

Received: 2007.08.14
Accepted: 2007.09.27
Published: 2007.10.12

Segregacja chromosomów i podziały komórkowe podczas wzrostu i różnicowania *Streptomyces**

Chromosome segregation and cell division during the growth and differentiation of *Streptomyces*

Dagmara Jakimowicz^{1,2}

¹ Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

² Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski

Streszczenie

Glebowe promieniowce z rodzaju *Streptomyces* rosną w postaci grzybni. Kolonie *Streptomyces* przechodzą złożony cykl życiowy, w trakcie którego grzybnia wegetatywna różnicuje się w grzybnię powietrzną, a ta z kolei ulega przekształceniu w łańcuchy zarodników. Proces różnicowania podlega ścisłej kontroli przez produkty grupy genów *bld* i *whi*. Grzybnia *Streptomyces* zbudowana jest z przylegających do siebie, wydłużonych komórek zwanych kompartmentami, oddzielonych rzadko rozmieszczonymi poprzecznymi przegrodami. Kompartymy grzybni wegetatywnej zawierają od kilku do kilkunastu nieskondensowanych chromosomów. Chromosomy w grzybni wegetatywnej replikują się asynchronicznie i nie ulegają segregacji. Natomiast w grzybni powietrznej synchronicznie powstaje drabinka przegród poprzecznych. Na tym etapie chromosomy ulegają kondensacji i segregacji do jednogomowych kompartmentów zarodnikowych. W segregacji chromosomów ważną rolę pełnią białka z rodzin ParA i ParB. ParB wiąże DNA i tworzy duży nukleoproteinowy kompleks – segregosom. ParA występuje w postaci filamentu i umożliwia równomierne rozmieszczenie segregosomów wzdłuż grzybni powietrznej, tak aby każdy z powstających zarodników otrzymał pojedynczą kopię chromosomu. Charakterystyczną, omówioną tutaj szczegółowo cechą *Streptomyces*, jest czasowo-przestrzenna regulacja jakiej podlegają procesy segregacji chromosomów i tworzenia przegród.

Słowa kluczowe:

segregacja chromosomów • podział komórkowy • replikacja • *Streptomyces* • ParA • ParB • FtsZ

Summary

Streptomyces, soil-dwelling actinomycetales, grow by forming a mycelium. During the development of *Streptomyces* colonies, vegetative hyphae undergo morphological differentiation which involves the formation of aerial hyphae and spore chains. Differentiation is controlled by a regulatory cascade of *bld* and *whi* genes products. Long, multigenomic compartments of vegetative hyphae are delimited by infrequent crosswalls and remain adjacent to each other. Chromosome replication in vegetative hyphae is asynchronous. The chromosomes are uncondensed and do not undergo active segregation. On the other hand, in multigenomic aerial hyphae that undergo synchronized septation, the chromosomes are condensed and segregated into unigenomic compartments. Efficient chromosomal segregation depends on ParA and ParB proteins. ParB binds DNA, forming a large nucleoprotein complex, a segregosome. ParA assembles into a filament exten-

* Praca finansowana ze środków Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego, projekt habilitacyjny (grant N301 057 32/2150).

ding along the hyphae. The ParA filament enables the regular distribution of the segregosomes, ensuring that each of the spore compartments receives one copy of the chromosome. A unique feature of *Streptomyces* discussed in this review is the spatial and temporal regulation of chromosomal segregation and septation.

Key words: chromosome segregation • cell division • replication • *Streptomyces* • ParA • ParB • FtsZ

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/11356.pdf

Word count: 3986

Tables: –

Figures: 3

References: 85

Adres autorki: dr Dagmara Jakimowicz, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L.Hirszfelda, ul. R.Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: jakimow@iitd.pan.wroc.pl

WPROWADZENIE

Streptomyces to Gram-dodatnie, należące do grupy promieniowców bakterie glebowe, które wzrostem i złożonym cyklem życiowym przypominają grzyby nitkowate. Wzrost w postaci grzybni oraz wytwarzanie i rozsiewanie opornych na czynniki zewnętrzne zarodników ułatwiają *Streptomyces* kolonizację gleby. Grzybnia wegetatywna pobiera z podłoża substancje odżywcze, a po ich wyczerpaniu różnicuje się w grzybnie powietrzną, która następnie przekształca się w łańcuchy zarodników [8,12]. Kolejną adaptacją *Streptomyces* do środowiska glebowego jest wytwarzanie enzymów hydrolitycznych umożliwiających degradację szczątków organicznych oraz syntezę wtórnych metabolitów, które mają ułatwić zdobycie przewagi nad mikroorganizmami konkurującymi o te same nisze ekologiczne. Dzięki zróżnicowanej aktywności biologicznej wytwarzanych przez *Streptomyces* wtórnych metabolitów, bakterie te są szeroko wykorzystywane w przemyśle. Oprócz enzymów o zastosowaniu przemysłowym, takich jak chitynazy, ksylanazy, proteazy, czy lipazy, około 60% stosowanych antybiotyków pochodzenia naturalnego jest produkowanych przez *Streptomyces*, w tym streptomycyna (drugi odkryty antybiotyk i pierwszy o działaniu przeciwegzuczywnym), neomycyna, chloramfenikol i tetracyklina, a także substancje o charakterze cytotatycznych i immunosupresantów (np. rapamycyna) [6,10,44,73]. Bogactwo szlaków metabolicznych *Streptomyces* zawdzięczają wyjątkowo dużemu genomowi (8–10 Mbp) [3]. Modelowym gatunkiem w badaniach nad *Streptomyces* jest *S. coelicolor* [31,33]. *S. coelicolor* M145 był pierwszym szczepem *Streptomyces* o poznanej sekwencji nukleotydowej chromosomu (obecnie znana jest także sekwencja chromosomu *S. avermitilis*) [3,35]. Na długim (8,7 Mbp), bogatym w pary GC (72%) i, co ciekawe, liniowym chromosomie *S. coelicolor* zidentyfikowano, aż ponad 7000 genów [3]. Charakterystyczną cechą *Streptomyces* jest obecność na chromosomie ponad 60 genów kodujących czynniki sigma polimerazy RNA (w przypadku *E. coli* jest ich tylko 8, a u *B. subtilis* niewiele ponad 20), dzięki którym *Streptomyces* dostosowują ekspresję określonych genów do zmieniających się warunków środowiskowych.

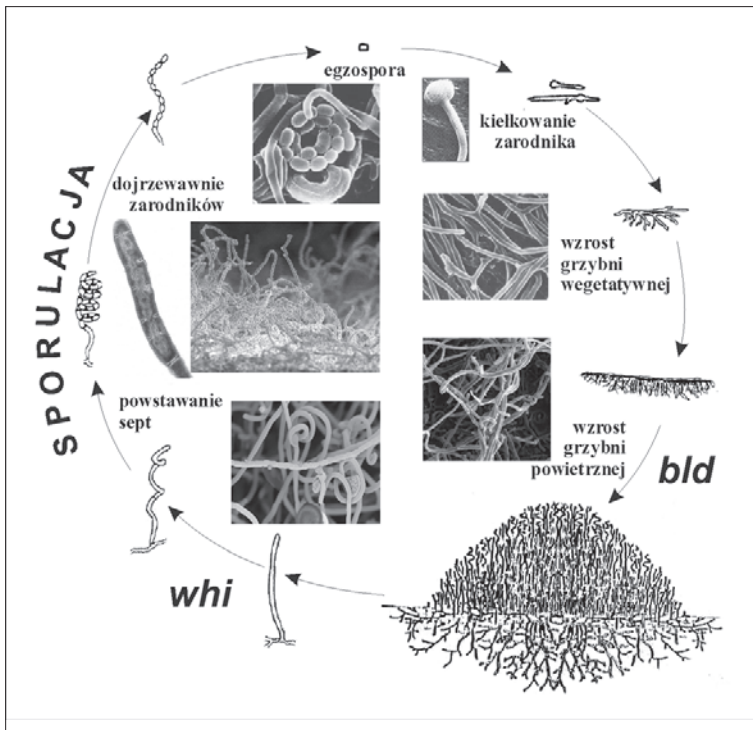
WZROST I RÓŻNICOWANIE KOLONII *STREPTOMYCES*

