JOURNAL OF BACTERIOLOGY, Nov. 2011, p. 6402–6403 Vol. 193, No. 22

0021-9193/11/$12.00 doi:10.1128/JB.06001-11

Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Sekvence genomu orálního probiotika *Streptococcus salivarius,* kmen M18, produkujícího bakteriocin

# Nicholas C. K. Heng,1\* Nurul S. Haji-Ishak,1 Alaina Kalyan,1 Andrew Y. C. Wong,1 Marija Lovri´c,1 Joanna M. Bridson,1 Julia Artamonova,1 Jo-Ann L. Stanton,2 Philip A. Wescombe,3

Jeremy P. Burton,3 Mary P. Cullinan,1 and John R. Tagg3,4

*Sir John Walsh, Výzkumný institut, Fakulta zubního lékařství,*1 *a Katedra anatomie,*2 *Univerzita Otago, Dunedin, Nový Zéland; BLIS Technologies Ltd., Centrum pro inovace, Dunedin, Nový Zéland* 3*; a Katedra mikrobiologie a imunologie*

*University Otago, Dunedin, Nový Zéland*4

Obdrženo 12. srpna 2011/akceptováno 12. září 2011

Downloaded from <http://jb.asm.org/>on May 4, 2015 by UNIV OF SYDNEY

***Streptococcus salivarius* je grampozitivní bakteriální komensální a průkopnický kolonizátor dutiny ústní u člověka. Mnoho kmenů produkuje ribozomálně syntetizovaná bílkovinná antibiotika (bakteriociny) a některé kmeny byly vyvinuty pro užívání v podobě orálních probiotik. Zde prezentujeme návrh sekvence genomu orálního probiotika produkujícího bakteriocin - *S. salivarius,* kmene M18.**

Grampozitivní bakterie *Streptococcus salivarius* je průkopnickým kolonizátorem dutiny ústní u člověka a rozsáhlé populace přetrvávají na tomto místě po celý život hostitele (12). *S. salivarius* je prototypový druh skupiny *S. salivarius*, která zahrnuje důležité mléčné druhy *Streptococcus thermophilus* (6). Mnoho kmenů *S. salivarius* produkuje ribozomálně syntetizovaná bílkovinná antibiotika (bakteriociny; recenzováno v odkazu 14), typicky kódovaná na nositeli megaplasmidu (10). Protože *S. salivarius* je obecně spojována s dobrým zdravotním stavem ústní dutiny, byly některé ověřené bezpečné bakteriocinogenické kmeny vyvinuty jako orální probiotika (2–4, 8, 12).

*S. salivarius* M18 (dříve kmen Mia) je orální probiotikum, nesoucí megaplasmid, které vykazuje širokospektrální inhibitorní aktivitu proti některým streptokokálním patogenům, zejména *Streptococcus mutans* (10), který způsobuje kazivost zubů. Aby byla zajištěna genetická báze pro faktory vylepšující jeho probiotickou kandidaturu, např. repertoár bakteriocinu a geny vztahující se ke kolonizaci, a aby se dalo stanovit, zda kmen je bez virulence a determinantů resistence vůči antibiotikům, byl genom *S. salivarius* M18 sekvenován pomocí strategie brokovnice s celým genomem [Whole-Genom Shotgun] za použití pyrosekventoru Roche GS-FLX (7). Asembler Roche GS *de novo* (verse 1.1.03.24 a 2.3) sestavil přibližně 42.9 miliónu párů bází (~18-foldové krytí) do ~150 kontigů. Všechny domnělé chromosomální kontigy byly seřazeny relativně k sekvenci genomu *S. salivarius* CCHSS3 bez megaplasmidu (přístupové číslo u GenBank FR873481). Vyplnění mezery bylo dosaženo přímým sekvenováním na bázi Sangerovy metody PCR amplikonů generovaných se specifickými primery určenými pro kontig termini.

Vysoce kvalitní koncepce sekvence chromozomu *S. salivarius* M18 je v současné době tvořena pěti superkontigy (2,142,944 bp; obsah GC 39.6%). Zbývající genomické mezery obsahují násobné kopie velkých ( >6 - kb ) genů kódujících domnělé vysoce repetitivní proteiny bohaté na serin a homologní se

\* Dopisující autor. Poštovní adresa: Department of Oral Sciences, Faculty of Dentistry, University of Otago, P.O. Box 647, Dunedin 9054, New Zealand. Tel.: 64 3 479-9254. Fax: 64 3 479-7078. E-mail: nicholas.heng@otago.ac.nz.

