

Inzerčné sekvencie v baktériach z rodu *Acetobacter* a v iných potravinársky významných baktériach

JOZEF GRONES - MARIÁN MAČOR

SÚHRN. Doterajšie poznatky ukázali, že inzerčné sekvencie sa vyskytujú aj v baktériach, ktoré sa využívajú v biotechnológiach a v potravinárstve. V predkladanej publikácii sa zaoberáme inzerčnými sekvenciami prítomnými v bunkách baktérií rodov *Acetobacter*, *Lactobacillus* a *Lactococcus*.

Kľúčové slová: *Acetobacter*; inzerčné sekvencie; *Lactobacillus*; *Lactococcus*; rodiny inzerčných sekvencií

Inzerčné sekvencie (IS) identifikované a opísané v potravinársky významných kmeňoch rodov *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Acetobacter* a v ďalších, môžeme zaradiť do základných rodín IS3, IS4, IS5, IS6 a ich podskupín. Baktérie z rodov *Lactobacillus* zaraďujeme prevažne do rodiny IS3, *Lactococcus* do IS6 a známe inzerčné sekvencie v baktériach z rodu *Acetobacter* zaraďujeme prevažne do rodiny IS5. V nasledujúcej časti opíšeme základné strategické rozdiely medzi jednotlivými rodinami a ukážeme princípy, na ktorých fungujú inzerčné sekvencie jednotlivých rodín a vzájomné rozdiely medzi nimi. Predložený článok nadväzuje na teoretický článok o inzerčných sekvenciách publikovaný v predchádzajúcom čísle tohto časopisu, kde sú definované základné pojmy, s ktorými v tejto stati operujeme ako so známymi veličinami.

Rodiny inzerčných sekvencií

Najnovšie počítačové databázy obsahujú viac ako 500 inzerčných sekvencií izolovaných z viac ako 70 bakteriálnych rodov zastúpených temer

Doc. RNDr. Jozef GRONES, CSc., RNDr. Marián MAČOR, CSc., Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská dolina B-2, 842 15 Bratislava. E-mail: grones@fns.uniba.sk

160 bakteriálnymi druhmi. Bakteriálne inzerčné sekvencie sa rozdeľujú do niekoľkých rodín na základe nasledovných kritérií:

- podobnosť v genetickej organizácii inzerčných sekvencií (tvorba otvorených čítacích rámcov),
- podobnosť v stavbe a štruktúre transpozázy (dôraz sa kladie na doménovú štruktúru proteínu),
- podobné zloženie koncového poradia nukleotidov,
- poradie nukleotidov cieľového miesta.

Takáto schéma klasifikácie nie je konečná, ale zdá sa, že by mohla byť základom pre vytvorenie budúcej nomenklatúry pri lepšom poznaní terajších, ako aj nových členov jednotlivých rodín.

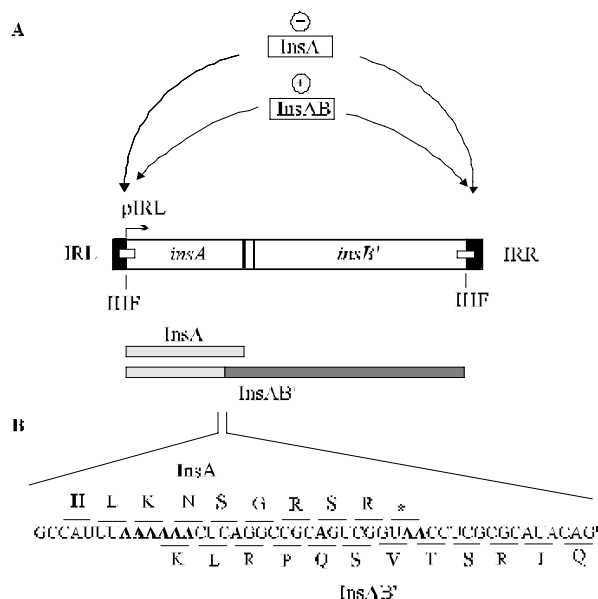
Pre charakterizáciu inzerčných sekvencií v bunkách potravinársky významných baktérií je potrebné čiastočne charakterizovať jednotlivé rodiny a poukázať na rozdiely medzi nimi. Rodina *IS1* je základnou rodinou, do ktorej patria predovšetkým inzerčné sekvencie izolované a charakterizované z buniek *Escherichia coli*. Preto túto rodinu budeme charakterizovať ako základ pre odvodenie charakterizácie rodín, do ktorých sa zaraďujú aj inzerčné sekvencie potravinársky významných baktérií.

Rodina IS1

IS1 bola jednou z prvých opísaných a izolovaných bakteriálnych inzerčných sekvencií [1,2]. Bola izolovaná z plazmidu *F^{lac-proB}* (*IS1K* [3] s viacerými rezistenciami plazmidu R100 (*IS1R* [4])). Z tejto rodiny inzerčných sekvencií je sekvenčnou analýzou charakterizovaných 17 druhov práve z buniek *Escherichia coli* a *Shigella* [5-7]. Analýza ukázala, že tri inzerčné sekvencie majú rovnakú primárnu štruktúru, jedna má úplne odlišnú a ďalšie sú s podobnosťou do 10 %, ktoré sa charakterizujú ako izoformy. *IS1* sekvencie sú súčasťou mnohých transpozónov, ako *Tn9* [8] a *Tn1681* [9], ktoré sú prítomné v priamej alebo opačnej orientácii ku génom chloramfenikolacetyltransferázy alebo ku génu kódujúcemu termostabilný toxín.

Pri integrácii *IS1* do cieľovej molekuly dochádza v mieste integrácie k zdvojnásobeniu integračného miesta na 9 bp [10,11]. Okrem toho sú známe aj inzerčné sekvencie, ktoré v cieľovom mieste vytvoria duplikácie 8, 10 a 14 bp [12-14]. Počet koncových opakovaní je závislý od počtu mutácií v géne pre transpozázu [13]. Inzercia *IS1* sa najčastejšie uskutoční do miesta v cieľovej DNA bohatého na AT páry [15-17].

IS1 (obr. 1) patrí medzi najmenšie doteraz izolované autonómne sekvencie. Ich veľkosť je iba 768 bp, obsahuje približne 23 bp opakovaných sekvencií na pravom a ľavom konci molekuly (IRL a IRR) [3,4] a dva prekrývajúce



OBR. 1. Organizácia inzerčnej sekvencie IS1.

A - Štruktúra IS1. Ľavé (IRL) a pravé (IRR) opakovania tvoria osobitné boxy. Obrázok ukazuje pozíciu *insA* a *insB* čítacích rámcov v pozícii prekryvajúcich sa génov. IS1 promótor pIRL je lokalizovaný na IRL konci. IHF väzbové miesto je lokalizované na oboch koncoch IS, pričom vytvára malé otvorené boxy. InsA proteín predstavuje dĺžku ľavého malého boxu. Šípky znázorňujú pravdepodobné oblasti syntézy proteínu InsA a InsAB'.
 B - Poradie aminokyselín a nukleotidov na molekule RNA v oblasti prekryvu dvoch čítacích rámcov pre proteíny InsA a InsAB'.