Wzrost grzybni wegetatywnej

Wzrost kolonii *Streptomyces* rozpoczyna się od wykiełkowania z zarodnika pojedynczego lub dwóch strzępek (ryc.1). Rosnące nitkowato i rozgałęziające się strzępki tworzą grzybnie wegetatywną, która przerasta podłoże i pobiera z niego substancje pokarmowe. Charakterystyczną cechą *Streptomyces* jest wzrost strzępek grzybni w regionie szczytowym [20,24,70]. U większości bakterii pałeczkowatych, dzielących się przez podział poprzeczny (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*) strefa wzrostu występuje w ścianie podłużnej w centrum komórki, w okolicy miejsca podziału. Oprócz *Streptomyces* wydłużanie komórek na biegunach stwierdzono u pałeczek *Corynebacterium glutamicum*, również należących do promieniowców [14]. U *Streptomyces* dochodzi dodatkowo do tworzenia odgałęzień, czyli utworzenia *de novo* nowego wierzchołka wzrostu na ścianie bocznej strzępka. Wzrost szczytowy wymaga doprowadzenia w pobliże wierzchołka strzępek enzymów i substratów niezbędnych do syntezy nowej ściany. Odbywa się to prawdopodobnie za pomocą aktywnego transportu [20], ale nieznanym jest molekularny mechanizm warunkujący ten proces. Przypuszcza się, że jednym z jego elementów jest niedawno zidentyfikowane białko DivIVA, które zlokalizowano na wierzchołkach grzybni *Streptomyces* [21]. Zaburzenie poziomu białka DivIVA powoduje poważne zmiany kształtu strzępek; zwiększenie jego poziomu prowadzi do charakterystycznego powiększenia w obszarze szczytowym, natomiast zmniejszenie wywołuje nadmierne tworzenie bocznych odgałęzień – efekt podobny do obserwowanego podczas zaburzenia wzrostu wierzchołkowego u grzybów [21]. Nie wiadomo, w jaki sposób DivIVA uczestniczy we wzroście wierzchołka *Streptomyces*, ani z jakimi białkami w komórce oddziałuje DivIVA.

Regulacja rozwoju grzybni powietrznej

Podobnie jak u *B. subtilis*, ograniczenie składników odżywczych i stres fizjologiczny są czynnikami zapoczątkującymi sporulację *Streptomyces* [9,11]. Różnicowanie

Ryc. 1. Cykl życiowy *Streptomyces* (opis w tekście)

proceeding to the formation of spore chains begins with the growth of aerial hyphae (rzc. 1). And then, the switch to the sporulation mode causes the growth of the colony, unlike in *B. subtilis*, where sporulation is associated with a complete inhibition of growth [8,75]. White, rapidly growing, unbranched and hydrophobic aerial hyphae give the colony a "fuzzy" character. *S. coelicolor* spore chains mature on solid substrates. Growth of aerial hyphae is controlled by a signal cascade, in which enter proteins called Bld (from the English word **bold** – tŁsy), initially identified due to characteristic phenotypes, as their mutations give colonies [9,42]. Mutations of genes *bld* inhibit growth of aerial hyphae and colonies of mutants remain smooth. A simple model of the signal cascade suggests that each of the genes *bld* (*bld A, B, C, D, G, H, I, J, K, L, M, N*), conditions the start of the next physiological process, leading to the growth of aerial hyphae, and including m.in. in the vicinity of some compartments of vegetative hyphae, or change of metabolism of the colony. To date, only some genes of the signal cascade have been characterized. Well described e.g. *bldA*, coding for leucyl-tRNA specific for a rare codon UUA, which occurs in many genes of the organism during differentiation [10,53]. Product of the *bldD* gene, a low molecular weight protein binding DNA is a repressor of genes involved in differentiation. BldD controls transcription m.in. *bldN*, which in turn is a sigma factor of RNA polymerase necessary for transcription of *bldM*. BldM starts further stages of the cascade and is responsible for maturation of aerial hyphae (see below) [9,17]. BldK is characterized as an ABC transporter conditioning transport of small peptides across the cell membrane [42,67]. Most mutants *bld* are unable to produce SapB (spore associated protein B), a low molecular weight (17 kDa), hydrophobic protein, necessary for growth of aerial hyphae [84].

What is interesting, mutants *bld* form a regular aerial hyphae, when the protein SapB is supplied from outside. SapB is secreted to the substrate and associated with the surface of aerial hyphae acts as a surfactant causing a decrease in the surface tension of water on the surface of the colony [18]. Rapidly growing aerial hyphae cover themselves with a layer of hydrophobic molecules (rod-like and chaperines), which give the spores hydrophobicity [13,18].

During maturation of the white spore chains of aerial hyphae undergo transformation into grey spore chains (rzc.1). Genes, whose mutations inhibit maturation of aerial hyphae at this stage are called *whi* (**white** – białe) [7,9]. *whiG* remaining under the control of BldD and BldM, "early" gene *whi*, which is necessary for maturation of aerial hyphae. WhiG is a sigma factor of RNA polymerase conditioning transcription of further regulatory genes: *whiH* and *whiI* [9,43]. Inhibition of growth of aerial hyphae, which occurs before transformation into spores is dependent on further genes *whi*, independent of *whiG*: *whiA* and *whiB*. Mutants of genes *whiA* and *whiB* are characterized by unusually long and spirally twisted aerial hyphae [9,22]. All five early genes *whi* (*whiG, whiH, whiI, whiB* and *whiA*) are necessary for correct transcription of late regulatory genes, such as *sigF* (coding for sigma factor of RNA polymerase), which is controlled by remaining genes responsible for maturation of spores, e.g. *whiE* (two genes responsible for synthesis of a grey polyketide pigment of spores) [9]. Apart from the most recently described group of proteins Whi, other proteins necessary for correct maturation of aerial hyphae, e.g. typical only for the gamma family of proteins *ssgA* – SALP (**SsgA** like proteins: *ssgA, B, C, D, E, F, G*) [68,77,78]. Strains with deletion of the *ssgA* gene, in general do not sporulate, and mutations in other

genach tej rodziny powodują różnorodne defekty w łańcuchach zarodników. Wciąż jednak niewiele wiadomo na temat wzajemnych powiązań pomiędzy produktami genów *ssg* i *whi*.

MULTIGENOMOWE KOMPARTMENTY GRZYBNI *STREPTOMYCES*

Podziały komórkowe w grzybni wegetatywnej

W grzybni wegetatywnej *Streptomyces* nie zachodzą typowe dla bakterii podziały komórkowe, w wyniku których powstają dwie komórki potomne. Po osiągnięciu pewnej długości przez komórkę szczytową w nitkowatym strzępku zostaje utworzona przegroda poprzeczna. Powstające wydłużone przedziały komórkowe (kompartamenty) nie podlegają wzrostowi, aż do czasu powstania bocznego odgałęzienia. W przeciwieństwie do bakterii pałeczkowatych (np. *B. subtilis*), gdzie podczas podziału w obrębie przegrody zachodzi liza umożliwiająca fizyczne oddzielenie dwóch potomnych komórek, w grzybni *Streptomyces* kompartamenty, choć oddzielone są podwójną błoną, wciąż przylegają do siebie. Nieznane są reguły, jakim podlega częstość tworzenia przegród w *Streptomyces*, wiadomo jednak, że jest ona różna w zależności od warunków wzrostu i szerepu [20,24].

Pomimo braku typowych podziałów komórkowych tworzenie przegród poprzecznych w grzybni *Streptomyces* przebiega zgodnie z podstawowym mechanizmem cytokinetycznym *Prokaryota*, którego głównym elementem jest białko FtsZ [60,82]. Białko to jest strukturalnym homologiem eukariotycznej tubuliny [58,63]. FtsZ wyznacza miejsce podziału komórki poprzez polimeryzację w postaci wewnątrzkomórkowej, związanej z błoną struktury otaczającej komórkę, zwanej pierścieniem Z. Powstawanie pierścienia Z uwarunkowane jest równowagą pomiędzy polimeryzacją i depolimeryzacją FtsZ. U *Streptomyces* występują homologii białek zaangażowanych w regulację powstawania pierścienia Z oraz odpowiadających za rozwój ściany komórkowej w miejscu powstawania pierścienia Z (FtsI, K, W, Q) [3,20]. Nie stwierdzono jednak obecności genów kodujących niektóre białka, odpowiedzialnych za stabilizację protofilamentów FtsZ, takich jak ZipA u *E. coli* czy Zap A i EzrA u *B. subtilis* [3,58]. U *Streptomyces*, w przeciwieństwie do wszystkich badanych bakterii, delekcja genu *ftsZ* nie jest letalna i nie powoduje ona zahamowania wzrostu grzybni wegetatywnej [62]. W grzybni szczepów z delecją *ftsZ* nie tworzą się przegrody poprzeczne i nie dochodzi do wytwarzania zarodników (patrz poniżej). Tak więc *Streptomyces* są jedynymi bakteriami, u których podziały komórkowe nie są niezbędne do wzrostu.

