



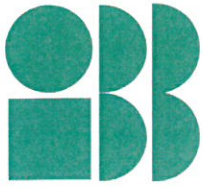
prof. dr hab. Michał Dadlez  
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN  
ul. Pawińskiego 5A  
02-106 Warszawa  
tel. 0-22 5923470-75  
e-mail: [michald@ibb.waw.pl](mailto:michald@ibb.waw.pl)

Warszawa, 20.05.2022

**Review of doctoral dissertation by Mauro Galli, M.Sc. entitled “Impact of the expression modulation of Aquaporin 9 on proteomic profile and oxidative stress homeostasis in Hep2G model of hepatic lipid overload”**

Presented dissertation describes a set of results of proteomic profiling of human tissues samples and model cell line Hep2G with modulated Aquaporin 9 levels, obtained through application of a set of new, optimised DIA proteomic protocols. Its aim is to map the proteomewide impact of Aquaporin 9 on hepatic lipid overload management. Work was carried out in frame of EU Horizon2020 programme and Polish Ministry of Science grant. The dissertation does not specify if the results were already published or not, supposedly the results were included in two recent publications of the team that can be found in the databases, but the publication status of the results should be explicitly stated in the dissertation or attached documents.

Introduction is very brief (less than 15 pages) focusing on the issues directly connected to presented results, therefore the rationale behind the project becomes very clear. In a very succinct way the text links adipose tissue accumulation in obesity with fatty acids overdose, oxidative stress and insulin resistance development, bringing in focus known and supposed molecular mechanisms, which stay behind the pathology. Mentioned are membrane protein transport/carrier systems, responsible for small molecule (glycerol, hydrogen peroxide) flow between adipose and hepatic cells, which allows to introduce aquaporins as the key proteins in the presented project. The presentation of the working hypothesis (section 3.5) of the link between aquaporins and development of insulin resistance is also very limited, mentioning just few papers of relevance. A more in depth literature analysis of this issue would be in place, since its abundance is mentioned at p. 17. Concluding, the Author states that since literature provides only indirect links for the assumed role of aquaporins, global analyses at the proteomic level are a justified tool to allow for progress to be made and details of the involved pathways elucidated. It is rightly expected that an in-depth global proteomic approach can unravel unexpected causal connectivities in this very complex network of interdependencies. Since a large part of the thesis describes the proteomic DIA protocols optimisation last few pages of introduction provide a very brief presentation of DDA vs. DIA dilemma with basic information on the advantages and disadvantages of DDA vs. DIA methods



and attempts to overcome the difficulties of DIA approaches. Successful attempt to optimise and use DIA protocols for TOF spectrometer is of special value. DDA methods became routine in proteomics, but from their introduction they were a necessary compromise with known disadvantages of loss of information and compromised run-to-run reproducibility. They were implemented due to technological and informatic barriers that made the generation of good quality MS/MS spectra of several co-eluting parent ions and their subsequent deconvolution into single spectra at the data analysis step impossible at that time. Progress in data acquisition and analysis, however, observed in recent years, may soon make the DDA approaches dispensable. For some instruments, like Orbitraps, DIA methods have already been commercialised, which increased interest for these methods, but their availability is restricted to the users of the newest Orbitrap machines, like Exploris 480 and alike. Therefore the protocols and know-how that extend the accessibility of DIA methods for wider community are of special value. The early stage of DIA implementation into routine use is well illustrated by the enumeration of all parameters that need to be carefully selected and informatics tools that need to be used (sections 5.6 to 5.7) for success of a complex workflow, that starts from the preparation of project-dedicated peptide libraries. It also indicates the necessity for high professional skills required, especially in the non-commercialised technical setup, which was the case in the presented work. Vigorous developments of still new tools and approaches give hope for simplification of the workflow in near future and a more widespread use of DIA. It is thus a pioneering achievement of the author to establish his own staggered windows DIA pipeline, resulting in 3 fold increase of per day sample processivity.

