

# Vyjádření školitele k disertační práci ing. Stanislavy Kuvikové „Proteolytic maturation and degradation of the Photosystem II D1 protein in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803“.

Komplex fotosystému II (PSII) je jedním ze dvou center zajišťujících fotochemickou přeměnu energie v thylakoidních membránách sinic, řas a rostlin. PSII je neobyčejně citlivý na světlem indukovanou inaktivaci související s unikátní schopností komplexu oxidovat vodu na molekulární kyslík. Nefunkční komplex je však rychle rozpoznán a reaktivován prostřednictvím opravného mechanismu, ve kterém hraje zásadní roli jedna z podjednotek komplexu, bílkovina D1. Ta je syntetizována jako prekurzor, jehož konec je brzy po syntéze proteinu proteolyticky odštěpen. Během opravy PSII je pak protein selektivně odstraněn a nahrazen nově syntetizovanou kopií. Práce Ing. Stanislavy Kuvikové je příspěvkem k poznání mechanismů, jakými je tento protein maturován a posléze odstraňován z komplexu. Jako modelový organismus byla použita sinice *Synechocystis* PCC 6803, kmen, ve kterém lze poměrně dobře provádět genetické manipulace.

Ing. Stanislava Kuviková přišla do naší laboratoře v Třeboni na podzim roku 2002 jako absolventka Vysoké školy zemědělské v Nitře bez větších zkušeností s metodikami potřebnými pro studium výše uvedené tematiky. I přes tento handicap se dokázala poměrně rychle zorientovat a tyto metodiky neobyčejně rychle zvládnout. Kromě standardních metod práce s rekombinantní DNA (PCR, restrikce, ligace, mutagenese, transformace) rutinně využívala i řadu biochemických a biofyzikálních metod používaných při studiu fotosyntézy: měření aktivity PSII ve vývoji kyslíku, absorpční spektroskopie, izolace thylakoidních membrán a především dvojrozměrná elektroforetická analýza komplexů bílkovin, která byla v kombinaci s radioaktivním značením a imunodetekcí jednou z nejdůležitějších metod pro vyhodnocování fenotypu získaných mutantů. Na základě mých každodenních zkušeností z laboratoře, ale i na základě předkládané disertační práce a v ní zahrnutých publikacích v kvalitních zahraničních periodikách se domnívám, že Ing. Stanislava Kuviková úspěšně vyhověla požadavkům na současného doktoranda: zvládla práci s literaturou a v dostatečném rozsahu se seznámila s dosavadními poznatky z dané tematiky, dále zvládla plánování i úspěšné provádění experimentů, srovnávání vlastních výsledků s dosavadními poznatky i psaní publikací.

Samotné výsledky předkládané práce přinášejí některé nové pohledy na studované procesy. Za nejvýznamnější výsledek práce považuji především objasnění role proteázy FtsH (slr0228) jako jedné z hlavních proteáz kontrolujících kvalitu membránových proteinů uvnitř thylakoidní membrány sinice. Tento výsledek do jisté míry otevřel možnost pro overexpresi, izolaci a charakterizaci některých proteinů či jejich komplexů, které se jinak v membráně vyskytují pouze v nepatrném množství a je velmi obtížné je izolovat a charakterizovat. Zjištění funkce proteázy FtsH (slr0228) byl také jeden z cílů projektu GAČR (203/04/0800), z kterého byla práce doktorandky S. Kuvikové významně podporována.

Ing. Stanislava Kuviková po celou dobu doktorandského studia pracovala se zaujetím a domnívám se, že kvalita výsledků i jejich úspěšné opublikování svědčí o dobré úrovni její disertační práce, kterou tak navrhuji k obhajobě.



Doc. RNDr. Josef Komenda, CSc.

školitel

V Třeboni, 28.4.2006