Asynchroniczna replikacja chromosomów w grzybni wegetatywnej

Przedziały komórkowe grzybni wegetatywnej *Streptomyces* są multigenomowe; zawierają od kilku do kilkunastu kopii chromosomu [32,44]. Mikroskopowe obserwacje preparatów grzybni *Streptomyces*, w której wybarwiono DNA sugerują, że chromosomy są nieskondensowane i nie mają określonej lokalizacji w poszczególnych kompartamentach. Próba zlokalizowania określonych regionów chromosomów (regionu inicjacji replikacji – *oriC* zlokalizowanego w środku chromosomu i regionów terminacji replikacji *ter*

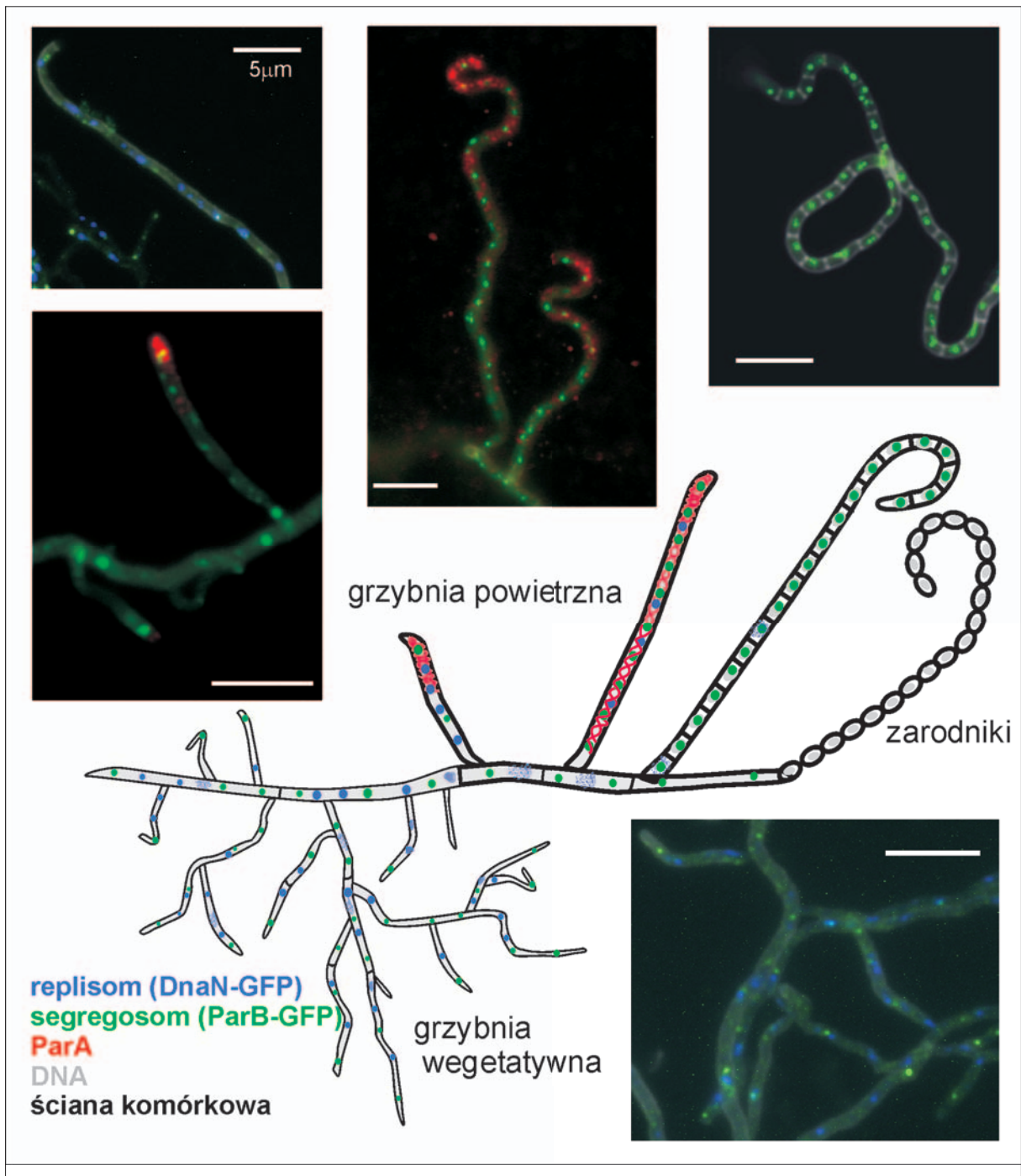
– końców chromosomu) przy zastosowaniu techniki FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) potwierdziła losowe ich rozmieszczenie w przedziałach [85]. Zastosowanie fuzji podjednostki β polimerazy III DNA z białkiem zielennej fluorescencji (GFP – green fluorescent protein) pozwoliło na lokalizację maszynerii replikacyjnej (replisomów) w grzybni *S. coelicolor* (ryc.2, schematycznie zaznaczone na niebiesko) [72]. Wykazano, że chociaż replikacja chromosomów zachodzi we wszystkich obszarach grzybni, intensywność tego procesu jest zróżnicowana w obrębie kolonii. W niektórych kompartamentach grzybni zaobserwowano wyraźne skupiska fluorescencyjne, które wskazywały na aktywną replikację. Natomiast w innych kompartamentach tego typu skupisk było mniej i towarzyszyła im fluorescencja rozproszona, co może być następstwem montowania/rozmontowania maszynerii replikacyjnej. Obserwowano też przedziały, w których w ogóle nie było skupisk fluorescencyjnych. Na podstawie powyższych spostrzeżeń stwierdzono, że replikacja chromosomów jest asynchroniczna w pojedynczym kompartamencie, a także pomiędzy poszczególnymi kompartamentami grzybni *Streptomyces* [72]. Nie wiadomo, jakie czynniki regulują liczbę chromosomów *Streptomyces* w poszczególnych kompartamentach grzybni wegetatywnej.

Replikacja i kondensacja chromosomów w grzybni powietrznej

Szybki wzrost strzępków grzybni powietrznej pociąga za sobą bardzo intensywną replikację DNA. Obserwacje mikroskopowe poparte analizą statystyczną wskazały na największe zagęszczenie aktywnych replisomów (tj. wyraźnych skupisk fluorescencyjnych) w szczytowych kompartamentach grzybni powietrznej [72]. Tuż przed sporulacją strzępka grzybni powietrznej o długości kilkudziesięciu mikrometrów zawiera około kilkudziesięciu nieskondensowanych chromosomów. Chromosomy ulegają kondensacji dopiero na etapie powstawania przegród poprzecznych w grzybni powietrznej (patrz poniżej) [20,32]. Prawdopodobnie głównym białkiem odpowiadającym za kondensację chromosomów na tym etapie jest białko SMC (structural maintenance of chromosomes). Białka SMC występują u wszystkich bakterii i są homologami eukariotycznych białek tej rodziny. Wszystkie one dzięki charakterystycznej strukturze „coiled-coil” i tworzeniu struktur oligomerycznych mają zdolność wiązania i kondensacji DNA [1,76]. U *Streptomyces* delekcja *smc* powoduje opóźnioną kondensację chromosomów w grzybni powietrznej i zaburzenia ich segregacji (A. Kois, dane niepublikowane). Replikacja ulega zahamowaniu wraz z zatrzymaniem wzrostu grzybni powietrznej, przed utworzeniem przegród i kondensacją chromosomów. Nieznany jest mechanizm warunkujący zahamowanie replikacji w dojrzewającej grzybni powietrznej.

Powstawanie przegród w grzybni powietrznej

Dojrzewanie grzybni powietrznej polega na synchronicznym powstaniu około 50 poprzecznych przegród ułożonych w równych odstępach wynoszących około 1,4 μm [20,83]. Najważniejszą cechą przegród utworzonych w grzybni powietrznej jest ich zdolność całkowitego odseparowania potomnych komórek – zarodników, co umożliwia ich rozproszenie. Dzięki mikroskopii immunofluorescencyjnej zaobserwowano powstającą wzdłuż grzybni powietrznej



