

Posudek na disertační práci Ing. Leony Švecové
“X-ray structural analysis of flavin- and Cu-dependent oxidoreductases
for biotechnological and medical purposes”

Disertační práce Ing. Leony Švecové se zabývá dvěma enzymy, které spojuje potenciální biotechnologická aplikace využívající jejich schopnosti oxidace různých látek. Jedná se o oxidoreduktázu z houby *Chaetomium thermophilum* (CtFDO), což je enzym degradující lignocelulózu. Dále je to bilirubin oxidáza z rostlinného patogenu *Myrothecium verrucaria* (MvBOx). Oba enzymy byly získány od firmy Novozymes. Strukturní analýza, měření katalytických aktivit a biofyzikální charakterizace obou enzymů má za cíl pochopit princip funkce těchto enzymů.

Práce na bilirubin oxidáze navazuje na diplomovou práci Ing. Leony Švecové a na starší práce jiných autorů. Pomocí monokrystalové rtg. difrakční analýzy byly vyřešeny tři nové struktury bilirubin oxidázy (PDB kódy 6I3K, 6I3J a 6I3L), a to struktura s ligandem, struktura s mutací ve vazebném místě a struktura s mutací i ligandem. Pozornost je věnována pochopení významu neobvyklé kovalentní vazby Trp396–His398 v aktivním místě enzymu.

Práce na oxidoreduktáze CtFDO je zcela nová. Jedná se o enzym, který nebyl doposud popsán a jehož substrát není znám. Ing. Leona Švecová věnovala velké úsilí jeho charakterizaci a pokusům o nalezení substrátu, který nakonec nalezen nebyl, přestože bylo testováno asi 1000 potenciálních substrátů. Proto kromě rtg. struktury tohoto enzymu (PDB kód 6ZE2) vyřešila Ing. Leona Švecová sérii struktur s navázanými fragmenty (PDB kódy 6ZE3, 6ZE4, 6ZE5, 6ZE6, 6ZE7 a 7AA2), což umožnilo získat představu o charakteru substrátu enzymu a o způsobu jeho vazby.

Ing. Leona Švecová vykonala předkládanou práci samostatně: měření aktivit, charakterizaci enzymů (velikost, oligomerizace, vliv deglykosylace, spektrometrie flavinu v aktivním místě CtFDO), krystalizaci, měření difrakce, řešení struktur. Její práce byla doplněna v těchto aspektech: Enzymy byly produkovány a purifikovány ve firmě Novozymes. Bilirubin oxidáza byla vykrystalizována Mgr. Tomášem Koval'em, Ph.D. Velkokapacitní screening aktivit CtFDO byl proveden v laboratoři Mgr. David Sedláka Ph.D. a hmotnostní fotometrii naměřila Sofia Ferreira, Ph.D. Další měření byly provedeny v rámci služeb (hmotnostní spektrometrie).

Předkládaná práce ukazuje schopnost samostatné vědecké práce a doporučuji její přijetí k obhajobě.

V Praze dne 12.7.2021

RNDr. Tereza Skálová, Ph.D., školitelka