Hsa adhezinem *Streptococcus gordonii* (9). Ty výrazně absentují v *S. thermophilus* a mohou pomoci *S. salivarius* při kolonizaci povrchů ústní dutiny. Automatická anotace provedená rychlými anotacemi při použití technologie subsystémů (RAST) (1) a serverů Vedení automatické anotace prokaryotického genomu NCBI [Prokaryotic Genomes Automatic Annotation Pipeline] (PGAAP) odhalily 1,975 sekvencí kódujících protein (CDSs), šest rRNA operonů a 68 tRNA genů. Byla identifikována celá řada sekvencí inzercí s tím, že nejobvyklejší byly IS*Sag8* a IS*1193*. Kromě toho obsahuje chromosom locus (*slm*) specifikující produkci nového anti-*S. mutans* lantibiotického bakteriocinu označeného salivaricin M. Megaplasmid bakterie *S. salivarius* M18, pSsal-M18, je dlouhý 183,037 bp (obsah of 34.8%) a je prvním kompletně sekvenovaným streptokokálním megaplasmidem. Z 172 CDSs anotovaných prostřednictvím PGAAP jich16 patří ke známým loci kódujícím bakteriocin pro salivariciny A2 (11), 9 (13) a MPS (5, 14). Je zajímavé, že existuje oblast několika otevřených čtecích rámců (ORF) (lemovaných sekvencemi inzercí), které jsou téměř identické s chromozomálními geny nalezenými v kmenech CCHSS3 and 57.I bakterie *S. salivarius* (přístupové číslo v GenBank CP002888) a které indikují genovou výměnu mezi chromozomem a megaplasmidem. Sekvence genomu bakterie *S. salivarius* M18 nebude užitečná jen pro komparativní genomiku, nýbrž je podstatná také pro rozvoj funkční genomické platformy, která usnadní molekulární evoluci a ekologická studia.

**Přístupová čísla sekvence nukleotidů.** Tento projekt „Whole-Genom Shotgun“ je uložen v DDBJ/EMBL/ GenBank pod přístupovým číslem AGBV00000000. Verze popsaná v tomto pojednání je první verzí, AGBV01000000.

Projekt sekvenování genomu M18 byl financován částečně z grantů Nadace pro lékařský výzkum Otago [Otago Medical Research Foundation - OMRF], Výzkumné nadace Asociace zubních lékařů Nového Zélandu [New Zealand Dental Association Research Foundation], a Rady pro loterijní granty Nového Zélandu [New Zealand Lottery Grants Board]. N.S.H.-I., A.K., A.Y.C.W., M.L., a J.M.B. byli příjemci na Univerzitě Otago, Letní stipendium pro výzkum Fakulty zubního lékařství. J.A. byl badatelem Letního výzkumu OMRF.

**REFERENCE**

1. **Aziz, R. K., a kol.** 2008. Server RAST: rychlé anotace používající technologii subsystémů. BMC Genomics **9:**75.
2. **Burton, J. P. a kol.** 2011. Posouzení bezpečnosti a tolerance orálního probiotika

VOL. 193, 2011 GENOME ANNOUNCEMENTS 6403

*Streptococcus salivarius* K12 u lidí: randomizovaná dvojitě zaslepená studie kontrolovaná placebem. Food Chem. Toxicol. **49:**2356–2364.

1. **Burton, J. P., a kol.** 2010. Rozšířená bezpečnostní data pro ústní probiotikum *Streptococcus salivarius* K12. Probiotics Antimicrob. Prot. **2:**135–144.
2. **Burton, J. P., a kol.** 2006. Posudek na bezpečnost ústního probiotika *Streptococcus salivarius* K12. Appl. Environ. Microbiol. **72:**3050–3053.
3. **Dodd, S. J.** 1999. Model slin k demonstraci produkce *Streptococcus salivarius* BLIS a charakterizaci salivaricinu MPS. Rigorózní práce. Uni versity of Otago, Dunedin, New Zealand.
4. **Facklam, R.** 2002. Co se stalo se streptokoky: přehled taxonomických a nomenklaturních změn. Clin. Microbiol. Rev. **15:**613–630.
5. **Heng, N. C. K., a J.-A. L. Stanton.** 2010. Sekvenování orálního bakteriálního genomu s použitím vysokokapacitního sekventoru genomu Roche, systém FLX. Methods Mol. Biol. **666:**197–218.
6. **Tagg, J. R., a K. P. Dierksen.** 2003. Léčba náhradou bakterií: adaptace ‘bakteriologické války’ na prevenci infekce. Trends Biotechnol. **21:**217–223.
7. **Takahashi, Y., a kol.** 2002. Identifikace a charakterizace of *hsa,* genu

kódujícího adhesin *Streptococcus gordonii* DL1, který váže kyselinu saliovou. Infect. Immun. **70:**1209–1218.

1. **Wescombe, P. A., a kol.** 2006. Megaplasmidy kódují rozlišující kombinace lantibiotik v bakterii *Streptococcus salivarius*. Antonie Van Leeuwenhoek **90:**269– 280.
2. **Wescombe, P. A., a kol.** 2006. Produkce lantibiotického salivaricinu A a jeho variant orálními streptokoky a použití specifického testu indukce ke zjištění jejich přítomnosti v lidských slinách. Appl. Environ. Microbiol. **72:**1459–1466.
3. **Wescombe, P. A., a kol.** 2009. Streptokokální bakteriociny a případ pro *Streptococcus salivarius* jako model orálním probiotik. Future Microbiol. **4:**819– 835.
4. **Wescombe, P. A., a kol.** 2011. Salivaricin 9, nové lantibiotikum produkované bakterií

*Streptococcus salivarius*. Microbiology **157:**1290–1299.

1. **Wescombe, P. A., N. C. K. Heng, J. P. Burton a J. R. Tagg.** 2010. Něco starého a něco nového: aktualizace ohromujícího repertoáru bakteriocinu produkovaného bakterií *Streptococcus salivarius*. Probiotics Antimicrob. Prot. **2:**37–45.

Downloaded from <http://jb.asm.org/>on May 4, 2015 by UNIV OF SYDNEY