Ryc. 2. Schemat grzybni powietrznej i wegetatywnej *S. coelicolor*. Załączone zdjęcia przedstawiają przykłady grzybni widoczne w mikroskopie fluorescencyjnym. Na schemacie zaznaczono, widoczne również na zdjęciach replisomy (niebieskie), segregosomy (zielone), ParA (czerwone) oraz przegrody komórkowe (na zdjęciach szare)

drabinkę równomiernie rozmieszczonych pierścieni FtsZ [74]. Zastosowanie białka fuzyjnego FtsZ-GFP wykazało, że utworzenie drabinki jest poprzedzone powstaniem krótkich spiral FtsZ, które przekształcają się w serię pierścieni [28]. Tak więc to samo białko FtsZ odpowiedzialne jest zarówno za inicjację tworzenia przegród w trakcie wzrostu wegetatywnego, jak i wzdłuż grzybni powietrznej, uruchamiając w ten sposób dwa odmienne typy podziału komórkowego [20,24]. Wynika to m.in. ze złożonej regu-

lacji ekspresji genu *ftsZ*. Jeden z trzech promotorów, *ftsZp2* podlega czasowo-przestrzennej regulacji i jest silnie indukowany tylko w grzybni powietrznej. Indukcja promotora *ftsZp2* zależy od produktów genów *whi* (jest pod bezpośrednią kontrolą *whiH*); w mutantach *whi* nie powstaje drabinka przegród. Mutacja tego promotora powoduje zaburzenia sporulacji – grzybnia mutantka *ftsZp2* przypomina grzybnie białych mutantów [23]. O różnicach pomiędzy mechanizmem tworzenia przegród w grzybni wegetatyw-

nej i powietrznej świadczy mutant białka FtsZ17, który mimo że nie wykazuje defektów pierścieni Z w grzybni vegetatywnej, nie jest w stanie inicjować powstawania przegród w grzybni powietrznej [29]. Przypuszcza się, że następstwem tej mutacji są zaburzenia oddziaływania FtsZ17 z nieznanym białkiem, obecnym tylko w sporulującej grzybni. Dodatkowo wykryto, że tworzenie przegród w czasie sporulacji jest hamowane przez niektóre antybiotyki β -laktamowe (cefalosporyny, kwas 6-aminopenicylanowy), podczas gdy przegrady w grzybni vegetatywnej nie są wrażliwe na antybiotyki z tej grupy. Sugeruje to, że w budowę obu rodzajów przegród mogą być zaangażowane różne białka z grupy PBP (penicilin binding proteins) odpowiadające za tworzenie ściany [24].

SEGREGACJA CHROMOSOMÓW *STREPTOMYCES*

Charakterystyka biochemiczna białek ParA i ParB

Białka kodowane przez operon *parAB* biorą udział w segregacji chromosomów i są niezbędne do aktywnej i wydajnej segregacji niskokopijnych plazmidów *E. coli* (P1, F) [26,30,52]. Mutacje delecyjne chromosomalnego genu *parB* dają zróżnicowane efekty fenotypowe (ryc. 3), najczęściej powodują zaburzenia segregacji chromosomów do komórek potomnych. Analizy krystalograficzna i biochemiczna ortologu białka ParB *Thermus thermophilus* (oznaczone symbolem Spo0J u *T. thermophilus* i *B. subtilis*) wykazały, że N- i C-końcowa część białka jest odpowiedzialna za dimeryzację, natomiast motyw HTH (helix-turn-helix, helisa-skret-helisa) obecny w środkowej części białka umożliwia oddziaływanie z DNA (rys. 3) [50,52]. Chromosomalne białka ParB swoiście wiążą się do 14–16-merowych sekwencji *parS*, występujących najczęściej w okolicy regionu *oriC* (origin of chromosomal replication) [1,5,26,30,56]. Wiązanie sekwencji *parS* warunkuje tworzenie dużego kompleksu nukleoproteinowego zwanego segregosomem. Zastosowanie mikroskopii fluorescencyjnej pozwoliło na obserwację wyraźnych skupisk ParB. Obserwowano najczęściej 2 kompleksy, które były umiejscowione w pozycjach $\frac{1}{4}$ i $\frac{3}{4}$ długości komórek pałeczkatowatych. Za główną funkcję białka ParB uważa się przestrzenną organizację nowo zreplikowanych regionów *oriC* i ich kondensację, a także prawdopodobnie „zakotwiczenie” regionu *oriC* przy biegunie komórki [1,30,47,48]. Podobnie jak wszystkie białka z tej rodziny, ParB *S. coelicolor* zawiera motyw HTH i oddziałuje z konserwatywnymi sekwencjami *parS*. W chromosomie *Streptomyces* zidentyfikowano 24 sekwencje *parS*. Za pomocą metody immunoprecypitacji *in vivo*, potwierdzono wiązanie ParB do 22 z nich. Są one rozmieszczone na odcinku o długości około 400 tys. pz w centralnej części chromosomu, w okolicy regionu *oriC* (ryc.3) [38]. Dzięki zastosowaniu immunoprecypitacji udowodniono także, że fragmenty chromosomu pomiędzy sekwencjami *parS* również uczestniczą w tworzeniu dużego nukleoproteinowego kompleksu. Badania *in vitro* (opóźniona migracja w żelu i ochrona przed trawieniem DN-azą I) potwierdziły, że białko ParB w wyższych stężeniach wiąże się nieswoiście do DNA i oligomeryzuje dzięki czemu tworzą się wysokocząsteczkowe nukleoproteinowe kompleksy [38]. Sugeruje to, że ParB *Streptomyces*, podobnie do plazmidowych ortologów, wykazuje tendencję do rozprzestrzeniania się wzdłuż DNA [52,71].

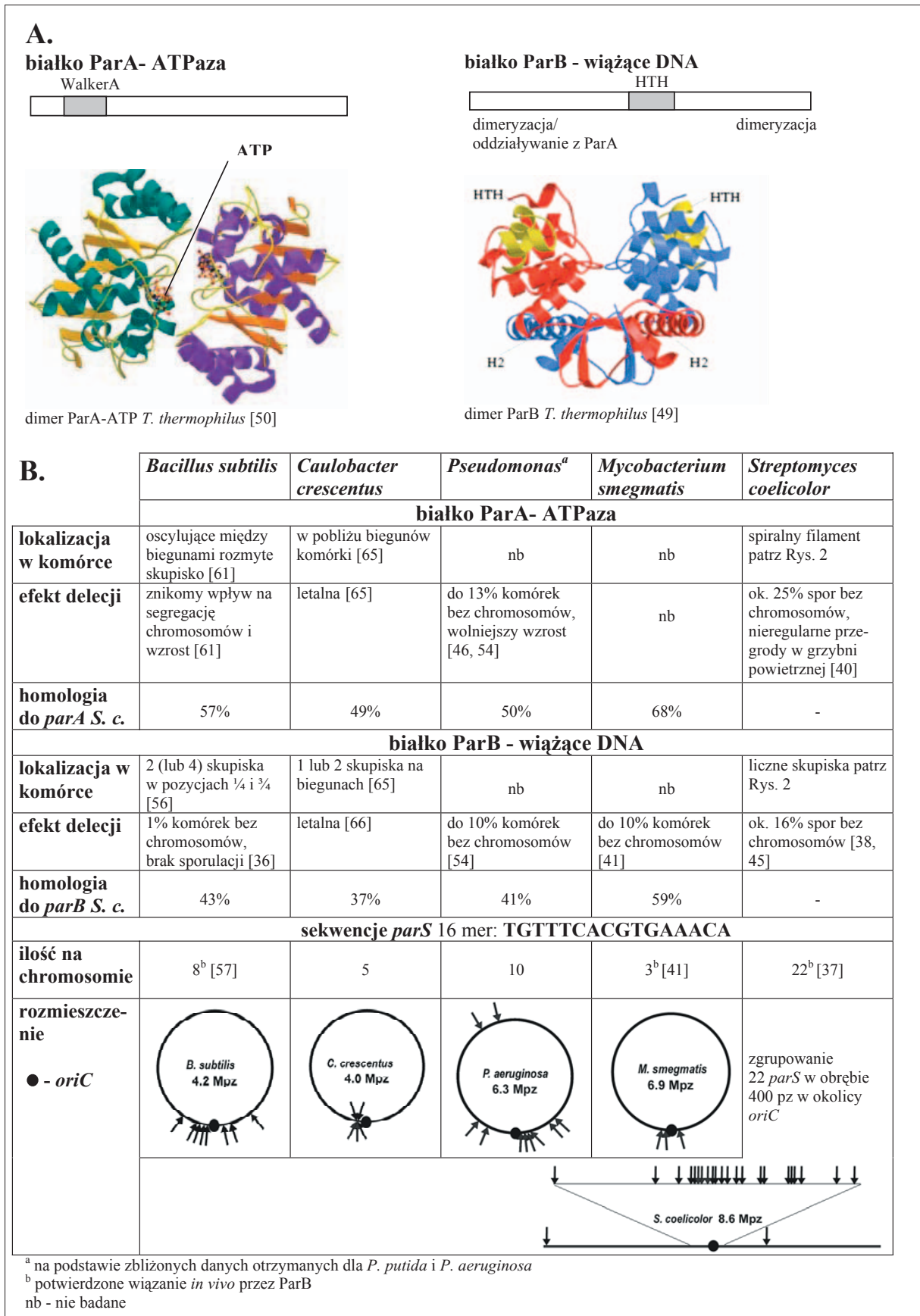
Chromosomalne i plazmidowe białka ParA to ATP-azy oddziałujące z ParB. Porównanie sekwencji aminokwasowej rodziny chromosomalnych białek ParA pozwoliło na identyfikację w N-końcowej części białka konserwatywnych motywów: odpowiadającego za wiązanie ATP Walker A i umożliwiającego hydrolizę ATP Walker B [26,30]. Struktura krystalograficzna ParA *T. thermophilus* wskazuje, że białko to tworzy dimery, zależne od hydrolizy ATP (ryc.3) [51]. Obserwacje kompleksów ParB *B. subtilis* i *Vibrio cholerae* wskazują, że ParA uczestniczy w ich organizacji, a także bierze udział w aktywnym transporcie segregosomów [25,61]. Ponadto, zdolność ParA do tworzenia dynamicznych filamentów nasuwa przypuszczenie, że może być ono odpowiednikiem białek cytoszkieletu [30,51,52]. Podobnie jak ParB, ParA *Streptomyces* wykazuje dużą homologię z białkami ParA plazmidowymi i chromosomalnymi innych bakterii (ryc. 3). Tak jak u innych bakterii (*P. areuginosa*, *C. crescentus* czy *B. subtilis*) [2,19,61] u *Streptomyces* potwierdzono oddziaływanie ParA z ParB za pomocą bakteryjnego systemu dwuhybridowego [41]. Dodatkowo, przeprowadzona analiza wiązania białka ParB do DNA *in vitro* (opóźniona migracja w żelu, SPR – powierzchniowy rezonans plazmonów) dowiodła, że w obecności ParA, ParB wiąże sekwencje *parS* wydajniej i szybciej, zwłaszcza przy niższych stężeniach tego białka [41].

