

# Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě  
Univerzity Karlovy v Praze

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> posudek vedoucího | <input checked="" type="checkbox"/> posudek oponenta |
| <input type="checkbox"/> bakalářské práce  | <input checked="" type="checkbox"/> diplomové práce  |

Autor/ka: Lucie Surá

Název práce: Studium transportních proteinů z rodiny Nramp

Studijní program a obor: Fyzika, biofyzika a chemická fyzika

Rok odevzdání: 2009

Jméno a tituly vedoucího/opponenta: RNDr. Aleš Holoubek, PhD.

Pracoviště: Katedra genetiky a mikrobiologie PřF UK, Viničná 5, Praha 2

Kontaktní e-mail: holoubek@natur.cuni.cz

## Odborná úroveň práce:

- vynikající  velmi dobrá  průměrná  podprůměrná  nevyhovující

## Věcné chyby:

- téměř žádné  vzhledem k rozsahu přiměřený počet  méně podstatné četné  závažné

## Výsledky:

- originální  původní i převzaté  netriviální kompilace  citované z literatury  opsané

## Rozsah práce:

- veliký  standardní  dostatečný  nedostatečný

## Grafická, jazyková a formální úroveň:

- vynikající  velmi dobrá  průměrná  podprůměrná  nevyhovující

## Tiskové chyby:

- téměř žádné  vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet  četné

## Celková úroveň práce:

- vynikající  velmi dobrá  průměrná  podprůměrná  nevyhovující

### Slovní vyjádření, komentáře a připomínky vedoucího/oponenta:

Náplní předložené práce je studium transportéru dvojmocných iontů MntH bakterie *E. coli* v upraveném bakteriálním modelovém systému s hyperexprimovaným proteinem. Práce staví na zavedeném měření pH uvnitř bakterií prostřednictvím pH-citlivé varianty fluorescenčního proteinu, pHluorinu, který je exprimován buněčným proteosyntetickým aparátem. Teoretická část je proto hlavně věnována Nramp rodině membránových transportních proteinů a jejich eukaryontním a prokaryontním homologům. Možná by mohly být zmíněny alespoň základní elektrochemické principy transportu přes buněčnou membránu, vlastní transport je však popsán přiměřeným způsobem, zajímavá je kapitola 2.6 podrobněji se zabývající přenašeči a kanály. V experimentální části jsou popsány použité bakteriální kmeny, jejich pěstování a dále potom základní principy fluorescenčního sledování vnitrobuněčného pH pHluorinem a způsoby zpracování dosažených výsledků. V popisu použitých bakteriálních kmenů by bylo vhodné výslovně uvést, že studovaný protein byl v bakteriích hyperexprimován, je to zmíněno až v Závěru. Pro rychlejší orientaci nezavěšeného čtenáře bych doporučoval podrobnější popis použitého způsobu stanovení pufrční kapacity buněk vzhledem k důležitosti tohoto měření pro interpretaci výsledků, viz kapitola 4.2.2. Práce se věnuje dvěma hlavními tématům, odpřaženému transportu protonů proteinem MntH, zároveň s vlivem vybraných jednobodových mutací na tento transport, a vlivu dvojmocných iontů na transport protonů proteinem MntH, odpřažený i spřažený s přenosem iontů  $\text{Cd}^{2+}$ . Diplomantka uvádí dva způsoby zpracování výsledků měření, bez a se započítáním buněčné pufrční kapacity, a diskutuje případný tak vzniklý rozdíl v závěrech vyvozených z experimentálních dat. Odřažený transport protonů byl v této práci pozorován poprvé pro prokaryontní homolog proteinů Nramp, což potvrdilo užitečnost použitého bakteriálního modelu. Celkově je práce pečlivě a přehledně zpracována, je napsána srozumitelnou češtinou, použitá literatura dostatečně pokrývá studovanou problematiku. Diplomantka si osvojila potřebné základní mikrobiologické a biochemické laboratorní techniky a základy fluorescenční spektroskopie. Při interpretaci naměřených dat prokázala porozumění používaným pojmům a principům. Práce je pěkným příkladem použití optimalizovaného fluorescenčního modelu ke studiu biologického problému. Doporučuji práci hodnotit stupněm **výborně**.

### Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

1. Uvádíte dva způsoby zpracování naměřených dat, bez a se započtením buněčné pufrční kapacity, kterému způsobu zpracování byste dala přednost v případě publikování výsledků?
2. Pokud je změřená pufrční kapacita ovlivněna vlastnostmi transportního proteinu MntH, případně bodovou mutací v tomto proteinu, jaký by mohl být konkrétní mechanismus tohoto jevu? Může odpřažený transport záviset na směru transportu protonů?
3. Závisí odpřažený transport spíše na gradientu protonů přes membránu nebo na celkovém elektrochemickém gradientu? Jakou roli by mohl hrát membránový potenciál?

### Práci

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

### Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně  velmi dobře  dobře  neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/oponenta:

PRAHA, 15.5.2008

