

## Abstrakt

Předkládaná diplomová práce je součástí projektu, jehož cílem je vyřešení struktury trehalasové domény neutrální trehalasy Nth1 pocházející ze *Saccharomyces cerevisiae*. Hlavním cílem této diplomové práce je příprava nových konstruktů kvasničné Nth1 a optimalizace jejich purifikačních protokolů, dále pak výběr nejvhodnějšího pufru pro hledání krystalografických podmínek pomocí metody diferenční skenovací fluorimetrie (DSF) a následná krystalizace připraveného proteinu. Další částí diplomové práce je stanovení enzymové aktivity Nth1 WT a jejích mutantních forem za přítomnosti proteinu Bmh1, dále pak ověření vazby trehalosy na vybrané konstrukty Nth1 pomocí DSF a mikrotermoforézy (MST) a následná krystalizace s trehalosou.

Neutrální trehalasa se řadí mezi vysoce konzervované trehalasy, které byly objeveny v široké škále organismů. Tyto enzymy patří do třídy hydrolas, podskupiny glykosidas, hydrolyticky štěpí molekulu trehalosy na dvě molekuly glukosy. Trehalosa je přirozeně se vyskytující neredukující disacharid, který slouží v buňkách kvasinek jako zdroj uhlíku a energie a dále jako ochrana před stresy jako je např. tepelný šok. Hydrolýza trehalosy je životně důležitá pro létavý hmyz, neboť je přítomná jako hlavní cukerná složka hemolymfy hmyzu, proto inhibitory trehalas mohou být využity jako selektivní insekticidy. Do této doby byla vyřešena pouze jediná struktura trehalasy z prokaryotního organismu *Escherichia coli*. Z tohoto důvodu je velmi důležité vyřešit strukturu trehalasy z eukaryotního organismu.

### Klíčová slova

Neutrální trehalasa, MST, DSF, proteinová krystalografie

### Klíčové předměty

Proteinová biochemie, biofyzikální chemie