



## Oponentský posudek disertační práce Mgr. Markéty PAZDERKOVÉ

Předložená disertační práce Mgr. Markéty PAZDERKOVÉ, s českým názvem „Ramanova optická aktivita biomolekul: Od jednoduchých modelů ke komplexním systémům“ je představována více jak sedmdesátistránkovým anglickým textem autorky, na který navazuje rozsáhlý přehled použité a citované literatury, abecední seznam zkratk, přehled sedmi plnohodnotně publikovaných výsledků autorky, z nichž kopie čtyř vybraných prací (včetně jejich příloh) vyšlých v impaktovaných časopisech jsou součástí disertační práce jako přílohy. Je třeba ještě poznamenat, že před obsahem práce je uveden v češtině a angličtině abstrakt disertační práce a klíčová slova. Z pohledu formálního tak disertační práce obsahuje všechny potřebné části v celkem obvyklém uspořádání.

K odborné stránce tvůrčí činnosti doktorandky nemám žádných výhrad, jedná se o velmi zajímavou výzkumnou práci, která byla rozdělena do dvou dílčích problematik. První se týká spektroskopického studia amidových skupin (především neplanárních), druhá pak chiroptického studia konformací disulfidických můstků. K první problematice se bezprostředně vztahují dvě přiložené publikace, jedna publikace je svázána s částí druhé problematiky a poslední publikace (dotýkající se částečně první problematiky) je především metodická a týká se korekce spekter Ramanovy optické aktivity (ROA), resp. možnosti spolehlivě vzájemně porovnávat ROA spektra měřená za odlišných experimentálních podmínek, příp. s různými typy přístrojů.

Samotná disertační práce je celkově velmi kvalitní, a to nejen po odborné ale do značné míry i formální stránce. Původní text autorky začíná docela čtivým úvodem, který se stručně věnuje jednotlivým chiroptickým metodám a jejich aktuálnímu významu. Dále se v něm přehledově uvádí členění disertační práce, přesněji řečeno, co může čtenář očekávat v následujících čtyřech kapitolách. Bohužel ani zde ani později se čtenář jednoduše nedozví, jaké jsou souvislosti mezi dílčími kapitolami samotné práce a jednotlivými přiloženými publikacemi. Uvítal bych zřetelnější odkazování na přiložené publikace v samotném textu práce.

Následuje kapitola popisující základní pojmy ROA spektroskopie se stručným porovnáním vůči spektroskopii vibračního cirkulárního dichroismu (VCD) a elektronového cirkulárního dichroismu (ECD). Dále jsou uvedeny teoretické základy optické aktivity a používané výpočetní metody pro VCD, ROA i ECD. Autorka se pak věnuje chiralitě biologicky významných molekul a významu chiroptických metod při studiu struktury biomolekul. Detailněji se následně věnuje stavu problematiky v oblasti studia peptidů a proteinů, kde se dle mého názoru poněkud zbytečně opakují již dříve uvedené specifické charakteristiky vibračních chiroptických metod. Velmi vhodným základem pro popis výsledků práce autorky jsou kapitoly věnované optické aktivitě amidové skupiny a disulfidických můstků. Na str. 18 bych uvítal více odkazů na literární zdroje, stejně tak bych očekával odkaz u obr. 5 (obrázek lze nalézt v přiložené publikaci). Nejasný je význam symbolů „<“ na obr. 9. Kapitola 2 je věnována cílům práce. Dle mého názoru by mohla být stručnější a mohla by pregnantněji vyjadřovat klíčové cíle provedených studií. Kapitola věnovaná popisu experimentů je celkově přiměřená. Na některé informace si dovoluji vznést dotaz níže. Klíčovou částí práce je kapitola 4, která shrnuje provedené experimenty a diskutuje získané výsledky. Obsah kapitoly je kvalitní, celkem rozsáhlý, někde by bylo možné text zestručnit s odkazem na přiložené publikace. Souhlasím s autorkou, že

formulace obecnějších závěrů je mnohdy velmi obtížná a že bude třeba zkoumat další vhodně vybrané látky. Velmi mne těší střízlivá a věcná diskuse výsledků a přiměřená opatrnost při formulaci závěrů. K textu kapitoly mám pouze několik níže uvedených dotazů. Výsledky práce jsou přehledně shrnuty v závěru, který je na první pohled poměrně dlouhý, avšak jeho obsah je cenný, protože se velmi pěkně a konkrétně věnuje také dalším směrům výzkumu navazujícího na disertační práci.

