

Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě
Univerzity Karlovy

- posudek vedoucího posudek oponenta
 bakalářské práce diplomové práce

Autor/ka: **Bc. Štěpán Jílek**
Název práce: Vibrační optická aktivita nukleotidů a kratších segmentů nukleových kyselin
Studijní program a obor: Fyzika – Biofyzika a chemická fyzika
Rok odevzdání: 2021

Jméno a tituly vedoucího/opponenta: **RNDr. Václav Profant, Ph.D.**
Pracoviště: Fyzikální ústav UK, MFF UK
Kontaktní e-mail: profant@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:

Předkládaná diplomová práce Štěpána Jílka se věnuje charakterizaci nukleotidů a nukleotidových agregátů metodami vibrační spektroskopie. Nukleotidy mají nezastupitelnou roli v organismech prakticky libovolné složitosti, ať už jde o využití funkční (buněčná energetika, enzymatika, aj.) či stavební, kdy slouží jakožto základní jednotky nositelek genetické informace, nukleových kyselin. Díky tomu je jejich výzkum dlouhodobě v popředí vědeckého zájmu. Zdaleka nejvíce se pro jejich studia využívaly a využívají metody založené na rentgenové difrakci, jaderné magnetické rezonanci a různých typech chromatografií. V posledních dekádách však začínají být stále více používány i metody optické spektroskopie sledující jak elektronové přechody (UV absorpce, cirkulární dichroismus), tak vibrační pohyby (infračervená absorpce, Ramanův rozptyl). Velmi zajímavou alternativou se zdá být aplikace metod vibrační optické aktivity, které kombinující informační bohatost vibrační spektroskopie se stereochemickou citlivostí optické aktivity, neboť nukleotidy, podobně jako i další základní molekuly našich organismů, jsou látky chirální. Štěpán Jílek ve své experimentální práci ukazuje, že chirální varianta Ramanovy spektroskopie – Ramanova optická aktivita – může být díky své vyšší citlivosti k cukerné složce nukleotidů s výhodou využita jak pro studium volných nukleotidů tak především jejich agregátů (G-tetrád).

Student se nejprve v souladu se zadáním diplomové práce seznámil s teoretickými principy Ramanova rozptylu včetně jeho chirální varianty - Ramanovy optické aktivity - a vypracoval jejich stručnou rešerši. Osvojil si způsob přípravy vzorků, prakticky zvládl měření na Ramanovském a ROA spektrometru a dále zvládl metody statistického zpracování experimentálních dat včetně fitu reakčních mechanismů. Na základě těchto získaných znalostí a dovedností se mu pak podařilo získat velké množství původních výsledků. Mezi ně patří především:

- (i) naměření vysoce kvalitních ROA spekter 5'-rAMP a 5'-rGMP v celé oblasti fundamentálních vibrací,
- (ii) stanovení pK_a disociačních konstant 11 různých nukleotidů a charakterizace spektrálních změn v Ramanových a ROA spektrech spojených se dvěma protonacemi fosfátové skupiny a jednou protonací nukleové báze,
- (iii) charakterizace spektrálních rozdílů spojených s různou polohou fosfátové skupiny či záměnou ribosy za 2'-deoxyribosu,
- (iv) kvantifikace spektrálních změn spojených se stohováním (stackingem) nukleobází,
- (v) studium vzniku G-tetrád a jejich asociátů v prostředí sodných a draselných iontů a změření ROA spektra agregátu molekul 5'-rGMP se sodíkovými kationy, kdy byl získán velmi specifický signál prokazující velkou rigiditu a vysoce organizované uspořádání této struktury.

Štěpán Jílek během své práce prokazoval velký zájem o danou problematiku, pracoval svědomitě a s velkým nasazením. Během přípravy vzorků, provádění a vyhodnocování měření prokázal vysokou míru zodpovědnosti a důslednosti. Při často netriviálním vyhodnocování experimentálních dat kriticky hodnotil vlastní závěry a posuzoval jejich soulad s odbornou literaturou.

Rád bych vyzdvihl i samotnou formální stránku práce, která je i přes značný rozsah konzistentní, přehledná a s pěknou grafickou úpravou.

Domnívám se, že předkládaná práce Štěpána Jílka splňuje a v mnoha ohledech i převyšuje požadavky kladené na diplomovou práci, obsahuje kvalitní a kvalitně prezentovaný výzkum, který má potenciál pro publikaci. Diplomovou práci proto s radostí doporučuji k obhajobě a navrhuji její ohodnocení stupněm „výborně“.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

Nemám žádné otázky ani připomínky.

Práci

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

Navrhují hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/opponenta:

V Praze 4. září 2021