

PRO KONZERVÁTORY-RESTAURÁTORY FORUM FOR CONSERVATORS-RESTORERS

2020 / Vol. X / No. 2
Peer-reviewed open access journal

Chief editor: Ing. Alena Selucká
Editors: Mgr. Pavla Stöhrová, Mgr. Jana Fricová

Editorial Board:

Ing. Ivo Štěpánek (Head of Editorial Board)
doc. Dr. Ing. Michal Ďurovič
akad. mal. Igor Fogaš
Ing. Pavel Jirásek
Ing. Jan Josef
doc. akad. soch. Petr Kuthan
prof. RNDr. Jiří Příhoda, CSc.
Ing. Radka Šefců
Mgr. Pavla Stöhrová (Secretary)

Open access since 2020 available for free
on <https://mck.technicalmuseum.cz/casopis-fkr/>
The journal is indexed and abstracted in EBSCO.

Published by:

Technické muzeum v Brně
Purkyňova 105, 612 00 Brno, Czech Republic

Contact for communication:

fricova@tmbrno.cz / stohrova@tmbrno.cz / selucka@tmbrno.cz

© Technické muzeum v Brně, 2020
ISSN (Online) 2571-4384
ISBN (Print) 1805-0050

RYCHLÉ PROTEOMICKÉ ROZLIŠENÍ ZVÍŘECÍCH CHLUPŮ POMOCÍ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Anna Zubová¹ • Karin Humpoláková² • David Straka¹
Tatiana Smirnova^{1,2} • Pavel Cejnar³ • Štěpánka Kučková^{1,2}

1 Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha

2 Katedra chemie a didaktiky chemie, Univerzita Karlova

3 Ústav počítačové a řídicí techniky, VŠCHT Praha

Ing. Anna Zubová je studentkou prvního ročníku doktorského studia na VŠCHT Praha a její vědecká práce se zaměřuje na analýzu proteinových materiálů v uměleckých objektech pomocí hmotnostní spektrometrie. (zubovaa@vscht.cz)

Kožešina je nejen jeden z nejstarších materiálů používaných k výrobě oděvů nebo jejich ozdobení, ale uplatňovala se i na potažení brnění a štítů. Vzhledem k významu kožešnického průmyslu v minulosti je důležité u těchto historických objektů rozpoznat, z jakého zvířete kožešina pochází. Cílem této práce je najít rychlou a jednoduchou metodu, kterou bychom identifikovali zvířecí původ srsti. V této práci byla analyzována srst pocházející z patnácti zvířat – šesti domestikovaných (kočky, kozy, králíka, krávy, koně a psa), čtyř divokých býložravých zvířat (daňka, jelena, srnce a osmáka degu) a pěti šelem (lva indického, lva stepního, levharta mandžuského, tygra sumaterského a tygra ussurijského). Po enzymovém štěpení proteinů obsažených v chlupcích byly vzorky analyzovány pomocí Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight (MALDI-TOF) hmotnostní spektrometrie. Pro vyhodnocení dat byla využita analýza hlavních komponent (PCA). **Klíčová slova:** zvířecí chlupy; kožešiny; proteiny; enzymatické štěpení; hmotnostní spektrometrie; analýza hlavních komponent

A FAST PROTEOMICS RECOGNITION OF ANIMAL HAIRS USING MASS SPECTROMETRY

Fur is one of the oldest materials which were used for production of garment, however, they were also used as parts of armour and shields. Due to the importance of fur industry in the past, it is important to recognize the original animal used in these historical objects. The aim of this work is to find out a simple and a fast approach to identify the origin of animal hairs. Fur hairs of fifteen animals were analysed – six domesticated animals (dog, cat, rabbit, horse, goat and cow), four wild herbivorous animals (fallow deer, red deer, degu and roe deer) and five predators (Asiatic lion, African lion, Amur leopard, Sumatran tiger and Siberian tiger). After enzymatic digestion of proteins contained in fur hairs, the samples were analysed by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. Principal component analysis (PCA) was used for subsequent data evaluation.

