

**MGR. LIBOR KRÁSNÝ, PHD**

Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i.

Vídeňská 1083

142 20 Praha 4

Tel. +420 241 063 208

e-mail [krasny@biomed.cas.cz](mailto:krasny@biomed.cas.cz)



**Posudek oponenta na dizertační práci Mgr. Jakuba Begana „Intermembránové proteasy z rodiny rhomboidů v prokaryotech: mechanismus, repertoáry substrátů a biologické funkce u Gram-positivní bakterie *Bacillus subtilis*“.**

Tato dizertační práce se zabývá proteázami z rodiny rhomboidů, konkrétně proteázou GlpG z *Escherichia coli* a proteázou YqgP z půdní bakterie *Bacillus subtilis*.

Práce je psána anglicky a je členěna na Abstrakt, Úvod, Materiál a Metody, Výsledky, Diskusi a Shrnutí. Práce je napsána přehledně a srozumitelně. Úvod začíná popisem homeostázy proteinů na membráně a od toho se odvíjí další příběh, popisující kvalitu kontroly proteinů, a posléze věnující hlavní pozornost proteázám z rodiny rhomboidů. Prezentovaná fakta shrnují současné poznání a jsou dostatečným a kvalitním základem pro četbu následujících článků. V textu jsem narazil jen na několik detailů, kde informace mohla být podrobnější/prezentovaná na jiném místě. Příkladem prvního je na str. 4 věta „...*FtsH* of *E. coli*....specifically reduces levels of properly folded active proteins with diverse cellular functions...“ Toto tvrzení je pravdivé, ale vzbuzuje dojem, že *FtsH* se nepodílí na degradaci poškozených/neúplných proteinů, což není pravda – účastní se např. degradace *SsrA*-označených proteinových fragmentů. Příkladem druhého je zařazení popisu katalytického mechanismu na str. 16, ale hodil by se spíš už na stranu 9, aby bylo možné číst statě o architektuře proteáz po této informaci. Toto jsou však naprosté drobnosti, a Úvod je čtivým textem.

Těžištěm práce jsou čtyři publikace, kde JB je ve třech případech spoluautorem (3., 4., respektive 6. v pořadí) a v jednom případě prvním autorem. Jeho prvoautorská práce s jeho majoritním podílem experimentálním byla publikována v renomovaném časopise *EMBO Journal* s impaktem 11.227. Na tuto práci jsou pak zaměřeny mé dotazy.

Celkově se jedná o velmi zdařilou studii, kde byla použita široká škála experimentálních přístupů. JB v této práci identifikoval *MgtE* jako substrát proteázy *YqgP* z *Bacillus subtilis*. *MgtE* je vysokoafinitní transportér  $Mg^{+II}$ . Posléze JB charakterizoval vliv *YqgP* na hydrolýzu *MgtE* v závislosti na přítomnosti různých koncentrací  $Mg^{+II}$  a  $Mn^{+II}$  a ukázal, že po vazbě  $Mn^{+II}$  na N-

terminální cytosolickou doménu YqgP dojde ke štěpení MgtE (a snížení příjmu pro buňku toxického  $Mn^{II}$  v případě jeho nadbytku v okolí a současné nízké koncentrace  $Mg^{II}$ ). YqgP zároveň může fungovat i jako pseudoproteáza, kdy se váže na jinou proteázu FtsH jako substrátový adaptor. Tato práce tak výrazně posunuje naše znalosti o proteáze YqgP a její roli v homeostázi  $Mg^{II}$ .

### Otázky/komentáře:

1/ YqgP je starý název v tzv. „epsilonové“ nomenklatuře indikující ještě neznámou funkci bílkoviny. V SubtiWiki jsou pro tento gen uvedena synonyma glpG,gluP. Proč jste použili ještě starý název?

2/ Zkoušeli jste opačný přístup, tj. identifikovat vazebné partnery MgtE?

3/ Jak moc je adaptorová funkce YqgP pro štěpení MgtE důležitá v divokém kmeni? (jak velký podíl má na degradaci MgtE)?

4/ V Diskusi zmiňujete, že v půdě existuje negativní korelace mezi  $Mg^{II}$  a  $Mn^{II}$ . Souvisí tento vztah nějak s množstvím živin/energie v prostředí? Co je podstatou této závislosti?

5/ Jaké další následné směry byste vytyčil jako pokračování Vaší práce?

Závěrem konstatuji, že dizertační práce působí uceleným dojmem, splňuje požadavky kladené na dizertační práci v oboru, a prezentované výsledky splňují kritéria originální tvůrčí vědecké práce. Dizertační práci doporučuji k obhajobě a přeji uchazečce mnoho úspěchů v další výzkumné práci.

Praha 27. 1. 2020

Mgr. Libor Krásný, PhD