

Oponentský posudek bakalářské práce
Karolína Špeldová: Krystalografické testování ligandů S1-P1 nukleasy

Tématem bakalářské práce Karolíny Špeldové bylo krystalografické studium nukleasy z gramnegativní bakterie *Stenotrophomonas maltophilia*. Enzym sám patří do rodiny S1-P1 nukleas a jeho výzkum souvisí s hledáním případného inhibitoru. V předložené práci byla použita celá řada technik a metodik, počínaje testováním kvality proteinového vzorku, dále různé krystalizační techniky, namáčení krystalů v roztocích potencionálních ligandů v rámci tzv. „fragment screeningu“, měření rentgenové difrakce a zpracování dat moderními matematickými postupy.

Předložená bakalářská práce má 47 stran, 11 obrázků, 3 tabulky a je členěna klasickým způsobem. Seznam literatury obsahuje 27 citací odborné literatury. Práce je psána čtivě, srozumitelně a má i dobrou grafickou úroveň. Teoretická část práce velmi dobře charakterizuje použité metody a vysvětluje jejich místo v rámci celého pracovního projektu. Experimentální část, přestože v rámci textu zahrnuje pouhých 10 stran, představuje ve skutečnosti pozoruhodné množství vykonané práce. Závěrečným výsledkem je pak úspěšné vyřešení několika proteinových struktur na atomární úrovni, ve dvou případech ze tří je uvnitř struktur navázán i nízkomolekulární ligand.

K práci mám několik poznámek:

- 1) V rámci úvodu by možná bývalo vhodné vysvětlit, proč má význam hledat inhibitor nukleasy daného mikroorganismu. Bývá zvykem rovněž uvést primární sktrukturu proteinu, případně použitého proteinového konstruktu.
- 2) Jak už je uvedeno v části Diskuse, jsou získané mapy elektronových hustot poměrně nezřetelné a zasloužily by si větší upřesnění.

Dále mám tyto dotazy:

1. Z jakého důvodu byly k testování vybrány právě uvedené ligandy? Jedná se o část rozsáhlejší práce a ostatní experimenty nebyly úspěšné, či byly testovány skutečně jen tyto tři?

2. Byla doba namáčení krystalů nějak optimalizována? Docházelo při delším čase k rozpouštění, či zhoršování kvality krystalů?
3. Zjednodušilo by práci, pokud by byl přidán kryoprotektant rovnou do roztoku inhibitoru při namáčení? Byl takový postup testován?

Na závěr konstatuji, že předložená bakalářská práce splnila dle mého názoru svoje zadání, považuji ji za vysoce kvalitní a hodnotím ji stupněm A.

V Praze 20. 8. 2021

RNDr. Jiří Pavlíček, Ph.D.