Key words: animal hairs; fur, proteins; enzymatic digestion; mass spectrometry; principal component analysis

Zvířecí kožešiny se od nepaměti používají k výrobě oděvů nebo k jejich ozdobení. Znalost jejich zpracování sahá několik tisíc let do minulosti a od počátku byla kůže zvířat pro člověka důležitou surovinou, s ní obchod byl až do začátku průmyslové revoluce jedním z nejvýznamnějších. Počátkem minulého století byly hlavním zdrojem kůží a kožešin farmy, čímž se snížila cena kožešin, a proto se začaly stávat běžnou součástí oděvu.¹ V sedmdesátých letech zasáhla do kožešinového průmyslu ochrana zvířat a spolu s ní došlo k omezení výroby nebo úplnému zákazu využití chráněných živočichů. Přesto se ale dodnes s kožešinami chráněných druhů obchoduje, a je proto potřeba znát metody, které dokáží rychle a spolehlivě odhalit jejich živočišný původ. Pro restaurátory a konzervátory zase může být zajímavé a mnohdy i důležité zjistit, z jakých zvířat kožešiny na různých oděvech pocházejí, což může napomoci například s dokumentací obchodních cest, prohloubením znalostí o historické módě a v neposlední řadě i s restaurováním nebo konzervováním kožešinových předmětů.

Již v 11. století byla v Evropě kožešina nošena spíše jako symbol bohatství a sociálního postavení, než pouze jako oděv, který měl člověka zahřát v chladných dnech. Panovníci nosili kožešinové pláště, čepice a kožešinové doplňky vyrobené z norka, sobola a činčil. Od počátku 14. století byly zavedeny zákony, jež regulovaly, které sociální třídy mají povoleno nosit jaké typy kožešin.² Mezi historicky neznámější druh kožešiny patří zajisté hermelín z lasice hranostaje, který ve středověku zdobil oděvy králů a dalších významných osob. Obrazy v muzeích zachycující velkolepé korunovace ukazují, že monarchové využívali hermelín jako prezentaci síly a bohatství od počátku své vlády. Obzvláště korunovace Kateřiny Veliké byla v hojnosti použitého hermelínu velmi extravagantní.³ Jako další zdroje luxusních kožešin můžeme uvést již zmíněného norka a sobola, ale i lišku nebo ondatru. Mezi běžněji dostupné se řadí kožešiny z domestikovaných zvířat, kam patří speciální plemena králíka, kozy domácí a ovce (velmi významný je také chov ovce karakulské, jejíž kožešinu nazýváme perzián) [DOUBKOVÁ, 2014]. Ke kožešinovým divoce žijícím druhům zvířat v České republice náleží výše zmíněná lasice hranostaj, liška, kuna, veverka, kočka divoká či vysoká zvěř jako je jelen, daněk či smec.⁴

Sbírkotvorné předměty, u kterých se můžeme setkat se zvířecími chlupy, nemusí být jen výrobky kožešinového průmyslu, jako jsou různé druhy oblečení (kožichy, límce, šály, rukávnický, rukavice, čepice atd.), interiérové vybavení (krbové předložky, podsedy či polštáře) či již zmíněné brnění a štíty potažené kožešinou, ale i různé lovecké a myslivecké trofeje v soukromých sbírkách či zvířecí preparace v nejrůznějších muzejních sbírkách (Obr. 1).

Pro zachování zvířecí kůže po usmrcení zvířete je nutné její opracování a konzervace, aby se zamezilo jejímu znehodnocení. Postup v případě preparací zvířat a pouhého zpracování kožešiny se významně liší. Pokud jde o zpracování kožešiny, pak po nezbytných krocích opracování a konzervace je možné ponechat kožešinu buď v jejím přirozeném stavu, nebo ji dále zušlechťovat. Mezi zušlechťovací procesy patří například barvení, které se používá pro vylepšení přírodního vzhledu či pro napodobení vzácnější kožešiny. Z důvodu napodobování vzácnějších zvířecích druhů je u těchto vzorků nutná identifikace, zda se jedná o kožešinu pravou či zušlechťovanou.⁵

