

Doc. RNDr. Jan Konvalinka CSc.  
Skupina proteas lidských patogenů  
Flemingovo n. 2  
166 10 Praha 6

Telefon +220 183 218  
fax +220 183 578  
e-mail konval@uochb.cas.cz

## **Posudek školitele na diplomovou práci Michala Svobody „Studium mechanismu účinku metallakarbonových inhibitorů HIV proteasy“**

Michal Svoboda dostal ve své diplomové práci velmi obtížný, možná neřešitelný úkol. Cílem bylo a je připravit nástroje (rekombinantní proteiny a experimentální techniky) ke studiu vazby nových inhibitorů HIV proteasy, které se vážou mimo aktivní místo enzymu. Existující krystalové struktury komplexu enzym inhibitor sice vazné místo ukazují, ale nelze vyloučit, že se může jednat i o krystalografický artefakt, a proto bylo nutno vyvinout alternativní experimentální přístup. Protože metoda proteinové NMR, která by se nabízela, je u HIV proteasy z řady důvodů takřka neschůdná, rozhodli jsme se s Michalem vyvinout novou, v naší laboratoři dosud nevyzkoušenou metodu elektronové paramagnetické resonance (EPR). Abychom ji v tomto případě mohli vůbec použít, potřebovali jsme připravit celou sérii bodové mutovaných rekombinantních proteinů a vypracovat příslušné experimentální techniky značení proteinu spinovou značkou a měření spekter EPR. To se nakonec po dlouhé, mravenčí práci Michalovi podařilo: naklonoval 11 rekombinantních mutovaných proteinů, pět z nich plně charakterizoval a nakonec připravil a ověřil i mutovaný protein modifikovaný spinovou značkou. Tyto výsledky a experimentální metodiky budou použity nejen v další práci Michala Svobody, ale i pro celou řadu dalších projektů týkajících se mechanismu účinku HIV proteasy v naší laboratoři.

Michal na své práci pracoval skvěle, s velkým zaujetím a nadšeně a jeho diplomovou práci plně doporučuji k dalšímu řízení.

Praha 9.9. 2011

Jan Konvalinka