Section 6.2 presents the results of an initial study of a small set of 3 samples compared between three conditions: control, impaired glucose tolerance (IGT) and diabetic (T2D). The test showed very good coefficient of variation for a large set of proteins, therefore it fully served its purpose of validating the DIA approach. However, at p. 43 it is stated that "...analysis of these few samples as an exploratory work to identify new targets in liver insulin resistance." In principle, drawing any inference based on 3x3x3 sample set comparison in global proteomics, where a single outlier may strongly affect measured ratio, is extremely risky. Whenever possible a larger set of replicates is encouraged. Due to parallel testing of thousands of proteins in a single experiment a correction of multiple testing effect is also recommended. The text does not inform if such correction was used. The description of statistics used (section 5.16) referring in one sentence to Spectronaut program, and further on claiming "multiple t-testing" for comparing three sample groups in figure legends, does not provide necessary information, as programs (including Spectronaut) leave selection of statistical testing approach to the operator (for instance p-value with or without correction). In Figs. 18,19 one-way ANOVA is applied, leading to inter-group p-values for each pair in panel B, therefore a "post-hoc" test should be expected, which is not mentioned, etc. Referring only to the name of a program used, even a popular one, is insufficient. Details of statistical testing methods used should be given, with special focus on multiple testing correction. As in all global methods, testing in parallel thousands of proteins/genes leads to the inflation of false positive results, careful estimation of False Discovery Rate (FDR) is a must to make any inferences, even if the final result is the "candidate list" designed for future confirmatory work using other methods. Therefore the issue of statistical approach behind the presented results (Fig. 11-13,18,19) needs to be clarified and justified.



Problem with lack of information on statistical procedures is further exemplified in section 6.14, where in the analysis of 4000 proteins (though the final number of proteins compared in HepG2 cells in section 6.15 has not been provided) the acceptance of results of p-value better than 0.05 leads to the possibility of 200 false positive hits, which would amount to more than 50% of 365 significant candidate hits reported at p. 66 being a possible false positive. The rationale behind application of p-value analysis, instead of strict control of FDR, which would lead to low and controlled fraction of false positive hits, need to be discussed better. This considerations strongly influence further discussion of differential protein lists, the level of confidence in a given protein hit is much worse when there is a 50% chance of a hit being a false positive than when a chance is 5%. Using p-value leads to inflation of differential protein lists from which it is much easier to “pick cherries”, results that align well with the working hypothesis. Therefore it would be important to clarify the Authors standing during the defense. Moreover the number of biological replicates used for comparison was not properly reported. The statement in the preceding section 6.14 “The experiment was run in triplicate...” may indicate technical replicates, so this also needs to be clarified.

Finally, obtained results consist of large lists of differential proteins (ca. 300) in pairwise comparisons between four study groups. Due to high numbers of proteins indicated as differential the description of the biological pathways affected naturally tended to processes in agreement with the working hypothesis of insulin and oxidative stress networking with aquaporins. In result only protein hits attributed to these processes are selected and discussed. The biological importance of the findings would be strengthened if differential protein lists are subjected to some enrichment analysis (like GO-terms enrichment) for statistical verification of the suggested link of results with the working hypothesis. Pathway analysis with use of IPA Software is mentioned in the methods section (p. 34) but the results of IPA analyses were not described in the thesis and no enrichment data with statistics is given.

Thus, the presented preliminary proteomic results need to be expanded by a larger sample set and use of stringent statistical filtration tools to provide a sound support for the working hypothesis. This, however, may exceed the scope of the presented thesis which is focused on establishment of DIA methods for TOF spectrometers. With this respect the main aim of the thesis is fulfilled with large volume of optimisation and verification work clearly presented in the thesis.

Minor comments of technical nature:

At p. 58 Fig. 25 A and B seem to represent the same data, comparing HpH and GPF libraries, if so the numbers of Precursors/Peptides for HpH libraries do not agree between A and B. Similarly in Fig. 30 B,C the description of vertical axis is poor, in B binned “precursor CV” cannot mean “median CV” from Fig. 30 A since numbers do not agree, so what it is? In C Precursor ID rate may indicate the ratio between number of precursors and IDs, but this needs to be stated clearly.

Description of the attempts to refine ion libraries (section 6.11) is in general clear, however, the idea of including 3 DDA runs added to create hybrid libraries has not been properly introduced in the dissertation,



an experimental scheme would be useful. Shifting the description and explanation to the discussion section at p. 87 is not appropriate.

In Fig. 6 a single case of match between library and DIA spectrum is not very informative, as without some statistic sampling the real improvement caused by the optimised CE equation cannot be judged. At the end of section 6.1 a sentence "...but especially the TIC (or TPC – what is TPC – describe) per window." Is unclear since no description follows.

At p. 44 an increase in N-terminal acetylation of Aquaporin is mentioned, but no data is presented so it is unclear if data shows an increase in relative unmodified vs. modified version of the N-term peptide overlaid on the overall difference shown in Fig. 9.