FIG. 1. Organisation of insertion sequence IS1.

A - Structure of IS1. Left (IRL) and right (IRR) are distinct boxes. Relative position of the *insA* and *insB* reading frames as well as their overlapping region are shown. The IS1 promoter pIRL is localised at the end of IRL. IHF binding sites, located partially within each terminal IS, are shown as small open boxes. The InsA protein is represented by a hatched box beneath. Arrows indicate the probable region of the synthesis of InsA and InsAB' proteins.
 B - RNA and protein sequence in the crossover region between the two open reading frames for both InsA and InsAB' proteins.

sa otvorené čítacie rámce (*insA* a *insB*) umiestnené v pozícii 0 a -1 v predpokladanej translačnej oblasti (obr. 1A). Úplnosť oboch čítacích rámcov je nevyhnutná pre transpozíciu [18,19].

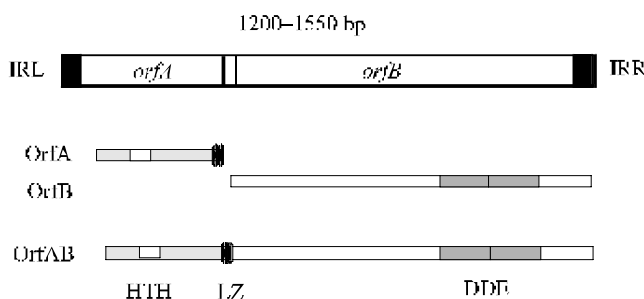
Transkripcia začína na promótoře pIRL umiestnenom na ľavom konci a prepisujú sa z neho dva produkty: InsA a InsAB'. Prvý produkt je prepisovaný celý v smere čítacieho rámca *insA*. Malý syntetizovaný proteín (InsA)

sa špecificky viaže na IR a reprimuje transkripciu z pIRL [20,21]. Zároveň inhibuje transpozíciu, lebo sa kompetitívne viaže na miesto väzby transpozázy [22]. Druhý proteín InsAB' je transpozáza inzerčnej sekvencie. Prirodzená transpozičná reakcia prebieha s nízkou frekvenciou (približne 10^7). Pri konštitutívnej syntéze transpozázy z promótoru dochádza k potlačeniu syntézy InsA.

Pri regulácii syntézy transpozázy je možné navodiť zvýšenú transpozičnú aktivitu IS1 sekvencie potlačením syntézy InsA. Podrobné štúdie ukázali, že *insA* gén funguje ako Rho-závislý terminátor [23,24].

Rodina IS3

Viac ako 80 členov z IS3 rodiny bolo identifikovaných a purifikovaných z vyše 40 bakteriálnych druhov. Z charakterizovaných inzerčných sekvencií 32 tvoria izoformy, alebo duplicitné izolácie toho istého druhu a doteraz iba 11 členov má známu primárnu štruktúru. Predbežné analýzy ukázali, že u mykobaktérií molekula inzerčnej sekvencie má viac ako 70 % G+C párov.



OBR. 2. Všeobecná organizácia členov rodiny IS3.

Na koncoch sú znázornené koncové opakovania - ľavé (IRL) a pravé (IRR). Transkripcia prebieha z promótoru, ktorý je najčastejšie umiestnený na IRL konci. Dva otvorené čítacie rámce indukujú prítomnosť *orfA* a *orfB*, ktoré sú prepisované z pozície 0 a -1. HTH - označuje pozíciu možnej existencie proteínového motívu prerušovaného helixu na OrfA proteíne. DDE - označuje katalytickú doménu OrfB proteínu. LZ - reprezentuje miesto tvorby regulačného faktora vo forme leucínového zipsu, ktorý je na C-konci OrfA proteínu a vo vnútri OrfAB.

FIG. 2. IS3 family.

Solid boxes indicate the left (IRL) and right (IRR) terminal repeats. The transcription probably occurs from a weak promoter located partially in IRL. The two consecutive overlapping reading frames are indicated (*orfA* and *orfB*) and are arranged in reading phase 0 and -1, respectively. The position of a potential helix-turn-helix motif (HTH) is shown as a stippled box in OrfA, and the DDE catalytic domain is shown as a stippled box in OrfB. A potential leucine zipper (LZ) at the C-terminal end of OrfA and extending into OrfAB is also indicated.

Tieto hodnoty potvrdzujú predpoklady, že u nukleových kyselín s vyšším počtom GC párov v mikroorganizme sa vyskytujú častejšie inzerčné sekvencie a transpozóny. Jednotliví členovia rodiny IS3 majú veľkosť od 1200 bp až po 1550 bp. Výnimkou je *IS481*, ktorý má veľkosť 1045 bp. Opakované sekvencie koncov molekuly inzerčnej sekvencie majú dĺžku od 20 až po 40 bp. Prevažná väčšina členov rodiny má na koncoch opakovanie 5'-TG....CA-3' a prítomný interný blok s vyšším počtom G a C s rôznou dĺžkou. IS3 majú na začiatku translačnej oblasti dva otvorené prekrývajúce sa čítacie rámce *orfA* a *orfB* (obr. 2). Produktom týchto génov je proteín OrfA a fúzny proteín OrfAB. Na rozdiel od *IS1* je možné potvrdiť prítomnosť aj OrfB produktu. Naproti tomu niektorí členovia tejto skupiny, ako sú *IS1076*, *IS1138*, *IS1221* a *IS1141*, obsahujú iba jeden dlhý čítací rámec.

IS3 rodina sa delí na niekoľko rozvetvených podskupín (tab. 1) s rozdielnym poradím nukleotidov v OrfB. Jednotliví členovia podskupín sa od seba odlišujú počtom prečnievajúcich sekvencií. Ako príklad môžeme uviesť podskupinu IS2, ktorá má na konci molekuly 5 bp opakovaní, *IS407* 4 bp a ďalší členovia podskupiny 3 bp. Podskupina *IS407* sa odlišuje od ostatných členov podskupín tým, že generuje 6 bp opakovania so sekvenciou NCTAGN.

TABUĽKA 1. Základné vlastnosti prokaryotických rodín IS.

TABLE 1. Basic features of prokaryote IS families.

Rodina ¹	Skupina ²	Veľkosť ³ [bp]	DR [bp]	Koniec ⁴	Počet ORF ⁵
IS1		770	9 (8–11)	GGT	2
IS3	IS2	1300 - 1350	5	TGA	2
	IS3	1200–1300	3 (4)		2
	IS51	1300–1400	3 (4)		2
	IS150	1400–1550	3–5		2
	IS407	1200–1250	4		2
IS4		1300–1950	9–12	C(A)	1
IS5	IS5	1100–1350	4	GG	1
	IS427	800–1000	2–3	Ga/g	2
	IS903	1000–1100	9	GGC	1
	IS1031	850–950	3	GAG	1
	ISH1	900–1150	8		1
	ISL1	800–1100	2–3		1
IS6		750–900	8	GG	1

1 - family, 2 - group, 3 - length, 4 - end, 5 - number of ORFs.