Kompleksy ParB w grzybni vegetatywnej

Zastosowanie szczepu *S. coelicolor* wytwarzającego białko ParB w fuzji z GFP pozwoliło na obserwacje skupisk fluorescencyjnych w grzybni *S. coelicolor* (ryc.2) [39]. Białko ParB-GFP z mutacją w obrębie motywu HTH w ogóle nie tworzyło skupisk fluorescencyjnych. Dowodzi to, że fluorescencyjne skupiska to nukleoproteinowe kompleksy ParB, które powstają w wyniku związania białka z sekwencjami *parS*. W przedziałach grzybni vegetatywnej zaobserwowano po kilka nierównomiernie rozmieszczonych skupisk ParB-GFP. Jediną prawidłowością, jaką zaobserwowano w lokalizacji skupisk ParB-GFP w grzybni vegetatywnej, było ich występowanie w pobliżu wierzchołków grzybni. Wyraźne skupiska znajdowano w stałej odległości 1,4 μ m od wierzchołków grzybni vegetatywnej (w 90% strzępek). Nieznana jest jednak rola apikalnych kompleksów białka ParB. Podobnie jak podczas obserwacji replisomów zauważono, że niektóre skupiska białka ParB były wyraźne, a inne rozmyte. Sugeruje to, że tworzą się one w sposób asynchroniczny, co może pośrednio odzwierciedlać asynchroniczność precesu replikacji [39,72]. Można przypuszczać, że powstawanie dużego kompleksu nukleoproteinowego ParB obejmującego region *oriC* hamuje powstawanie kompleksu inicjującego replikację. A zatem, wiązanie w okolicy regionu *oriC* białka ParB może być jednym z mechanizmów regulujących częstość replikacji [38,45]. Podobną funkcję ParB w regulacji częstości inicjacji replikacji zasugerowano dla homologu ParB u *B. subtilis* [47,48,69].

Powstawanie segregosomów w grzybni powietrznej

W grzybni powietrznej *Streptomyces* chromosomy ulegają kondensacji i segregacji do powstających przedziałów zarodnikowych i na tym etapie rozwoju zaznacza się rola białek ParA i ParB [41,45]. Zaburzenia segregacji chromoso-



Ryc. 3. Charakterystyka kluczowych elementów maszynarii segregacyjnej chromosomów bakteryjnych; **A** – struktura białek ParA i ParB *Thermus thermophilus*, **B** – porównanie głównych elementów maszynarii segregacyjnej chromosomów: białek ParA, ParB i sekwencji *parS* u różnych bakterii

mów do zarodników (około 15% zarodników bez DNA) są najbardziej widocznym fenotypowym następstwem delekcji operonu *parAB* u *Streptomyces*. Kompleksy ParB-GFP w młodej grzybni powietrznej, podobnie jak w wegetatywnej, obserwuje się w postaci nielicznych rozmytych skupisk i jednego większego kompleksu na wierzchołku grzybni. Natomiast w dłuższych strzępkach grzybni powietrznej białko to tworzy regularnie rozmieszczone kompleksy widoczne jako wyraźne skupiska (ryc.2). Takie skupiska są widoczne w strzępkach, w których chromosomy jeszcze nie uległy kondensacji i w których nie ma jeszcze przegród poprzecznych [39]. Kompleksy ParB są obecne podczas tworzenia przegród oraz w nowo powstałych kompartmentach zarodnikowych zawierających już skondensowane chromosomy. Na tym etapie każdy z kompartmentów zawiera pojedyncze skupisko ParB. Charakterystyczną cechą kompleksów ParB jest ich bardzo regularne rozmieszczenie, w odległościach co 1,4 μm (takich samych jak odległości pomiędzy przegradami), przy czym rozmieszczenie takie obserwowane jest jeszcze przed powstaniem przegród poprzecznych [39]. Co ciekawe, w białych mutantach genów *whi* nie zaobserwowano obecności intensywnych i regularnie rozmieszczonych skupisk ParB w grzybni powietrznej [40]. Okazało się, że jeden z dwóch promotorów regulujących ekspresję operonu *parABp2*, podobnie jak promotor *ftsZp2*, podlega czasowej i przestrzennej regulacji i jest silnie indukowany podczas wzrostu grzybni powietrznej, tuż przed sporulacją. Do indukcji *parABp2* niezbędne są produkty genów *whi*, zwłaszcza *whiA* i *whiB*. Mutacja w obrębie tego promotora powodowała całkowity brak skupisk ParB-GFP w grzybni powietrznej, a co za tym idzie zaburzenia segregacji chromosomów do zarodników. Natomiast skupiska ParB-GFP w grzybni wegetatywnej tego mutantu wyglądały jak w typie dzikim. Tymczasem, delekcja konstytutywnego promotora *parABp1* chociaż nie wpływała na powstawanie kompleksów ParB w grzybni powietrznej, powodowała zanik skupisk białka ParB w grzybni wegetatywnej [40]. Podsumowując, powstające w grzybni powietrznej kompleksy nukleoproteinowe białka ParB są istotne dla prawidłowego rozmieszczenia i prawdopodobnie organizacji chromosomów wzdłuż dojrzewającej grzybni powietrznej i wszelkie mutacje powodujące zaburzenia powstawania tych kompleksów (mutacja w motywie HTH, delekcja promotora *parABp2* i oczywiście delekcja samego genu *parB*) powodują zaburzenia segregacji chromosomów.

Rola białka ParA w segregacji chromosomów w grzybni powietrznej

Zastosowanie immunofluorescencji umożliwiło lokalizację białka ParA w utrwalonej grzybni *S. coelicolor*. W bardzo młodych i krótkich strzępkach grzybni powietrznej można zaobserwować białko ParA umiejscowione na samym wierzchołku grzybni. Lokalizacja ParA na wierzchołku grzybni może sugerować oddziaływanie tego białka z DivIVA, ale nie potwierdzono jeszcze takich oddziaływań. Wraz ze wzrostem grzybni powietrznej białko ParA tworzy charakterystyczne filanty o kształcie podwójnej spirali rozciągające się wzdłuż strzępka [41]. Filament ParA towarzyszy powstającym wzdłuż grzybni regularnie rozmieszczonym kompleksom ParB, po czym wraz z dojrzewaniem grzybni filament ParA zanika, podczas gdy skupiska ParB wciąż są widoczne. Sugeruje to, że obecność ParA sprzyja powstaniu dużych nukleoproteinowych kompleksów ParB

w okolicy regionu *oriC*. Konstrukcja mutantu delecyjnego genu *parA* potwierdziła, że jest ono niezbędne do utworzenia w pełni funkcjonalnych kompleksów segregacyjnych ParB w grzybni powietrznej [41]. W szczepie z delekcją genu *parA* kompleksy ParB-GFP, były drobniejsze i wykazywały obniżoną intensywność fluorescencji (około 60% intensywności fluorescencji obserwowanej w szczepie dzikim). Stwierdzono także, że mutant delecyjny *parA* wykazuje bardzo duże zaburzenia segregacji chromosomów – liczba przedziałów zarodnikowych pozbawionych DNA (29%) była nawet wyższa niż w przypadku mutantu *parB* (około 17%). Zaobserwowano także nieregularne ułożenie przegród i obecność znacznego odsetka (16%) bardzo krótkich kompartmentów (0,7 μm – połowa długości prawidłowego przedziału) powstałych przez nieregularnie tworzące się przegrody. Sugeruje się, że filament ParA stanowi pewnego rodzaju rusztowanie wspomagające odpowiednie rozmieszczenie kompleksów ParB wzdłuż grzybni [41]. Wykazano także, że aktywność ATP-azowa ParA *H. coelicolor* ma znaczenie przy aktywnej i dynamicznej lokalizacji skupisk ParB. Konstrukcja szczepu, który wytwarzał ParA z mutacją w motywie Walker A wiążącym ATP (ParAK44E) pozwoliła na stwierdzenie, że aktywność ATP-azowa białka ParA jest niezbędna do segregacji chromosomów – mutant ParAK44E wykazywał takie same zaburzenia segregacji jak szczep z delekcją całego genu *parA*, tzn. brak DNA w zarodnikach i nierównomierne ułożenie przegród [41]. A zatem białko ParA może być elementem białkowego cytoszkieletu, który podobnie jak u *Eukaryota*, także w komórce bakteryjnej pełni istotną rolę podczas podziału komórki.

