotu i fosforu oraz symbiozą pod wpływem tego czynnika stresowego.

Badania zostały sfinansowane z funduszy projektu NCN nr 2018/31/B/NZ9/00663