



**INSTITUTE OF BIOPHYSICS**  
Academy of Sciences of the Czech Republic  
Královopolská 135, 612 65 Brno, Czech Republic  
tel.: +420-541 517 111  
fax: +420-541 211 293

---

## **Theoretical Study of Nucleic Acid Bases: Tautomerism, Stability and Properties**

### **Jaroslav Rejnek**

Předložená dizertační práce se zabývá teoretickým studiem bazí nukleových kyselin, jejich stabilitou a solvatací, se zvláštním zaměřením na tautomerní rovnováhy. Práce pojednává o možnosti výskytu nestandardních bazí v biologicky relevantních systémech za použití adekvátních výpočetních metod.

Práce je formálně rozčleněna do pěti kapitol, kde jsou po úvodu, teoretické části shrnující základní použité metody a představení studovaných systémů, uvedeny a posléze diskutovány dosažené výsledky. V dizertaci jsou uvedeny pouze hlavní závěry, podrobnosti je možno nalézt v přílohách, což jsou plné texty publikací.

První kapitola je věnována úvodu a popisu hlavních témat dizertační práce jako je tautomerismus a solvatace.

Ve druhé kapitole je uveden stručný teoretický úvod do použitých metod. Důraz je kladen zejména na popis metod pro výpočet solvatační energie: molekulární dynamiky-termodynamické integrace (termodynamický cyklus) a implicitních solvatačních modelů. Toto srovnání je vhodné vzhledem k pozdějšímu srovnávání obou metod ve výsledkové části. Diskutována je také strategie výpočtu celkových interakčních energií.

Třetí kapitola uvádí studované systémy a způsob vzniku daných tautomerních struktur. V části párů bazí nukleových kyselin obsahujících tautomerní báze je zdůrazněna biologická relevantnost systému s ohledem na případné začlenění do DNA. Základní geometrické rysy jsou přehledně zobrazeny na přiložených obrázcích.

Hlavní výsledky práce jsou předloženy ve čtvrté kapitole.

Výsledkem práce jsou doposud 3 publikace in extenso v časopisech s IF 4.0, 2.5 a 0.9 publikované v letech 2004-2006, u druhé práce je dizertant prvním autorem. Práce jsou velmi dobře citovány, počet čistých citací se blíží 20 dle WOS. To je podle mne velmi dobrá scientometrická statistika a zcela to postačuje k obhajobě.

Jednoznačným pozitivem práce je mimořádná technická kvalita práce, výpočty jsou provedeny skutečně impresivní škálou těch nejlepších metod. Takové výpočty lze považovat za prakticky naprosto přesné pro gas phase a těžko si lze představit fyzikálně chemickou techniku jež by jim mohla konkurovat. Solvatační energie jsou prakticky neměřitelné, a tak i když přesnost výpočtu solvatačních energií je pochopitelně nižší, jde o velmi cenná data.

Slabinou disertace naopak je nižší biologická a biochemická relevance, protože navzdory velké oblibě tautomerů v počítačové chemii jejich biologické úlohy zůstávají pouze v rovině spekulací. Jako majoritní stavy se tautomery v přírodě ani ve vodě ani v nukleových kyselinách nevyskytují, což je dlouho známo. Přítomnost tautomerů bazí NK by pochopitelně vedla k nestabilitě genomu a nestabilitě foldingu RNA. Báze schopné tvořit tautomery jako isoguanin žádnou významnou úlohu v přírodě nehrají. Samozřejmě, transientní formování tautomerů vyloučit nelze a tyto tautomery by se mohli vybraných biochemických procesů účastnit, například enzymatických reakcí, i když experimentální průkaz pro to zatím není (což ovšem v tomto případě nic neznamená, takové tautomery jsou prakticky nedetekovatelné)

Tím nakonec lze studium tautomerů odůvodnit. Tento problém (který se ale obecně týká prací tohoto typu a ne jen předložené disertace) lze ilustrovat například na poměrně omezené literární rešerši, 27 citací v drtivé většině blízkých teoretických prací. Nejsou citovány ani studie jiných skupin na tautomery ani studie na solvataci bází či párů bází, což vyvolává určité pochybnosti o autorově literární rešerši. Autor opakovaně obecně zmiňuje význam tautomerů ale nikde ho vlastně jasně nedokumentuje.

Přílohu práce tvoří 3 publikované práce, autor ale zjevně zapomněl přiložit ohlášenou přílohu č. 4.

Práce je psána anglicky, což je třeba ocenit, byť angličtina má k optimu daleko a na každé straně textu je několik gramatických chyb nebo zcela neobratných formulací. Řada chyb je triviálních, jako množné vs. jednotné číslo, u řady formulací by jejich neobratnost odhalil již prostý otrocký překlad do češtiny. Str. 14 věta If the total energy is minimized.... je téměř nesrozumitelná. Na další straně nesouhlasím zásadně s interpretací deformační energie. Deformační energie má vždy dvě složky. Reálnou deformaci která nemá s BSSE nic společného (odtud se bere např. IR red shift atd.), a BSSE artefaktuální část deformační energie (viz reference 26). Podle mne reálná deformace je obvykle dominantní oproti BSSE části. Věta, že při použití BSSE-free procedury není deformační energie definována je špatně, má tam být, že deformační energii autor nepočítal, ne že není definována, nebo že je to důsledek BSSE. Práce nicméně jako celek je dobře srozumitelná.

**Přes uvedené výhrady se jedná o pěknou práci, která s rezervou splňuje požadavky na udělení PhD, a proto práci zcela jednoznačně doporučuji k obhajobě a autora k následnému udělení titulu.**

dotazy:

Jaký je vliv monohydratace na výsledné solvatační energie u implicitního modelu? V poslední práci je vidět velmi rozumná shoda mezi klasickou TI metodou a QM COSMO metodou u všech systému s výjimkou guaninu, kde se zdá být rozdíl drastický. Existují fyzikálněchemické důvody pro toto řekl bych brutální selhání klasické TI procedury pro jeden systém ze 6 a nebo je tabulka špatně? Dochází tam k nějaké změně elektronové struktury G či něčemu, co by to mohlo způsobit? To by mohlo mít velmi nepříjemné důsledky pro solvataci guaninu v klasických simulacích, pokud by chyba vznikala u kanonického tautomeru. Kterou metodu výpočtu solvatační energie považuje autor za nejvýhodnější a proč? Proč dal přednost COSMU před třeba častěji užívaným PCM?

Je notoricky známo, že solvatační energie se velmi špatně počítají, (a ještě hůře měří). U metod jako je klasické PB/SA, GB/SA a nebo kvantově chemické PCM výsledky velice záleží na tom, jaké parametry se zvolí pro velikosti atomů. Tento problém představuje jedno z nejhorších omezení, jež dnes počítačová chemie v oblasti biopolymerů má (například spočítat pořádně binding energy i jen jednoduchého léčiva do žlábků DNA prakticky nejde). Jak je to s citlivostí metody COSMO na parametrizaci, jaké parametry lze adjustovat, a dělal autor nějaké testy oproti experimentu příbuzných systémů, kde jsou solvatační energie známy?

V Brně dne 7. 9. 2006

  
Doc. RNDr. Jiří Šponer, DrSc.