

## **Posudek oponenta na disertační práci Ing. Pavla Kielkowského s názvem „New functionalized nucleic acids for application in chemical biology“**

---

Téma disertační práce Pavla Kielkowského je součástí výzkumu skupiny Michala Hocka zaměřeného na modifikace DNA a studium chemicko-biologických vlastností těchto sloučenin. Práce se skládá ze čtyř více či méně na sebe navazujících částí. Ta první obsahuje výsledky aplikace Sonogashirova cross-couplingu na přípravu monomerních nukleosidů a nukleotidů obsahujících jakési zdvojené nukleobáze, jejich inkorporaci do modifikované DNA a omezenou studii inhibice methyltransferasy. Druhá část uvádí syntézu trialkylsilylethynylderivátů deazanukleosidů a nukleotidů včetně jejich inkorporace do DNA s cílem zvýšení stability proti restričním enzymům, která byla testy potvrzena. 7-(Triethylsilyl)ethynyl-7-deaza-2'-deoxyadenosin-trifosfát byl následně vyzkoušen i pro klonování a expresi genů. Další část popisuje zcela novou metodu kompetitivní inkorporace modifikovaných proti přirozeným nukleotidům, sledování pomocí vypracované MALDI MS metody a elektroforézou po štěpení DNA. Posledním cílem bylo ověřit možnost metabolické inkorporace modifikovaných nukleosidů a pronukleotidů do HeLa buněk.

Výsledky disertace byly zveřejněny ve čtyřech původních člancích v respektovaných časopisech a ve všech je disertant prvním autorem. Disertace i po formální stránce splňuje všechny nároky na ni kladené. Teoretická část mi poskytla kvalifikované, logicky utříděné informace o současném stavu výzkumu ve studované oblasti. Tato část disertace jednoznačně dokládá, že disertant výborně analyzoval údaje z literatury a uspořádal je do čtivého odborného textu. Kapitola Výsledky a diskuse je uspořádána přehledně, text je doprovázen přiměřeným počtem schémat a obrázků v dobré grafické úpravě. Obsáhlá Experimentální část je zpracována pečlivě, jen v některých případech jsou výtěžky uváděny pouze v procentech. Korektura textu je rovněž pečlivá, našla jsem pouze špatně uvedený zdroj obr. 9 (s. 57).

Předložená disertace je typicky víceoborová. Čím dále postupuje čtenář textem, tím více se odklání od organické chemie a přiklání se k biologii či biochemii. To samozřejmě není vůbec na škodu, jen nároky kladené na oponenta jsou vyšší. V části věnované přípravě nových analogů nukleosidů a nukleotidů disertant šikovně využil moderní metody tvorby C-C vazeb. Obsáhlá část týkající se inkorporace modifikovaných monomerů do DNA, klonování a exprese dokazuje obrovské množství experimentální práce a navíc na ni oceňuji přístup, který bych označila jako spíše „chemický“. Podle mého názoru je právě část zabývající se kompetitivní inkorporací a jejím analytickým zhodnocením z celé disertační práce ta nejzajímavější.

Pokud se podívám na tuto disertační práci jako na ucelenou vědeckou práci, nepůsobí na mě tematicky jednotným dojmem. K tomuto mému dojmu se váže můj námět do diskuse. Na základě jaké racionální úvahy byly vybírány struktury např. v kapitole 3.1? Ze všech připravených látek byly zkoušeny na inhibici methyltransferasy pouze dvě a byly neaktivní. Lze z toho usoudit na další strukturální změny, které by eventuálně zvýšily inhibiční aktivitu? Pro detekci kovalentního komplexu modifikované DNA-enzym se v tomto případě neosvědčily metody fyzikálně-chemické. Jaká byla zkušenost např. s SPR? Biochemická metoda kovalentní komplex detekovala?

## **Závěr**

Na disertační práci Ing. Pavla Kielkowského vysoce hodnotím vědeckou kvalitu výsledků, perfektní práci s literaturou i diskusi vlastních výsledků. Po obsahové i formální stránce tak splňuje práce všechny požadavky. Disertant jednoznačně prokázal, že je schopen samostatné vědecké práce, proto podle §47, odst. 4, zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách jednoznačně doporučuji přijmout disertační práci Ing. Kielkowského k obhajobě.

V Praze dne 15.10.2014

Prof. Ing. Jitka Moravcová, CSc.