Punkt kontrolny segregacji chromosomów – tworzenie przegród komórkowych

U *Streptomyces* nie zidentyfikowano jeszcze systemu selekcyjnego miejsca powstawania przegród. Nie stwierdzono obecności systemu zwanego „nucleoid occlusion”, który u bakterii pałeczkowatych zapobiega powstawaniu przegrody w miejscu, gdzie znajduje się chromosom. U *Streptomyces* przegrody w grzybni powietrznej tworzą się wtedy, gdy chromosomy są jeszcze nieskondensowane i wydają się rozciągnięte wzdłuż grzybni powietrznej [20,24,64]. W chromosomie *Streptomyces* brakuje genów kodujących wszystkie elementy systemu Min (białka MinCDE) [3,24], który u bakterii pałeczkowatych kontroluje miejsce powstawania przegrody; białka MinC i MinD hamują tworzenie pierścienia FtsZ [1,59]. Z kolei białko MinE (u *E. coli* DivIVA) odpowiada za lokalizację MinCD na biegunach i usuwając je z centrum komórki umożliwia polimeryzację FtsZ w tym miejscu. Co prawda genom *S. coelicolor* zawiera kilka białek częściowo homologicznych do MinD, brakuje im jednak charakterystycznego motywu istotnego dla wiązania z błoną komórkową [24,34]. Przypuszcza się, że u *Streptomyces* białko ParA może odgrywać rolę punktu kontrolnego łączącego segregację chromosomów z tworzeniem przegród. Świadczą o tym wspomniane powyżej zaburzenia w mutancie *parA* dotyczące zarówno powstawania skupisk segregacyjnych białka ParB jak i nierównych kompartmentów zarodnikowych [41].

Kolejnym białkiem, które kontroluje proces segregacji chromosomu podczas powstawania przegród u *E. coli* jest

FtsK. Podczas sporulacji *B. subtilis* homolog FtsK (określany symbolem SpoIIIIE) jest zaangażowany w transport chromosomu przez położoną w pobliżu bieguna przegrodę do powstającej endospory. W mutantach *spoIIIIE* zdarza się utworzenie przegrody przecinającej chromosom, co wiąże się z powstaniem komórek zawierających niekompletny chromosom [1,82]. U *Streptomyces* homolog FtsK ulega ekspresji w grzybni powietrznej i umiejscawia się w obrębie nowo powstających przegród poprzecznych [80]. Wydaje się, że ma on znaczenie podczas kondensacji chromosomów w grzybni powietrznej, zapewniając upakowanie całego chromosomu w obrębie pojedynczego przedziału zarodnikowego.

Porównanie segregacji chromosomów u *Streptomyces* i bakterii pałeczkowatych

Segregacja chromosomów u bakterii pałeczkowatych przebiega jednocześnie z zachodzącą najczęściej w centrum komórki replikacją [1,49]. Wkrótce po powieleniu, nowo zreplikowane regiony *oriC* są zaangażowane w tworzenie kompleksów segregacyjnych z udziałem białka ParB i aktywnie przemieszczane z centrum komórki w stronę przeciwnych biegunów, gdzie ulegają kondensacji [54,79,81]. Przypuszcza się, że ParB pełni rolę w organizacji regionu *oriC* i jego zakotwiczeniu w pobliżu bieguna komórki. Tymczasem, u *Streptomyces* w wielogenomowej grzybni wegetatywnej replikacji chromosomów nie towarzyszy widoczna ich segregacja. Natomiast w grzybni powietrznej intensywny proces replikacji zostaje stopniowo wygaszony i rozpoczyna się synchroniczna segregacja i kondensacja kilkudziesięciu chromosomów do nowo powstających zarodników. Pomimo tych różnic białka ParAB *Streptomyces* wykazują dużą homologię do białek ParAB bakterii pałeczkowatych. Białko ParB *S. coelicolor* jest również homologiczne do plazmidowych ortologów *Streptomyces*. Na dużym (356 kbp), liniowym plazmidzie SCP1, naturalnie występującym u *S. coelicolor*, kodowane są dwa białka w około 30% homologiczne do chromosomalnego ParB.

Jak wykazała analiza mikroskopowa, są one w stanie – przynajmniej częściowo – zastąpić chromosomalne białko i znieść defekty segregacji w szczepie $\Delta parB$ [4]. Co ciekawe, plazmid SCP1 nie zawiera sekwencji *parS* przypominających te obecne na chromosomie. Natomiast charakterystyczną cechą chromosomu *Streptomyces* jest wyjątkowo duża liczba sekwencji *parS*, wiązanych przez białko ParB (22, a dla porównania: chromosom *B. subtilis* zawiera 8 *parS* a *C. crescentus* 5, patrz ryc. 3). Przypuszcza się, że precyzyjne ulokowanie dużego liniowego chromosomu w przedziale zarodnikowym wymaga utworzenia, z udziałem aż 22 sekwencji *parS*, rozległego nukleoproteinowego kompleksu. Ze względu na wymóg równomiernego rozmieszczenia chromosomów wzdłuż grzybni powietrznej ważną rolę przypisuje się białku ParA *Streptomyces*. Białko to u bakterii pałeczkowatych wykazuje dynamiczną lokalizację, przemieszczając się pomiędzy biegunami komórki prawdopodobnie po spiralnym torze [15,25,27], podczas gdy u *Streptomyces* tworzy wyjątkowo wydłużone filamenty (do 100 μm), wzdłuż grzybni powietrznej [41]. Prawdopodobnie, tak jak białka plazmidowe, ParA odpowiada za równomierne rozmieszczenie kompleksów ParB wzdłuż tworzonych filamentów [16,41]. Wciąż jednak, zarówno u *Streptomyces* jak i u bakterii pałeczkowatych, trwają poszukiwania innych białek zaangażowanych w proces segregacji, na przykład białek cytoskieletu, które mogłyby oddziaływać z ParA.

Podsumowując, należy podkreślić, że podstawowe różnice pomiędzy segregacją chromosomów u *Streptomyces* i bakterii pałeczkowatych wynikają ze złożonego cyklu życiowego *Streptomyces*. Najbardziej charakterystyczną cechą segregacji i podziałów komórkowych u *Streptomyces* jest „tankowa” swoistość obu procesów, a zatem brak segregacji nieskondensowanych chromosomów w wielogenomowych przedziałach grzybni wegetatywnej, a także charakterystyczna wyłącznie dla grzybni powietrznej synchroniczna segregacja kilkudziesięciu chromosomów i powstawanie przegród wzdłuż całej strzępki.

