



## **Posudek školitelky na bakalářskou práci Anety Šmídové**

### **„Studium stability katalytické domény neutrální trehalasy pomocí diferenční skenovací fluorimetrie“**

Bakalářská práce Anety Šmídové je součástí projektu zaměřeného na studium mechanismu regulace kvasničného enzymu neutrální trehalasy Nth1 prostřednictvím proteinů 14-3-3. Jedním z hlavních cílů našeho výzkumu je též objasnění struktury tohoto enzymu.

Hlavním cílem bakalářské práce Anety Šmídové byla exprese a purifikace dvou různých konstruktů katalytické domény neutrální trehalasy Nth1 (sekvence 100 - 751; sekvence 153 - 751) a ověření jejich teplotní stability v pufrch o různém pH a iontové síle pomocí diferenční skenovací fluorimetrie. Následně byl u obou konstruktů takto určen pufr, ve kterém protein vykazoval nejvyšší teplotu tání a tudíž nejvyšší stabilitu. Po úspěšném zvládnutí této části projektu Aneta Šmídová ověřila výsledky diferenční skenovací fluorimetrie u kratšího z konstruktů změnou pufru pro gelovou permeační chromatografii. Teplota tání u kratšího konstruktů Nth1 byla nejvyšší v roztoku octanu amonného a chloridu sodného. Byly tedy připraveny dvě varianty roztoků soli: jedna varianta obsahovala vyšší koncentraci octanu amonného (20 mM) a druhá nižší (1 mM). Aneta ukázala, že protein byl stabilní a neagregoval v ani jednom z roztoků, pro krystalografii bude tudíž vhodná varianta s nižší koncentrací octanu amonného (1 mM).

Bakalářská práce Anety Šmídové představuje důležitý krok v našem projektu, který je zaměřen na krystalografii enzymu neutrální trehalasy, neboť výběr vhodného pufru je klíčovým krokem pro krystalizaci proteinu.

Aneta Šmídová se během práce na své bakalářské práci stala součástí naší laboratoře a na svém projektu pracovala s velkým zájmem a trpělivostí. Rychle a dokonale zvládla celé spektrum metod proteinové biochemie (příprava pufrů, exprese a purifikace proteinů, SDS-PAGE, DSF). Ukázala, že dokáže pracovat velmi pečlivě a samostatně.

Myslím si proto, že bakalářská práce Anety Šmídové splňuje všechny požadavky kladené na bakalářskou práci a plně ji doporučuji přijmout k obhajobě a klasifikovat známkou výborně.

V Praze dne 28. 7. 2014

RNDr. Veronika Obšilová, PhD.