

Vyjádření školitele

Autorka:

Mgr. Věra Ňuňuková

Název disertační práce: *Studium membránových transportních proteinů z rodiny Nramp/MntH a jejich funkce pomocí biofyzikálních metod*

Disertační práce *Věry Ňuňukové* se věnuje membránovému proteinu MntH bakterie *Escherichia coli*, který patří do rodiny sekundárně-aktivních membránových transportních proteinů Nramp transportujících dvojmočné kovové ionty. Ke studiu byl použit experimentální přístup v literatuře většinou označovaný jako „divide and conquer approach“, který spočívá ve využití peptidů odpovídajících sekvencí transmembránovým segmentům (TMS) membránového proteinu jako modelu pro studium struktury, interakce s membránami, vzájemné interakce TM segmentů a také jejich funkce. Přestože uvedeným způsobem byla již studována řada transportních proteinů, v případě MntH jde patrně o první použití tohoto experimentálního přístupu na sekundárně-aktivní transportní protein. Hlavním cílem práce bylo prozkoumat vlastnosti funkčně důležitých transmembránových segmentů č. 1, 3 a 6, vliv manganu, jakožto fyziologického substrátu proteinu, a rovněž vliv funkčně důležitého His²¹¹ na tyto vlastnosti.

Teoretická část disertační práce uvádí čtenáře stručně do problematiky membránového transportu, membránových transportních proteinů, a podrobněji potom do dosavadních znalostí o membránových proteinech z rodiny Nramp/MntH. V rešeršní části práce bych rád ocenil zejména kapitole pojednávající o výše zmiňovaném experimentálním přístupu a dosavadních aplikacích na transportní proteiny. V následující kapitole jsou dostatečně podrobně popsány experimentální techniky využívané v rámci této práce. Experimentální, dle mého názoru nejpřínosnější, část této disertační práce přináší několik velmi zajímavých poznatků, zejména, že:

- Interakce s lipidovou membránou vyvolává asociaci peptidů.
- Peptidy odpovídající transmembránovým segmentům 1, 3 a 6 membránového proteinu MntH jsou schopny vytvářet přes modelovou membránu iontové kanály, přičemž vlastnosti těchto slabě kation-selektivních kanálů jsou do určité míry analogické vlastnostem nativního proteinu – sekundárně aktivního transportního proteinu MntH.
- Neexistuje korelace mezi sekundární strukturou TMS a jejich funkčními vlastnostmi.

Celkově bych chtěl k této disertační práci poznamenat, že má velmi dobrou úroveň, je sepsána přehledně a srozumitelně, má přiměřený rozsah, neobsahuje věcné ani tiskové chyby (nebo jen ve velmi omezeném rozsahu) a přináší cenné původní výsledky, které byly, nebo v nejbližší době budou, publikovány v odborném tisku (celkem 3 původní články jako první autor, z toho dva v recenzovaném časopise s IF a jeden v recenzovaném sborníku, přičemž momentálně jsou 2 již vyšlé a jeden před odesláním k recenznímu řízení do Biopolymers).

Dále bych chtěl dodat, že *Věra Ňuňuková* po celou dobu studia pracovala velmi samostatně, pečlivě a iniciativně. V rámci jejího doktorského studia byl úspěšně realizován grantový projekt GA UK (2007-2009 – grant č.7344/2007). Doktorandka rovněž absolvovala čtyři dlouhodobé pracovní pobyty (04-08/2007, 07-11/2008, 03-06/2009 a 03-06/2010) na spolupracujícím pracovišti ve skupině prof. M.Jelokhani-Niaraki (Department of Chemistry, Wilfried Laurier University, Ontario, Kanada) a zúčastnila se také několika mezinárodních konferencí (X. Annual Linz Winter Workshop – Linz 02/2008; Biophysical Society, 53th Annual Meeting 2009 – Boston 03/2009; Chemical Biophysics Symposium 2009 – Toronto 04/2009), kde prezentovala získané výsledky.

Úspěšným zvládnutím poměrně náročného experimentálního programu doktorandka jasně prokázala, že je schopna přistupovat k řešení zadaných úkolů konstruktivně, systematicky a pečlivě. I díky tomu bylo dosaženo velmi zajímavých a významných experimentálních výsledků, které přispějí k hlubšímu poznání mechanismů transportu membránovými transportními proteiny a také k zamyšlení nad odlišnostmi, resp. některými překvapivými podobnostmi mezi přenašeči a kanály. Disertační práci *Věry Ňuňukové* tedy doporučuji k obhajobě.

V Praze, dne 21.7.2010

RNDr. Roman Chaloupka, Ph.D.

