

**Posudek na doktoranskou disertační práci Mgr. Jany Goldové
„Studium funkce Ser/Thr proteinkináz a fosfatáz *Pseudomonas aeruginosa*“**

Doktoranská disertační práce Mgr. Jany Goldové „Studium funkce Ser/Thr proteinkináz a fosfatáz *Pseudomonas aeruginosa*“ se týká problematiky přenosu signálu, který je zprostředkován reversibilní fosforylací proteinů. Jedná se o jeden z nejdůležitějších mechanismů přenosu signálu u organismů. Serin/threoninové proteinkinázy a fosfatázy jsou zastoupeny ve všech doménách a proto bakterie mohou sloužit jako model pro pochopení tohoto klíčového regulačního mechanismu. Řešená problematika je velmi aktuální. Práce byla vypracována na Mikrobiologickém ústavu AV ČR, v Laboratoři buněčné signalizace, pod kvalitním odborným vedením RNDr. Pavla Branného, CSc.

Doktoranská disertační práce je napsána pečlivě, obsahuje jen málo překlepů. Z textu práce je zřejmé, že se autorka snažila psát výstižně a s logickou návazností, což se jí podařilo. Práce má 141 stran a je členěna do 6 kapitol. V kapitole Úvod (2 strany) je zdůvodněn význam řešené problematiky v kontextu současného vývoje. Součástí úvodu jsou i Cíle práce, které jsou rozděleny do 2 částí. V kapitole Literární přehled (32 stran) je souhrnnou formou pojednáno o fosforylaci proteinů u eukaryot a prokaryot, o bakteriálním druhu *Pseudomonas aeruginosa*, jeho virulentních faktorech a o sekrečních systémech *P. aeruginosa*. Kapitola Materiál a metody (32 stran) uvádí vedle použitého materiálu širokou škálu mikrobiologických, molekulárně biologických, imunologických, biochemických metod, metod buněčné biologie a metod z oboru bioinformatiky, které autorka použila při řešení zadané problematiky. Velmi cenné jsou metody, které byly použity pro konstrukci a studium delečního mutanta a metody, které umožnily studovat interakce proteinů. Výsledky práce jsou shrnuty v 4. kapitole (34 stran). Pátou kapitolou je diskuse (16 stran), šestou kapitolou Závěr (2 strany). Součástí disertační práce je Abstrakt v českém a anglickém jazyce (1 strana), Seznam použitých zkratk (2 strany) a Seznam použité literatury (10 stran). Ocenění zaslouží grafická úprava práce.

Lze konstatovat, že náročné cíle práce byly splněny. Práce přináší nové poznatky o funkci Ser/Thr proteinkinázy PpkA a fosfatázy PppA. Jedná se o globální regulátory, které se kromě své funkce v sekrečním systému VI podílejí také na regulaci stresové odpovědi a tak ovlivňují virulenci *P. aeruginosa*. Dále bylo prokázáno, že *in vitro* nedochází k fosforylaci fosfatázy Stp1 proteinkinázou Stk1.

Předložená doktorandská disertační práce a její výsledky svědčí o pracovním úsilí a elánu, s kterým autorka přistupovala k řešení náročných úkolů. Výsledky práce byly publikovány formou posterů a přednášek na vědeckých konferencích. Ve formě *in extenso* byly publikovány v jedné práci, jež je v revizi v renomovaném vědeckém periodiku. Mgr. Jana Goldová je spoluautorkou dalších 2 prací.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

- V snamu použitých zkratk nejsou v některých případech uvedeny české ekvivalenty.
- V práci jsou některé překlepy (např. na str. 12, kap. 2.1.1.1, 2. ods, 4. řádek).
- Nejvyšší taxon dnes nese označení Doména (ne Říše), rozlišují se 3 domény.
- Čím se odlišují Stk1 a Stp1 od PpkA a PppA (str.11)?
- Jak je důležitá pro signalizační funkci doba, po kterou je regulační protein ve fosforylovaném stavu?

Doktorandskou disertační práci Mgr. Jany Goldové „Studium funkce Ser/Thr proteinkinázy a fosfatázy *Pseudomonas aeruginosa*“ doporučuji k obhajobě.

V Brně, 29.8.2011

Doc. RNDr. Alena Španová, CSc.