

Posudek práce

předložené na Přírodovědecké fakultě JU

- posudek vedoucího posudek oponenta
 bakalářské práce diplomové práce

Autorka: **Bc. Ingrid Romancová**
Název práce: Binding of Cyanine Fluorescent Probes to DNA
Studijní program a obor: Biofyzika
Rok odevzdání: 2013

Jméno a tituly vedoucího/opponenta: doc. Mgr. Martin Kabeláč, Ph.D.
Pracoviště: Ústav chemie, PřF JU
Kontaktní e-mail: mkabelac@prf.jcu.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/opponenta:

Slečna Bc. Ingrid Romancová se ve své diplomové práci věnovala molekulárně dynamické simulaci oligomerů DNA s kovalentně navázanými cyaninovými barvivy s cílem modelovat hybridizační proces na DNA čipech za přítomnosti fluoroforů. Dílo je napsáno v anglickém jazyce v celkovém rozsahu 84 stran bez závažnějších jazykových chyb.

Z diplomové práce mám poněkud rozporuplný pocit. Zatímco dosažené výsledky lze hodnotit jako nadprůměrné a svoji kvalitou i kvantitou svědčí o značné péči a odborné fundovanosti autorky, která úspěšně zvládla práci se softwarem pro molekulovou dynamiku i kvantovou mechaniku a základy programování, vlastní text práce mě již tolik neuspokojil. Dovolil bych si upozornit na absenci rešerše podobně zaměřených teoretických a částečně i experimentálních prací věnovaných flexibilitě fluorescenčních barviv navázaných na DNA a zejména na fakt, že v diskuzi a v závěru, kromě jedné strohé věty, nejsou výsledky srovnány se současným stavem poznání dané problematiky. Autorka se dopustila v práci i četných věcných chyb, z nichž za nejzávažnější považují klasifikování metody Monte Carlo jako deterministické, ač se jedná o stochastickou metodu, absenci definice některých členů v rovnicích (např. rovnice na str.3, 38) či jejich chybný tvar (chybějící faktor $1/4\pi$ v rov. na str.6 dole), dále pak nedefinování některých použitých zkratk (obr. na str. 4), na obr. 9 je místo adeninu nakreslen indol. V textu jsem postrádal jakýkoliv odkaz na práci autorky uvedený v diplomové práci jako Příloha 4.

Naopak je třeba vyzdvihnout velmi dobrou grafickou prezentaci výsledků a podrobné vysvětlení použitého simulačního protokolu v molekulové dynamice.

Přes výše uvedené výtky doporučuji práci k obhajobě.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

1. Ve výsledcích mě překvapila celková menší flexibilita DNA s navázaným barvivem než u samotné DNA. Očekával bych, že efekt vazby barviva na konformaci DNA se omezí zabráněním "vlání" koncových bází v DNA a na další páry již nebude mít vliv. Má autorka pro tento jev nějaké vysvětlení?
2. Lze srovnat -alespoň kvalitativně- sílu interakce barviv Cy5 a Cy3 s DNA?
3. Na Internetu jsem marně hledal definici "pseudoetherové" skupiny (str. 38). Prosím o objasnění pojmu.

Práci

doporučuji

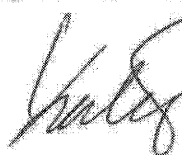
nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/opponenta: V Českých Budějovicích 16.5. 2013.



doc. Mgr. Martin Kabeláč, Ph.D.

Posudek práce

předložené na Přírodovědecké fakultě JU

- posudek vedoucího posudek oponenta
 bakalářské práce diplomové práce

Autorka: **Bc. Ingrid Romancová**
Název práce: Binding of Cyanine Fluorescent Probes to DNA
Studijní program a obor: Biofyzika
Rok odevzdání: 2013

Jméno a tituly vedoucího/opponenta: Mgr. David Řeha, Ph.D.
Pracoviště: Ústav nanobiologie a strukturní biologie CVGZ, AVČR, Nové Hradky
Kontaktní e-mail: reha@nh.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/opponenta:

Předložená diplomová práce je psána v anglickém jazyce a má celkem 84 stran. Autorka se v ní zabývá teoretickým studiem konformací oligomeru DNA s kovalentně navázanými cyaninovými barvivy pomocí metod molekulové dynamiky. Cílem práce je modelování hybridizace na DNA čipech.

