

Φαινοτυπικός και μοριακός θόρυβος μεμονωμένων βακτηριακών κυττάρων

Ασπρίδου Ζ.¹, Φωτιάδης, Χ.², Ταμπακάκη, Α.^b, Κουτσουμανής Κ.¹

¹ Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Υγιεινής Τροφίμων, Σχολή Γεωπονίας, Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

² Εργαστήριο Γενικής και Γεωργικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

Η μελέτη της συμπεριφοράς των βακτηριακών κυττάρων πραγματοποιείται σε δύο επίπεδα, σε αυτό της 'κοινωνίας' των κυττάρων και σε αυτό των μεμονωμένων κυττάρων. Τα μεμονωμένα κύτταρα ενός γενετικά όμοιου πληθυσμού χαρακτηρίζονται από φαινοτυπική ετερογένεια και πιθανώς αυτή είναι η βάση συνύπαρξης και επιβίωσής τους σε πιο σύνθετα επίπεδα οργάνωσης, όπως τα βιοϋμένια. Με την ανάπτυξη σύγχρονων τεχνικών μελέτης στο κυτταρικό επίπεδο και την απεικονιστική δύναμη φθορίζουσών πρωτεϊνών είναι πλέον δυνατή η μελέτη της ατομικής συμπεριφοράς και γονιδιακής έκφρασης των μεμονωμένων κυττάρων. Η ετερογένεια των μεμονωμένων κυττάρων εκδηλώνεται σε διάφορα χαρακτηριστικά της συμπεριφοράς τους, όπως η ανάπτυξη, ο χρόνος διαίρεσής τους καθώς και η ανθεκτικότητα στις καταπονήσεις και ο χρόνος θανάτου. Πίσω από αυτή την παραλλακτικότητα βρίσκεται η στοχαστικότητα της γονιδιακής έκφρασης καθώς και οι μοριακοί μηχανισμοί που καθορίζουν τις μικροβιακές αποκρίσεις. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν μικροσκοπικά η συμπεριφορά ανάπτυξης και αδρανοποίησης μεμονωμένων κυττάρων του τροφογενούς παθογόνου *Salmonella* που έφεραν πλασμιδιακές κατασκευές με μεταφραστικές συντήξεις φθορίζουσας πρωτεΐνης με γονίδια που εμπλέκονται στο σχηματισμό βιοϋμενίων. Η οπτικοποίηση και ποσοτική εκτίμηση της γονιδιακής έκφρασης καθώς και η συσχέτιση της παρατηρούμενης φαινοτυπικής παραλλακτικότητας με τη μοριακή της προέλευση είναι μία επίπονη διαδικασία η οποία κάθε φορά εξαρτάται από το υπό μελέτη σύστημα καθώς και άλλους παράγοντες. Στη διαδικασία αυτή διάφορα ζητήματα ανακύπτουν που αφορούν, μεταξύ άλλων, είτε στην επιλογή πλασμιδιακού φορέα με ορισμένο αριθμό αντιγράφων, είτε στον παρατηρούμενο φθορισμό και στον υποκυτταρικό εντοπισμό του ενώ για την αντιμετώπισή τους υιοθετούνται ποικίλες προσεγγίσεις.

Ευχαριστίες: Η εργασία χρηματοδοτήθηκε από την πράξη Θαλής: «Βιολογική ολιστική προσέγγιση της δΥναμικής Μορφής Επιβίωσης παθογόνων βακτηριακών σχηματισμών - ΒΙΟΥΜΕΝΙΑ», υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος "Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση" (ΕΠΕΔΒΜ) και συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ)."

Phenotypic and molecular noise of individual bacterial cells

Aspridou Z.¹, Fotiadis, C.², Tampakaki, A.², Koutsoumanis, K.¹

¹ *Laboratory of Food Microbiology and Hygiene, School of Agriculture, Forestry and Natural Environment, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece*

² *Laboratory of General and Agricultural Microbiology, Department of Crop Science, Agricultural University of Athens, Athens, Greece*

The study of bacterial cell behavior is conducted both at the ‘community’ and the single cell level. Individual cells of a genetically identical population are characterized by phenotypic heterogeneity and this could be the basis of their coexistence and survival in more complex systems, such as biofilms. The development of modern studying techniques at the single cell level and the imaging power of genetically encoded fluorescence proteins enable the study of individual cell behavior and gene expression. The heterogeneity of single cells is manifested at several behavioral traits, such as cell growth, division time as well as stress tolerance and time of inactivation. Stochasticity of gene expression and the molecular mechanisms defining microbial responses underlie the observed variability. In the present work, the growth and inactivation behavior of individual cells of the foodborne pathogen *Salmonella* was microscopically studied through the development of a series of plasmid constructs with translational fusions of the gene encoding Yellow Fluorescent Protein and various biofilm-related genes. The imaging and quantitative assessment of gene expression as well as the correlation between the observed phenotypic variability and the molecular origin is a laborious process depending on the system studied and other parameters. Various issues arise concerning, among others, the choice of plasmid vector with a certain plasmid copy number as well as the observed fluorescence and its subcellular localization. To address these issues, different approaches need to be adopted.

Acknowledgments: This work was funded by the action THALIS: “*Biological Investigation Of the Forces that Influence the Life of pathogens having as Mission to Survive in various Lifestyles; BIOFILMS*”, falls under the Operational Programme (OP) "Education and Lifelong Learning (EdLL)" and is co-financed by the European Social Fund (ESF) and National Resources