Language of the dissertation is in general clear, but some sentences are difficult to understand due to unusual wording, like: at p. 18 "Lipolysis ..... brings to the hydrolysis...." Instead of "leads to the hydrolysis"?? or at p. 19 "Despite a definitive confirmation of their bound has not yet...." Instead of "Despite a definitive confirmation of their link...."?, or at the end of p. 23 "...research proteomics on different experiments.", instead "...experimental setups."??? On p. 34 of Methods section 5.16 author announces IPA pathway analysis description in the Methods section, without any further notice on that in anywhere else in Methods section. There are also some editorial errors. For instance at p. 88 para "to improve...." is repeated twice.

In conclusion **Mauro Galli**, M.Sc. presented successful development of his own approach to implementation of DIA data collection protocol and tested it on a series of biologically relevant samples, proving its merits. He also reported a series of preliminary proteomic analyses of human liver samples and model cell line samples, enriched by a series of biochemical analyses to support the initial hypothesis of the involvement of aquaporins in the development of insulin resistance in liver. The results were clearly described, reviewer's critical comments do not apply to the method development and verification on biological samples part of work and thesis. The main aim of the dissertation in the form of a new set of proteomic protocols has been fulfilled, which allows to support his application to the Senate of the Medical University of Białystok for admission to further steps of doctoral program.

prof. dr hab. Michał Dadlez



prof. dr hab. Michał Dadlez  
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN  
ul. Pawińskiego 5A  
02-106 Warszawa  
tel. 0-22 5923470-75  
e-mail: [michald@ibb.waw.pl](mailto:michald@ibb.waw.pl)

Warszawa, 25.05.2022

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Mauro Galli, zatytułowanej "Impact of the expression modulation of Aquaporin 9 on proteomic profile and oxidative stress homeostasis in Hep2G model of hepatic lipid overload"**

Przedstawiona do recenzji rozprawa opisuje wyniki profilowania proteomicznego próbek tkanki ludzkiej i modelowej linii komórkowej Hep2G o zmienionych poziomach ekspresji akwaporyny 9, otrzymane z użyciem nowych zoptymalizowanych protokołów proteomicznych typu DIA. Celem tych eksperymentów jest zbadanie wpływu akwaporyny 9 na proteom badanych komórek w odpowiedzi na akumulację tłuszczów w komórkach wątroby. Pracę wykonano w ramach grantu w programie Horizon 2020 i grantu Ministerstwa Nauki. W rozprawie nie ma informacji o statusie publikacyjnym uzyskanych rezultatów, można domniemywać, że zostały uwzględnione w dwu ostatnich publikacjach zespołu uwidoczniionych w bazach danych, lecz powinno to być doprecyzowane w rozprawie.

Część wstępna jest krótka (mniej niż 15 stron) skupiona na kwestiach ściśle dotyczących prezentowanych w pracy rezultatów, skutkiem tego uzasadnienie projektu staje się łatwo czytelne. W bardzo oszczędny sposób tekst łączy kwestie gromadzenia się tkanki tłuszczowej w otyłości z nadmiarem kwasów tłuszczowych, stresem oksydacyjnym i rozwojem insulinooporności. Prezentuje znane i przypuszczalne mechanizmy molekularne stojące za tą patologią. Wymienione zostają białka błonowe odpowiedzialne za przenoszenie związków niskocząsteczkowych (glicerol, nadtlenek wodoru) pomiędzy komórkami tłuszczowymi a hepatocytami, co pozwala wprowadzić i opisać akwaporyny – kluczowe dla projektu białka. Opis hipotezy roboczej w sekcji 3.5, wiążącej aktywność akwaporyn z rozwojem insulinooporności także jest bardzo zwięzły, ograniczając dyskusję wiedzy literaturowej do odniesienia się do zawartości kilku zaledwie publikacji. Bardziej wnikliwa analiza literatury byłaby tu na miejscu, szczególnie że Autor zaznacza na str. 17 że jest ona obszerna. W konkluzji Autor stwierdza, że dane literaturowe wskazują jedynie pośrednio na zakładaną rolę akwaporyn, zatem analizy globalne proteomów zaangażowanych typów komórek są naturalnym narzędziem poszukiwania postępu w tej dziedzinie i wyjaśniania zależności w obrębie zaangażowanych ścieżek przyczynowo-skutkowych. Słusznie zakłada się, że dogłębna analiza proteomiczna może odkryć nieoczekiwane związki przyczynowe, kluczowe dla tej niezwykle złożonej sieci molekularnej. Ponieważ znaczna część pracy doktorskiej dotyczy optymalizacji metodologii zbierania