Co se týká samotných odborných výsledků, bych práci hodnotil jako nadprůměrnou. Rozsah práce je veliký, autorka zde zvládla parametrizaci empirického silového pole pro cyaninové barviva, což obnáší kvantově chemické výpočty, postupy při fitování nábojů a torzních parametrů a práci s příslušným software. Dále autorka prokázala znalosti modelování pomocí MD simulací a následně provedla velmi pečlivou a podrobnou analýzu konformací a dynamických vlastností jak samotných cyaninových barviv, tak i DNA. Také předvedla schopnosti programovat vlastní skripty a pomocné programy. Výsledky práce přináší cenné informace o chování oligomerů DNA s navázanými Cy barvivy.

V otázce formálního zpracování bych ale práci hodnotil spíše jako průměrnou. Kladně bych ohodnotil vysokou jazykovou úroveň a celkem zdařilou podrobnou prezentaci výsledků. Nicméně celkové uspořádání práce a zvláště pak úvodní části považuji za méně zdařilé. Úvod působí jako nesourodý splepenec různých teoretických metod, popisů konformací DNA bazí a experimentálních metod. Většina toho dle mého názoru spíše patří do kapitoly Methods. Některé metody jsou popsány velmi podrobně, jiné velmi stručně. Např. zde chybí obecnější popis empirických potenciálů (autorka píše rovnou o AMBERu). V samotném úvodu pak hlavně chybí nějaké shrnutí již publikovaných výsledků s obdobným zaměřením. Podobně v závěru chybí porovnání výsledků této práce s jinými experimentálními i teoretickými pracemi. Dále je škoda, že autorka nijak podrobněji nevčlenila svou práci publikovanou v *J.Phys.Chem. A* do této diplomové práce, místo toho ji jenom použila jako zcela nekomentovanou přílohu.

V práci je i několik faktických chyb. Na str. 15. věta „*The dyes can be covalently connected via a three-carbon linker attached to N9' to the 5'-phosphate terminus of the DNA (see Figure 6).*“ je poněkud nejednoznačná, není zjevné, že N9' je atom Cy5(9) a navíc na obr 6. není ta kovalentní vazba na DNA zakreslená, i když se na to text odkazuje. Na obr. 9 není zobrazen adenin, ale indol. Na obr. 35 chybí definice červené barvy (residue 2; 4.sloupec) v příloženém „*color scale*“.

I přes výše uvedené nedostatky však tuto diplomovou práci hodnotím příznivě a doporučuji ji k obhajobě.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

1. Fitované RESP náboje také závisí na konformaci molekuly. Jak toto bylo zohledněno při fitování nábojů na zoptimalizované struktury Cy3(5)?
2. Co znamená $PK1_{\text{corr}}$ v rovnici na konci strany 38? Byl při fitování torzních parametrů na kvantově-chemické rotační bariéry nějak zohledněn fakt, že závislost celkové molekulárně mechanické energie na měřeném torzním úhlu (ta by se měla porovnávat s QM rotační bariérou) zahrnuje taky příspěvky nevazebné energie (vdw a elektrostatiku) a ne pouze E_{tors} ?
3. Větu v závěru práce (str 73) „*The Cy3-DNA is more flexible since the proximal indole ring can be also involved in stacking interactions.*“ lze chápat tak, že vyšší flexibilita Cy3-DNA je důsledkem stackových interakcí proximálního indolového kruhu Cy3. Prosil bych o vyjasnění této věty a diskuze o důvodech vyšší flexibility Cy3-DNA. Má autorka nějaké vysvětlení proč je Cy3-DNA flexibilnější než Cy5-DNA?

Práci

doporučuji

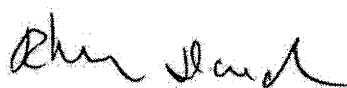
nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/oponenta: V Nových Hradech, 19.5.2013



Mgr. David Řeha, Ph.D.



