

Oponentský posudek diplomové práce Michaely Blažikové

„Cationic porphyrins as transport agents for antisense oligonucleotides“

Předložená diplomová práce se zabývá spektroskopickým studiem struktury komplexů vybraných porfyrinů a jejich metalovaných derivátů s jednovláknovými a dvouvláknovými nukleovými kyselinami. Spektrální studie tohoto typu komplexů jsou významné především z hlediska možných aplikací vybraných porfyrinových derivátů pro medicínské a terapeutické účely, například k cílenému transportu léčiv.

Vlastní práce sestává z přehledně a výstižně zpracované teoretické části obsahující jak zcela základní informace o vlastnostech a struktuře oligonukleotidů, nukleových kyselin a porfyrinů tak rozbor podstaty jejich vzájemných interakcí, včetně shrnutí vzájemných vazebných modů těchto látek. Výsledkem tohoto rozboru je stanovení cílů diplomové práce spočívajících v i) určení základních spektroskopických charakteristik vybraných, dosud ještě nepopsaných porfyrinových derivátů majících potenciální uplatnění ve farmakochemii, ii) ve studiu jejich chování ve vodných roztocích a iii) v následném objasnění způsobů interakcí a vazebných možností s nukleovými kyselinami. Výsledky získané UV-VIS absorpční a rezonanční Ramanovou spektroskopií mají umožnit prvotní pohled na problematiku vazebných možností těchto nově testovaných porfyrinů s významnými biopolymery a vést ke specifikaci možných vazebných modů porfyrinů při interakcích s oligonukleotidovými řetězci, jejichž konformace je vazbou molekul porfyrinu ovlivněna.


Experimentální i výsledková část jsou souhrnem velkého množství údajů charakterizujících jednak porfyrinové deriváty samotné, ale popisují též přípravu metaloporfyrinů, studium jejich agregovaných forem ve vodných roztocích, zabývají se zjišťováním molárních absorpčních koeficientů metaloporfyrinů různými metodami a tato data porovnávají s literaturou. Za velmi zajímavé lze považovat zjištění, že zatímco metoda stanovení molárních absorpčních koeficientů založená na vzniku komplexů se zinkem dává spolehlivé výsledky pro anionické porfyriny, v případě kationických selhává. Pro tyto účely byla využita metoda založená na tvorbě dimerů mezi anionickými a kationickými porfyriny, ta již poskytla relevantní výsledky. Osobně za nejzajímavější považuji výsledky studií vedoucích ke specifikaci vazebných modů porfyrinů interagujících s nukleovými kyselinami o různých sekvencích (kapitola 5.7). Pečlivě provedené experimenty a získané výsledky jsou dobrou startovní pozicí pro další výzkum těchto systémů a otevírají nové a perspektivní oblasti aplikací některých, v této diplomové práci studovaných, porfyrinů. Předpokládám, že další avizované experimenty ozřejmí problematiku interakcí těchto porfyrinových derivátů v dalších souvislostech.

I přes vysokou aktuálnost řešené problematiky a kvalitní zpracování předložené práce se však nabízí některé otázky či náměty převážně diskusního charakteru. Autorka v teoretické části (strana 21) právem zmiňuje obtížnou reprodukovatelnost výsledků při konformačních studiích jednovláknových nukleových kyselin způsobenou jejich značnou flexibilitou. Nabízí se tedy otázka, zda byla testována opakovatelnost experimentů prováděných s těmito jednovláknovými nukleovými kyselinami (např. v kapitole 5.6)? Z experimentální části není zřejmé, s jakým spektrálním rozlišením byla měřena UV-VIS absorpční a Ramanova spektra. Tento parametr by přitom mohl ovlivnit interpretaci spekter při velmi malých posunech pásů, jaké byly například uvedeny v obrázku 65, (pás $\sim 1100 \text{ cm}^{-1}$, strana 79). V rámci diplomové práce byla pozornost zaměřena především na studium porfyrinové části komplexu (kapitola

5.7). Byly, nebo jsou, v plánu též experimenty zaměřené na monitorování konformačních změn oligonukleotidové části komplexu? Pro tento účel by bylo možno s výhodou použít například spektroskopii elektronového cirkulárního dichroismu ve spektrální oblasti pod 300 nm, kde právě nukleové kyseliny absorbují. Vyjadřování hodnot absorpance v numerické škále od 0 do ca 150 v obrázcích 29a-c je matoucí. Veličina absorpance je fyzikálně jasně definována a takovýchto hodnot nenabývá. Výstižnější by zřejmě bylo příslušná spektra přepočíst na hodnoty ϵ , nebo tuto normalizovanou veličinu označit jinak. I přes pečlivé vypracování celé práce se v textu objevují některé překlepy a formální nepřesnosti: nesprávné používání desetinné čárky v popiscích osy y (např. u obrázků 13, 15), chybějící popis osy y Ramanových spekter (např. obrázky 61, 62), překlep v popiscích osy x (Wavelength, např. obrázky 26, 27, 32), nebo ne příliš srozumitelná legenda u obrázku 41. Naopak, je třeba vyzdvihnout, že předkládaná práce byla sepsána v anglickém jazyce, což může velmi napomoci k přímé publikaci některých výsledků v mezinárodních vědeckých časopisech.

Závěrem lze konstatovat, že výše uvedené připomínky nijak nesnižují velmi dobrou úroveň předkládané diplomové práce s názvem „Cationic porphyrins as transport agents for antisense oligonucleotides“. Byly splněny všechny v práci stanovené cíle, vyvozené závěry jsou v souladu s obecnými dosud akceptovanými poznatky, proto mohu tuto diplomovou práci plně doporučit k probíhající obhajobě. Celkově jí hodnotím stupněm “výborně”.

V Praze dne 11.5.2006



Ing. Vladimír Setnička, Ph.D.
Ústav analytické chemie VŠCHT v Praze