

Fosfoglukozaminmutáza (GlmM), je enzym biosyntézy buněčné stěny, u kterého byla nedávno prokázána jeho esencialita u *Streptococcus pneumoniae*.

Hlavním cílem této diplomové práce bylo definitivně dokázat esencialitu fosforylace serinových zbytků S99 a S101 enzymu GlmM v podmínkách *in vivo*, jejíž nezbytnost byla již dříve prokázána nepřímo na základě transformační účinnosti. Pro tento účel jsme vytvořili kmen, který obsahuje dvě kopie genu *glmM* – jednu s aminokyselinovými záměnami na sledovaných serinových zbytcích umístěnou v nativním lokusu a druhou ektopickou kopii divoké formy genu *glmM* pod kontrolou inducibilního zinkového promotoru. U tohoto kmene jsme sledovali morfologii, růst i expresi GlmM v prostředí s induktorem i bez něho. Ve všech sledovaných parametrech bylo zřejmé, že bez přidání induktoru ektopické exprese genu *glmM* nejsou buňky životaschopné, a tedy že esenciální protein GlmM je funkční pouze ve fosforylované formě na S99 a S101. Dále jsme se pokusili lokalizovat tento enzym v buňce *S. pneumoniae*. GlmM jsme fúzovali s fluorescenční značkou GFP a pomocí fluorescenční mikroskopie jsme prokázali, že se jedná o cytoplazmatický protein.

Dalším cílem této práce bylo stanovit třetí neznámé místo fosforylace proteinu GlmM *in vitro* závislé na proteinkináze StkP. Z kinázové reakce *in vitro* a následné MS analýzy vyplývá, že kromě zbytků S99 a S101 je protein GlmM fosforylován v pozici T304, S414, T416 a T438 proteinkinázou StkP. Navíc protein GlmM je schopen také autofosforylace na serinových zbytcích v pozicích 99 a 101. Nově určená místa fosforylace budou předmětem dalšího zkoumání.