

*Posudek vedoucího diplomové práce na diplomovou práci Barbory Láskové*

(studijní program : biofyzika a chemická fyzika)

## **„Studium komplexů kationických porfyrinů s nukleovými kyselinami pomocí spektroskopie povrchem zesíleného resonančního Ramanova rozptylu“**

Od náhodného objevu Martina Fleischmana před 30 lety nepřestávají pokusy využít spektroskopii povrchem zesíleného Ramanova rozptylu (SERS) a příbuzných metod založených na zesilujícím účinku kovových nanostruktur téměř ve všech oblastech, kde se předtím používala Ramanova spektroskopie. Důvod je jasný. Obrovské zesílení Ramanova signálu posouvá detekční limity daleko za hranice ostatních optických spektroskopických metod, snad s výjimkou fluorescence. I v porovnání s fluorescencí však některé SERS-aktivní systémy vykazují srovnatelnou nebo dokonce vyšší citlivost umožňující - za určitých okolností - studovat vibrační spektrum jediné molekuly. Větší informační obsah vibračního spektra pak SERS jednoznačně zvýhodňuje i oproti fluorescence. Mohlo by se proto zdát, že SERS je ideální metoda pro studium látek v extrémně nízkých koncentracích, s velkou perspektivou zejména v biofyzikálním a biomedicínském výzkumu.

Korektní využití metod SERS pro analytické a strukturní studie v biofyzice, biochemii a biologii je však spojeno s řadou problémů souvisejících s mechanizmem samotného jevu. Aby k zesílení rozptylu vůbec mohlo dojít, musí se analyzovaná molekula nebo komplex dostat do těsné blízkosti nebo přímého kontaktu s povrchem kovové nanostruktury. Tento kontakt nemusí být pro řadu molekul a komplexů bez následků, proto je při interpretaci výsledků SERS nutno postupovat opatrně. Některé SERS-aktivní systémy se vyznačují vysokou variabilitou svých vlastností, které navíc závisí na těžce kontrolovatelných parametrech. Silná lokální elektromagnetická pole v okolí nanočastic můžou vyvolat fotochemické procesy, ke kterým by normálně nedocházelo. Zdánlivá jednoduchost SERS experimentů a neznalost možných zdrojů artefaktů vede zejména nepoučené experimentátoři k nepodloženým a často nesprávným závěrům.

Předkládána diplomová práce Barbory Láskové se zabývá kritickým posouzením jedné takové aplikace. Zabývá se studiem struktury komplexů nukleových kyselin s kationickými porfyrinami pomocí SERS spektroskopie. Počátečním impulzem byly publikace jiných autorů, kde se lokalizace porfyrinu v G-kvadruplexech dedukovala z celkové intenzity SERS signálu na základě neověřeného předpokladu, že vazebné módy ukrývající porfyrin uvnitř komplexu budou vykazovat slabší SERS signál, kdežto komplexy s molekulou porfyrinu exponovanou na povrchu se projeví silným signálem. Testování této hypotézy pomocí komplexů s dobré známým způsobem vazby a strukturou přineslo překvapivé zjištění, že celková intenzita SERS signálu se způsobem vazby souvisí úplně jiným způsobem. Podrobným studiem SERS-aktivních systémů různých vlastností bylo navíc zjištěno, že intenzitu SERS ovlivňuje řada dalších faktorů, bez znalostí kterých ztrácí informace o intenzitě jakoukoliv vypovídací hodnotu.

Postihnutí možných zdrojů artefaktů a kvantitativní posouzení jejich vlivu pro modelové systémy pak tvořilo podstatnou část diplomové práce.

Diplomová práce představovala součást projektu: „Biologicky a terapeuticky významné komplexy kationických porfirinů a nukleových kyselin“ (GAUK 224/2006/B-FYZ/MFF), řešeného v OFB FÚ UK. Diplomatka pracovala systematicky a trpělivě, a to po celou dobu trvání diplomové práce. Projevila spolehlivost a pečlivost při zdolouhavých a mnohokrát opakovaných měřeních a kritickém vyhodnocování mnohdy nejednoznačných výsledků.

Po formální stránce je diplomová práce zpracována přehledně, se snahou zachytit a popsat problémy, na které jsme postupně narazili, i obtíže spojené s hledáním správného postupu při jejich řešení. Závěry odpovídají dosaženým výsledkům a zcela naplňují původní cíle a zadání diplomové práce. Některé výsledky byly natolik zajímavé, že byly již v průběhu diplomové práce prezentovány na mezinárodních konferencích (ECSBM 2007 v Paříži a ICORS 2008 v Londýně) a budou publikovány.

Závěrem konstatuji, že předložená diplomová práce Barbory Láskové splňuje podmínky kladené na diplomovou práci, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě a hodnotit stupněm **výborně**.

v Praze, 15. září 2008

Doc. RNDr. Peter Mojzeš, CSc.

vedoucí diplomové práce

