

Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě
Univerzity Karlovy v Praze

- posudek vedoucího posudek oponenta
 bakalářské práce diplomové práce

Autorka: Bc. **Pavla Ottová**

Název práce: **Mikrokalorimetrické studium termodynamické stability hybridních komplexů nukleových kyselin**

Studijní program a obor: Fyzika, Biofyzika a chemická fyzika

Rok odevzdání: 2009

Jméno a tituly vedoucího: Prof. RNDr. Josef Štěpánek, CSc.

Pracoviště: MFF UK, Fyzikální ústav

Kontaktní e-mail: stepjos@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:

Práce vznikla na oddělení fyziky biomolekul Fyzikálního ústavu Univerzity Karlovy v Praze jako součást dlouhodobého programu zaměřeného na studium fyzikálně-chemických vlastností nukleových kyselin (NA). Její náplní byla termodynamická charakterizace vybraných inter- a intra-molekulárních komplexů NA pomocí diferenciálního skenovacího mikrokalořimetru.

Protože je tato metodika na našem pracovišti teprve zaváděna, tvořila významnou část diplomového úkolu testovací a ověřovací měření umožňující stanovit reálnou přesnost zařízení, zjistit některé charakteristiky a navrhnout optimální postup při měření. Tento úkol (a nejen ten) diplomantka velmi úspěšně zvládla; byla určena absolutní přesnost měření, zjištěno časové zpoždění zařízení a charakterizovány změny, ke kterým dochází při opakování měřících cyklů.

Druhou částí práce jsou měření termodynamických charakteristik hybridních duplexů tvořených homopolymerem PolyA a jednotlivými modifikovanými DNA thymidinovými 15-mery. Tyto molekuly představují model pro testování vhodnosti modifikace pro použití při antisensní terapii. Po provedení série rozsáhlých měření byla v rámci zpracování dat navržena a ověřena metoda konstrukce extrapolovaného "ideálního" skenu, ve kterém jsou kompenzovány změny, které ve vzorku probíhají během opakovaných měřících cyklů. Výsledky měření byly zpracovány nejen pomocí jednoduššího dvoustavového, ale i náročnějšího McGhee-von Hippelova modelu, na základě kterého byla zjištěna vysoká kooperativita vazby oligonukleotidů na polymer.

Třetí část práce, prováděná již nad rámec původního plánu, se týká vrcholové vlásky regulačního úseku TAR viru HIV-1 a jejího účinného aptameru R06, který je inhibuje funkci TAR vytvořením "kissing" komplexu. Analýza dat byla komplikovaná přítomností druhého přechodu v oblasti nižších teplot. Přesto se podařilo spolehlivě zjistit charakteristiky přechodu tání smyčky a vyhodnotit i nízkoteplotní přechod u aptameru R06, který vykazoval silnou hysterezi.

Závěrem chci konstatovat, že se jednalo o náročnou práci vyžadující pečlivý a odpovědný přístup a zároveň schopnost pochopit a dále rozvíjet postupy zpracování dat podle jednotlivých modelů. Diplomantka pracovala po celou dobu práce s vysokým pracovním nasazením, zaujetím pro studované problémy a prokázala i schopnost samostatného přístupu. Díky tomu byly získány cenné poznatky pro další aplikace mikrokalořimetru při studiích biomolekul. Zároveň byly stanoveny termodynamické charakteristiky studovaných systémů NA, které se stanou významnou částí experimentálních výsledků prezentovaných ve dvou připravovaných člancích.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

Nejsou

Práci

doporučuji uznat jako diplomovou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/oponenta:

V Praze, dne 28.8.2009

