

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2023

Autor/ka práce: **Maxim Hof**
Vedoucí práce: doc. PharmDr. Radim Kučera, Ph.D.
Konzultant/ka: Mgr. Ondřej Horáček
Oponent/ka: PharmDr. Lukáš Lochman, Ph.D.
Název práce: **Separace molekulárních sond pomocí kapilární elektroforézy**

Rozsah práce: 79 stran, 27 obrázků, 12 tabulek, 52 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | velmi dobrá |
| b) Náročnost použitých metod: | výborná |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | výborné |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | výborná |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | výborné |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | výborné |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | výborná |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: | výborná |
| i) Splnění cílů práce: | výborné |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: | výborné |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): | velmi dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | velmi dobrá |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Student Maxim Hof se ve své diplomové práci zabýval separací molekulárních sond založených na modifikovaných oligonukleotidech, a to pomocí kapilární zónové elektroforézy. V rámci přípravy diplomové práce bylo provedeno velké množství experimentů se snahou dosáhnout nejlepších separačních podmínek. Vyvinuté a optimalizované metody byly následně srovnány s dříve publikovanými výsledky, kdy byla separace provedena pomocí HPLC instrumentace.

Diplomová práce je klasicky členěná. Teoretická část práce je sepsána stručně a výstižně. Jsou zde zpracovány informace týkající se teorie, instrumentálního vybavení a optimalizačních parametrů metody při analýze s využitím kapilární elektroforézy. Velmi kladně hodnotím stručný přehled věnovaný modifikovaným oligonukleotidům. Cíle práce byly jasně definovány. Experimentální část je výstižně sepsána a experimenty jsou dostatečně popsány. Kapitola Diskuze a výsledky je sepsána velmi pečlivě a na velmi dobré odborné úrovni. Velmi dobrým rozhodnutím je shrnutí nejlepších podmínek separace vždy za kapitolou věnovanou příslušné skupině analytů. V práci bylo uvedeno dostatečné množství recentních zdrojů literatury.

Z hlediska kontroly podobnosti diplomové práce nebyly nalezeny žádné významné shody. Program Theses vyhodnotil celkovou podobnost 6 %, Program Turnitin 11 %. Ve většině případů se jedná o shody v podobě ustálených slovních spojení nebo definic.

V diplomové práci jsem zaznamenal vyšší množství překlepů a gramatických chyb. Proto bych příště doporučil před odevzdáním zvážit jazykovou korekci textu. Z formálního hlediska není zcela šťastné uvedení kapitoly Obsah v Obsahu práce, dále číslování kapitol by mělo být dle pravidel vypracování diplomové práce maximálně do třetí úrovně.

Tyto nesrovnalosti však nesnižují kvalitu předložené diplomové práce a na základě výše uvedeného hodnocení doporučuji předloženou diplomovou práci k obhajobě a hodnotím ji jako „výborná“.

Dotazy a připomínky:

Str. 33 Vysvětlíte pojem „Dark quencher“ a „Black hole quencher“.

Str. 42 Jaká byla koncentrace zásobních roztoků analytů, které byly použity pro naředění při přípravě vzorků? Jakým způsobem byla zajištěna finální koncentrace, kterou jste odečetali při ředění pomocí absorbance roztoku?

Str. 44 Vysvětlíte větu: Při takto nízkém pH získávají jednotlivé nukleobáze proměnný zlomek kladného náboje v důsledku jejich různého pKa.

Str. 45 Kapitola 5.1. „Za podmínek bazického pufru byla analýza neúspěšná, protože se nepodařilo detekovat žádné analyty.“ Z jakého důvodu byla nejspíše v tomto případě analýza neúspěšná?

V DP uvádíte délku křemenné kapiláry použité při měření. Jedná se o efektivní nebo celkovou délku, jaký je mezi pojmy rozdíl? Co znamená spojení „příliš dlouhá analýza/příliš dlouhý čas analýzy“ (str. 41, 47)?

Str. 61 Z jakého důvodu je optimalizována metoda umožňující separaci všech 4 analytů (OLIGO; PCQ; PCQ-FAM; PCQ-Cy5), když při reálné aplikaci bude třeba rozdělit směs OLIGO; PCQ; PCQ-FAM nebo OLIGO; PCQ; PCQ-Cy5?

V DP popisujete problémy s opakovatelností analýz. Nebylo by možné migrační časy stáhnout k nějakému markeru EOF? Využívali jste během měření marker EOF při optimalizaci podmínek metody?

Nevhodné obraty a překlepy:

Str. 33, 34 a 39 Názvy chemikálií: 6-karboxyfluorescein; tetrachlorfluorescein; tetramethylindo(di)-karbokyanid

Str. 33 Jeho absorpční rozsah se pohybuje mezi 480-580 nm s vrcholem absorpce v 534 nm.

Str. 34 6- FAM (6-karboxyfluorescein) je fluorescenční barvivo s absorpčním píkem v 493nm a excitačním píkem u 517 nm.

Str. 59 Mezi vzorky PCQ a PCQ-FAM je náznak separace.

Str. 59 Další důvod odebrání vzorku PCQ-FAM bylo to, že se při syntéze dvě dvojité značené sondy nepotkají.

Str. 63 Píky nebyly dostatečně separovány a elektroforeogramy byly nepřehledné.

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

8. září 2023

podpis oponenta/ky