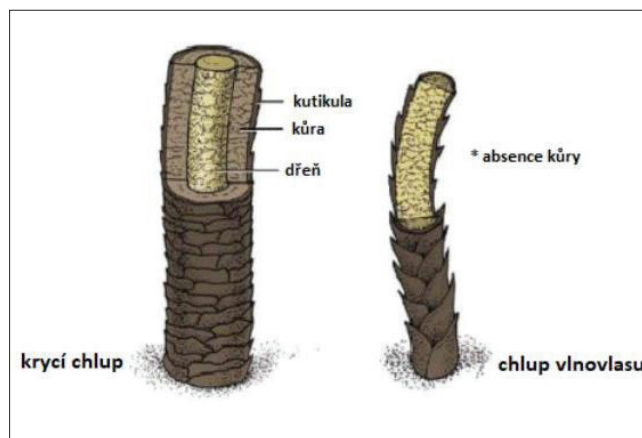


Obr. 1 Příklady sbírkotvorných kožešinových předmětů. Vlevo se nachází kožich první dámy Hany Benešové z tzv. opičí kůže. Vpravo je zobrazen dámský zimní čepce s kožešinou⁶
Examples of collection items made of fur. On the left, there is a fur coat of the first lady Hana Benešová made of duvetyn. On the right, a ladies' winter bonnet with fur is depicted

Pro identifikaci zvířecího původu chlupu může být užita makroskopická a mikroskopická analýza [TRIDICO, 2005; MARIACHER, 2019]. Makroskopicky lze rozlišit vzorky podle tvaru a struktury chlupu. Vzorky pro mikroskopii (řezy a průřezy) jsou připravovány v přesných vzdálenostech od kořene chlupu. Chlup lze analyzovat např. pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM), který k vizualizaci povrchu využívá sekundární elektrony [WORTMANN – ARNS, 1986], ale i pomocí transmisního elektronového mikroskopu (TEM), který zobrazuje vnitřní strukturu vzorku [HARIZI, 2010]. Podle jejich struktury je možné rozlišit zvířecí chlupy jak od lidských, tak od jednotlivých zvířecích druhů. Za tímto účelem se častěji používá analýza DNA [KERKHOFF, 2009], která využívá jadernou DNA z vlasových kořínek a mitochondriální DNA z vlasového kmene [MELTON – HOLLAND, 2007; HOUCK – BUDOWLE, 2002]. Rozlišujeme dva základní typy chlupů. Prvním jsou chlupy krycí, které obsahují pigmenty a dávají srsti její barvu. Krycí chlupy mohou být rovné i zvlněné a chrání kůži před přímým kontaktem s vodou. Druhým typem jsou chlupy vlnovlasu (podsady) bohatě zvlněné chlupy. Mohutnost podsady se liší podle ročního období [DYCE, 2009]. Na obr. 2 je zobrazen rozdíl v průřezu těchto druhů.

Ve středu chlupu se nachází dřev tvořící jednu až dvě řady buněk. Dřev je obklopena kůrou, která je pokryta povrchovou blankou (kutikulou). Základní stavební složka chlupu je skupina proteinů nazývaných keratiny, patří mezi skleroproteiny. To jsou ve vodě nerozpustné fibrilární struktury, které jsou součástí intercelulárních prostor [WANG, 2016]. Keratin je bohatý na síru. Nachází se jak v aminokyselině methioninu, tak v cysteinu. Podle množství disulfidických můstků rozlišujeme tzv. tvrdé a měkké keratiny. Čím je v keratinu více disulfidických můstků, tím jsou molekuly tvrdší a pevnější [WHEWELL, 1961]. Jejich redukce snižují elasticitu, ale také zvyšují rozpustnost molekuly. Princip redukce disulfidických můstků se využívá např. při trvalé úpravě vlasů, kdy se alkáliemi změkčí vlasový keratin. Ten získá tvar podle použité natáčky a následně se upevní fixací (dojde k obnově disulfidických můstků). Proteiny v chlupcích lze separovat pomocí elektromigračních metod, např. isoelektrickou fokusací [FOLIN – CONTIERO, 1996] nebo elektroforesou v polyakrylamidovém gelu za přítomnosti dodecylsulfátu sodného [KHAWAR – WATSON, 1996]. Pro identifikaci lze také použít hmotnostní spektrometrii (MS) [HOLLEMEYER – ALTMAYER, 2007; HOLLEMEYER – ALTMAYER, 2002; SOLAZZO, 2013], přičemž po enzymatickém štěpení lze použít buď analýzu pomocí MALDI-TOF [HOLLEMEYER – ALTMAYER, 2007; HOLLEMEYER – ALTMAYER, 2002], nebo separaci vzniklých peptidů kapalinovou chromatografií on-line spojenou s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-ESI-MS/MS) [SOLAZZO, 2013].