danych proteomicznych DIA i ich analizy, końcowa część wstępu zawiera też krótką dyskusję dylematów eksperymentalnych związanych z wyborem jednej z dwu strategii zbierania danych DDA vs. DIA, czyli zbierania danych fragmentacyjnych w sposób zależny od listy sygnałów w widmie (data-dependent) lub w sposób niezależny (data-independent), przedstawienie wad i zalet obu podejść i sposobów radzenia sobie z problemami związanymi ze stosowaniem podejścia DIA. Przeprowadzony z sukcesem w pracy proces optymalizacji nowoczesnych protokołów DIA na potrzeby pracy ze spektrometrem TOF stanowi o wysokiej wartości przedstawionej rozprawy. Metody DDA są rutynowe w proteomice, jednak od momentu ich wprowadzenia wiadomo było, że były one niezbędnym w owym czasie kompromisem, naznaczonym nieusuwalnymi wadami, w postaci utraty informacji o niesfragmentowanych peptydach i słabej powtarzalności związanej z stochastycznym sposobem selekcji sygnałów do fragmentacji. Kompromis ten był konieczny z powodu istniejących barier technologicznych i informatycznych, uniemożliwiających zbieranie dobrej jakości widm MS/MS kilku koeluujących peptydów i ich późniejszą dekonwolucję na widma pojedyncze. Postęp w szybkości zbierania widm MS/MS, obserwowany w ciągu ostatnich lat, może niedługo uczynić ten niekorzystny kompromis zbędnym. Zależy to od rozwoju właśnie metod DIA. W przypadku niektórych instrumentów, jak Orbitrap, metody DIA zostały już rutynowo udostępnione dla użytkowników. Jednak ich użycie jest ograniczone do użytkowników najnowszych aparatów Orbitrap, jak Exploris itp. Zatem uzyskanie wiedzy i opracowanie protokołów poszerzające dostępność metod DIA dla szerszego grona użytkowników stanowi cenny wkład w propagowanie nowoczesnych metod proteomiki, pozwalających uzyskać więcej informacji w toku analiz proteomicznych. Wstępne etapy wdrażania metod DIA dobrze ilustruje wyliczenie wszystkich parametrów pomiarowych, które muszą być uważnie dobrane oraz narzędzi informatycznych, które muszą być użyte (sekcje 5.6 i 5.7) aby zamknąć kompletny cykl eksperymentalny, poczynając od stworzenia biblioteki peptydowej unikalnej dla badanego materiału. Wdrożenie niekomercyjnego protokołu DIA na każdym z tych etapów wymaga wysokiej profesjonalnej wiedzy, pozwalającej unikać znanych pułapek. Ożywiony rozwój metody i pojawianie się coraz to nowych narzędzi informatycznych, wymaga bieżącego śledzenia obszernej literatury i świadomego wyboru pojawiających się opcji, z nadzieją na uproszczenie metodyki w przyszłości i rutynowe stosowanie DIA. Te niezbędne kwalifikacje w pełni udokumentowano w zaprezentowanej rozprawie w postaci dobrze przetestowanego, pionierskiego zestawu nowoczesnych procedur DIA z wykorzystaniem schematu „zachodzących okien”, dającego 3-krotne zwiększenie liczby próbek analizowanych w tym samym czasie bez straty czułości.

W sekcji 6.2 zaprezentowano rezultaty pilotowych eksperymentów wykonanych na małym zestawie 3 (trzech) próbek porównywanych dla trzech warunków: kontrolnych, zaburzonej tolerancji glukozy (IGT) i cukrzycy (T2D). Test wykazał bardzo dobre wartości współczynnika zmienności dla dużego zestawu białek, w ten sposób wypełniając cel potwierdzenia dobrej jakości rezultatów uzyskiwanych opracowaną nową metodą. Jednakże na str. 43 stwierdza się, że „...analysis of these few samples as an exploratory work to identify new targets in liver insulin resistance”, czyli że na tej podstawie zidentyfikowano nowe białka związane z insulinoopornością. W ogólności, wysnuwanie jakichkolwiek wniosków w analizach proteomicznych w oparciu o trzy pomiary jest niezwykle ryzykowne, ponieważ pojedyncze „outliery” mogą silnie zaburzać pomiar. Stosuje się zazwyczaj większą liczbę powtórzeń biologicznych, jeśli to tylko



