

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Terezy Tiché:

Úloha S-nitrosoglutathionreduktasy a S-nitrosace ve vývoji rostlin a odpovědi na stresové podmínky

Mgr. Tereza Tichá se ve své disertační práci zabývala oxidem dusnatým, syntézou a především degradací S-nitrosoglutathionu pomocí S-nitrosoglutathionreduktasy. Dalším tématem byla S-nitrosylace proteinů jako posttranslační modifikace, která může v případě enzymů ovlivňovat jejich aktivitu. Autorka sledovala tyto děje během vývoje rostlin a zvláště za podmínek stresu, biotického i abiotického.

Předložená disertační práce má klasické členění, každá kapitola je doplněna přílohami ve formě publikací. Teoretická část seznamuje čtenáře podrobně s problematikou reaktivních forem dusíku, oxidu dusnatého a jeho metabolismu i v souvislosti s reaktivními formami kyslíku. V této části bych chtěla vyzdvihnout množství schémat, která velmi názorně text doplňují. Přílohy k teoretické části jsou dvě kapitoly v knihách, v jedné z nich je Mgr. Tereza Tichá první autorkou. Experimentální část popisuje v jedné podkapitole metody, jejich šíře je opravdu úctyhodná, od běžných biochemických metod přes proteomiku, přípravu rekombinantního proteinu, enzymologické studie, molekulárně biologické metody, fyziologické experimenty a konfokální mikroskopii až po práci s rostlinnými patogeny. Výsledková část se skládá z 5 kapitol, po stručném komentáři následuje příloha, tedy publikace. Nechybí samostatná diskuze, která shrnuje všechny studované aspekty a porovnává s velkým množstvím citovaných prací. Rovněž diskuze je doplněna schémata, která si autorka, předpokládám, sama navrhla podle výsledků experimentů.

Mgr. Tereza Tichá předložila velmi kvalitní disertační práci, která vychází ze 7 publikací autorky (2 kapitoly v knize, 5 původních vědeckých článků již publikovaných nebo zaslaných do časopisu, Mgr. Tereza Tichá vždy jako první autor). Navíc je Mgr. Tereza Tichá spoluautorkou dalších publikací, které uvádí v seznamu, ale nejsou přímou součástí disertační práce, celkový počet uvádí 14. Nejenom zajímavé výsledky, ale i celkový počet publikací dokazuje množství práce, kterou autorka během dizertace stihla.

K disertační práci mám následující dotazy:

1. Pro vznik oxidu dusnatého v rostlinách je důležitý enzym nitrátreduktasa. Její exprese i aktivita jsou regulovány mimo jiné dostupností dusičnanů. Nemohlo by souviset množství oxidu dusnatého také s dostupností dusičnanů, eventuálně jiných zdrojů dusíku? Jaký je mechanismus vzniku oxidu dusnatého nitrátreduktasou?
2. Jsou známy nějaké strukturní požadavky na okolí cysteinu, který může podléhat S-nitrosaci? Jaký je vztah mezi oxidací cysteinylových zbytků a S-nitrosací?
3. Je možná transnitrosace mezi proteiny? Nemohl by být substrátem S-nitrosoglutathionreduktasy vedle GSNO i RSNO?
4. Jak pevně jsou vázány zinečnaté ionty v molekule enzymu? Lze je odstranit? Je znám případ nedostatku zinečnatých iontů v rostlinách, který vede k nedostatečné aktivitě S-nitrosoglutathionreduktasy?

Předložená disertační práce má po stránce obsahové i formální vysokou úroveň a plně ji doporučuji přijmout k obhajobě. Souhlasím, aby po úspěšném obhájení disertační práce byla Mgr. Tereze Tiché udělena vědecká hodnost PhD.

Doc. RNDr. Helena Ryšlavá, CSc.

Katedra biochemie

Přírodovědecká fakulta UK v Praze