PIŚMIENICTWO

- [1] Bartosik A.A., Jagura-Burdzy G.: Bacterial chromosome segregation. *Acta Biochim. Pol.*, 2005; 52: 1–34
- [2] Bartosik A.A., Lasocki K., Mierzejewska J., Thomas C.M., Jagura-Burdzy G.: ParB of *Pseudomonas aeruginosa*: interactions with its partner ParA and its target *parS* and specific effects on bacterial growth. *J. Bacteriol.*, 2004; 186: 6983–6998
- [3] Bentley S.D., Chater K.F., Cerdeno-Tarraga A.M., Challis G.L., Thomson N.R., James K.D., Harris D.E., Quail M.A., Kieser H., Harper D., Bateman A., Brown S., Chandra G., Chen C.W., Collins M., Cronin A., Fraser A., Goble A., Hidalgo J., Hornsby T., Howarth S., Huang C.H., Kieser T., Larke L., Murphy L., Oliver K., O’Neil S., Rabinowitsch E., Rajandream M.A., Rutherford K., Rutter S., Seeger K., Saunders D., Sharp S., Squares R., Squares S., Taylor K., Warren T., Wietzorrek A., Woodward J., Barrell B.G., Parkhill J., Hopwood D.A.: Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 2002; 417: 141–147
- [4] Bentley S.D., Brown S., Murphy L.D., Harris D.E., Quail M.A., Parkhill J., Barrell B.G., McCormick J.R., Santamaria R.I., Losick R., Yamasaki M., Kinashi H., Chen C.W., Chandra G., Jakimowicz D., Kieser H.M., Kieser T., Chater K.F.: SCP1, a 356,023 bp linear plasmid adapted to the ecology and developmental biology of its host, *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol. Microbiol.*, 2004; 51: 1615–1628
- [5] Bignell C., Thomas C.M.: The bacterial ParA-ParB partitioning proteins. *J. Biotechnol.*, 2001; 91: 1–34
- [6] Challis G.L., Hopwood D.A.: Synergy and contingency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces species*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2003; 100: 14555–14561
- [7] Chater K.F.: A morphological and genetic mapping study of white colony mutants of *Streptomyces coelicolor*. *J. Gen. Microbiol.*, 1972; 72: 9–28
- [8] Chater K.F.: Taking a genetic scalpel to the *Streptomyces* colony. *Microbiology*, 1998; 144: 1465–1478
- [9] Chater K.F.: Regulation of sporulation in *Streptomyces coelicolor* A3(2): a checkpoint multiplex? *Curr. Opin. Microbiol.*, 2001; 4: 667–673
- [10] Chater K.F. *Streptomyces* inside out: a new perspective on the bacteria that provide us with antibiotics. *Philos. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci.*, 2006; 361: 761–768
- [11] Chater K.F., Horinouchi S.: Signalling early developmental events in two highly diverged *Streptomyces species*. *Mol. Microbiol.*, 2003; 48: 9–15
- [12] Chater K.F., Losick R.: Mycelial life style of *Streptomyces coelicolor* A3(2) and its relatives. *Bacteria as Multicellular Organisms* (Shapiro JA & Dworkin M, eds.), Oxford University Press, New York, 1997; 149–182
- [13] Claessen D., de Jong W., Dijkhuizen L., Wosten H.A.: Regulation of *Streptomyces* development: reach for the sky! *Trends Microbiol.*, 2006; 14: 313–319

- [14] Daniel R.A., Errington J.: Control of cell morphogenesis in bacteria: two distinct ways to make a rod-shaped cell. *Cell*, 2003; 113: 767–776
- [15] Ebersbach G., Gerdes K.: Bacterial mitosis: partitioning protein ParA oscillates in spiral-shaped structures and positions plasmids at mid-cell. *Mol. Microbiol.*, 2004; 52: 385–398
- [16] Ebersbach G., Ringgaard S., Moller-Jensen J., Wang Q., Sherratt D.J., Gerdes K.: Regular cellular distribution of plasmids by oscillating and filament-forming ParA ATPase of plasmid pB171. *Mol. Microbiol.*, 2006; 61: 1428–1442
- [17] Elliot M.A., Bibb M.J., Buttner M.J., Leskiw B.K.: BldD is a direct regulator of key developmental genes in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol. Microbiol.*, 2001; 40: 257–269
- [18] Elliot M.A., Talbot N.J.: Building filaments in the air: aerial morphogenesis in bacteria and fungi. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2004; 7: 594–601
- [19] Figge R.M., Easter J. Gober, J.W.: Productive interaction between the chromosome partitioning proteins, ParA and ParB, is required for the progression of the cell cycle in *Caulobacter crescentus*. *Mol. Microbiol.*, 2003; 47: 1225–1237
- [20] Flardh K.: Growth polarity and cell division in *Streptomyces*. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2003; 6: 564–571
- [21] Flardh K.: Essential role of DivIVA in polar growth and morphogenesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol. Microbiol.*, 2003; 49: 1523–1536
- [22] Flardh K., Findlay K.C., Chater K.F.: Association of early sporulation genes with suggested developmental decision points in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Microbiology*, 1999; 145: 2229–2243
- [23] Flardh K., Leibovitz E., Buttner M.J., Chater K.F.: Generation of a non-sporulating strain of *Streptomyces coelicolor* A3(2) by the manipulation of a developmentally controlled *ftsZ* promoter. *Mol. Microbiol.*, 2000; 38: 737–749
- [24] Flårdh K., van Wezel G.P.: Cell division during growth and development of *Streptomyces*. In *Recent Developments in Bacteriology*, 2003; Pandalai, S.G. (ed.). Trivandrum: Transworld Research Network
- [25] Fogel M.A., Waldor M.K.: A dynamic, mitotic-like mechanism for bacterial chromosome segregation. *Genes Dev.*, 2006; 20: 3269–3282
- [26] Gerdes K., Moller-Jensen J., Bugge Jensen R. Plasmid and chromosome partitioning: surprises from phylogeny. *Mol. Microbiol.*, 2000; 37: 455–466
- [27] Glaser P., Sharpe M.E., Raether B., Perego M., Ohlsen K., Errington J.: Dynamic, mitotic-like behavior of a bacterial protein required for accurate chromosome partitioning. *Genes Dev.*, 1997; 11:1160–1168
- [28] Grantcharova N., Lustig U. Flardh K.: Dynamics of FtsZ assembly during sporulation in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J. Bacteriol.*, 2005; 187: 3227–3237
- [29] Grantcharova N., Ubhayasekera W., Mowbray S.L., McCormick J.R., Flardh K.: A missense mutation in *ftsZ* differentially affects vegetative and developmentally controlled cell division in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol. Microbiol.*, 2003; 47: 645–656
- [30] Hayes F., Barilla D.: Assembling the bacterial segrosome. *Trends Biochem. Sci.*, 2006; 31: 247–250
- [31] Hopwood D.: Genetic analysis and genome structure in *Streptomyces coelicolor*. *Bacteriol. Rev.*, 1967; 31: 373–403
- [32] Hopwood D.A.: Soil to genomics: the *Streptomyces* chromosome. *Annu. Rev. Genet.*, 2006; 40: 1–23
- [33] Hopwood D.A., Chater K.F., Bibb M.J.: Genetics of antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* A3(2), a model streptomycete. *Biotechnology*, 1995; 28: 65–102
- [34] Hu Z., Lutkenhaus J.: A conserved sequence at the C-terminus of MinD is required for binding to the membrane and targeting MinC to the septum. *Mol. Microbiol.*, 2003; 47: 345–355
- [35] Ikeda H., Ishikawa J., Hanamoto A., Shinose M., Kikuchi H., Shiba T., Sakaki Y., Hattori M. Omura S.: Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial micro-organism *Streptomyces avermitilis*. *Nat. Biotechnol.*, 2003; 21: 526–531
- [36] Ireton K., Gunther N.W. IV, Grossman A.D.: *spo0J* is required for normal chromosome segregation as well as the initiation of sporulation in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, 1994; 176: 5320–5329
- [37] Jakimowicz D., Brzostek A., Rumijowska-Galewicz A., Żydek P., Dołzbłasz A., Smulczyk-Krawczyńska A., Zimniak T., Wojtasz L., Zawilak-Pawlik A., Kois A., Dziadek J., Zakrzewska-Czerwińska J. Characterization of the mycobacterial chromosome segregation protein, ParB and identification of its target in *M. smegmatis*. *Microbiology*, 2007, w druku
- [38] Jakimowicz D., Chater K., Zakrzewska-Czerwińska J.: The ParB protein of *Streptomyces coelicolor* A3(2) recognizes a cluster of *parS* sequences within the origin-proximal region of the linear chromosome. *Mol. Microbiol.*, 2002; 45: 1365–1377
- [39] Jakimowicz D., Gust B., Zakrzewska-Czerwińska J., Chater K.F.: Developmental-stage-specific assembly of ParB complexes in *Streptomyces coelicolor* hyphae. *J. Bacteriol.*, 2005; 187: 3572–3580
- [40] Jakimowicz D., Mouz S., Zakrzewska-Czerwińska J., Chater K.F.: Developmental control of a *parAB* promoter leads to formation of sporulation-associated ParB complexes in *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.*, 2006; 188: 1710–1720
- [41] Jakimowicz D., Zydek P., Kois A., Zakrzewska-Czerwińska J., Chater K.F.: Alignment of multiple chromosomes along helical ParA scaffolding in sporulating *Streptomyces hyphae*. *Mol. Microbiol.*, 2007; 65: 625–641
- [42] Kelemen G.H., Brown G.L., Kormanec J., Potuckova L., Chater K.F., Buttner M.J.: The positions of the sigma-factor genes, *whiG* and *sigF*, in the hierarchy controlling the development of spore chains in the aerial hyphae of *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol. Microbiol.*, 1996; 21: 593–603
- [43] Kelemen G.H., Buttner M.J.: Initiation of aerial mycelium formation in *Streptomyces*. *Curr. Opin. Microbiol.*, 1998; 1: 656–662
- [44] Kieser T., Bibb M.J., Buttner M.J., Chater K.F., Hopwood D.A.: *Practical Streptomyces Genetics*, 2000. Norwich: The John Innes Foundation
- [45] Kim H.J., Calcutt M.J., Schmidt F.J., Chater K.F.: Partitioning of the linear chromosome during sporulation of *Streptomyces coelicolor* A3(2) involves an *oriC*-linked *parAB* locus. *J. Bacteriol.*, 2000; 182: 1313–1320
- [46] Lasocki K., Bartosik A.A., Mierzejewska J., Thomas C.M., Jagura-Burdzy G.: Deletion of the *parA* (*soj*) homologue in *Pseudomonas aeruginosa* causes ParB instability and affects growth rate, chromosome segregation, and motility. *J. Bacteriol.*, 2007; 189: 5762–5772
- [47] Lee P.S., Grossman A.D.: The chromosome partitioning proteins Soj (ParA) and Spo0J (ParB) contribute to accurate chromosome partitioning, separation of replicated sister origins, and regulation of replication initiation in *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.*, 2006; 60: 853–869
- [48] Lee P.S., Lin D.C., Moriya S., Grossman A.D.: Effects of the chromosome partitioning protein Spo0J (ParB) on *oriC* positioning and replication initiation in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, 2003; 185: 1326–1337
- [49] Lemon K.P., Grossman A.D.: Movement of replicating DNA through a stationary replisome. *Mol. Cell.*, 2000; 6: 1321–1330
- [50] Leonard T.A., Butler P.J., Lowe J.: Structural analysis of the chromosome segregation protein Spo0J from *Thermus thermophilus*. *Mol. Microbiol.*, 2004; 53: 419–432
- [51] Leonard T.A., Butler P.J., Lowe J.: Bacterial chromosome segregation: structure and DNA binding of the Soj dimer – a conserved biological switch. *EMBO J.*, 2005; 24: 270–282
- [52] Leonard T.A., Moller-Jensen J., Lowe J.: Towards understanding the molecular basis of bacterial DNA segregation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 2005; 360: 523–535
- [53] Leskiw B.K., Lawlor E.J., Fernandez-Abalos J.M., Chater K.F.: TTA codons in some genes prevent their expression in a class of developmental, antibioticnegative, *Streptomyces* mutants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88: 2461–2465
- [54] Lewis P.J., Errington J.: Direct evidence for active segregation of *oriC* regions of the *Bacillus subtilis* chromosome and co-localization with the Spo0J partitioning protein. *Mol. Microbiol.*, 1997; 25: 945–954
- [55] Lewis R.A., Bignell C.R., Zeng W., Jones A.C., Thomas C.M.: Chromosome loss from par mutants of *Pseudomonas putida* depends on growth medium and phase of growth. *Microbiology*, 2002; 148: 537–548
- [56] Lin D.C., Grossman A.D.: Identification and characterization of a bacterial chromosome partitioning site. *Cell*, 1998; 92: 675–685
- [57] Lin D.C., Levin P.A., Grossman A.D.: Bipolar localization of a chromosome partition protein in *Bacillus subtilis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 4721–4726
- [58] Lowe J., van den Ent F., Amos L.A.: Molecules of the bacterial cytoskeleton. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 2004; 33: 177–198
- [59] Margolin W.: Spatial regulation of cytokinesis in bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2001; 4: 647–652
- [60] Margolin W.: FtsZ and the division of prokaryotic cells and organelles. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2005; 6: 862–871