V práci lze nalézt drobné formální prohřešky. Není úplně šťastné, že odkaz na obrázek 2 předchází odkazu na obr. 1. Na str. 4 je odkaz na rovnice v kap. 1.2, ve kterém jsou poněkud zmatečně použity symboly závorek. Způsob udávání koncentrací vzorků je nejednotný, a to i v jedné větě - viz „Sample concentrations were  $2-3 \times 10^{-2}$  M for model dilactams,  $5-20 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> for NHH samples,  $4 \times 10^{-5}$  (amide region) and  $4 \times 10^{-3}$  (disulfide region) for the LAS peptides.“. Kapitola 3.3.2 končí v půlce stránky větou „The results were compared to full DFT calculation (see below).“, kdy na další stránce začíná rozsáhlá kapitola výsledků a diskuse; z mého pohledu by bylo vhodné odkázat se konkrétněji na číslo podkapitoly či číslo stránky místo obecného „viz níže“. Z hlediska přehlednosti by bylo příjemné, kdyby bylo zřetelně uvedeno, k jakým číslům odkazů v textu (např. ref. 137 či 143) se vztahují jednotlivé příložené publikace autorky (přílohy 1 až 4), případně její další publikované práce. Formální chyby se nevyhnuly ani příloženým publikacím. Například na str. 9629 přílohy 2 je nevhodný zápis s nepravidelnými mezerami popisující mobilní fázi „a heptane -2-propanol (70: 30) mixture“. Opravu by si zasloužila věta na str. 9630 téže přílohy „IR absorption was measured on Bruker Equinox 55 in CHCl<sub>3</sub>/CDCl<sub>3</sub> pellets or in KBr solutions using a cell with KBr windows and a fixed path length of 0.118 mm.“ (tablety patří ke KBr a roztoky ke chloroformu a deuterovanému chloroformu).

Jak již jsem avizoval, mám k práci několik dotazů, které nikterak nesnižují úroveň práce:

- 1) První dotaz se týká popisu amidové skupiny. Dovolím si citovat věty ze strany 17: „This metastable character of amide group increases its stability at physiological pH and temperature. It also affects its polarity, leading to high dipole moment.“ Mohla by autorka vysvětlit, co je míněno metastabilním charakterem amidové skupiny a jak je chápána stabilita při určitém pH a teplotě? Jaké efekty ovlivňují polaritu amidové skupiny?
- 2) V druhém dotazu bych si dovolil požádat autorku o stručné shrnutí výhod a nevýhod použití terciárních amidů jako modelových struktur. Je vhodné jejich modelové použití jen z hlediska aplikovaných chiroptických metod nebo je důležité je studovat i dalšími technikami z hlediska souvislosti se strukturou peptidů příp. proteinů? Jaké nevýhody plynou z propojení typu „hlava-hlava“? V textu jsou též komentovány peptidy obsahující prolin; jaký je význam peptidů resp. proteinů bohatých na prolinové jednotky?
- 3) V práci je na str. 28 uvedeno, že racemická směs byla rozdělena na čisté enantiomery pomocí HPLC s tím, že podobnosti jsou uvedeny v ref. 137, což je příloha 2. Ani z textu práce, ani z přílohy mi není jasné, jak byla kontrolována čistota připravených vzorků. Prosim o vyjádření k této kontrole čistoty i k samotné přípravě miligramových množství vzorků (nejsem zrovna moudrý z věty: „Fractions containing the same enantiomers were combined and evaporated.“).

- 4) Jak byl volen výkon laseru pro jednotlivé experimenty? V práci jsou uváděny hodnoty v poměrně širokých intervalech a není celkem zřejmé, jaká byla kritéria ke zvolení udávaných hodnot. Dále pak by mne zajímalo, zda volba výkonu laseru má vliv na lokální teplotu studovaných systémů.
- 5) Jak lze chápat termín „well-defined model molecules“? Jaké kritéria byla kladená na strukturu modelových molekul?
- 6) Jak lze chápat větu „We have increased substantially numerical accuracy of experimental ECD by utilizing both enantiomers (each of them moreover 100% enantiomerically pure) in our experiments“? Jak byla posuzována numerická přesnost? Jaká je nejistota u údaje o 100 % čistotě?
- 7) V tabulce 1 jsou uváděny mimo jiné experimentální hodnoty vlnočtů pro ROA experiment ve vodném prostředí a VCD experiment v chloroformu. Lze odhadnout, jaký je vliv rozpouštědel na odlišné hodnoty vlnočtů a na jaké úrovni se jedná o nejistotu měření? (Například, zda je možné pokládat hodnoty 1130 a 1126  $\text{cm}^{-1}$  za shodné či nikoliv?)
- 8) Lze vysvětlit, jaká je fyzikální podstata tvaru získaných korekčních křivek pro přepočtení intenzity signálu ROA spekter (obr. 21)?
- 9) Mohla by autorka podrobněji diskutovat otázku intenzit signálů v souvislosti s různým počtem disulfidových můstků (str. 70)? Nepochybně je zde důležitá role konformace těchto můstků, ale jaké jsou další vlivy na intenzitu experimentálních signálů?

Závěrem konstatuji, že k odborné úrovni dosažených výsledků, celé tvůrčí práce i předložených publikací nemám žádných výhrad. S ohledem na kvalitní dosažené a z velké míry publikované výsledky hodnotím celkově předkládanou práci jako zdařilou, **splňující kritéria kladená na disertační práce** a dokumentující kvalifikaci doktorandky. **V souladu s předpisy obsahuje předložená práce původní a uveřejněné výsledky, a dále prokazuje schopnost samostatné tvůrčí práce doktorandky. Vřele doporučuji předloženou disertační práci k obhajobě.**

Prof. Dr. RNDr. Pavel Matějka  
vedoucí Ústavu fyzikální chemie  
VŠCHT Praha

V Praze, dne 7. srpna 2015