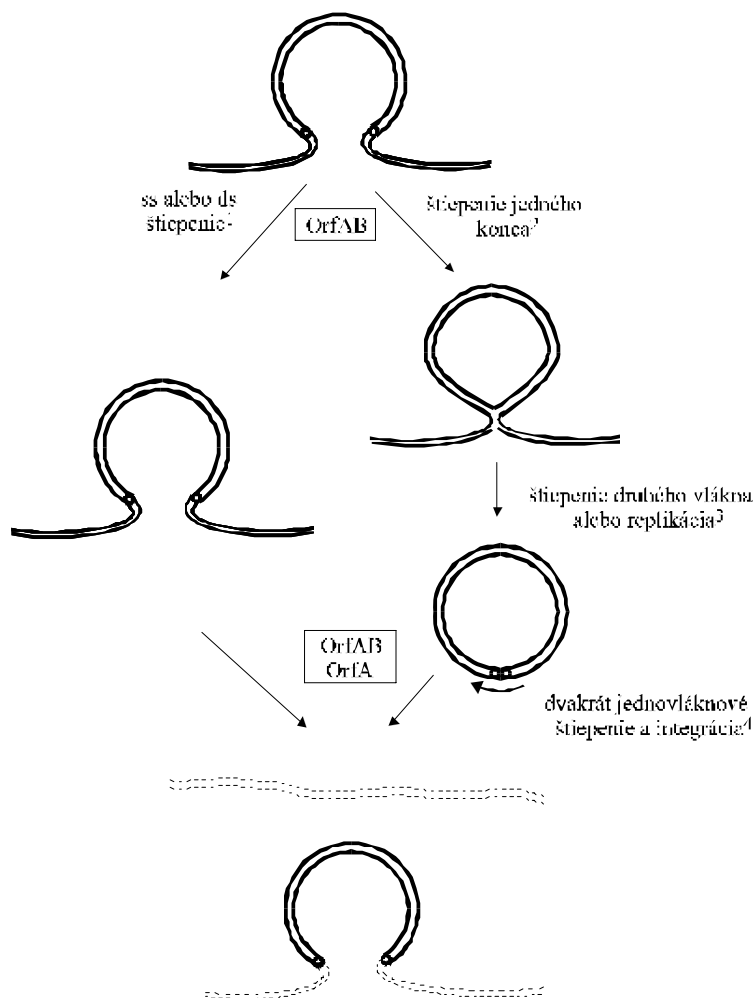
Pomerne málo sa zatiaľ vie o mieste včlenenia inzerčnej sekvencie do cieľovej molekuly. IS2 pri včleňovaní do cieľovej molekuly uprednostňuje miesta integrácie bakteriofága P1, ale ako vyhľadáva práve toto miesto, nie je úplne jasné.

Najlepšie charakterizovanou inzerčnou sekvenciou zo skupiny IS3 je IS911. Proteíny OrfA a OrfAB sa špecificky viažu na IR miesto [25,26]. Konštitutívna produkcia OrfAB z *orfAB* čítacieho rámca zabezpečuje zvýšenú transpozíčnú aktivitu. Zvýšená produkcia proteínu OrfAB stimuluje zvýšený počet kópií kruhového transpozónu. Čiastočný mechanizmus transpozície ukazuje obr. 3. Reakcia prebieha v dvoch krokoch, kde jeden z koncov transpozónu štiepi a vytvára voľné 3'-OH konce, ktoré v druhom kroku slúžia k nukleofilnému ataku opačného konca. Výsledkom je vytvorenie kruhovej molekuly podobnej osmičke, pričom transpozón vytvára jednovláknový mostík a zanecháva 3'-OH voľnú skupinu na molekule vektora v mieste inercie. Kinetické štúdie ukázali, že vytvorenie slučky je začiatkom vzniku kruhovej transpozície. Na obr. 3 je reprodukováaná rekombinačná reakcia s vytvorením kruhovej slučky použitá v bezbunkovom systéme. Doteraz nie sú známe všetky proteíny, ktoré sa zúčastňujú replikácie a vytvorenia druhého rekombinačného vlákna.

Nie je úplne jasný ani vzájomný reakčný vzťah medzi transpozázou a jednotlivými intermediátmi reakcie. Vysoká hladina expresie proteínov OrfA a OrfB značne redukuje, alebo eliminuje, formovanie transpozíčného kruhu a stimuluje intermolekulovú transpozíciu a taktiež stimuluje intermolekulovú transpozíciu riadenú plazmidom. Vytvorenie intermolekulového transpozíčného systému *in vitro* podmienkach má demonštrovať vyššiu účinnosť integrácie transpozónového kruhu, pričom pre reakciu sú nevyhnutné obidva proteíny OrfA a OrfB.

Rodina IS5

Vysoko heterogénnu skupinu vytvárajú inzerčné sekvencie rodiny IS5, ktorá obsahuje okolo 47 rôznych kmeňov a 21 izoelementov. Patria sem sekvencie pochádzajúce z eubaktérií, ako aj z archaeobaktérií. Molekula IS5 obsahuje iba jeden čítací rámec pre syntézu transpozázy. Najmenšiu veľkosť má IS867, 850 bp, a najväčšia je IS493 s veľkosťou 1643 bp. Niektoré inzerčné sekvencie obsahujú aj druhý otvorený čítací rámec pred génom transpozázy, ktorý nie je potrebný pre transpozíciu [27]. Štruktúra IS4811 je podobná transpozónu Tn4811 [28], ktorého veľkosť je väčšia ako 5 kb. Inzerčná sekvencia obsahuje okrem základnej transpozázy aj ďalšie gény, ktorých funkcia doteraz nie je známa. Mnohí členovia tejto rodiny majú vo svojej molekule asociované prvky pripomínajúce riadne transpozóny. Patria



OBR. 3. Spôsob transpozície inzerčných sekvencií v rodine IS3.

DNA transpozónu je znázornená jemnejšou čiarou po stranách slučky. Slučka reprezentuje DNA transpozónu ukončeného malými krúžkami. Vľavo je znázornená inzercia do lineárnej molekuly DNA. Vpravo je znázornená inzercia do kruhovej molekuly. Vytvorenie kruhového transpozónu z intermediátu je spôsobené hostiteľskými faktormi.

FIG. 3. Pathways for the transposition of IS3 family members.

