



Oponentský posudek dizertační práce Ing. Shirley Espinozy-Herrery na téma:
„Function of magnesium ions in the formation of biologically-active nucleic acids structures“

Předložená dizertační práce se zabývá studiem vlastností vybraných modelových RNA a DNA systémů. Tyto systémy jsou schopny vytvářet zajímavé strukturní motivy (například vlásenky a třířetězcové struktury), které jsou současné době studovány jako potenciální cílová místa některých farmakologických aplikací. Předchozí práce ukázaly, že pro vznik některých strukturních motivů je nezbytná přítomnost hořčnatých iontů, přičemž jejich přesná role při vzniku těchto struktur nebyla ještě zcela objasněna. Autorka posuzovala, primárně pomocí Ramanovy spektroskopie, vliv zmíněných hořčnatých iontů na strukturu a teplotní stabilitu motivů, které vytváří komplementární RNA a DNA homopolynukleotidy (polyA a poly U respektive polydA a poly dT). Dále byl studován vliv hořčnatých iontů na strukturní stabilitu vrcholové vlásenky TAR segmentu HIV-1 RNA.

Dizertační práce je vypracována v anglickém jazyce, je klasicky členěna a má rozsah 87 stran. Teoretická část (21 stran) pojednává o struktuře a polymorfismu nukleových kyselin. Součástí kapitoly jsou jasně formulované cíle práce a podrobný popis strukturních vlastností zvolených modelových systémů. V experimentální části je popsán postup přípravy a měření spekter jednotlivých vzorků. Důkladně je popsán proces zpracování spekter pomocí faktorové analýzy. V další části (38 stran) jsou prezentovány a diskutovány pečlivě graficky zpracované výsledky získané na modelovém systému homopolynukleotidů a s vlásenkovou strukturou. Nejdůležitější poznatky získané v této práci jsou shrnuty v závěru (2 strany). Práci uzavírá seznam použité literatury (67 citací) a dvě přílohy, které dokumentují publikační aktivitu autorky týkající se zvoleného tématu (abstrakt ze zahraniční konference a reprint článku zveřejněného v zahraničním impaktovaném časopise).

U dizertační práce Ing. Espinozy-Herrery bych rád vyzdvihl přístup k řešení problematiky (precizně navržený experiment) a zejména zpracování naměřených dat pomocí pokročilých metod zpracování spekter. Rád bych zmínil i vysokou grafickou úroveň prezentovaných výsledků. Domnívám se, že práce řeší aktuální téma a obsahuje zajímavé originální výsledky, které přispívají k vývoji cílených léčiv. Autorka rovněž prokázala, že je schopna samostatně tvůrčí vědecké práce.

K práci mám několik připomínek resp. dotazů:

- Podařilo se už v praxi nalézt vhodné aptamery, které by inhibovaly tvorbu TAR-Tat komplexu?
- Jakým způsobem byly určeny extinkční koeficienty modelových nukleových kyselin.
- Jaký byl charakter jednořetězcových polynukleotidů, jednalo se o fragmenty konstantní délky nebo o směs fragmentů.
- Byly vzorky RNA nějak ochráněny před degradací působením RNáz?
- Při měření na Ramanově spektrometru bylo použito excitace 532nm a výkonu dopadajícího na vzorek 0,5 W. Ověřila autorka nějak, že tento poměrně vysoký výkon neovlivní výsledky měření?

Přes uvedené připomínky rád konstatuji, že předložená práce splňuje požadavky kladené na dizertační práci, a proto ji **doporučuji** k obhajobě.

V Olomouci 2.2.2011

Mgr. Vlastimil Mašek, Ph.D.