

## Téma diplomové práce: **Vliv fosforylace flotilinu FloT<sub>Sp</sub> na buněčné dělení a sekreci proteinů u *Streptococcus pneumoniae***

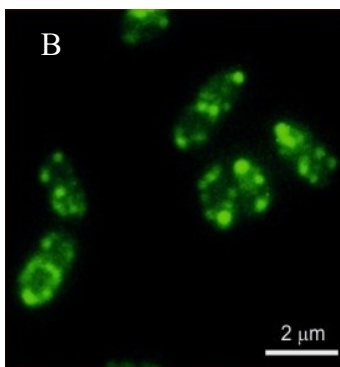
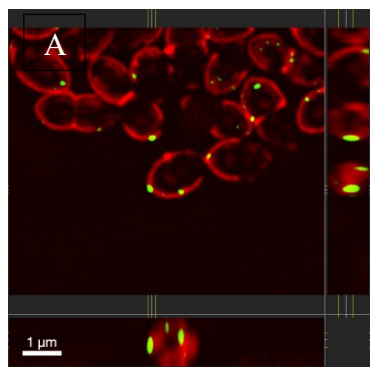
Jedním ze základních procesů, které umožňují existenci života je buněčná signalizace. Jedná se o sofistikovaný mechanismus, který umožňuje přenos informací z vnějšího prostředí a koordinaci buněčných procesů u živých systémů.

Dlouhodobým cílem naší Laboratoře buněčné signalizace je mapování signalizační sítě serin/threoninové (Ser/Thr) proteinkinázy eukaryotického typu a příslušné Ser/Thr fosfatázy a charakterizace jejich substrátů u bakterií. Naším modelovým organismem je grampozitivní patogenní bakterie *Streptococcus pneumoniae*, která kóduje ve svém genomu pouze jednu kopii Ser/Thr proteinkinázy s názvem StkP a k ní příslušné proteinfofatázy PhpP. Tato signalizační dráha reguluje řadu buněčných procesů, včetně buněčného dělení.

Tato práce bude navazovat na velice zdařilou diplomovou práci úspěšně obhájenou v letošním roce 2023, která se věnovala charakterizaci neznámého substrátu proteinkinázy StkP s názvem Spr1962 (FloT<sub>Sp</sub>). Autorce se podařilo odhalit výrazná podobnost s flotilinovým proteinem bakterie *Bacillus subtilis* FloT a mimo jiné nastínit jeho funkci v buněčném dělení, v sekreci a potvrdit fosforylaci T273 pneumokokového proteinu FloT<sub>Sp</sub> kinázou StkP.

Bakteriální funkční membránové mikrodomény (FMM), u eukaryot známé jako lipidické rafty, jsou složeny z fosfolipidové báze, skeletálních scaffold proteinů zvaných flotiliny a proteinovým nákladem tvořeným různými proteiny. Flotiliny jsou evolučně velmi konzervované proteiny, které se vyskytují napříč fylogenetickým systémem od bakterií až po člověka. Flotiliny mají schopnost interagovat s lipidy a oddělit tak definované membránové oblasti. Hypotézou je, že organizují lipidy do struktur s větší hustotou. Navíc mají i skeletální funkci, v jejímž důsledku jsou schopné stabilizovat strukturu mikrodomény a zprostředkovávají inzerci proteinů do membrány i jejich oligomerizaci. Navíc se podílejí na zprostředkování interakcí mezi proteiny mikrodomén, regulaci fluidity membrán, sekreci a transportu. Fosforylace flotilinu zprostředkována proteinkinázou nebyla dosud nikde popsána a pro badatele je velkou výzvou rozluštit význam unikátní fosforylace flotilinu FloT<sub>Sp</sub> u pneumokoka.

**Cílem navrhované diplomové práce bude se zaměřit na rozluštění funkce fosforylace FloT<sub>Sp</sub> v buněčném dělení a sekreci proteinů. Autor se během studia seznámí s řadou moderních molekulárně-biologických metod (fluorescenční mikroskopie, 3D SIM, konfokální mikroskopie, manipulace s DNA, NGS sekvenace, purifikace proteinů, mutagenese, co-IP, bakteriální dvouhybridní systém atd.).**



**FloT<sub>Sp</sub> protein je lokalizován ve shlucích po obvodu buněk s obohacením v septu a na pólech buňky.**

Vizualizace FloT<sub>Sp</sub>-GFP (zelená barva) pomocí 3D super-rezoluční mikroskopie (3D SIM) (A) a pomocí epifluorescenční mikroskopie (B). Bakteriální membrána je obarvena Nile red fluorescenční barvou (červená barva).