

Posudek školitele diplomové práce

Jméno a příjmení uchazečky: Barbora Landová

Název práce:

Strukturní studie mechanismů opravy poškozené DNA Nei glykosylasou

Hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte známkou ve standardní stupnici 1 až 4)

1. Samostatnost uchazečky

Ve fázi zpřesňování tématu práce	1
Během zpracování zadaného tématu	1
Při sepisování práce	1

2. Komunikativnost, schopnost spolupráce 1

3. Zájem o práci a pracovní nasazení uchazečky 1

4. Spolehlivost a plnění zadaných úkolů 1

Případný slovní komentář k bodům 1. až 3. :

Předmětem studia této práce bylo objasnění mechanismů vzniku a opravy meziřetězcových kovalentních spojení DNA. Ta vznikají spontánními procesy *in vitro* a tudíž nevyhnutelně i *in vivo*.

Hlavním cílem byla příprava a charakterizace tvorby kovalentního spojení DNA *in vitro* a studium jeho opravy na molekulární úrovni. Za tímto účelem studentka pracovala jak na enzymu NEIL3 pocházejícím z eukaryotických zdrojů, tak na jeho homologním prokaryotickém protějšku fpg pocházejícím z modelového organismu *Neisseria meningitidis*. Její výsledky přispějí k porozumění reakčního mechanismu opravy poškozené DNA a genomové integrity.

Studentka přistoupila k plnění zadání projektu velmi svědomitě a důkladně. První částí její práce byla produkce, optimalizace a purifikace nativního poškození DNA. Toto poškození bylo použito na další studie. Součástí bylo rovněž zjistit jak chemické tak i strukturní podmínky tvorby tohoto poškození. Důraz byl kladen na studium vlivu okolní sekvence DNA.

Dalším cílem byla enzymová analýza a testy aktivit konstruktů enzymů zodpovědných za opravu NEIL3 a fpg s různými substráty DNA. Studentka rovněž pracovala na proteinové krystalizaci těchto proteinů jak samotných tak ve formě s navázaným substrátem. Studentka taktéž krystalizovala i samotné poškození DNA, ale přes veškerou snahu se nepodařilo získat krystaly rozptylující na úroveň atomárního rozlišení. Takže tato data nebyla použita k vyřešení atomární struktury tohoto poškození. Tyto obtížné projekty budou nadále intenzivně řešeny v naší laboratoři. Nicméně studentka úspěšně vykryštovala enzym fpg a vyřešila jeho strukturu, tento výsledek nyní připravujeme k publikování.

Barbora Landová byla velmi pracovitá a její schopnost komunikace a spolupráce překonala očekávání. Rovněž její výsledky charakterizující tvorbu kovalentních meziřetězcových spojení DNA budou zcela jistě základem další publikace. Studentka vyřešila krystalovou strukturu enzymu fpg. Započala projekty krystalizace poškození DNA a obdržela mono-krystaly, bohužel nebylo možné změřit data. V neposlední řadě učinila velkou řadu kinetických měření jak enzymatických tak při úspěšné charakterizaci tvorby meziřetězcových poškození DNA *in vitro*. Tyto výsledky a odvedenou práci hodnotím též výborně.

Stanovisko k opravě chyb v práci:
opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Práci doporučuji k přijetí k dalšímu řízení: ANO

Navrhovaná celková klasifikace: **Výborně**

Datum vypracování posudku: 15. 05. 2019

Jméno a příjmení, podpis školitele (SIS): RNDr. Jan Šilhán, PhD