

Oponentský posudek disertační práce Ing. S. Espinozy-Herrery

„*Function of magnesium ions in the formation of biologically-active nucleic acids structures*“

Předložená disertační práce o rozsahu 88 stran se zabývá spektroskopickým studiem struktury a konformace modelových segmentů nukleových kyselin při interakci s hořečnatými ionty. Cílem práce bylo zjistit strukturní detaily mechanismu této interakce a popsat vliv hořečnatých iontů na konformaci a konformační přechody těchto biopolymerů.

Práce je členěna klasicky na úvod, stručné shrnutí současného stavu problematiky včetně cílů práce, experimentální část, přehledné a výstižné shrnutí výsledků a závěr. Výsledková část je doplněna dvěma příloženými publikacemi, z nichž jedna byla otištěna v mezinárodním impaktovaném časopisu a druhá jako „conference proceeding“. V obou těchto pracích je aspirantka uvedena jako první autor. Seznam použité literatury čítá solidních 60 odkazů.

Aktuálnost zvoleného tématu: Strukturní studie systémů popsaných v předložené práci jsou významné především z hlediska objasnění základních mechanismů regulace biologických systémů. Zvolené téma proto považuji za velmi aktuální a přínosné.

Zvolené metody a postupy: Aspirantka ke splnění cílů své práce využívá především Ramanovu spektroskopii, v některých případech doplněnou o absorpční spektrometrii v UV oblasti. Získané série spekter pak detailně analyzuje pomocí metod faktorové analýzy, kdy výsledky v některých případech nadále využívá 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 přijaté k publikaci 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 vedoucí ke specifikaci možných vazebných míst studovaných biopolymerů a ke zjištění rozdílného vlivu hořečnatých iontů na strukturu biopolymerů v závislosti na jejich sekvenci (obzvláště kapitoly 4.2 a 4.3). 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 pouze s minimem jazykových neobratností či překlepů. Svým rozsahem jsou jednotlivé kapitoly vyvážené a čtivé, bylo tak mým potěšením tuto práci prostudovat. Přesto je škoda, že autorka nevěnovala

dostatečnou pozornost některým formálním úpravám, např. chybějící kapitola 3.3.1. a naopak dvě kapitoly označené 3.3.2. (str. 35 a 38), v seznamu obrázků chybějící obrázky 4.10 až 4.13 (str. ix), odkaz na neexistující tabulku 1.1. (str. 15), nekonzistentní značení mocností kationů, např. Ca^{2+} vs. Ca(II) (str. 24-25), fyzikální veličiny neuvedené kurzívou (např. Tab. 2.3., str. 28 a další), nekonzistentní formátování jednotky vlnočtu (str. 58 vs. 61), nejednotný styl referencí včetně chybějícího oddělovacího řádku mezi nimi (str. 81-87). V přílohách nelze přehlednout záměnu pořadí přiložených publikací vzhledem k textu na str. 88 nahoře.

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

- 1) V případě TAR–segmentu bych se rád zeptal, zda máte bližší představu o rozdílech v geometrii/struktuře jeho tří forem uváděných jako výsledek výpočtu na stránce 67 („The fit also ...“)?
- 2) Vámi studované modelové segmenty nukleových kyselin jsou chirálními molekulami. Uvažovala jste také o možnosti doplnění vašich experimentů o jiné metody, které chiralitu přímo odráží, např. o chirální variantu Ramanovy spektroskopie – Ramanovu optickou aktivitu, či více vzdálené metody cirkulárního dichroismu? Jak odhadujete jejich potenciál při studiu těchto systémů?

Závěrem lze konstatovat, že předložená disertační práce prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé práci, o čemž svědčí i 5 publikací (z toho tři již akceptované) vzniklých 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 27.1.2011

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