

Posudek školitele dizertační práce **Mgr. Markéty Pazderkové**

### **Raman optical activity of biomolecules: From simple models to complex systems**

Nezastupitelnou roli ve výzkumu konformace biomolekul hrají metody vibrační spektroskopie. Jejich základní výhodou je schopnost zachytit dynamický obraz studovaných molekul v roztoku, tj. možnost studovat konformačně flexibilní systémy. Mezi těmito metodami si významné místo vydobyla i Ramanova optická aktivita (ROA), která v sobě spojuje stereochemickou citlivost konvenční optické aktivity s vyšším rozlišením a tudíž i bohatším strukturním obsahem a konformační citlivostí vibrační spektroskopie. Hlavní výhodou ROA je enormní nárůst stereochemické informace obsažené ve spektru, naopak nevýhodou je nízká rotační síla vibračních přechodů ve srovnání s přechody elektronovými.

Téma dizertační práce bylo zaměřeno na studium specifických projevů disulfidové a neplanární amidové skupiny ve spektrech Ramanovy optické aktivity (ROA) s cílem ukázat, že ROA umožňuje získat informace o konformaci peptidů a proteinů, které je obtížné nebo dokonce nemožné získat pomocí jiných spektroskopických technik. Práce vznikla v těsné spolupráci se skupinou NMR a molekulové spektroskopie Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i. Jako modelové systémy pro studium neplanární amidové vazby byly využity speciálně navržené malé rigidní molekuly s dobře definovanou strukturou – tricyklické spirodilaktamy. Možnosti detekce disulfidové skupiny byly zkoumány v ROA spektrech modelových peptidů s jednou až dvěma disulfidovými skupinami, z nichž některé jsou biologicky aktivní, jako jsou například neurohypofyzární hormony a jejich agonistické a antagonistické analogy nebo antimikrobiální peptid lasiocepsin a jeho analogy s různými variantami disulfidového přemostění.

Kromě ROA byly tyto systémy studovány také pomocí dalších chiroptických metod – vibračního (VCD) a elektronového (ECD) cirkulárního dichroismu, a to včetně měření v rozšířeném spektrálním oboru (pod 180 nm) s využitím synchrotronového zdroje (SRCD). Dosažené výsledky přesvědčivě prokazují, že současné využití těchto technik umožňuje získat o struktuře studovaných molekul velmi komplexní a podrobné informace.

Paralelně s experimenty byly prováděny modelové výpočty chiroptických spekter, s jejichž pomocí byla možná detailní interpretace spektrálních dat. V chiroptických spektrech se podařilo identifikovat a interpretovat signály odrážející neplanaritu amidové skupiny. V ROA spektrech se podařilo identifikovat signál příslušející valenčním vibracím disulfidové vazby, který s vysokou mírou pravděpodobnosti odráží smysl torze disulfidové skupiny.

Cíle dizertační práce byly nepochybně ambiciózní, ale Markéta je naplnila. Prokázala nejen mimořádný cit pro obtížný experiment a jeho budování, ale také nezbytnou trpělivost, přesnost a pečlivost. V průběhu svého doktorského studia Markéta prokázala nejen dostatek talentu ale také potřebnou erudici a vědeckou invenci. Přicházela s nápady, podněty, navrhovala nové přístupy a nacházela originální řešení. Dosažené výsledky s úspěchem prezentovala v roce 2011 v Oxfordu na konferenci o cirkulárním dichrosimu, kde měla přednášku. To ji otevřelo cestu ke stáží na State University of New York at Albany a v laboratořích firmy BioTools, kde pracovala pod vedením profesora L. A. Nafieho, který stál u zrodu vibrační optické aktivity.

Jsem přesvědčen, že Mgr. Markéta Pazderková jednoznačně prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Její dizertační práci proto doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 4. září 2015

Prof. RNDr. Vladimír Baumruk, DrSc.