

Posudek disertační práce Mgr. Markéty Pazderkové nazvané

„Raman optical activity of biomolecules:

From simple models to complex systems“

Předkládaná disertační práce se týká využití Ramanovy optické aktivity při studiu bicyklických spirodilaktamů používaných jako modelové systémy pro určování neplanarity peptidové skupiny a dále pak několika modelových peptidů pro detekci prostorového uspořádání disulfidové vazby. Především u druhé skupiny látek jde o pilotní práci, která poprvé identifikuje signál odpovídající disulfidové vazbě, potvrzuje užitečnost Ramanovy optické aktivity v této oblasti a rozšiřuje její aplikační potenciál. Uvedené molekulární systémy byly studovány také komplementárními chiroptickými spektrálními technikami vibračním a elektronovým cirkulárním dichroismem a v případě bicyklických spirodilaktamů byly experimentální výsledky analyzovány na základě *ab initio* výpočetních metod. Velmi pozitivně je také možno hodnotit, že řada výsledků byla získána na zahraničních pracovištích.

V práci je možné identifikovat tři hlavní části. První částí je stručný popis základů teorie chiroptických spektrálních metod a jejich využití ve studiu konformací amidových a disulfidových skupin. Druhou částí je popis a zdůvodnění využití vybraných vzorků a experimentálních spektroskopických metod a třetí pak prezentace dosažených výsledků a jejich interpretace. V příloze práce jsou uvedeny čtyři původní recenzované články, přičemž u tří z nich je M. Pazderková uvedena jako první autorka. V seznamu literatury jsou pak ještě uvedeny další čtyři publikace, na nichž se autorka podílela. Disertační práce i uvedené publikace tak prokazují schopnost samostatné vědecké práce.

Rozsah disertační práce (bez publikací) je spíše menší než obvyklý a domnívám se, že by bylo přínosné, kdyby byly podrobněji zpracovány především kapitoly 1.2: chybí popis intenzity Ramanovy optické aktivity, případně popis měřitelných veličin u VCD a ECD, např. vztah mezi veličinami definovanými ve vztazích (3) a (9)-(10), chybí podrobnější popis vibrací amidové skupiny v kapitole 1.4.1 apod. V několika případech je také místo konkrétní analýzy experimentálních dat odkazováno na připravovaný rukopis, což bez jeho uvedení nepovažuji za zcela korektní.

Větší připomínky bych měl k členění práce: Název kapitol 1.3 a 1.3.2 je stejný, kapitola 3.3 týkající se teoretických výpočtů by měla být zařazena spíše do kapitoly 1 než do kapitoly 3 nazvané „Materials and Experimental Methods“. Kapitola 3.3.2 je přespříliš stručná a její téma se překrývá s kapitolou 1.3. Metodická část kapitoly 4.1.3 týkající se měření v rozšířeném spektrálním rozsahu a kalibrace intenzity by naopak měla být přesunuta do kapitoly 3.

Disertační práce je psána dobrou angličtinou, obsahuje velmi malé množství překlepů nebo pravopisných chyb, občas se vyskytují hovorové výrazy nebo nepřesná slovní spojení, kterým by bylo lépe se v odborné literatuře vyhnout.

K práci bych měl tyto drobné výhrady nebo připomínky:

- Nesouhlasím s použitím termínu „chromofor“ ve vibrační spektroskopii (např. str. 5 dole, str. 10 nahoře). Normální vibrační módy velmi často není možné lokalizovat podél jedné nebo několika málo chemických vazeb.

- str 6 nahoře: Hlavním cílem strukturální interpretace asi není dosažení dokonalé shody mezi experimentálním a vypočteným spektrem, ale spíše odhalení informací o struktuře studovaného systému obsažených ve spektrech.
- str. 30: U věty popisující komerční ROA spektrometr by měla být uvedena citace W. Hug, Appl. Spectrosc., 2003, 57, 1 týkající se optické generace virtuálních enantiomerů pro eliminaci artefaktů, bez níž by komercializace ROA spektrometru nebyla vůbec možná. Tato práce je klíčová i s ohledem na techniku měření spekter pomocí dvou enantiomerů, která měla být diskutována podrobněji.
- str. 30: Nepřesné označení „green diode laser OPUS 532“ by mělo být nahrazeno „diode-pumped solid state laser with 532 nm excitation“.
- str. 31: Je uvedeno, že pro kalibraci bylo použito Ramanovo spektrum toluenu. Zdá se mi nepravděpodobné, že by se tak dělo ve všech případech, např. i při měření v rozšířeném spektrálním rozsahu. Na obr. 12 je patrná systematická chyba v kalibraci vlnočtové škály, např. vibrační pásy v oblasti nad 1000 cm^{-1} jsou u dat z ICP ROA spektrometru posunuty k vyšším vlnočtům. Bylo by dobré podrobněji diskutovat otázku přesnosti kalibrace.
- str. 32: Je uvedeno, že při zpracování spekter bylo odečteno spektrum druhého enantiomeru. Je otázkou, zda je tuto proceduru možné považovat za „úpravu spekter“. V této věci bych také očekával širší diskuzi např. v tom smyslu, proč např. bylo nutné tuto proceduru provádět apod.
- V kapitole 3.3.1 je uvedeno, že optimalizace i výpočet chiroptických spekter byly prováděny na stejné úrovni. Výpočet spekter ale zahrnuje celou řadu kroků, které by zasloužily podrobnější popis, ne všechny tyto kroky je potřebné nebo dokonce výhodné provádět na stejné úrovni.
- na str. 49 nahoře se mluví o vibraci amidu II u molekul obsahujících pouze terciální amid, což není správné.

I přes uvedené nedostatky považuji disertační práci za dostatečně kvalitní a doporučuji ji k obhajobě.

Pro obhajobu předkládám ještě kromě výše uvedeného následující náměty do diskuze:

- 1) Podstatnou část práce tvoří analýza bicyklických spirodilaktamů používaných jako modelových systémů pro určování neplanarity peptidové skupiny. Do jaké míry je možné rozšířit dosažené výsledky identifikace odezvy neplanarity peptidové skupiny i na peptidy a proteiny, od nichž se bicyklické spirodilaktamy liší tím, že obsahují terciální peptidovou skupinu (kromě prolinu se peptidech nevyskytující), neobsahují chirální centra uhlíku v okolí peptidové vazby a jsou C_2 symetrické?
- 2) Jak už bylo uvedeno, za zásadní výsledek považuji nalezení signálu chirální disulfidové vazby v ROA spektrech vybraných peptidů. Byly provedeny nebo jsou plánovány nějaké *ab initio* výpočty, které by pozorovaný signál dokázaly jednoznačně reprodukovat?

V Olomouci dne 27. srpna 2015

RNDr. Josef Kapitán, Ph. D.
Katedra optiky
Přírodovědecká fakulta UP