Transposon DNA is shown as a thin line on the sites of the loop. The ends of the transposon are represented by small open circles. Insertions in a linear (left) and circular (right) DNA molecule are shown. Formation of a circularised transposon is thought to require host factors. 1 - ss or ds cleavage, 2 - cleavage of one end, 3 - cleavage of the second strand or replication, 4 - twice a single-strand cleavage and integration.

sem IS903 a IS602, ktoré sú súčasťou transpozónov s génom kódujúcim kanamycínovú rezistenciu, ako transpozón Tn903 [29], Tn602 [30], ISVa1 a ISVa2, ktoré sú súčasťou transpozónu s génom zabezpečujúcim transport kovov z prostredia do bunky [31].

Do tejto skupiny zaraďujeme aj sedem transpozónov skupiny IS903, ktoré sa včleňujú do molekuly DNA na GATC miesto. Podskupina IS1031 a IS427 je schopná transpozície v bunkách, ktoré majú mutáciu Dam oblasti.

Inzerčné sekvencie dvoch podskupín IS5 a IS427 a členovia skupiny ISL2 (IS112 a IS1373) uprednostňujú pri integrácii do cieľovej molekuly cieľové miesto YTAR (najčastejšie CTAG). Po transpozíčnej reakcii zanecháva zdvojenie TA nukleotidov. Zatiaľ nie je úplne známe cieľové inzerčné miesto na molekule recipienta, ani princíp jeho vyhľadávania. Experimenty potvrdili, že cieľové opakovania sú symetrické, vytvárajú palindróm, napr. CTAG. Členovia podskupiny ISL2 generujú 3 bp priame opakovania (DR) s preferenciou pre ANT, skupina IS1031 generuje 3 bp DR a pri inzercii uprednostňuje cieľovú sekvenciu TNA. Podobné cieľové miesto uprednostňuje aj skupina ISH1 (8 bp DR) a tiež IS903 (9 bp DR) (pozri predchádzajúci článok).

Vzhľadom k širokému spektru členov skupiny sa v ďalšej časti budeme venovať iba dvom členom tejto skupiny IS5 a IS903.

IS5 sekvencie sú schopné výrazne generovať mutanty. Obsahujú jeden veľký otvorený čítací rámec *inc5A*, ktorý pokrýva celú molekulu a je dôležitý pre transpozíciu [32], a dva malé otvorené čítacie rámce *inc5B* a *inc5C*, ktoré majú tiež výrazný vplyv na transpozíčnú reakciu. Zatiaľ nie je nič známe o mechanizme tejto transpozíčnej reakcie.

Opakovania na koncoch IS903 obsahujú 18 bp, podobne ako v prípade základnej inzerčnej sekvencie [33]. Ukázalo sa, že transpozáza je schopná viazať sa špecifickými koncami na $-NH_2$ koniec proteínu [34,35]. Málo je známe o transpozíčnom mechanizme, ale na základe genetickej analýzy je častica schopná vytvárať po inzercii do genómu delécie, ako aj duplikácie génov [36].

Rodina IS6

Skupina inzerčných sekvencií IS6 bola pomenovaná podľa opakovaných sekvencií v transpozóne Tn6 [28]. V súčasnosti sa do tejto skupiny zaraďuje 45 členov, z čoho je okolo 30 izokópií. Všetci členovia skupiny kódujú transpozázu, pričom podobnosť aminokyselinového zloženia je od 40 do 94 %. Veľkosť inzerčnej sekvencie je od 789 bp pre IS257 do 880 bp pre IS6100. Do tejto skupiny patrí aj IS466 z kmeňa *Streptomyces coelicolor*, ktorej veľkosť je 1628 bp. Na molekule bol identifikovaný otvorený čítací rámec pre transpozázu. Má pomerne krátke koncové opakovania (15 až 20 bp)

a všeobecne generuje 8 bp dlhé repetície. Je zaujímavé, že inzerčná sekvencia IS6100, identifikovaná v bunkách *Mycobacterium fortuitum*, bola izolovaná a charakterizovaná aj na plazmidoch, ktoré kódujú gény pre katabolický transpozón pre degradáciu nylonu izolovaný z buniek *Arthrobacter* sp. [37] a z plazmidu u *Pseudomonas aeruginosa* R1003 [38]. Táto sekvencia je aj súčasťou transpozónu Tn5393 v *Xantomonas campestris* [39].

Pri analýze jednotlivých členov rodiny IS6 bola zistená pozoruhodná replikačná fúzia (kointegrát), z ktorého donorové a cieľové replikóny majú oddelené dve kópie inzerčnej sekvencie (napr. IS15Δ, IS26, IS257 a IS1936). Po transpozícii dochádza k replikácii fúzovanej molekuly a k následnému rozdeleniu na donorovú a cieľovú molekulu. V donorovej molekule zostávajú obidve pôvodné inzerčné sekvencie a replikáciou sa preniesie jedna inzerčná sekvencia do cieľovej molekuly.

Do tejto rodiny patrí aj inzerčná sekvencia s veľkosťou 4904 bp izolovaná z vláknitej cynobaktérie *Fremyella diplosiphon* (Tn5469 [IS5469] [40]). Táto veľká molekula má tri otvorené čítacie rámce pre kódovanie proteínu. TnpA má 909 aminokyselín a podobá sa transpozáze základnej IS6 inzerčnej sekvencie. V konzervatívnej oblasti medzi 230. a 260. aminokyselinou sa aminokyselinové a nukleotidové sekvencie úplne zhodujú. Terciárna štruktúra transpozázy je zhodná z transpozázou izolovanou z Tn552 (*Streptococcus aureus*) a Tn5090 z *Klebsiella aerogenes* R751.

Inzerčné sekvencie v baktériach rodu *Acetobacter*

Inzerčná sekvencia IS1380

Ani potravinársky významné kmene rodu *Acetobacter* nie sú „ušetrené“ prítomnosti inzerčných sekvencií a transpozónov na svojom genóme (tab. 2). Ako sme sa už zmienili, tieto pohyblivé nukleotidové sekvencie spôsobujú zmenu na genóme hostiteľských kmeňov a svojou prítomnosťou sú schopné vytvárať negatívne aj pozitívne mutácie. Z octových baktérií boli opísané inzerčné sekvencie v kmeňoch *A. pasteurianus*, *A. aceti*, *A. xylinum*, ale aj *Gluconobacter*.

Základnou vlastnosťou octových baktérií je schopnosť oxidovať etanol. Pri analýze termofilného kmeňa *Acetobacter pasteurianus* NCI1380 sa s vysokou frekvenciou vyskytovali spontánne mutanty neschopné oxidovať etanol. Ukázalo sa, že príčinou je prítomnosť inzerčnej sekvencie IS1380 na genóme baktérie. U väčšiny mutantov bola inzerčná sekvencia včlenená na špecifické miesto v géne, ktoré kóduje cytochróm c. Do rodiny IS1380 sa zaraďuje doteraz šesť charakterizovaných členov, z ktorých dvaja tvoria izoformy niektorého z nich.

TABUĽKA 2. Inzerčné sekvencie v baktériach rodu *Acetobacter*.TABLE 2. Insertion sequences in *Acetobacter*.

