

Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě
Univerzity Karlovy

- posudek vedoucího posudek oponenta
 bakalářské práce diplomové práce

Autor/ka: **Bc. Ráchel Sgallová**
Název práce: Termodynamika tvorby DNA vlásenek
Studijní program a obor: Fyzika – Biofyzika a chemická fyzika
Rok odevzdání: 2019

Jméno a tituly vedoucího/opponenta: **RNDr. Václav Profant, Ph.D.**
Pracoviště: Fyzikální Ústav UK, MFF UK
Kontaktní e-mail: profant@karlov.mff.cuni.cz

Odborná úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Věcné chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu přiměřený počet méně podstatné četné závažné

Výsledky:

- originální původní i převzaté netriviální kompilace citované z literatury opsané

Rozsah práce:

- veliký standardní dostatečný nedostatečný

Grafická, jazyková a formální úroveň:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Tiskové chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet četné

Celková úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky vedoucího/oponenta:

Předkládaná diplomová práce Bc. Ráchel Sgallové se zabývá charakterizací struktury a termodynamických vlastností tří různě dlouhých segmentů (12, 14 a 16 nukleotidů) CArG boxu z promotorové sekvence lidského genu *c-fos*. Kandidátka provedla řadu experimentů jaderné magnetické rezonance (teplotní závislosti jednorozměrných spekter vodíkových jader ^1H a dvourozměrná korelační spektra ^1H - ^1H NOESY a ^1H - ^{13}C HMBC), jejichž podrobným vyhodnocením získala cenné výsledky prokazující vytváření unimolekulárních sekundárních struktur – vlásenek. Motivace práce je zřejmá, neboť pokud k vytváření vlásenek popř. kruciformu (vlásenky na obou vláčknech) na promotorových genových sekvencích dochází i v organismu během procesu transkripce, může to vysvětlit rychlé rozeznávání těchto úseků DNA polymerázou.

Práce je zpracována jako tematicky ucelený text shrnující autorčin samostatný výzkum, má standardní rozsah a je logicky strukturovaná. Celkový dojem práce je nadprůměrný. Práce je psaná čtivým jazykem, srozumitelně a jasně a je graficky velmi dobře zpracovaná. V textu je možné narazit na menší množství překlepů a interpunkčních chyb, jejich počet ve však přiměřený rozsahu práce. Rád bych vyzdvihl především množství provedených experimentů a jejich velmi pečlivé zpracování, což dokumentuje poměrně rozsáhlá přílohová část práce obsahující 11 obrázků a 7 tabulek.

Práce je členěna standardně na pět základních částí a doplněna o seznamy použité literatury, obrázků, tabulek a použitých zkratk a přílohy. Úvodní část seznamuje čtenáře se strukturou DNA, průběhem transkripce a termodynamikou tvorby sekundárních struktur DNA. Následující teoretická část stručně a výstižně popisuje jev jaderné magnetické rezonance, principy NMR experimentů a NMR spektroskopii DNA. Experimentální část se zaměřuje na popis použitých vzorků a popis konkrétních experimentů provedených v rámci práce. Výsledky pak shrnují získané poznatky o přiřazení vodíkových signálů ve spektrech zkoumaných vzorků, identifikaci rozdílů mezi strukturou vlásenek a B-DNA prostřednictvím odlišných chemických posuvů, vyhodnocení teplotních závislostí a určení termodynamických parametrů a v neposlední řadě též vlivu koncentrace na teplotu tání. Závěry práce jsou dobře podloženy a domnívám se, že by se měly stát podkladem pro budoucí článek v impaktovaném časopise.

Z výše uvedených důvodů tedy práci s radostí doporučuji k obhajobě.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

K práci jako celku nemám větší výhrady. Připojuji jen několik doplňujících komentářů, připomínek a dotazů, které mají sloužit spíše k vylepšení textu práce než k jeho kritice.

1. V části 1.2.2 autorka rozebírá, jaké typy sekundární struktury může vytvářet sekvence CArG boxu z lidského genu *c-fos*. Zde by bylo vhodnější podrobněji zmínit motivaci, ze které celá práce vychází, tj. předchozí experimentální poznatek, že teplotní závislost jednoho izolovaného vlákna studované sekvence vykazuje teplotní přechod. Jeho existence indikuje, že sekvence vytváří nějaký druh sekundární struktury, kterou může být buď vlásenka nebo mismatchový homoduplex. Ty je nutné pomoci, např. NMR experimentů, rozlišit.
2. V kontextu dostupné literatury bylo by vhodné poukázat na specifika CArG box vlásenky, tj. především velkou hlavičku obsahující šest nukleotidů.
3. Lze na základě získaných dat vyslovit nějakou hypotézu o uspořádání a popř. stabilizaci struktury hlavičky CArG box vlásenky? Nemohou mezi sebou některé báze interagovat prostřednictvím Hoogsteenova párování?

4. Je možné porovnat naměřené hodnoty ΔH a ΔS pro vlásenku i homoduplex z hlediska množství spárovaných bází? Jak dobře to odpovídá modelovým hodnotám vztaženým na jeden bázevý pár?
5. Str. 48 – V Tabulce 4.2 autorka porovnává teploty tání a termodynamické parametry získané z NMR s daty získanými pomocí UV absorpce. Nezávislost (či pouze slabá závislost) teploty tání na koncentraci vzorku je pak dále diskutována jako jeden z hlavních argumentů potvrzujících vytváření unimolekulární sekundární struktury, tj. vlásenky. Autorka zmiňuje rozdíl 5 K mezi teplotami tání určenými z NMR a UV, ale nevysvětluje ho. Nemůže být tento rozdíl způsobený jinou koncentrací sodných iontů použitou pro NMR (200 mM) a UV (160 mM) měření?
6. Jaký má význam použití rozpouštědla jako směsi 90 % H₂O a 10 % D₂O?
7. Jak jsou ukončeny studované sekvence na 3' a 5' konci?

Práci

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/oponenta:

V Praze 14. června 2019