

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Jana Palackého

„*Biologically important non-canonical structures of nucleic acids in complexes with cationic porphyrins*“

Disertační práce Mgr. Jana Palackého je zaměřena na spektroskopické studium struktury a konformace modelových segmentů nukleových kyselin schopných tvořit guaninové kvadruplexy. Jedná se například o systémy tvořené základní lidskou teplomerní sekvencí $G_3(TTAG_3)_3$ nebo trombinovým aptamerem. V práci je též diskutována možnost využití porfyrinových derivátů jako sond reagujících na konformační vlastnosti kvadruplexů.

Předložená práce je členěna klasicky. Po úvodu s výstižně zpracovaným shrnutím současného stavu problematiky (61 stran) následuje část experimentální stručně popisující nejen přípravu vzorků a podmínky měření, ale i metodu singulárního rozkladu (SVD) zvolenou pro statistické zpracování získaných spektrálních dat (28 stran). Zde je třeba vyzdvihnout, že se aspirant osobně podílel na algoritmizaci této metody v programu Matlab. Následuje přehledné a výstižné shrnutí výsledků spolu s jejich diskusí (54 stran) a závěr (4 strany). Výsledková část je doplněna třemi příloženými publikacemi v mezinárodních impaktovaných časopisech (57 stran, včetně „Supplementary Information“). Ve dvou z nich je aspirant uveden jako první autor a v jedné jako autor druhý. Úctyhodný je seznam použité literatury, se kterou aspirant pracoval.

Aktuálnost zvoleného tématu: Strukturní studie systémů popsanych v předložené práci jsou významné především z hlediska objasnění základních mechanismů funkce a regulace biologických systémů, včetně replikace či transkripce nukleových kyselin. Zvolené téma proto považuji za velmi aktuální a přínosné.

Zvolené metody a postupy: Aspirant ke splnění cílů své práce využil především Ramanovu spektroskopii, v některých případech doplněnou o spektroskopii elektronového cirkulárního dichroismu, absorpční spektrometrii, gelovou elektroforézu, mikrokolorimetrii, NMR nebo metody počítačových simulací. Získané série spekter pak detailně analyzoval pomocí algoritmu singulárního rozkladu, kdy výsledky v některých případech nadále využil k získání termodynamických parametrů. Kombinaci experimentálního přístupu a pečlivého a detailního zpracování získaných dat považuji za velmi užitečnou, nadstandardní, u takto složitých systémů však za vysoce žádoucí.

Výsledky disertace a nové poznatky: Práce přináší celou řadu nových poznatků, o čemž nejlépe svědčí v tuto chvíli tři články publikované v renomovaných mezinárodních periodikách. Tato skutečnost mi do jisté míry ulehčuje práci oponenta, neboť tyto práce již prošly recenzním řízením. Osobně za nejzajímavější považuji výsledky strukturní studie kvadruplexu lidské teplomerní sekvence $G_3(TTAG_3)_3$, v rámci níž byly realizovány i rozsáhlé teplotní experimenty (kapitola 3.2). Přestože je předložená disertační práce cílena do oblasti primárního výzkumu, prezentuje

Ramanovu spektroskopii jako potenciálně velmi zajímavý praktický nástroj studia struktury takto složitých molekulárních systémů.

Kvalita zpracování disertace: Práce je psána v anglickém jazyce s naprostým minimem jazykových neobratností či překlepů, což přispívá k velmi dobré srozumitelnosti. Svým rozsahem jsou jednotlivé kapitoly vyvážené a pečlivě zpracované. Z formálního hlediska lze vytknout snad pouze to, že některé obrázky jsou v textu prezentovány o mnoho stran později, než kde jsou poprvé komentovány (např. obrázky 55, 56 a další).

I přes vysokou aktuálnost řešené problematiky, pečlivé provedení experimentů a detailní zpracování získaných spektrálních dat se nabízí některé otázky či náměty do diskuse:

- 1) Ačkoliv v souladu s literárními prameny konstatujete (strana 72), že přítomnost lithia ve formě kakodylátového pufru nemá zásadní vliv na vznik a stabilitu guaninových kvadruplexů, byla ověřena platnost tohoto tvrzení pro systémy za vámi studovaných koncentračních podmínek? Případně jakým způsobem?
- 2) V práci je pro metodu elektronového cirkulárního dichroismu zavedena - předpokládám spíše z historického důvodu - zkratka CD. Z dnešního pohledu je však toto označení nepřesné. Mohl byste vysvětlit, jakým způsobem dnes klasifikujeme metody cirkulárního dichroismu a stručně vysvětlit rozdíly?

Závěrem lze konstatovat, že předložená disertační práce prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé práci, o čemž svědčí i 3 publikace vzniklé na základě výsledků této disertační práce. Vyvozené závěry jsou v souladu s obecnými dosud akceptovanými poznatky, výše uvedené připomínky nesnižují dobrou úroveň předkládané práce, proto mohu tuto práci doporučit k probíhající obhajobě.

V Praze dne 17.1.2013

Doc. Ing. Vladimír Setnička, Ph.D.
Ústav analytické chemie VŠCHT v Praze