

**Posudek na doktoranskou disertační práci Mgr. Petry Pallové
„Dimerizace Ser/Thr proteinkinasy eukaryotického typu *Streptococcus pneumoniae* a
charakterizace jejího substrátu, fosfoglukosaminmutasy GlmM“**

Doktoranská disertační práci Mgr. Petry Pallové „Dimerizace Ser/Thr proteinkinasy eukaryotického typu *Streptococcus pneumoniae* a charakterizace jejího substrátu, fosfoglukosaminmutasy GlmM“ se týká problematiky přenosu signálu u *Streptococcus pneumoniae*, který je zprostředkován proteinkinázami a proteinfosfatázami eukaryotického typu. Fosforylace proteinů je jedním z nejdůležitějších mechanismů přenosu signálu u organismů a veškeré dosud identifikované bakteriální proteinkinasy eukaryontního typu se nacházejí u diferencujících a patogenních bakterií. Enzym fosfoglukosaminmutasa je nezbytný pro syntézu buněčné stěny u všech bakterií. Řešená problematika je proto velmi aktuální. Práce byla vypracována na Mikrobiologickém ústavu AV ČR, v Laboratoři buněčné signalizace, pod velmi kvalitním vedením RNDr. Pavla Branného, CSc.

Doktorandská disertační práce je napsána velmi pečlivě. Z textu práce je zřejmé, že se autorka snažila psát výstižně, srozumitelně a s logickou návazností, což se jí, přes náročnost a složitost řešené problematiky, podařilo. Práce má 120 stran a je členěna do 7 kapitol. V kapitole Úvod (1 strana) je zdůvodněn význam řešené problematiky. V kapitole Literární přehled (27 stran) je souhrnnou formou pojednáno o bakteriálním druhu *Streptococcus pneumoniae*, jeho patogenitě a faktorech virulence, včetně regulace jejich exprese, o přirozené kompetenci a její regulaci. Další část je věnována fosforylaci proteinů jako základnímu mechanismu přenosu signálů, eukaryontním a prokaryontním proteinkinázám, včetně příkladů nepatogenních i patogenních mikroorganismů, u nichž byla prokázána buněčná diference a proteinkinázy eukaryontního typu. Poslední část je věnována enzymatické rodině α -D-fosfohexomutas, mezi něž patří fosfoglukosaminmutasa GlmM. V kapitole Cíl práce (1 strana) jsou výstižně charakterizovány cíle práce, které jsou rozděleny do dvou částí: první část se zaměřuje na studium mechanismu aktivace Ser/Thr proteinkinasy StkP a druhá na charakterizaci fosfoglukosaminmutasy GlmM jako předpokládaného substrátu Ser/Thr proteinkinasy StkP. Kapitola Materiál a metody (21 stran) uvádí vedle použitého materiálu širokou škálu mikrobiologických, molekulárně biologických, imunologických, biochemických a analytických metod, které autorka použila při řešení zadané problematiky. Výsledky práce jsou shrnuty v 5. kapitole (34 stran, 22 obrázků, 7

tabulek). Šestou kapitolou je diskuse (10 stran), sedmou kapitolou Závěr (3 strany). Poslední část představuje Seznam použité literatury (13 stran).

Lze konstatovat, že náročné cíle práce byly splněny. Práce přináší nové poznatky o proteinkinase StkP, která byla lokalizována v membránové frakci, dimerizuje a vykazuje autofosforylační aktivitu. Dále bylo prokázáno, že *in vitro* substrát proteinkinasy StkP je fosfoglukosaminmutasa GlmM, která byla podrobena další analýze. Práce svědčí o pracovním úsilí a elánu, s kterým autorka přistupovala k řešení náročných úkolů. Výsledky práce byly publikovány ve 2 vědeckých pracích v impaktovaných časopisech, v jedné je Mgr. Petra Pallová jako spoluautor a v jedné je jako první autor a dále formou 5 posterů na mezinárodních konferencích a 1 přednáškou na konferenci v ČR s mezinárodní účastí.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

- V Seznamu použitých zkratk na str. 6 nejsou v některých případech uvedeny české ekvivalenty.
- Místo konsensus sekvence lze použít termín sekvence konvenční (str.18) (viz S. Rosypal, Terminologie molekulární biologie, Brno 2001).
- V jednom případě je nepřesně uveden chemický název roztoku (str. 46), v jednom případě chybí hodnota pH komponent používaných pro přípravu reakční směsi (str. 55).
- Při studiu dimerizace proteinu (str. 67, Tab 5.1.) nejsou uvedeny výsledky získané s λ vir mutantem. Jak byl stanoven celkový počet fágových částic používaný při výpočtech účinnosti výsevu?
- Studovaná proteinkinasa StkP eukaryotního typu reguluje celou řadu procesů probíhajících v buňkách *Streptococcus pneumoniae*. Lze očekávat, že bude reagovat s různými substráty?

Doktorandskou disertační práci Mgr. Petry Pallové „Dimerizace Ser/Thr proteinkinasy eukaryotického typu *Streptococcus pneumoniae* a charakterizace jejího substrátu, fosfoglukosaminmutasy GlmM“ doporučuji k obhajobě.

