



v Českých Budějovicích, 02.11.2022

Oponentský posudek

Disertační práce “Optimalizace výpočetních metod makromolekulární krystalografie při studiu biotechnologických proteinů / Optimization of computational methods of macromolecular crystallography in studies of biotechnological proteins” autora Martina Malého má celkový rozsah 103 stran bez literatury (17 stran) a je napsána v anglickém jazyce.

Martin Malý je autorem/spoluautorem 4 impaktovaných publikací, u dvou z prací je uveden jako hlavní autor. Tato skutečnost poukazuje na jeho kompetenci a schopnost vědeckého působení především v oblasti vývoje softwarových nástrojů.

Název práce je z mého pohledu trochu zavádějící, raději bych zvolila název „Optimalizace výpočetních metod makromolekulární krystalografie a studium biotechnologicky zajímavých/důležitých/významných proteinů“, avšak samotná práce je napsaná téměř bez překlepů. Nicméně by mě zajímalo, jak byste definoval biotechnologický protein? Práce popisuje softwarový nástroj program *PAIREF* automatizující protokol párového upřesňování krystalových struktur, výsledkem kterého je určení optimálního difrakčního limitu dat pro vysoké rozlišení s využitím strukturního modelu. Je známo, že volba tohoto parametru značně ovlivňuje kvalitu výsledného strukturního modelu a měřených difrakčních dat. Program *PAIREF* byl nedávno zahrnut do verze CCP4 8.0, která představuje velký softwarový balíček pro makromolekulární krystalografii. Martin Malý se kromě programu *PAIREF* podílel také na vývoji softwarového nástroje *SHELXIR*, který poskytuje automatizované experimentální fázování se *SHELX C/D/E*. Oba zmiňované softwarové nástroje byly publikovány v prestižních krystalografických časopisech *IUCrJ* (IF 5.588), *J. Appl. Crystallogr* (IF 3.304) nebo *Acta Cryst F* (IF 1.004). Dále je v práci detailně popsána struktura a aktivní místo enzymu modifikujícího tetracykliny z patogenní bakterie *Stenotrophomonas maltophilia*, která je rezistentní vůči širokému spektru antibiotik. Struktura enzymu je blízká enzymové rodině tetracyklinových destruktas, avšak kompozice aktivního místa je z významné části odlišná a unikátní.

Disertační práce je rozdělena na 3 části. Začíná Teoretickým úvodem, ve kterém jsou na 22 stranách vysvětleny základní principy makromolekulární krystalografie a stručně popsány vybrané biofyzikální metody jako i studovaný enzym. Pak následuje druhá nejobsáhlejší část (36 stran) zaměřená na vývoj a implementaci metody *PAIREF*. Třetí část (22 stran) se pak věnuje krystalografické analýze enzymu modifikujícího tetracykliny z patogenní bakterie *S. maltophilia* a popisuje jeho strukturu a aktivní místo.

Text disertační práce je čtivý, doplněn je názornými tabulkami, grafy a obrázky. Jako jediný nedostatek považuji velikost písma v některých obrázcích a jejich popisky, které jsou velmi špatně čitelné.

K práci mám pár dotazů:

1. Jsou známy také jiné proteiny, které krystalizují jako multimery i když v roztocích existují primárně v monomerní formě. Můžete uvést nějaký další příklad?
2. Struktura enzymu je blízká enzymové rodině tetracyklinových destruktas, avšak kompozice aktivního místa je z významné části odlišná a unikátní. Čím si tento fakt vysvětlujete?
3. Jaký je mechanismus působení destruktas? K jaké reakci působením těchto enzymů dochází? Jak strukturně vypadají tetracyklinová ATB?
4. Pro jak velké proteinové systémy lze *PAIREF* použít? Máte představu, o kolik selepší rozlišení při použití programu *PAIREF*?
5. Víte, jak velká je chybovost ve strukturách uložených v PDB databáze?

Předloženou práci považuji za kvalitní, dobře zpracovanou, zajímavou a především důležitou pro všechny krystalografy a kolegy, kteří se zabývají řešením proteinových struktur.

Předložená práce splňuje požadavky kladené na disertační práce doktorského studia, proto doporučuji práci přijmout jako podklad k obhajobě.

University of South Bohemia
FACULTY OF SCIENCE
BRANIŠOVSKÁ 1760
CZ - 370 05 ČESKÉ BUDĚJOVICE
CZECH REPUBLIC

prof. Mgr. Ivana Kutá Smatanová, Ph.D.
Ústav chemie PŘF
Jihočeská univerzita v ČB
Branišovská 1760
370 05 České Budějovice
+420 608 106 109
ivanaks@seznam.cz (kuta@prf.jcu.cz)