Meno ¹	Organizmus ²	Rodina ³	Skupina ⁴	Dĺžka ⁵ [bp]	IR
IS1031A	<i>A. xylinum</i> ATCC 23769	IS5	IS1031	930	22/24
IS1031C	<i>A. xylinum</i> ATCC 23769	IS5	IS1031	930	23/26
IS1031D	<i>A. xylinum</i> ATCC 23769	IS5	IS1031	930	23/26
IS1032	<i>A. xylinum</i> ATCC 23770	IS5	IS1031	916	9/15
IS1380A	<i>A. pasteurianus</i> NC11380	IS1380		1665	13/15
IS1380B	<i>A. pasteurianus</i> NC11380	IS1380		1665	12/15
IS1452	<i>A. pasteurianus</i> NCI 1452	IS4		1411	21

1 - name, 2 - organism, 3 - family, 4 - group, 5 - length.

IS1380 je 1665 bp dlhá, nesie 15 bp koncové obrátené repetície a na mieste inzercie zanecháva 4 bp duplikácie. Na každom vlákne obsahuje 1 dlhý čítací rámec kódujúci 222 a 461 aminokyselín. Pre svoju integráciu do hostiteľskej molekuly DNA uprednostňuje sekvenciu TCGA. Patrí v súčasnosti medzi inzerčné sekvencie s extrémne vysokým počtom kópií (približne 100) v hostiteľskej bunke *Acetobacter pasteurianus*. Jej výskyt bol zaznamenaný aj u iných kmeňov octových baktérií [41].

Väčšia molekula inzerčnej sekvencie ISBj1 (veľkosť molekuly je 2071 bp) kóduje transpozázu, pričom z otvoreného čítacieho rámca sa môžu syntetizovať proteíny s veľkosťou od 328 do 454 aminokyselín. S podobným javom sa stretávame aj u ďalších členov skupiny. Aminokyselinová podobnosť transpozázy v rodine je s identitou od 30 do 50 %. Inzerčná sekvencia bakteriofágovej molekuly ISBj1 má na pravom konci 112 bp duplikačných sekvencií a na IR konci je 15 bp dlhá koncová inzerčná sekvencia. Po včlenení do cieľovej molekuly vytvára 4 bp cieľové duplikácie.

To, že inzerčné sekvencie nie sú vždy druhovo závislé, dokumentuje aj porovnanie medzi IS1380 a produktom HRS1 sekvencie z *Bradyrhizobium japonicum* [41]. Ich podobnosť je natoľko výrazná, že sa predpokladá aj vzájomný prenos z jednej baktérie na druhú.

Druh *Sphingomonas* sp. CFO6 patriaci do α podskupiny proteobaktérií nesie 5 plazmidov, ktoré kódujú proteíny podieľajúce sa na biodegradácii karbofuránu. Tieto plazmidy obsahujú viacero inzerčných sekvencií. Najpreskúmanejšia z nich je IS1412 (1656 bp, 18/17 bp terminálne obrátené repetície), ktorá nesie čítací rámec kódujúci pravdepodobne transpozázu s vysokou homológiou k transpozáze z IS1380, k HRS1 z *Bradyrhizobium japonicum* a k IS1247 z *Xanthobacter autotrophicus* [42].

Inzerčná sekvencia IS1031

Bakteriálny druh *Acetobacter xylinum* ATCC 23769 je jedným z producentov celulózy. Pri štúdiu expresie génu so snahou o zvýšenie produkcie polysacharidu sa objavilo vysoké percento spontánných mutantov neschopných produkovať celulózu. Ukázalo sa, že príčinou je opäť mutácia spôsobená inzerciou transpozónu označeného IS1031A. Podobná inzerčná sekvencia IS1031B bola lokalizovaná na kryptickom plazmide pAXC145, ktorý, ako sa neskôr ukázalo, bol zdrojom aj ďalších dvoch inzerčných sekvencií IS1031C a IS1031D. Ich dĺžka je 930 bp, obsahujú 24 bp (IS1031A) a 21 bp (IS1031C, IS1031D) koncové obrátené repetície, ktoré sú ohraničené trojbázovými priamymi opakovaniami. Kódujú 278-aminokyselinový proteín. Vo všetkých analyzovaných druhoch *Acetobacter xylinum* boli nájdené sekvencie podobné IS1031 v počte 1 až 16 kópií na bunku, naopak žiadny z analyzovaných druhov *Acetobacter aceti* inzerčné sekvencie neobsahoval [43,44].

Inzerčná sekvencia IS1032

Inzerčné sekvencie IS1032 tvorí rodina sekvencií z druhov *Acetobacter xylinum*. Bola izolovaná ďalšia sekvencia z tejto rodiny. Jej dĺžka je 916 bp, nesie 14/16 bp koncové obrátené repetície a na mieste inzercie zanecháva 3 bp duplikácie. Obsahuje otvorený čítací rámec pre 276-aminokyselinový proteín, ktorý vykazuje 58 % zhodu s proteínom z IS1031.

Zistila sa vysoká homológia s nukleotidovou sekvenciou ISRm4 z *Rhizobium meliloti*. Southernova hybridizácia ukázala prítomnosť IS1032 vo väčšine z analyzovaných druhov *Acetobacter xylinum* a taktiež v *Acetobacter aceti* ATCC 15973. Transpozícia tohto elementu spôsobila vznik spontánneho exopolysacharid-negatívneho mutantu *Acetobacter xylinum* ATCC 23770 [45].

Inzerčná sekvencia IS1452

Inzerčná sekvencia IS1452 bola nájdená u *Acetobacter pasteurianus* v spojitosti s inaktívaciou alkoholdehydrogenázy pri inzercii do *adhS* génu. Inzercia zabránila transkripcii oddelením promótoru od štruktúrneho génu. IS1452 je 1411 bp dlhá, obsahuje 21 bp terminálne obrátené repetície a na mieste inzercie zanecháva 4 bp duplikácie. Jeden dlhý čítací rámec kóduje 416-aminokyselinový proteín homologický s transpozázou Tra1, z IS701 izolovanej z cyanobaktérie. Cieľová špecificita je pomerne veľká, uprednostňovaná je sekvencia CTA (A alebo C). Transpozícia je replikatívna, zaznamenal sa nárast počtu kópií IS1452. Bola nájdená vo viacerých druhoch *Acetobacter* v počte kópií od 1 nad 10 [46].

Inzerčná sekvencia ISRm8 z kryptického plazmidu pRmeGR4b z *Sinorhizobium meliloti* GR4 je 1451 bp dlhá nesie 22/24-bp koncové obrátené repe-

tície so 7 zmenami a na mieste inzercie zanecháva 3 bp duplikácie. Bola nájdená aj mimo plazmidu s počtom kópií 1 až 6. Obsahuje otvorený čítací rámec, ktorého sekvencia vykazuje významnú podobnosť s inzerčnými sekvenciami IS1357 z *Methylobacterium* sp. a IS1452 z *Acetobacter pasteurianus* [47].

