

Posudek oponenta diplomové práce

Název diplomové práce: **Využití konjugačních reakcí pro postsyntetické značení oligonukleotidů**

Jméno autora: **Bc. Lenka Branská**

Jméno oponenta: Ing. Zuzana Havlínová Ph.D.

Předložená práce se zabývá studiem post-syntetického značení oligonukleotidů a jejich následným využitím jako hydrolyzačních sond v real time PCR. Autorka v práci popisuje a testuje jednu z metod post-syntetického značení a to metodu, kdy fluorofor navázaný na reaktivním NHS esteru reaguje s amino modifikací 5' konce oligonukleotidu. Dále se zabývá i následnou purifikací vzniklého produktu, která je pro další využití značeného oligonukleotidu nutná. Autorka v práci porovnává dva druhy purifikací a to kolonkovou a precipitační. Konečným krokem je poté ověření funkčnosti získaných sond metodou real-time PCR.

Výsledky práce jsou přehledně shrnuty v grafech a práce je ukončena výstižným závěrem.

Počet citací, z nichž většina je z internetových zdrojů, svým množstvím odpovídá rozsahu diplomové práce.

Jediné výhrady mám k formální stránce zpracování diplomové práce a to především k Teoretické části. V teoretické části autorka u většiny obrázků neuvádí odkazy na obrázky v textu. V kapitole 2.3.2 Metody značení oligo autorka v textu popisuje obrázek 12 (*Obrázek 12: Značení oligonukleotidů [27]*), ale ve skutečnosti se jedná o obrázek 5 (*Obrázek 5: Příklady značení oligonukleotidů [12]*). Dále je v teoretické části nejednotnost v popisu obrázku, část obrázku je popsána v českém jazyce, část v anglickém.

I přes formální výhrady autorka zpracovala velmi zajímavé a aktuální téma. Výsledky a závěry získané při zpracování této diplomové práce jsou prezentovány přehlednou formou a jsou přínosné, proto práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou **velmi dobře**.

K diplomové práci mám dvě otázky:

- 1) V teoretické části v kapitole 2.2.1.1. Nosič reakce je věta: „CPG je obecně definován svou velikostí pórů, přičemž velikost pórů 500, 1000, 1500, 2000 a 3000 nm se používá pro umožnění přípravy asi 50, 80, 100, 150, a 200-merních oligonukleotidů v daném pořadí“.

Zde je uvedena velikost póru v nm. Obecně se, ale velikost póru udává v jednotce Ångström (Å). Jedná se o překlep nebo autorka převedla velikost z Å na nm?

- 2) V kapitole 5.2 Výběr purifikační metody, Graf 5: Procentuální výtěžnost purifikace oligonukleotidů, je uvedena u vzorku 891S0 výtěžnost purifikace vyšší než 100%. Jak je to možné?

Zuzana Havlínová

V Hradci Králové 23.5.2016