

ZASTOSOWANIE I ZNACZENIE ANALIZY SEKWENCJI GENU *gyrB* W BADANIACH BAKTERII CHOROBOTWÓRCZYCH DLA ROŚLIN

Monika Sulikowska, Joanna Puławska, Piotr Sobiczewski

Laboratorium Bakteriologii, Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa, ul. Pomologiczna 18,
96-100 Skierniewice, e-mail: msuliko@insad.pl

Wpłynęło w sierpniu 2006 r.

1. Wstęp. 2. Aktualne badania genu *gyrB* u bakterii. 3. Wykorzystanie analizy sekwencji *gyrB* do identyfikacji bakterii fitopatogenicznych oraz w badaniach nad ich filogenezą i zróżnicowaniem genetycznym. 4. Podsumowanie

The use and importance of sequence analysis of *gyrB* gene in study of plant pathogenic bacteria

Abstract: The *gyrB* gene, coding for the B subunit of DNA gyrase (a protein belonging to topoisomerases) has been recently studied as a potential marker for identification and genetic diversity determination of bacteria. Due to its high diversity the *gyrB* gene is a very good candidate for an evolutionary marker of the relationship between closely related bacteria. Moreover, results obtained from sequence analyses of housekeeping genes to which *gyrB* belongs, correspond to those of time consuming conventional methods used for identification of bacteria and studies of their phylogeny and genetic diversity. The objective of this paper was to review the recent knowledge regarding the *gyrB* gene in plant pathogenic bacteria, such as: *Pseudomonas aeruginosa*, *P. syringae*, *P. viridiflava*, *Xylella fastidiosa* and some other bacteria from *Enterobacteriaceae* family and *Actinomycetales* order.

1. Introduction. 2. Present research on gen *gyrB* in bacteria. 3. Use of sequence analysis of *gyrB* for identification of plant pathogenic bacteria and for study on their phylogeny and genetic diversity. 4. Summary

Słowa kluczowe: bakterie fitopatogeniczne, filogeneza, genetyczne zróżnicowanie *gyrB*, identyfikacja

Key words: genetic diversity, *gyrB*, identification, plant pathogenic bacteria, phylogeny

1. Wstęp

Gen *gyrB* koduje podjednostkę B gyrazy tj. białka zaliczanego do topoizomeraz, które uczestniczą w przekształcaniu DNA w formę superhelisy i w jego relaksacji. U prokariota, topoizomerazy należą do dużej grupy enzymów, które są odpowiedzialne za kontrolę stanu topologicznego DNA [1, 6, 16]. Są to enzymy niezbędne dla replikacji, transkrypcji, rekombinacji i naprawy DNA [4, 19, 40]. Na podstawie ich zdolności do przecinania pojedynczej lub podwójnej nici DNA wyróżnia się odpowiednio dwa główne typy topoizomeraz, I i II, które są z kolei podzielone na podrodziny: IA, IB, IIA i IIB. Gyraza należy do topoizomeraz typu II, podrodziny IIA. Składa się z dwóch podjednostek A i B kodowanych odpowiednio przez geny *gyrA* i *gyrB* [6, 41]. Enzym ten funkcjonuje jako tetramer o strukturze A_2B_2 [14, 32]. Masa cząsteczkowa białka GyrB u różnych bakterii wynosi 70 do 90 kDa [2, 19, 23].

U bakterii gyraza jest podstawowym enzymem katalizującym zależną od ATP reakcję powstawania ujemnych super-skrętów w kolistym DNA, co daje w rezultacie wysoką kondensację tego biopolimeru i ułatwia rozkręcanie podwójnej nici podczas replikacji [18]. Główną rolę odgrywa tu N-koniec tego enzymu. Natomiast C-koniec podtrzymuje kompleks utworzony

z podjednostką A gyrazy i uczestniczy w relaksacji niezależnej od ATP [11, 19, 44].

Gen *gyrB* jest ostatnio badany jako potencjalny marker do identyfikacji i określania zróżnicowania genetycznego bakterii, a także jako marker ewolucyjny pozwalający określić relacje filogenetyczne między bakteriami blisko ze sobą spokrewnionymi [42]. Białko GyrB należy do klasy enzymów warunkujących podstawowe funkcje komórki, czyli białek niezbędnych dla utrzymania metabolizmu komórkowego, których ekspresja nie podlega regulacji. Kodowane są one przez geny określane jako „housekeeping genes”. Analiza sekwencji *gyrB* jest coraz częściej używana w metodzie MLST (Multilocus Sequence Typing). Metoda ta, poprzez analizę częściowych sekwencji (450–500 pz) genów kodujących białka, pozwala uzyskać wysoki poziom zróżnicowania badanych bakterii i jest ostatnio zalecana przy definiowaniu nowych gatunków bakteryjnych [9, 22, 37].

Dodatkowo zaleca się wykorzystanie analizy sekwencji genu *gyrB* w analizie filogenetycznej ze względu na jego trzy bardzo pożądane cechy:

- uniwersalne występowanie u bakterii
- molekularne tempo ewolucji, które jest wyższe niż 16S rRNA
- bardzo rzadki horyzontalny transfer – HGT [19, 35, 43].