możliwe. Ze względu na równoległy pomiar różnic kilku tysięcy białek w jednym eksperymencie zaleca się też korekcję na wielokrotne testowanie przy analizie statystycznej. Z tekstu nie wynika by była ona tutaj zastosowana. Opis użytych metod statystycznych (sekcja 5.16) odnoszący w jednym zdaniu do zastosowanego oprogramowania Spectronaut, bądź dalej, w podpisach pod rysunkami, do procedury "multiple t-testing" dla porównań międzygrupowych, nie zapewnia czytelnikowi niezbędnej informacji. Programy (również Spectronaut) pozostawiają wybór zastosowanego podejścia analizy statystycznej operatorowi (na przykład p-value z lub bez korekcji). W analizie z rys. 18,19 zastosowano "one-way ANOVA", wskazując uzyskane wartości p-value między każdą parą analizowanych grup, co wymagałoby również analizy "post-hoc ANOVA", która nie jest wzmiankowana, etc. Odwołanie się do użycia programu, nawet powszechnie stosowanego jest niewystarczające, potrzebne są detale, szczególnie dotyczące korekcji na wielokrotne testowanie. Jak to dotyczy wszystkich "globalnych" metod omicowych, możliwość testowania w jednym eksperymencie tysięcy białek/transkryptów/genów powoduje inflację wyników fałszywie pozytywnych w analizach różnicowych, zatem skrupulatna ocena wartości FDR – False Discovery Rate jest niezbędna dla wiarygodności końcowych rezultatów, nawet jeśli mają one postać „listy kandydackiej” do weryfikacji innymi metodami. Zatem kwestia metod statystycznych (Rys. 11-13, 18,19) powinna być doprecyzowana i uzasadniona lepiej.

Problem braku informacji o procedurach statystycznych ilustruje również analiza opisana w sekcji 6.14. W analizie 4000 białek (aczkolwiek dokładna liczba białek porównywanych w sekcji dotyczącej analiz komórek Hep2G w sekcji 6.15 nie została podana) akceptowano rezultaty z p-value lepszym niż 0.05, co oznacza że liczba możliwych fałszywie pozytywnych rezultatów wynosi 200. Oznacza to że wśród 365 znalezionych kandydatów na białka różnicowe nawet 200 mogło się znaleźć na tej liście przez przypadek. Uzasadnienie zastosowania p-value, z tak wysokim odsetkiem fałszywie pozytywnych rezultatów, zamiast ścisłej kontroli poziomu FDR pozwalającej utrzymać odsetek fałszywie pozytywnych rezultatów na założonym niskim poziomie powinno być lepiej przedyskutowane. Rozważanie te bowiem rzutują na ocenę dalszych analiz różnicowych list białek, poziom ufności dla rezultatu jest dużo niższy, jeśli szanse, że dane białko jest fałszywie pozytywne wynoszą 50 % niż wtedy, gdy wynoszą 5%. Używanie wprost p-value, bez korekty prowadzi do inflacji objętości list różnicowych, wśród których łatwo wyławić białka „oczekiwane” ze względu na przyjętą hipotezę roboczą. Byłoby zatem istotne wyjaśnienie stanowiska Autora w tych kwestiach podczas obrony. Dodatkowo liczba replikatów biologicznych nie została sprecyzowana, stwierdzenie w poprzedzającej sekcji 6.14 "The experiment was run in triplicate..." może oznaczać trzy replikaty techniczne, to też należałoby wyklarować.

Rezultaty końcowe to obszerne listy białek różnicowych (ca. 300) w sparowanych porównaniach czterech grup badanych. Z powodu dużej liczby białek zidentyfikowanych jako różnicowe dyskusja zaangażowanych ścieżek biologicznych w sposób naturalny skupia się na procesach zgodnych z hipotezą roboczą wskazująca na sieć zależności między akwaporyną a stresem oksydacyjnym i insulinopornością. W efekcie tylko białka przypisane do tych słów kluczowych są wybierane i dyskutowane. Waga tych stwierdzeń byłaby wzmocniona gdyby listy białek różnicowych poddane zostały jakiegoś typu analizie wzbogacania (np. "GO-term enrichment") celem statystycznej weryfikacji sugerowanego związku wyników proteomiki z hipotezą



roboczą. Analiza ścieżek z użyciem programu IPA została wspomniana w sekcji metodycznej (str. 34), ale w tekście brak opisu tej analizy, ani innej analizy statystycznej wzbogacania.

