

Posudek disertační práce

s názvem

Studium kinetiky trypsinového štěpení peptidů a chirálních separací biologicky aktivních látek metodou HPLC

předložené Mgr. Terezou Šlechtovou

na Univerzitě Karlově v Praze, Přírodovědecké fakultě, Katedře fyzikální a makromolekulární chemie

Předkládaná práce představuje kompilaci šesti prací a sestává ze dvou částí. První částí jsou tři původní články a druhou pak tři články přehledové. Dvě původní práce jsou již publikovány v kvalitních recenzovaných časopisech (*Analytical Chemistry* a *Separation and Purification Technology*) a jedna byla zaslána do recenzního řízení (*Analytical Chemistry*). Jeden přehledový článek byl již otištěn (*Analytica Chimica Acta*), jeden akceptován (*Current Medicinal Chemistry*) a jeden zaslán k přijetí (*Separations*). Práce jsou doplněny společným úvodem a separátními úvody ke každému z článků. U dvou originálních prací, jedné přijaté a jedné zasláné (obě *Analytical Chemistry*), je Mgr. Šlechtová uvedena jako první autor.

Práce je zaměřena na dvě obecná témata.

Dvě původní práce se zabývají proteomikou, konkrétně trypsinovému štěpení problematických peptidových sekvencí a srovnáním aktivit kolon s imobilizovaným trypsinem.

Druhou oblastí je problematika chirální analýzy. Zde je jedna původní práce věnována chirální separaci tryptofanu a jeho neobvyklým derivátům metodami CE a HPLC.

Tuto část práce lze tedy posuzovat jako logický souhrn získaných výsledků.

Další částí předkládané práce jsou poměrně rozsáhlé (126 až 199 citací) přehledové články zabývající se chirálními stacionárními fázemi na bázi cyklických oligosacharidů používaných ve farmaceutické kontrole čistoty, chirální separací aminokyselin pro účely datování a diagnostiky, a konečně chirálními separacemi metodou SFC.

K práci mám několik připomínek a dotazů.

Dotazy a připomínky

Publikace 1

1. Nemohou být drobné změny koncentrace uváděné na obr. 4 v insertech způsobeny nečistotami výchozích peptidů, jejichž čistotu uvádíte $\geq 80\%$?

Publikace 2

1. Jak vypadá modifikace BEH nosiče, že je stabilní i při pH 9?

2. Není nikde uvedeno co je NaCNBH_3 ?

3. Při rozměrech UNC kolony 2,1 mm x 30 mm je její objem 104 μl a při uvedeném fázovém podílu 0,7 je objem MF v koloně asi 73 μl . Dávkováním 100 μl roztoku BAPNA tedy dojde k přeplnění kolony a je tedy nepřesné uvádět čas setrvání substrátu na koloně, když čelo zóny roztoku již opouští kolonu, zatímco konec zóny ještě do kolony nevstoupil. Skutečný čas kontaktu analytů s enzymem tedy bude ve skutečnosti kratší.

4. Pro uvádění koncentrace molarity by se neměla používat zkratka M, ale IUPAC doporučená jednotka $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.

Publikace 3

1. Nezkoušeli jste použít kapiláry s modifikovaným povrchem a s elektroosmotickým tokem nezávislým na pH?

K přehledovým článkům nemám výhrady ani dotazy.

Jazykové nepřesnosti, překlepy

Str. 11: lyzin vs. lysin

Str. 28: množství imobilizovaného trypsinu – nikoliv 84 mg na 1 mg BEH, ale 84 mg na 1 g BEH

Uvedené připomínky a námítky nejsou závažného charakteru a podle mého názoru práce splňuje všechny požadavky disertační práce, proto ji doporučuji k přijetí a udělení titulu Ph.D.

V Praze, 2. září 2016

doc. RNDr. Radomír Čabala, Dr.

