

# POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: Korelace plochy pod píkem a koncentrací oligonukleotidu za použití HPLC v závislosti na sekvenci a modifikaci oligonukleotidu

Autor práce: **Bc. Jana Marečková**

Školitel: PharmDr. Antonín Libra, Ph.D.

Konzultant: Ing. Zuzana Havlínová, Ph.D.

Studentka Bc. Jana Marečková vypracovala diplomovou práci na Katedře biologických a biochemických věd a experimentální část byla realizována v laboratořích GENERI BIOTECH s.r.o. Práce je konvenčně členěna na teoretickou část, experimentální část, výsledky s diskuzí a závěr.

Teoretická část je sepsána na 37 stranách. Studentka v ní popisuje základní strukturu nukleových kyselin. Dále se věnuje popisu jednotlivých způsobů chemické syntézy oligonukleotidů. Zejména se zaměřuje na fosforamiditovou syntézu, která je v současnosti nejčastěji využívaným postupem přípravy. V následující kapitole popisuje způsob kvantifikace množství nukleových kyselin, popis je cílen zejména na syntetické oligonukleotidy. Kapitola Purifikace popisuje obvyklé používané způsoby pro purifikaci oligonukleotidů. Poslední kapitola teoretické části se zaměřuje na fyzikálně chemické vlastnosti oligonukleotidů zejména na jejich roli v HPLC separaci.

Zpracování teoretické části působí mírně roztržitým dojmem. Zejména závěr teoretické části, kde by mělo dojít k provázání informací o vlastnostech oligonukleotidů a jejich chování v HPLC, nepůsobí uceleným dojmem. Přestože je HPLC klíčovou metodou v rámci DP, je jí věnována poměrně malý rozsah v této části. V práci se vyskytují poměrně málo překlepy, ale je zde častý výskyt neodborně působících slovních spojení. Celkově teoretickou část hodnotím jako průměrnou.

Experimentální práce obsahuje popisy vstupních materiálů pro jednotlivé experimenty, zejména vlastnosti využitých oligonukleotidů. Následuje popis využitých metod – stanovení koncentrace zásobních roztoků oligonukleotidů, HPLC analýza a způsob zpracování a hodnocení dat.

V kapitole výsledky jsou nejprve uvedeny výstupy iniciálních experimentů - stanovení koncentrace zvolených oligonukleotidů v zásobních roztocích, ověření opakovatelnosti stanovení plochy po píkem u zvolené metodiky HPLC na dvou koncentračních hladinách a dále volba vhodných koncentračních bodů oligonukleotidů na kterých byly analýzy prováděny. Další výstupy už popisují výsledky dosažené na celém setu vybraných oligonukleotidů a celém souboru sond. Tyto kapitoly zároveň popisují výstupy modelování pomocí lineární regrese. V popisu se autorka podobně jako v teoretické části nedokázala ubránit slangovým výrazům nebo spojení.

Citováno je celkem 95 zdrojů, z nichž většina jsou původní práce v anglicky psaných recenzovaných časopisech. Práce je napsána na 85 stranách. Vlastní text bez obsahu, anotace a seznamu zkratk je na 60 stranách. Práci ilustruje 10 obrázků a 14 grafů.

Hodnocení: Experimentální činnost studentka vykonávala v laboratořích GENERI BIOTECH zejména pod vedením školitelky specialistky Ing. Zuzany Havlínové, Ph.D. Bohužel tato praktická etapa nebyla vykonávána s maximální svědomitostí. Často docházelo k nedodržení domluvených termínů a tím se realizace práce značně prodlužovala. Nebylo tak možné provést další měření, na kterých by pak vytvořené modely bylo možné validovat. Naopak hodnotím velmi pozitivně samostatnost studentky ve využití statistického prostředí R a přidružených softwarových balíčků, se kterými se naučila pracovat a využila je pro zobrazení výstupů nebo vytváření regresních modelů.

Práce svým rozsahem odpovídá formálním požadavkům kladeným na diplomovou práci. Zadání práce bylo splněno a cíle byly dosaženy. I přes výše zmíněné nedostatky ji

**doporučuji k obhajobě a hodnotím známkou D.**

V Hradci Králové 22. 5. 2023

PharmDr. Antonín Libra, Ph.D.