Inzerčná sekvencia IS12528

IS12528 bola nájdená ako sekvencia spôsobujúca inaktiváciu alkoholdehydrogenázy inzerciou do *adhA* génu v *Gluconobacter suboxydans*. Jej dĺžka je 905 bp, nesie 18 bp terminálne obrátené repetície a na mieste inzercie zanecháva 3 bp duplikácie - T(C/A)A. Kóduje 274-aminokyselinový produkt homologický s transpozázou z rodiny IS1031 z *Acetobacter xylinum*. Sekvencie podobné IS12528 sa nachádzajú v širokom spektre kmeňov octových baktérií [48].

Inzerčné sekvencie v ďalších biotechnologicky významných bakteriách

Jednotlivé prehľadné tabuľky v tomto článku naznačujú, že okrem buniek rodov *Acetobacter* sú inzerčné sekvencie neoddeliteľnou súčasťou aj mnohých ďalších biotechnologicky a potravinársky významných bakteriálnych kmeňov (tab. 3). Jednotlivé inzerčné sekvencie boli pozorované pri štúdiu spontánnej mutácie bakteriálneho kmeňa, zmene polymorfizmov v jednotlivých bunkách, ako aj pri patogénnych zmenách baktérií. I keď poznatky o jednotlivých nových inzerčných sekvenciách nie sú úplné a v mnohých prípadoch sa iba predpokladá, že dôsledkom zmeny je presun mobilných úsekov DNA na chromozóme buniek, opíšeme aspoň stručne základné charakteristiky niektorých ďalších inzerčných sekvencií.

Kompletné nukleotidové zloženie plazmidu pMRC01 (60232 bp) z buniek *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* DPC3147 potvrdilo prítomnosť 1056 bp dlhého úseku, ktorý kóduje inzerčnú sekvenciu [49]. Na molekule plazmidu približne každých 20 kb bola identifikovaná jedna molekula inzerčnej sekvencie. V troch oblastiach sa identifikovali úseky zodpovedné za konjugáciu plazmidu a 16 Tra génov. Z biotechnologického hľadiska sa ukazuje, že plazmid bude mať význam aj pri rozvoji nových klonovacích vektorov.

Porovnávaním chromozómov a štúdiom polymorfizmu v dvoch druhoch *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* MG1363 a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* NCDO763 sa pozorovali veľké repetície, ktoré naznačovali prítomnosť

TABUĽKA 3. Charakterizácia inzerčných sekvencií v baktériach rodu *Lactobacillus*.TABLE 3. Characterisation of insertion sequences in *Lactobacillus*.

Meno ¹	Organizmus ²	Rodina ³	Skupina ⁴	Dĺžka ⁵ [bp]	IR
IS984	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> FI5876	IS3	IS3	1241	31/29
IS905A	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> FI7304	IS256		1313	20/28
IS905B	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> MG1614	IS256		1313	20/28
IS946M	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> T-EK1 (pTR2030)	ND		800	ND
IS964V	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> T-EK1 (pTR2030)	IS6		808	8
IS981	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> LM0230	IS3	IS3	1224	18/28
IS982	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> SK11 (pSK11L)	IS983		999	19/20
IS928B	<i>L. lactis</i> bv. <i>diacetylactis</i> CRL264 (pCIT264)	IS982		999	19/20
IS982C	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> NIZOB40 (pNZ4000)	IS982		999	19/20
IS1068	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> NIZOR5 (Tn5276)	IS3	IS3	1245	31/29
IS1163	<i>L. sake</i> L45	IS3	IS3	1180	32/48
IS1201	<i>L. helveticus</i> CNRZ1094 (p34KB)	IS256		1387	20/24
IS1223	<i>L. johnsonii</i> ATCC 11506	IS3	IS150	1492	21/26
ISL1	<i>L. casei</i> S1 (fág FSV-B)	IS3	IS3	1257	23/40
ISL2	<i>L. helveticus</i> LH28	IS5	ISL2	858	16
ISL2	<i>L. helveticus</i> LH27	IS5	ISL2	858	16
ISL3	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ATCC11824	ISL3		1494	27/38
ISLh1	<i>L. helveticus</i> ATCC 15009 (pLH3)	IS982		962	32/35

1 - name, 2 - organism, 3 - family, 4 - group, 5 - length.

mobilných sekvencií [50]. Na základe nukleotidovej analýzy sa potvrdila prítomnosť sekvencií IS905, ktoré sú v oboch analyzovaných kmeňoch homologické.

Štúdiom série auxotrofných mutantov *Streptomyces avermitilis* sa ukázalo, že z kryptického plazmidu pri zvýšenej teplote dochádza k presunu pohyblivej inzerčnej sekvencie IS6100 na chromozóm hostiteľskej bunky, pričom vzniká kointegrát, dôsledkom čoho je zmena na genóme buniek [51]. Ukázalo sa, že klonovaním transpozázy za silnejší promótor v plazmide a po prenesení do materských buniek, ako aj do buniek *Streptomyces lividans*, nedochádza k zvýšeniu transpozičnej aktivity inzerčnej sekvencie.

Nová inzerčná sekvencia IS1194 bola identifikovaná v baktériach mliečneho kvasenia *Streptococcus thermophilus* CNRZ368. Sekvenčnou analýzou bola určená dĺžka sekvencie na 1200 bp so 16 bp opakovaniami na koncoch.

Gén obsahuje jeden otvorený čítací rámec pre kódovanie proteínu obsahujúceho 332 aminokyselín, ktorý je podobný bakteriálnym inzerčným sekvenciám rodiny IS5 a IS4. Hybridizáciou sa v bunkách potvrdila jedna kópia IS1194 iba v dvoch z 19 testovaných buniek *S. thermophilus* a v štyroch z 13 testovaných druhov *Lactococcus lactis*. Poradie nukleotidov na pravom a ľavom konci IS1194 je identický s poradím nukleotidov konjugatívneho plazmidu pSM19054 izolovaného z buniek *Streptococcus pyogenes* [52].

Pri restriktívnej analýze polymorfných oblastí v 50 nezávislých kmeňoch *Streptococcus pneumoniae* 6B bola lokalizovaná inzerčná sekvencia IS1167 [53]. Má okolo 9 kópií na bunku hostiteľa. Štúdiom klonov sa ukázalo, že bunky sú vysoko virulentné v osemročnej perióde, čo sa pripisuje čiastočne aj pohybu inzerčnej sekvencie po genóme hostiteľa. Transpozíčná aktivita inzerčnej sekvencie je pomerne nízka, čo pravdepodobne spôsobuje nízku patogenitu v čase medzi jednotlivými periódami.

V klinickom kmeni *Streptococcus pyogenes* M1 bola izolovaná a identifikovaná IS1562. Gén bol lokalizovaný medzi génmi kódujúcimi M proteín a C5 peptidázu, ktoré sú dôležité ako faktory virulencie. Inzerčná sekvencia s podobnou štruktúrou bola opísaná aj v chromozóme iného druhu *Streptococcus pyogenes* [53].

