

## Abstrakt

Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* patří k důležitým modelům při studiu homeostase iontů alkalických kovů. Stejně jako v jiných buňkách je pro *S. cerevisiae* nezbytné udržení určité koncentrace  $K^+$  uvnitř buněk, na druhou stranu  $Na^+$  a další ionty alkalických kovů jsou pro buňky toxické.  $K^+$  je akumulován pomocí uniporterů Trk1 a Trk2, zatímco export toxických iontů alkalických kovů, a také nadbytečného  $K^+$ , je zajištěn ATPasami Ena,  $Na^+(K^+)/H^+$  antiporterem Nha1 a  $K^+$  selektivním kanálem Tok1. Ačkoli jsou jednotlivé transportery poměrně dobře prozkoumány, není dosud mnoho známo o celkové regulaci homeostase iontů alkalických kovů ani o vzájemné interakci a regulaci mezi jednotlivými transportery. V rámci této práce byl studován antiporter Nha1 a jeho fyziologické úlohy v kontextu ostatních transporterů iontů alkalických kovů. Ukázalo se, že nejen Nha1p, ale také další exportery, ATPasy Ena a kanál Tok1, jsou, přes jejich výraznou odlišnost v mechanismu transportu i způsobu regulace, regulovány společně změnou aktivity importerů  $K^+$  a to prostřednictvím membránového potenciálu. Vzájemná regulace a funkční propojení importerů a exporterů  $K^+$ , ale také další výsledky poprvé ukázaly, jak velice důležitá je neustálá cirkulace  $K^+$ , tedy současný vstup a výstup  $K^+$ , pro udržování homeostase iontů alkalických kovů. Ačkoli bylo prokázáno, že homeostáze iontů alkalických kovů a související fyziologické parametry (např. membránový potenciál, velikost buněk či tolerance k solím) mohou být výrazně ovlivněny volbou konkrétního kmene *S. cerevisiae*, byla potvrzena nezastupitelná úloha Nha1p pro přežití buněk v přirozeném prostředí, kde může koncentrace solí výrazně kolísat. V této práci byly znalosti o regulaci Nha1p ještě dále rozšířeny o dva nově nalezené pozitivní regulátory aktivity Nha1p a to 1) proteiny 14-3-3 fyzicky interagující s Nha1p na více místech a 2) kinasu Cka1, která byla dosud známa pouze jako regulátor exprese *ENA1*. Znalosti získané studiem Nha1p byly využity ke studiu lidského  $Na^+/H^+$  antiporteru NHAoc/NHA2 v buňkách *S. cerevisiae* postrádajících vlastní transportery a byly identifikovány aminokyselinové zbytky, jejichž mutací dochází k disfunkci transporteru vedoucí často k závažné chorobě tvorby kostí, osteopetrose. Práce tedy přispěla mnoha novými poznatky k lepšímu pochopení úlohy Nha1p a dalších transporterů v udržování homeostase iontů alkalických kovů a během práce došlo také k přínosu v oblasti metodiky (především měření vnitrobuněčného pH), který v budoucnu umožní další posun v řešené problematice.