

Posudek školitele na disertační práci Mgr. Veroniky Šolínové:

Analýza, separace a fyzikálně-chemická charakterizace peptidových hormonů kapilární elektroforézou

Mgr. Veronika Šolínová nastoupila do Laboratoře elektromigračních metod Ústavu organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky v září r. 2002, vlastní doktorské studium v oboru analytická chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze zahájila v říjnu téhož roku. V prvním roce se věnovala převážně studiu teoretických základů kapilárních elektromigračních metod a postupně se seznamovala i s instrumentálním vybavením laboratoře a s metodikou jednotlivých kapilárních elektroseparačních technik, zejména zónové elektroforézy (CZE) a micelární elektrokinetické chromatografie (MEKC). Fyzikálně chemické základy i pokročilou teorii těchto metod si rychle osvojila a brzy se začala věnovat tématice své disertační práce, vývoji a využití kapilárních elektromigračních technik pro analýzu, separaci a fyzikálně-chemickou charakterizaci peptidových hormonů, např. oxytocinu, vasopressinu, insulinu, peptidů uvolňujících gonadotropní hormon, hmyzích oostatických peptidů, a analogů a fragmentů těchto hormonů, které jsou na našem pracovišti syntetizovány, purifikovány a je testována jejich biologická aktivita. Pro biologické testy je nezbytné, aby testované peptidy byly připraveny ve vysokém stupni čistoty, neboť příměsi mohou biologickou aktivitu významně ovlivnit v pozitivním i negativním smyslu. Vypracování nových kapilárních elektromigračních metod pro kontrolu čistoty peptidových preparátů, oproti dosud nejčastěji používaným chromatografickým metodám, je proto velmi žádoucí, neboť elektromigrační metody jsou k chromatografickým metodám vzhledem k rozdílnému separačnímu principu tzv. ortogonální a jsou jejich vhodným doplňkem resp. protějškem.

Vývoj nových kapilárních elektromigračních metod pro kvalitativní i kvantitativní analýzu nově syntetizovaných peptidových preparátů představoval náročný úkol, neboť většina peptidových preparátů byla syntetizována poprvé a jejich vlastnosti a charakteristiky nebyly známy. Disertantka se s obtížností tohoto úkolu výborně vyrovnala, postupovala podle racionálně vypracované strategie, kdy podmínky analýzy byly voleny na základě spočtené závislosti efektivního a specifického náboje peptidů na pH. Ionogenní peptidy byly analyzovány metodou CZE jako kationty v kyselé oblasti pH nebo jako anionty v mírně alkalické oblasti pH, neionogenní peptidy byly analyzovány metodou MEKC. CZE analýzy byly prováděny nejen v klasických, ale nově i v izoelektrických základních elektrolytech, jejichž nízká elektrická vodivost umožnila použití vysokých intenzit elektrického pole a dosažení vysokých separačních účinností a krátkých dob analýzy. Metoda CZE byla využita nejen pro analytické účely, ale i pro

fyzikálně-chemickou charakterizaci analyzovaných peptidů. Byly určeny efektivní pohyblivosti peptidů při standardní teplotě, 25°C, a pomocí semiempirických modelů korelujících efektivní pohyblivosti peptidů s jejich efektivním nábojem, velikostí a prostorovým uspořádáním byly navrženy pravděpodobné tvary jejich molekul v roztocích základních elektrolytů.

Oceňuji, že při vývoji nových metod disertantka postupovala vždy racionálně a cílevědomě, s využitím svých velmi dobrých teoretických znalostí jak v oblasti elektroseparačních metod tak i v obecné, analytické a fyzikální chemii a ve výpočetní technice. Její experimentální práce se vyznačovala zručností, vysokou pečlivostí a precizností. Velmi kladně hodnotím, že disertantka se aktivně a ochotně zapojila i do práce na jiných projektech řešených na našem pracovišti, jednalo se např. o stanovení acidobazických disociačních konstant analogů amino- a guanidinopurinových nukleotidů a příbuzných sloučenin kapilární elektroforézou, publikované v časopise Electrophoresis, a o přehledné zpracování problematiky využití vodivostní detekce v kapilární a čipové elektroforéze, publikované v časopise Journal of Separation Science. Tyto dvě publikace jsou ve formě dodatku také začleněny do disertační práce.

Během doktorského studia V. Šolínová prokázala schopnost řešit tvůrčím způsobem náročné úkoly při výzkumu a vývoji nových kapilárních elektromigračních metod. Vyvinula nové postupy pro separaci a charakterizaci biologicky aktivních látek, peptidových hormonů a jejich analogů a fragmentů, a úspěšně je aplikovala na reálné vzorky těchto preparátů. Výsledky disertace přinášejí nové cenné poznatky, které významně rozšiřují aplikační možnosti kapilárních elektromigračních metod při analýze a charakterizaci peptidů a současně i dokazují, že V. Šolínová je připravena k samostatné vědecké práci.

Celkově hodnotím doktorský studijní pobyt V. Šolínové v naší laboratoři jako mimořádně úspěšný a plodný, během čtyř a půl let se stala autorkou resp. spoluautorkou osmi publikací v recenzovaných tzv. impaktovaných časopisech a více než dvaceti příspěvků na domácích i mezinárodních konferencích. Osobně mi bylo potěšením tuto disertační práci vést. Plně doporučuji, aby předložená disertační práce byla přijata k obhajobě a aby Mgr. Veronice Šolínové byla udělena vědecká hodnost doktor (PhD.)

V Praze dne 26.1.2007

RNDr. Václav Kašička, CSc.

Školitel-konzultant
Laboratoř elektromigračních metod
ÚOCHB AV ČR