Inzerčné sekvencie, ako aj zložitejšie transpozóny, prispievajú ku genetickej nestabilite bakteriálnych kmeňov za neustáleho vzniku spontánnych mutácií, dôsledkom čoho je možnosť lepšej adaptácie kmeňov v novom životnom prostredí. Neustála zmena genómu baktérií sa dá využiť aj v laboratórnych podmienkach jednak pri štúdiu genetickej determinácie jednotlivých fyziologických procesov v bunkách, pri analýze fylogenetických vzťahov medzi jednotlivými bakteriálnymi druhmi, pri konštrukcii nových významných klonovacích vektorov, pri medzidruhovom prenose genetickej informácie, ako aj pri expresii významných génov.

Literatúra

1. FIANDT, M. - SZYBALSKI, W. - MALAMY, M. H.: Polar mutation in lac, gal and phage lambda consists of a few IS-DNA sequences inserted with either orientation. *Molecular and General Genetics*, 119, 1972, s. 223-231.
2. HIRSCH, H. J. - STARLINGER, P. - BRACHET, P.: Two kinds of insertions in bacterial genes. *Molecular and General Genetics*, 119, 1972, s. 191-206.
3. JOHNSRUD, L.: DNA sequence of the transposable elements IS1. *Molecular and General Genetics*, 169, 1979, s. 213-218.

4. OHTSUBO, H. - OHTSUBO, E.: Nucleotide sequence of an insertion element, *IS1*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 75, 1978, s. 615-619.
5. LAWRENCE, J. G. - OCHMAN, H. - HARTL, D. L.: The evolution of insertion sequence within enteric bacteria. Genetics, 131, 1992, s. 9-20.
6. UMEDA, M. - OHTSUBO, E.: Four type of *IS1* with differences in nucleotide sequence reside in the *Escherichia coli* K12 chromosome. Gene, 98, 1991, s. 1-5.
7. ZHAO, S. - HILL, C. W.: Reshuffling of Rhs components to create a new element. Journal of Bacteriology, 177, 1995, s. 1393-1398.
8. MCHATTIE, L. A. - JACKOWSKI, J. B.: Physical structure and deletion effects of the chloramphenicol resistance element Tn9 in phage lambda. In: BUKHARI, A. I. - SHAPIRO, J.A. - ADHYA, S. L.: DNA interaction elements, plasmid, and episomes. Cold Spring Harbor, N. Y. : Cold Spring Harbor Laboratories, 1977, s. 219-228.
9. SO, M. - HEFFRON, F. - MCCARTHY, B. J.: The *E. coli* gene encoding heat stable toxin is a bacterial transposon flanked by inverted repeats of *IS1*. Nature, 277, 1979, s. 453-456.
10. CALOS, M. P. - JOHNSRUD, L. - MILLER, J. H.: DNA sequence at the integration sites of the insertion element *IS1*. Cell, 13, 1979, s. 411-418.
11. GRINDLEY, N. D.: *IS1* insertion generates duplication of a nine base pair sequence at its target site. Cell, 13, 1978, s. 419-426.
12. IIDA, S. - HIESTAND-NAUER, R. - ARBER, W.: Transposable element *IS1* intrinsically generates target duplications of variable length. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 82, 1985, s. 839-843.
13. MACHIDA, C. - MACHIDA, Y.: Base substituons in transposable element *IS1* cause DNA duplication of variable length at the target site for plasmid co-integration. EMBO Journal, 6, 1987, s. 1799-1803.
14. SENGSTAG, C. - IIDA, S. - HEISTAND-NAUER, R. - ARBER, W.: Terminal inverted repeats of prokaryotic transposable element *IS186* which can generate duplication of variable length at an identical target sequence. Gene, 49, 1986, s. 153-156.
15. GALAS, D. J. - CALOS, M. P. - MILLER, J. H.: Sequence analysis of Tn9 insertions in the *lacZ* gene. Journal of Molecular Biology, 144, 1980, s. 19-41.
16. MEYER, J. - IIDA, S. - ARBER, W.: Does the insertion elements *IS1* transpose preferentially into A+T-rich DNA segments? Molecular and General Genetics, 178, 1980, s. 471-473.
17. ZERBIB, D. - GAMAS, P. - CHANDLER, M. - PRENTKI, P. - BASS, S. - GALAS, D.: Specificity of insertion of *IS1*. Journal of Molecular Biology, 185, 1985, s. 517-524.
18. JAKOWEC, M. - PRENTKI, P. - CHANGLER, M. - GALAS, D. J.: Mutational analysis of the open reading frames in the transposable elements *IS1*. Genetics, 120, 1988, s. 47-55.
19. MACHIDA, Y. - MACHIDA, C. - OHTSUBO, E.: Insertion element *IS1* encodes two structural genes required for its transposition. Journal of Molecular Biology, 177, 1984, s. 229-245.
20. MACHIDA, C. - MACHIDA, Y.: Regulation of *IS1* transposition by the *insA* gene product. Journal of Molecular Biology, 208, 1989, s. 567-574.
21. ZERBID, D. - PRETKIN, P. - GAMES, P. - FREUND, E. - GALAS, D. J. - CHANDLER, M.: Functional organization of the ends of *IS1*: specific binding site for an *IS1*-encoded protein. Journal of Bacteriology, 177, 1990, s. 1393-1398.
22. ESCOUBAS, J. M. - PRERE, M. F. - FAYET, O. - SALVINGNOL, I. - GALAS, D. - ZERBIB, D. - CHANDLER, M.: Translational control of transposition activity of the bacterial insertion sequence *IS1*. EMBO Journal, 20, 1991, s. 705-712.
23. HUBNER, P. - IIDA, S. - ARBER, W.: A transcriptional terminator sequence in the prokaryotic transposable element *IS1*. Molecular and General Genetics, 206, 1987, s. 485-490.