Zatem, by stanowić wsparcie dla hipotezy roboczej na poziomie proteomicznym zaprezentowane wstępne rezultaty analiz proteomicznych powinny być poszerzone o większą liczbę próbek z zastosowaniem dobrze zdefiniowanych metod filtrowania statystycznego. To zadanie jednak może wykraczać poza ramy obecnej rozprawy doktorskiej skupionej na opracowaniu nowych protokołów DIA dla spektrometrów TOF. Mając to na uwadze, należy stwierdzić że cel postawiony w rozprawie został osiągnięty poprzez wykonanie rozbudowanego zestawu testów optymalizacyjnych i weryfikacyjnych jasno zaprezentowanych w rozprawie.

Drobne uwagi natury technicznej.

Na str. 58 rysunki 25A i B zdają się prezentować ten sam zestaw danych, porównujących biblioteki HpH i GPF, jeśli tak to liczby Precursors/Peptides dla bibliotek HpH nie zgadzają się pomiędzy A and B. Podobnie, w rys. 30 B,C opis osi pionowej jest niejasny – w B liczba „binned precursor CV” nie może oznaczać „mediany CV” z panelu A, bo te liczby się nie zgadzają, co zatem oznacza? W C “Precursor ID rate” może oznaczać stosunek między liczbą prekursorów i identyfikacji, ale to należałoby jasno stwierdzić.

Opis prób udoskonalenia bibliotek jonowych (sekcja 6.11) jest generalnie jasny, jednakże wprowadzenie dodatkowych 3 przebiegów DDA, celem stworzenia bibliotek hybrydowych, nie zostało jasno przedstawione w rozprawie, przydatny byłby schemat eksperymentu. Przesunięcie kilku słów komentarza i wyjaśnienia do sekcji dyskusji, na str. 87, nie jest właściwe.

Na rys. 6 wskazany pojedynczy przypadek dopasowania widma z biblioteki i właściwego eksperymentu DIA nie przynosi przekonującej informacji bez próby oceny na większym zbiorze rzeczywistego efektu zastosowania zoptymalizowanego równania dla CE. W końcu sekcji 6.1 zdanie “...but especially the TIC (or TPC – what is TPC – describe) per window.” Jest niejasne, bo żaden opis nie następuje

Na str. 44 wspomina się o wzroście N-końcowej acetylacji akwaporyny, lecz nie jest to poparte żadnymi danymi. Nie jest więc jasne czy zaobserwowano zmiany we względnych ilościach zmodyfikowanej i niezmodyfikowanej wersji peptydu akwaporyny nałożone na ogólnie obserwowane różnice w poziomie tego białka wskazane na rys. 9?

Język rozprawy jest w zasadzie jasny, lecz niektóre zdanie nie są czytelne, ze względu na nietypowe użycie słów. Na przykład na str. 18 “Lipolysis ..... brings to the hydrolysis....” Zamiast “leads to the hydrolysis”??, lub na str. 19 “Despite a definitive confirmation of their bound has not yet....” Zamiast: “Despite a definitive confirmation of their link....”?, lub w końcu na str. 23 “...research proteomics on different experiments.”, zamiast “...experimental setups.”??? Na str. 34 sekcji metod 5.16 Autor zapowiada w jednym zdaniu opisanie programu analizy ścieżek IPA w sekcji metod., lecz ten opis nie następuje. Są też błędy edytorskie, jak powtórzenie tuż po sobie tego samego paragrafu “to improve...” na str. 88





W podsumowaniu mgr **Mauro Galli** przedstawił uwieńczone sukcesem wdrożenie autorskiego pakietu procedur proteomiki DIA pozytywnie zweryfikowane następnie na serii próbek testowych o znaczeniu biologicznym. Przedstawił też zestaw wstępnych analiz proteomicznych z użyciem próbek tkanki i hodowli komórkowych testujących hipotezę związku akwaporyny z rozwojem insulinooporności. Testy te zostały wzbogacone o szereg analiz innymi metodami biochemicznymi. Rezultaty zostały jasno opisane w rozprawie, komentarze krytyczne recenzenta nie odnoszą się do trzonu pracy doktorskiej, czyli opracowania i zweryfikowania nowego narzędzia analiz proteomicznych DIA. Jej główny cel w formie nowych przetestowanych protokołów DIA dla proteomiki został zatem wypełniony, co pozwala wnioskować do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie kandydata do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. Michał Dadlez

