

Posudek na disertační práci
Mgr. Filipa Duši
vypracované na téma
**MULTIDIMENSIONAL SEPARATION METHODS IN ANALYSIS
OF COMPLEX BIOLOGICAL MIXTURES**

Ve své disertační práci se Mgr. Filip Duša zabývá dvoudimenzionálními separacemi peptidů a proteinů obsažených v biologických matricích.

Biologické matrice patří obecně k velmi obtížným vzorkům. Pro dosažení zdárného výsledku stanovení, byť jen několika analytů, je třeba často značného úsilí pro předpřípravu vzorku. Předpříprava bývá časově náročná a analyty se při ní mohou ztrácet. Pokud chceme analyzovat vzorek jako celek, je nutné stanovit stovky podobných látek v poměrně širokém koncentračním rozsahu. K tomu jsou ideální multidimenzionální separační metody. Vývoj těchto metod je nadmíru aktuální a doktorand se tohoto úkolu zhostil na výtečnou.

Celá práce tvoří kompaktní celek čtyř článků, jejichž výstupem je návrh, vývoj a praktické ověření kombinace metody IEF s kapalinovou chromatografií a hmotnostní detekcí pro analýzu reálného vzorku.

V první práci byla vyvinuta originální metoda DF-IEF, /divergent flow IEF/, pracující v režimu autofokusace, která byla zkombinována s chromatografií s reverzními fázemi s MS detekcí. Byly porovnány výsledky poskytnuté navrženou DF-IEF v režimu autofokusace i v klasickém režimu s nosnými amfolyty s běžně dostupnou metodou mikropreparativní fokusace s použitím nosných amfolytů v přístroji MIKROROTOFOR. Bylo shledáno že DF-IEF v režimu autofokusace je vhodnou metodou pro chromatografické analýzy a to i v kombinaci s MS, dále je vhodná i pro mikropreparativní účely.

V druhé práci byla optimalizována metoda sIEF /solution IEF/ na proužku netkané textilie a byl vyvinut systém jednoduchých pufrů kompatibilních s MS, vytvářející lineární gradient pH v separačním prostoru. To umožnilo mikropreparativně rozdělit reálnou směs proteinů v syrovátce v množstvích postačujících pro další možné analýzy.

V třetí práci byla optimalizována metoda chromatografická, /RPLC/ byl vyvinut, realizován a ověřen důmyslný automatický nano-kapalinový chromatograf umožňující požadované separace peptidů.

V poslední práci byl vytvořen jednoduchý VN zdroj pro IEF poskytující optimální výkon pro rychlé separace. Úroveň DP jako celku je vysoká, všechny čtyři uvedené práce jsou velmi kvalitní a prošly recenzním řízením v impaktovaných časopisech.

K práci mám následující dotaz: Pokud jsou VN zdroje poskytující konstantní výkon drahé, nebylo by vhodnější použít takový zdroj, který by umožnil měřit a přímo regulovat optimální teplotu v separačním prostoru?

Práci hodnotím jako vynikající a vysoce objevnou. Disertant prokázal tvůrčí schopnosti, práce splňuje požadavky na disertační práci v daném oboru a proto

doporučuji

udělit **Mgr. Filipu Dušovi** titul Ph.D.

V Brně 19.1.2014

Doc. Ing. Jan Pospíchal, CSc.
UCHAB Mendelu, Brno