



Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

**ÚSTAV FYZIKÁLNÍ BIOLOGIE**

Nový Zámek č.p. 136

373 33 Nové Hradky

DIČ 60076658

České Budějovice, 21.5.2007

**Posudek školitele na magisterskou práci Jiřího Emmera, Bc.**

Téma bakalářské práce: STRUCTURAL STUDIES OF THE HALOALKANE DEHALOGENASE MUTANT (DHA12) FROM *Rhodococcus rhodochrous*

Předložená magisterská práce vznikla v rámci spolupráce ÚFB JU v ČB se sídlem na Nových Hradech a MU Brno. Spolupráce s Doc. Jiřím Damborským (Loschmidt laboratoře MU Brno) byla navázána v roce 2006 a pokračuje v rámci projektu MŠMT LC06010 „Centrum biokatalýzy a biotransformací“. Projekt je částečně zaměřen na strukturní studie nově připravovaných mutantních haloalkan dehalogenáz, studium struktury a funkce kterých má přispět ke komplexnímu popisu haloalkan dehalogenázové rodiny.

Student Jiří Emmer se zabýval strukturní studií jedné mutantní haloalkan dehalogenázy DhaA12, která je mutantem mezi známou DhaA a nově objevenou DbjA. DhaA12 má sekvenci enzymu DhaA, která se liší unikátní sekvencí z enzymu DbjA a dalšími bodovými substitucemi v oblasti tunelu a aktivního místa navrženými tak, aby se aktivní místo podobalo DbjA s cílem objasnit skutečnost, že DbjA je enantioselektivní s řadou substrátů, se kterými DhaA enantioselektivní není.

Jiří Emmer začal na projektu pracovat v polovině roku 2006, kdy obdržel purifikovaný protein DhaA12. Student provedl několik sérií krystalizačních experimentů s použitím komerčně dostupných sad krystalizačních roztoků a také s roztoky připravenými přímo v laboratoři, ke kterým využil jednu z nejčastěji používaných standardních krystalizačních technik – metodu založenou na difúzi par v sedící kapce. V průběhu několika týdnů, po provedení optimalizačních krystalizačních kroků a především díky velkému štěstí se mu podařilo vypěstovat bezbarvé jehlicovité krystaly enzymu v kvalitě vhodné k difrakčnímu měření. Krystaly proteinu DhaA12 byly testovány a následně změřeny na proteinovém difraktometru na ÚMG AV ČR. Za asistence konzultanta student vyřešil a popsal strukturu studovaného proteinu.

Jiří Emmer pracoval na projektu se zájmem především poslední měsíce před odevzdáním diplomové práce. Oceňuji samostatnost, s jakou přistupoval k získávání informací nezbytných ke studiu uvedeného proteinu.

Z důvodu mezinárodního charakteru spolupráce je text magisterské práce napsán v anglickém jazyce, je doplněn přehlednými schémata a obrázky.

Vzhledem k výše uvedenému konstatuji, že cíle magisterské práce byly splněny a práci doporučuji k obhajobě.

Mgr. Ivana Kutá Smatanová, Ph.D.