- [61] Marston A.L., Errington J.: Dynamic movement of the ParA-like Soj protein of *B. subtilis* and its dual role in nucleoid organization and developmental regulation. *Mol. Cell.*, 1999; 4: 673–682
- [62] McCormick J.R., Su E.P., Driks A., Losick R.: Growth and viability of *Streptomyces coelicolor* mutant for the cell division gene *ftsZ*. *Mol. Microbiol.*, 1994; 14: 243–254
- [63] Michie K.A., Lowe J.: Dynamic filaments of the bacterial cytoskeleton. *Annu. Rev. Biochem.*, 2006; 75: 467–492
- [64] Miguez E.M., Rueda B., Hardisson C., Manzanal M.B.: Nucleoid partitioning and the later stages of sporulation septum synthesis are closely associated events in the sporulating hyphae of *Streptomyces carpinensis*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1998; 159: 59–62
- [65] Mohl D.A., Easter J. Jr, Gober, J.W.: The chromosome partitioning protein, ParB, is required for cytokinesis in *Caulobacter crescentus*. *Mol. Microbiol.*, 2001; 42: 741–755
- [66] Mohl D.A., Gober J.W.: Cell cycle-dependent polar localization of chromosome partitioning proteins in *Caulobacter crescentus*. *Cell*, 1997; 88: 675–684
- [67] Nodwell J.R., Losick R.: Purification of an extracellular signaling molecule involved in production of aerial mycelium by *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.*, 1998; 180: 1334–1337
- [68] Noens E.E., Mersinias V., Traag B.A., Smith C.P., Koerten H.K., van Wezel G.P.: SsgA-like proteins determine the fate of peptidoglycan during sporulation of *Streptomyces coelicolor*. *Mol. Microbiol.*, 2005; 58: 929–944
- [69] Ogura Y., Ogasawara N., Harry E.J., Moriya S.: Increasing the ratio of Soj to Spo0J promotes replication initiation in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, 2003; 185: 6316–6324
- [70] Prosser J.I., Tough A.J.: Growth mechanics and growth kinetics of filamentous microorganisms. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 1991; 10: 253–274
- [71] Rodionov O., Lobočka M., Yarmolinsky M.: Silencing of genes flanking the P1 plasmid centromere. *Science*, 1999; 283: 546–549
- [72] Ruban-Osmialowska B., Jakimowicz D., Smulczyk-Krawczyszyn A., Chater K.F., Zakrzewska-Czerwinska J.: Replisome localization in vegetative and aerial hyphae of *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.*, 2006; 188: 7311–7316
- [73] Schrepf H.: The Family *Streptomycetaceae*, Part II: Molecular Biology in Prokaryotes, 3 2006; Chapter 1.1.8: 605–622
- [74] Schwedock J., McCormick J.R., Angert E.R., Nodwell J.R., Losick R.: Assembly of the cell division protein FtsZ into ladder-like structures in the aerial hyphae of *Streptomyces coelicolor*. *Mol. Microbiol.*, 1997; 25: 847–858
- [75] Sonenshein A.L.: Endospore-forming bacteria: an overview. *Prokaryotic Development 2000*. ASM Press: 133–150
- [76] Strunnikov A.V.: SMC complexes in bacterial chromosome condensation and segregation. *Plasmid*, 2006; 55: 135–144
- [77] van Wezel G.P., van der Meulen J., Kawamoto S., Luiten R.G., Koerten H.K., Kraal B.: *ssgA* is essential for sporulation of *Streptomyces coelicolor* A3(2) and affects hyphal development by stimulating septum formation. *J. Bacteriol.*, 2000; 182: 5653–5662
- [78] van Wezel G.P., Vijgenboom E.: Novel aspects of signaling in *Streptomyces* development. *Adv. Appl. Microbiol.*, 2004; 56: 65–88
- [79] Viollier P.H., Thanbichler M., McGrath P.T., West L., Meewan M., McAdams H.H., Shapiro L.: Rapid and sequential movement of individual chromosomal loci to specific subcellular locations during bacterial DNA replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 9257–9262
- [80] Wang L., Yu Y., He X., Zhou X., Deng Z., Chater K.F., Tao M.: Role of an FtsK-like protein in genetic stability in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J. Bacteriol.*, 2007; 189: 2310–2318
- [81] Webb C.D., Teleman A., Gordon S., Straight A., Belmont A., Lin D.C., Grossman A.D., Wright A., Losick R.: Bipolar localization of the replication origin regions of chromosomes in vegetative and sporulating cells of *B. subtilis*. *Cell*, 1997; 88: 667–674
- [82] Weiss D.S.: Bacterial cell division and the septal ring. *Mol. Microbiol.* 2004; 54: 588–597
- [83] Wildermuth H., Hopwood D.A.: Septation during sporulation in *I. J. Gen. Microbiol.*, 1970; 60: 51–59
- [84] Willey J., Schwedock J., Losick R.: Multiple extracellular signals govern the production of a morphogenetic protein involved in aerial mycelium formation by *Streptomyces coelicolor*. *Genes Dev.*, 1993; 7: 895–903
- [85] Yang M.C., Losick R.: Cytological evidence for association of the ends of the linear chromosome in *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.*, 2001; 183: 5180–5186