

5. SOUHRN

Nejdůležitější výsledky získané v rámci této disertační práce, která přispěla k porozumění fyziologické roli kvasinkových Na^+/H^+ antiporterů plasmatické membrány, je možno shrnout do těchto bodů:

1. Studium kvasinkových Na^+/H^+ antiporterů na úrovni jejich sekvencí (publikace č. 1) ukázalo, že struktura všech tří skupin antiporterů (Nha1, Nhx1 i Kha1) pravděpodobně obsahuje 12 transmembránových segmentů, v sekvencích proteinů jsme našli některé konzervované aminokyseliny či motivy, jež by mohly být významné pro aktivitu antiporterů, a námi provedená fylogenetická studie ukázala, že proteiny Nhx1 jsou příbuzné savčím a rostlinným Na^+/H^+ antiporterům, proteiny Kha1 se zdají být nejpříbuznější s bakteriálními antiportery a Na^+/H^+ antiportery plasmatické membrány (rodina Nha1) tvoří oddělenou vývojovou větev, jejíž představitelé byli doposud charakterizováni jen v houbových organismech.
2. Gen *DhNHA1* kvasinky *D. hansenii* kóduje Na^+/H^+ antiporter plasmatické membrány se širokou substrátovou specifitou (publikace č. 2). Tento protein se tedy může v *D. hansenii* podílet na eliminaci toxických kationtů Na^+ (Li^+) z buněk i na udržování stabilní cytoplasmatické koncentrace K^+ , stálého buněčného objemu a pH cytoplasmy díky své schopnosti exportovat z buněk draselné kationty. V publikaci č. 2 jsme také zjistili sekvenci genu *NHA1* kmene CBS 1793 kvasinky *D. hansenii*; sekvence byla uložena v databázi EMBL pod přístupovým číslem AJ876409.
3. Kvasinka *Y. lipolytica* obsahuje dva Na^+/H^+ antiportery plasmatické membrány s odlišnou úlohou ve fyziologii buněk (publikace č. 3). Protein *YNha1* se v buňkách díky své schopnosti exportovat draselné kationty pravděpodobně účastní udržování stálého vnitrobuněčného obsahu K^+ , stabilního buněčného objemu a cytoplasmatického pH. *YNha2p* se ukázal být velmi účinným systémem pro eliminaci toxických iontů Na^+ (Li^+) z buněk. Tato schopnost *YNha2p* by mohla být využita pro zvýšení tolerance k NaCl průmyslových kmenů *S. cerevisiae* při nižších hodnotách pH prostředí (kap. 4.4).
4. Podobně jako *Y. lipolytica*, i *S. pombe* obsahuje dva různé Na^+/H^+ antiportery plasmatické membrány mající zřejmě odlišné úlohy ve fyziologii buněk (publikace č. 4). Na rozdíl od dříve popsaného antiporteru *Spsod2*, je námi charakterizovaný protein

Spsod22 schopen transportovat K^+ a hrát tak roli v udržování stabilní vnitrobuněčné koncentrace K^+ , stálého buněčného objemu a pH cytoplasmy.

5. Gen *ZrNHA1* nalezený při systematické sekvenaci genomu kmene CBS 732 kvasinky *Z. rouxii* kóduje antiporter se schopností exportovat z buněk sodné i draselné kationty. I tato kvasinka tedy obsahuje kromě proteinu *ZrSod2-22p* eliminujícího z buněk toxické kationty další Na^+/H^+ antiporter plasmatické membrány, který transportuje K^+ a může se tak v buňkách podílet na udržování stabilního obsahu K^+ uvnitř buněk, stálého buněčného objemu anebo cytoplasmatického pH (kap. 4.6).
6. Studium substrátové specifity, transportních vlastností a také pravděpodobných funkcí Na^+/H^+ antiporterů plasmatické membrány z různých, vzájemně nepříbuzných kvasinkových druhů ukázalo, že přítomnost alespoň jednoho antiporteru se schopností exportovat z buněk draselné kationty a podílet se tak na udržování stabilní cytoplasmatické koncentrace K^+ , stálého buněčného objemu či pH cytoplasmy je mezi kvasinkami evolučně konzervovaná. Zdá se tedy, že fyziologická role těchto proteinů je komplexní a nespočívá pouze v podílu na eliminaci toxických kationtů z buněk.
7. Spolupůsobení osmotického a teplotního stresu vede v kvasince *D. hansenii* ke stimulaci jejího růstu, při snížení teploty kultivace na hodnotu vhodnější pro růst kvasinky tento efekt vyššího osmotického tlaku prostředí možné pozorovat není (publikace č. 5). Toto spolupůsobení osmotického a teplotního stresu navíc není typické pouze pro *D. hansenii*, zlepšení růstu v přítomnosti obou stresových podmínek je možno nalézt i u *S. cerevisiae* či *S. pombe*.