

Posudek disertační práce Mgr. Hany Šanderové

Hana Šanderová předkládá disertační práci s názvem "EF-Tu protein domains: Functions and thermostability". Několikadoménový elongační faktor EF-Tu hraje klíčovou roli v syntéze proteinů. V této práci byla provedena podrobná strukturně funkční analýza tohoto faktoru z bakterií *Bacillus stearothermophilus* a *Escherichia coli*. Pomocí série chimerních mutantů elongačního faktoru obou bakterií byly definovány role jednotlivých domén pro vazbu nukleotidů a jejich vliv na GTPasovou aktivitu a na termostabilitu proteinu. Dále se disertantce podařilo prokázat, že N-koncová sekvence dvanácti aminokyselin klíčově ovlivňuje termostabilitu G-domény EF-Tu faktoru. Získané výsledky byly již publikovány ve 4 mezinárodních časopisech a pátá publikace je připravena k publikování. Výsledky, které jsou zahrnuty v disertaci, prošly mezinárodním oponentováním, což svědčí o jejich kvalitě. Hana Šanderová je první autorkou na 4 z těchto prací.

Disertační práce je předložena ve formě „svázaných publikací“. Obsahuje úvodní část, ve které jsou shrnuty základní informace o EF Tu faktoru. Přestože teoretická část není obsáhlá, umožňuje dobrou orientaci v této problematice. Každý z článků je pak krátce shrnut v kapitole Results and Discussion. Vzhledem k tomu, že výsledky byly již podrobeny revizi při přijímání k publikování do jednotlivých časopisů, mohu konstatovat, že se disertantce podařilo získat řadu originálních výsledků pomocí funkční mutagenese a biochemických experimentů. Práce přesahuje svým rozsahem běžnou úroveň disertačních prací. Úroveň práce je velmi dobrá jak po stránce odborné, tak po stránce grafické. Úplné informativnosti disertace chybí podle mě krátká kapitola shrnující metody, které jsou specifické pro studovanou problematiku. V jednotlivých publikacích nejsou popsány detaily těchto metod a je zde podle zvyklostí uveden odkaz.

K předložené práci mám následující dotazy:

1. Je známo, zdali jsou EF Tu faktory z bakterií *Bacillus stearothermophilus* a *Escherichia coli* fosforylovány?
2. Pomocí výměny N-koncových částí v G-doméně bylo prokázáno, že tato sekvence ovlivňuje termostabilitu této domény. Pokusili jste se pomocí bodových mutací identifikovat aminokyseliny, které významně přispívají k tomuto faktu?

Závěrem mohu konstatovat, že disertační práce Mgr. Hany Šanderové má vysokou úroveň a jednoznačně ji doporučuji přijmout k objasňování.

V Praze dne 11. 6. 2008

Ing. Iva Pichová, CSc.

