

# OPONENTSKÝ POSUDEK

doktorské disertační práce Ing. Věry Hezinové  
„DEVELOPMENT OF INSTRUMENTATION AND METHODOLOGY  
IN PROTEOMIC AND ENVIRONMENTAL ANALYSIS“

---

Oponent: Doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.  
Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí  
Fakulta chemická VUT v Brně

Předložená disertační práce má definované 3 hlavní cíle: prvním je využití kvantových teček jako fluoroforů pro separace kapilární elektroforézou s detekcí pomocí laserem indukované fluorescence nebo pro fluorescenční mikroskopii. Druhým je optimalizace laboratorních postupů pro identifikaci změn proteinů v kvasince *Rhodotorula glutinis* za normálních podmínek a pod vlivem stresu. Třetím je pak návrh a testování nového mezičlenu pro spojení kapilární elektroforézy s hmotnostní spektrometrií. Rozsah práce je na hranicích únosnosti (197 stran), text obsahuje 108 obrázků (přičemž obrázek 106 chybí a obr. 108 je dvakrát) a 23 tabulek. Seznam literatury obsahuje 273 položek.

Po přečtení cílů práce jsem očekával nějaký jednotící prvek mezi vymezenými tématy, a ke svému překvapení jsem shledal, že zde není. Práce je koncipována jako tři relativně samostatné celky, které byly řešeny, aniž by výsledky z jednoho tématu byly nějak využity při řešení další problematiky. Důsledkem toho je pak výše uvedený rozsah disertace.

Práce je sepsána v jazyce anglickém. Z hlediska gramatického lze v textu nalézt poměrně dost prohřešků, nejčastějším je zřejmě neshoda čísla (jednotného nebo množného) podmětu a přísudku – např. str. 22: „Nanodiamonds can find its application...“; str. 62: „3 µl of crude reaction mixture was injected...“; tamtéž: „A constant flow of 2 ml/h were applied...“; str. 69: „The peptides... was directly injected...“ atd. Občas vypadlo slůvko – např. nadpis kapitoly 1.1.1.1 „Fluorescence biomolecules“ (pravděpodobně chybí „of“) str. 68: „Nebulization gas was 4 psi...“ (nesjpíše chybí „pressure“); Občas je použito nesprávného slova – např. na str. 60 jsem se divil, proč v použitém spektrografu musí být plivanec (spit) namísto obvyklé štěrbin (slit). Věta na str. 69 „Analysis were performed CE – MS system consist of laboratory - made capillary electrophoresis...“ mě pak opravdu vyvedla z míry. Toto vše jsou ale chyby poměrně snadno odhalitelné, ale při rozsahu práce se nelze divit, že je (a mnoho dalších) autorka i případný korektor přehlédli.

V oblasti věcné bych autorce doporučil nepoužívat velká písmena u názvů sloučenin, nejedná se o vlastní jména ani místní názvy. Naopak bych doporučil používat jednotky soustavy SI. Rovněž bych se vyhnul popisu aktivit v 1. osobě jednotného čísla, u odborných prací se upřednostňuje trpný rod. V práci nejsou očíslované rovnice; pak se lze těžko na nějakou v textu odvolávat. Experimentální část by měla obsahovat vyčerpávající popis použitého vybavení a postupů. V řadě případů lze toto nalézt až v části Výsledky a diskuse.

K vlastnímu obsahu práce mám následující připomínky:

1. V celé práci je pojem „citlivost“ (sensitivity) nesprávně interpretován ve smyslu schopnosti systému poskytnout odezvu na nepatrné množství látky.

2. Na str. 69 a dále v textu autorka chybně uvádí, že použila metodu „Solid Phase MicroExtraction (SPME).
3. Str. 49: Nepřesný a neúplný popis principu elektrospreje.
4. Str. 50: Taktéž u sheet flow interface může separační kapilára sloužit jako sprejovací. Publikace citované k problematice „CE-MS liquid junction interface“ jsou víceméně recentní, nicméně tento typ spojení byl popsán již počátkem posledního desetiletí minulého století, což by v práci mohlo být zmíněno, neboť spojení CE-MS je jednou ze tří nosných problematik této disertační práce, takže by si zasloužilo více než 2 odstavce.
5. Str. 62: Věta „This stationary phase is able to catch molecules bigger than 15 000 Da.“ asi není zcela v pořádku.
6. Str. 68: Formulace „nebulization gas flow was 15 psi“ je nesprávná.
7. Str. 72: „ion trap electrospray mass spectrometry, Thermo Finnigan“ není dostatečná specifikace přístroje použitého k měření – krom toho je takto uvedena spíše metoda než přístroj.
8. Str. 72: Co je „ESI emitter“?
9. Str. 75: Odkaz na neexistující kapitolu 2.1.1.
10. Str. 86: Text vztahující se k obr. 34 má pravděpodobně patřit k Obr. 33. Další text anonující Obr. 34 je na str. 89.
11. Str. 111: Není mi jasné, jak lze vypnout (turn off) singletový kyslík.
12. Str. 172, table 23:  $r^2$  není korelační koeficient.

K práci mám následující dotazy a náměty do diskuse:

1. Na str. 51 uvádíte, že „citlivost CE-MS může být zlepšena různými postupy jako užitím jisté extrakce“. Mohla byste to upřesnit?
2. Str. 51: U SPE je uveden jako hlavní efekt redukce objemu. Je toto hlavní příčinou popularity této techniky?
3. V textu na str. 115 je zmiňována metodika MALDI-MS/MS. V experimentální části tato technika není ale vůbec specifikována. Mohla byste doplnit podrobnosti a vysvětlit, co je „statisticky významná identifikace“?
4. Jakým způsobem jste vyhodnotila trojnásobek směrodatné odchylky šumu (str. 123)?
5. Mohla byste vysvětlit, proč v grafu na str. 125 (Fig. 67) je vyneseno poměr S/N na složení elučního činidla a ne plocha píku? Šum byl pro všechny případy vyhodnocován separátně nebo byla vzata nějaká paušální hodnota?
6. Mohla byste definovat váš podíl na konstrukci CE-MS interface využitého k experimentům v rámci vaší disertační práce?
7. Mohla byste charakterizovat vztah výsledků vaší disertační práce k environmentální analýze a jejich využitelnost v této oblasti?

Při celkovém zhodnocení předložené disertační práce konstatuji, že shrnuje velmi rozsáhlý soubor výsledků získaných v rámci experimentální části, kvalita této práce je na vysoké úrovni, řešená tematika je aktuální a zajímavá a získané výsledky jsou přínosné, mají potenciál dalšího rozvoje a dokládají schopnost autorky racionálně vědecky pracovat, což je doloženo i výpisem jejích publikačních aktivit.

Vzhledem k tomu, že žádná z mých výše uvedených připomínek není zásadního charakteru, doporučuji, aby disertační práce byla

**přijata k obhajobě**

a po jejím úspěšném obhájení necht' je její autorce Ing. Věře Hezinové v souladu příslušnými zákonnými ustanoveními udělen akademický titul „doktor“ (Ph.D.).

V Brně dne 11. prosince 2011

Doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.