24. PRENTKI, P. - TETER, B. - CHANDLER, M. - GALAS, D. J.: Functional promoters created by the insertion of transposable element IS1. *Journal of Molecular Biology*, 191, 1986, s. 383-393.
25. HAREN, L. - POLARD, P. - TON-HOANG, B. - CHANDLER, M.: Multiple oligomerisation domains in the IS911 transposase: a leucine zipper motif is essential for activity. *Journal of Molecular Biology*, 283, 1998, s. 29-41.
26. MUL, Y. M. - RIO, D. C.: Reprogramming the purine nucleotide cofactor requirement of *Drosophila* P element transposase in vivo. *EMBO Journal*, 16, 1997, s. 4441-4447.
27. BALTZ, E. L. - HAHN, D. R. - MCHENNEY, M. A. - SOLENBERG, P. L.: Transposition of Tn5096 and related transposons in *Streptomyces species*. *Gene*, 115, 1992, s. 61-65.
28. CHEN, C. W. - YU, T. W. - CHUNG, H. M. - CHOU, C. F.: Discovery and characterization of a new transposable element, Tn4811, in *Streptomyces lividans* 66. *Journal of Bacteriology*, 174, 1992, s. 7762-7769.
29. GRINDLEY, N. D. - JOYCE, C. M.: Genetic and DNA sequence analysis of the kanamycin resistance transposon Tn903. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77, 1980, s. 7176-7180.
30. STIBITZ, S. - DAVIES, J. E.: Tn602: a naturally occurring relative of Tn903 with direct repeats. *Plasmid*, 17, 1987, s. 202-209.
31. TOLMASKY, M. E. - CROSA, J. H.: Iron transport genes of the pJM1-mediated iron uptake system of *Vibrio anguillarum* are included in a transposonlike structure. *Plasmid*, 33, 1995, s. 180-190.
32. SCHNETZ, K. - RAK, B.: IS5, a mobile enhancer of transcription in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89, 1992, s. 1244-1248.
33. DERBISHIRE, K. M. - HWANG, L. - GRINDLEY, N. D.: Genetic analysis of the interaction of the insertion sequence IS903 transposase with its terminal inverted repeats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89, 1987, s. 4048-4052.
34. DERBISHIRE, K. M. - GRINDLER, N. D.: Binding of the IS903 transposase to its inverted repeat in vivo. *EMBO Journal*, 11, 1992, s. 3449- 3455.
35. TAVAKOLI, N. P. - DEVOST, J. - DERBYSHIRE K. M.: Defining functional regions of the IS903 transposase. *Journal of Molecular Biology*, 274, 1997, s. 491-504.
36. WEINERT, T. A. - ACHAUS, N. A. - GRINDLEY, N. D.: Insertion sequence duplication in transpositional recombination. *Science*, 222, 1983, s. 755-765.
37. KATO, K. - OHTSUKI, K. - MATSUDA, H. - YMO, T. - NEGORO, S. - URABE, I.: Insertion sequence IS6100 on plasmid pOAD2, which degrades nylon oligomer. *Journal of Bacteriology*, 176, 1994, s. 1197-1200.
38. HALL, R. M. - BROWN, H. J. - BROOKES, P. W. - STOKES, H. W.: Integrins found in different locations have identical 5'ends but variable 3'ends. *Journal of Bacteriology*, 176, 1994, s. 6286-6294.
39. SUNDIN, G. W. - BENDER, C. L.: Expression of the *strA-strB* streptomycin resistance gene in *Pseudomonas syringae* and *Xanthomonas campestris* and characterisation of IS6100 in *X. campestris*. *Applied Environmental Microbiology*, 61, 1995, s. 2891-2897.
40. BOURSAX-UEDE, C. - SAINT GIRONS, I. - ZUERNER, R.: IS1500, an IS3-like element from *Leptospira interrogans*. *Microbiology*, 141, 1995, s. 2165-2173.
41. TAKEMURA, H. - HORINOUCI, S. - BEPPU, T.: Novel insertion sequence IS1380 from *Acetobacter pasteurianus* is involved in loss of ethanol-oxidizing ability. *Journal of Bacteriology*, 173, 1991, s. 7070-7076.
42. FENG, X. - OU, L. T. - OGRAM, A.: Cloning and sequence anylsis of a new insercion ele-

- ment from plasmid harbored by the carbofuran-degradation bacterium, *Sphingomonas* sp. CFO6. Plasmid, 37, 1997, s. 169-179.
43. COUCHERON, D. H.: An *Acetobacter xylinum* insertion sequence element associated with inactivation of cellulose production. Journal of Bacteriology, 173, 1991, s. 5723-5731.
 44. COUCHERON, D. H.: A family of IS1031 elements in the genome of *Acetobacter xylinum*: nucleotide sequences and strain distribution. Molecular Microbiology, 9, 1993, s. 311-218.
 45. IVERSEN, T. - STANDAL, R. - PEDERSEN, T. - COUCHERON, D. H.: IS1032 from *Acetobacter xylinum*, a new mobile insertion sequence. Plasmid, 32, 1994, s. 46-51.
 46. KONDO, K. - HORINOCHI, S.: A new insertion sequence IS1452, from *Acetobacter pasteurianus*. Microbiology, 143, 1997a, s. 539-546.
 47. ZEKRI, S. - TORO, N.: A new insertion sequence from *Sinorhizobium meliloti* with homology to IS1357 from *Methylobacterium* sp. and IS1452 from *Acetobacter pasteurianus*. FEMS Microbiology Letters, 158, 1998, s. 83-87.
 48. KONDO, K. - HORINOCHI, S.: Characterisation of an insertion sequence IS12528, from *Gluconobacter suboxydans*. Applied Environmental Microbiology, 63, 1997b, s. 1139-1142.
 49. DOUGHERTY, B. A. - HILL, C. - WEIDMAN, J. F. - RICHARDSON, D. R. - VENTER, J. C. - ROSS, R. P.: Sequence and analysis of the 60 kb conjugative, bacteriocin-producing plasmid pMRC01 from *Lactococcus lactis* DPC3147. Molecular Microbiology, 29, 1998, s. 1029-1038.
 50. DAVERAN-MINGOT, M. L. - CAMPO, N. - RITZENTHALER, P. - LE BOURGEOIS, P.: A natural large chromosomal inversion in *Lactococcus lactis* is mediated by homologous recombination between two insertion sequences. Journal of Bacteriology, 180, 1988, s. 4834-4842.
 51. BOURGOIN, F. - GUEDON, G. - GINTZ, B. - DECARIS, B.: Characterization of a novel insertion sequence, IS1194, in *Streptococcus thermophilus*. Plasmid, 40, 1998, s. 44-49.
 52. ROBINSON, D. A. - HOLLINGSHEAD, S. K. - MUSSER, J. M. - PARKINSON, A. J. - BRILES, D. E. - CRAIN, M. J.: The IS1167 insertion sequence is a phylogenetically informative marker among isolates of serotype 6B *Streptococcus pneumoniae*. Journal of Molecular Evolution, 47, 1998, s. 222-229.
 53. BERGE, A. - RASMUSSEN, M. - BJORCK, L.: Identification of an insertion sequence located in a region encoding virulence factors of *Streptococcus pyogenes*. Infection and Immunity, 66, 1998, s. 3449-3453.

Do redakcie došlo 28.9.1999.

Insertion sequence in bacteria from the genus *Acetobacter* and in other bacteria used in food technology

GRONES, J. - MAČOR, M.: Bull. potrav. Výsk., 39, 2000, p. 117-133.

SUMMARY. Current information shows that insertion sequences are present in bacteria used in biotechnology and in the food technology. In this paper basic information about insertion sequences present in *Acetobacter*, *Lactobacillus* and *Lactococcus* bacterial cells is presented.

KEYWORDS: *Acetobacter*; insertion sequence; *Lactobacillus*; *Lactococcus*; family of insertion sequences