

„Kationické porfyriny jako transportní agens pro antisense oligonukleotidy“

„Cationic porphyrins as transport agents for antisense oligonucleotides“

Jedním z kritických omezení dalšího rozvoje všech oligonukleotidových strategií je obtížný transport oligonukleotidů do buněk. Vzhledem k polyanionickému charakteru nukleových kyselin probíhá proti negativnímu vnitrobuněčnému potenciálu. Pro ulehčení transportu se již řadu let zkoušejí komplexy s nejrůznějšími látkami. Vhodný transportní agens musí s oligonukleotidem vytvořit dostatečně pevný komplex, ze kterého se oligonukleotid vně buňky předčasně neuvolní, který jej ochrání před degradací v krevním séru, a ve kterém snadněji pronikne přes membránu. Na druhou stranu, interakce s přenašečem nesmí omezovat poslání oligonukleotidu uvnitř buňky, například jeho schopnost párovat se s komplementárními sekvencemi. Jedná se zřejmě o protichůdné požadavky, proto univerzální transportní agens čeká na svoje objevení. Nekovalentní komplexy oligonukleotidů s kationickými porfyriny mají některé zajímavé vlastnosti, kvůli kterým se začaly před zhruba osmi lety studovat i z tohoto hlediska. Byla syntetizována již celá řada nových porfyrinů, z kterých některé vykazovaly pozoruhodně vysokou transportní účinnost. Další jsou syntetizovány v současné době, a souběžně jsou testovány z hlediska svých transportních vlastností i způsobu interakce s nukleovými kyselinami. Objasnění všech mechanismů, které se podílejí na stabilitě komplexů, zejména úloha periferních substituentů porfyrinů, může přispět k cílené syntéze porfyrinů s požadovanými vlastnostmi.

Předkládána diplomová práce Michaely Blažikové se zabývá studiem nových kationických porfyrinů, které byly navrženy a syntetizovány přímo jako potenciální transportní agens oligonukleotidů. Problematikou i metodicky navazuje na studium komplexů kationických metaloporfyrinů s nukleovými kyselinami a jejich složkami metodami optické spektroskopie, kterému se v Oddělení fyziky biomolekul FÚ UK věnujeme již řadu let. Vzhledem k tomu, že o vlastnostech nových oligonukleotidů, jejich chování ve vodných roztocích a interakcích s nukleovými kyselinami nebylo předem nic známo, představovalo zadání poměrně široký a obtížný úkol.

V rámci diplomové práce bylo dosaženo několik zajímavých a důležitých poznatků. Byly stanoveny základní fyzikálně-chemické a spektroskopické charakteristiky nových porfyrinů a jejich měďnatých derivátů. Bylo ukázáno, že ve vodním prostředí netvoří rozsáhlé agregáty, které by zásadním způsobem bránily jejich interakcím s nukleovými kyselinami, a jsou tudíž zajímavé a perspektivní pro další studium. Významným vedlejším poznatkem bylo zjištění, že metoda stanovení extinkčních koeficientů kationických porfyrinů, publikovaná v literatuře, není vhodná pro tento účel. Několik extinkčních koeficientů stanovených tímto způsobem a přebíraných jinými autory je

nesprávných. Pokud jde o komplexy s nukleovými kyselinami, byly charakterizovány základní způsoby interakce a vytvořeno dobré východisko pro další studium.

Diplomantka pracovala systematicky a trpělivě, a to po celou dobu trvání diplomové práce. Projevila spolehlivost a pečlivost při zdlouhavých měřeních a kritickém vyhodnocování mnohdy nejednoznačných výsledků.

Po formální stránce je diplomová práce zpracována přehledně, se snahou přesně zachytit problémy, na které jsme postupně narazili, i peripetie spojené s hledáním správného postupu při jejich řešení. Diplomantka si úkol navíc ztížila tím, že práci napsala v anglickém jazyce. Závěry odpovídají dosaženým výsledkům a zcela naplňují původní cíle a zadání diplomové práce.

Závěrem konstatuji, že předložená diplomová práce Michaely Blažikové splňuje podmínky kladené na diplomovou práci, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě a hodnotit stupněm *v ý b o r n ě*.

v Praze, 9. května 2006

Doc. RNDr. Peter Mojzeš, CSc.

vedoucí diplomové práce

