

# Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě  
Univerzity Karlovy v Praze

- posudek vedoucího                       posudek oponenta  
 bakalářské práce                       diplomové práce

Autor: Ondřej Socha

Název práce: Charakterizace strukturálních vlastností a stability DNA vlásenek pomocí NMR spektroskopie

Studijní program a obor: Fyzika, Biofyzika a chemická fyzika

Rok odevzdání: 2016

Jméno a tituly vedoucího/opponenta: Mgr. Pavel Srb, Ph.D.

Pracoviště: Strukturální biologie, UOCHB, AV ČR, v.v.i.

Kontaktní e-mail: pavel.srb@uochb.cas.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:

Tato česky psaná práce se celkovým rozsahem 74 stran se zabývá studiem vlastností strukturních a termodynamických vlastností celkem třech vzorků dvouvláknové DNA, které se liší délkou nukleotidové sekvence. Tematicky práce dále rozvíjí dřívější studie podobných systémů pomocí nukleární magnetické rezonance i optických metod.

V teoretické části práce nás autor seznamuje se základními vlastnostmi nukleotidů. Vzhledem k tomu, že jedním z hlavních cílů práce je potvrzení přítomnosti vlásenkové struktury, bylo vhodné popsat strukturní vlastnosti sekundárních struktur DNA detailněji včetně podrobnější rešerše. Dále je popsána termodynamika tvorby a rozpadu sekundárních struktur. Kapitola 3 obsahuje popis jevu nukleární magnetické rezonance a souvisejících experimentálních aspektů na naprosto dostatečné úrovni. Drobné nepřesnosti včetně chybějící reference jsem našel pouze na str. 16 v popisu sekvence watergate. Následující experimentální část popisuje postup přípravy vzorků, přípravu pufru apod., postrádám zde údaj o finální koncentraci oligonukleotidů ve vzorcích (hodnota 1mM je k nalezení až na str. 50). Oceňuji naopak detailní popis pulzních sekvencí a jejich parametrů. Vlastní výsledky práce pak obsahují popis jednodimenzionálního vodíkového spektra a přiřazení signálů v NOESY spektru. Zde bych uvítal popis a diskusi odlišností mezi 1D spektry vzorků s1fos12, s1fos14 a s1fos16. Sledování diskuse pozorovaných kontaktů v NOESY by velmi usnadnilo nějaké přehledné znázornění známých meziatomových vzdáleností v DNA duplexu (např. v rámci teoretické části), popř. i jejich modifikace očekávané při tvorbě vlásenky. Prezentace teplotních sérií naměřených spekter stejně jako nafitovaných chemických posuvů, pološířek signálů a získaných termodynamických parametrů je přehledná a graficky velmi vydařená.

Oddíl 5.5 shrnuje a diskutuje výsledky vedoucí k závěru, že vlásenková struktura se ve vzorku pravděpodobně vyskytuje.

Pan Bc. Ondřej Socha předložením této diplomové práce jasně prokázal schopnost osvojit si jak komplikované experimentální metody, tak metody zpracování a interpretace jejich výsledků. Předloženou práci doporučuji k obhajobě a doporučuji hodnocení stupněm „výborně“.

## Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

1. Je známo, stabilitu DNA v buňce zajišťují dvojmocné ionty ( $Mg^{2+}$ ), použité vzorky oligonukleotidů však dle tabulky 4.2 obsahovaly pouze jednomocné ionty. Může mít složení pufru vliv na teplotní stabilitu studovaných systémů?
2. Dle tabulky 4.2 je ve vzorku sodných kationtů více než chloridových aniontů, vysvětlíte prosím.
3. Na str. 25 se uvádí, že pro přiřazení byla použita spektra NOESY. Je známo, že pro přiřazování signálů nukleových kyselin lze použít i spektra TOCSY, bylo by to možné i v tomto případě?
4. Str. 26, Tabulka 4.2: použité směšovací časy se liší u NOESY experimentů měřených na přístroji AVANCE a AVANCE III, vysvětlíte prosím. Zvolená hodnota směšovacího času (250 ms, resp. 200 ms) je poměrně dlouhá, pro přesnější interpretaci vzdáleností mezi vodíkovými jádry by bylo vhodné znát intenzity více bodů tzv. výstavbové křivky – měřili jste také NOESY spektra s kratším směšovacím časem?

5. Na str. 35 a dále v obr. 5.11 – 5.15 se srovnávají experimentálně pozorované chemické posuny s predikcí pro B-DNA duplex. Bylo by možné získat predikci i pro předpokládanou vlásenkovou strukturu?

**Práci**

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

**Navrhuji hodnocení stupněm:**

výborně  velmi dobře  dobře  neprospě/a

Místo, datum a podpis vedoucího/oponenta:

V Praze, 31.8.2016