V této práci byla použita metoda MALDI-TOF MS s velmi jednoduchou přípravou vzorků pro rozlišení srsti pocházející z různých zvířecích druhů. Získaná data byla vyhodnocena pomocí analýzy hlavních komponent (PCA) [CEJNAR, 2018].



Obr. 2 Rozdíl v průřezích chlupu krycího a chlupu vlnovlasu [DYCE, 2009] / Difference in the sections of the guard hair and the undercoat hair [DYCE, 2009]

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Vzorky zvířecí srsti

Pro rozlišení zvířecích chlupů byly použity vzorky chlupů z šesti domestikovaných zvířat (kočky (*Felis catus*), kozy (*Capra aegagrus hircus*), králíka (*Oryctolagus cuniculus f. domesticus*), krávy (*Bos taurus*), koně (*Equus caballus*) a psa (*Canis lupus f. familiaris*)), čtyř divokých býložravých zvířat – daňka skvrnitého (*Dama dama*), jelena (*Cervus nippon*), osmáka degu (*Octodon degus*) a srnce (*Capreolus capreolus*) a pěti exotických šelem (lva indického (*Panthera leo persica*), lva stepního (*Panthera leo spelaea*), levharta mandžuského (*Panthera pardus orientalis*), tygra sumaterského (*Panthera tigris sumatrae*) a tygra ussurijského (*Panthera tigris altaica*)).

Štěpení proteinů

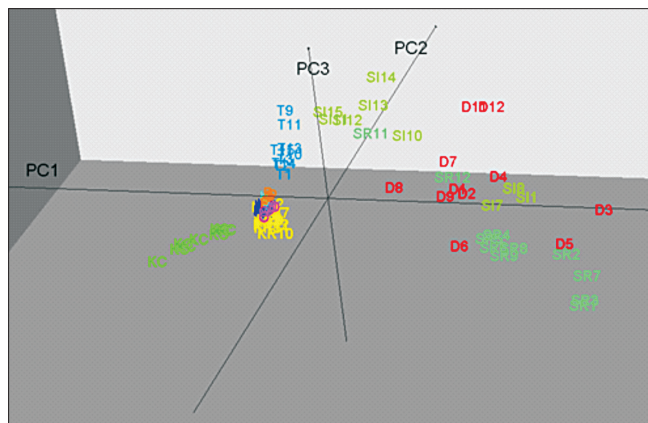
Několik kousků zvířecích chlupů o délce cca 0,5 cm bylo štěpeno v 15 μ l 50mM hydrogenuhličitanu amonném obsahujícím 10 μ g/ml trypsinu. Štěpení bylo prováděno po dobu tří hodin za laboratorní teploty. Poté byly vzorky přečištěny přes ZipTip pipetovací špičky s reverzní fází C₁₈. Všechny vzorky byly analyzovány v minimálně třech opakováních pomocí MALDI-TOF MS k získání charakteristického profilu peptidů.

Měření pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie

Pro měření bylo prvním krokem přichystání matrice, která byla připravena rozpouštěním 8–9 mg kyseliny 2,5-dihydroxybenzoové ve směsi o následujícím složení: 100 μ l acetonitrilu, 250 μ l 0,2% kyseliny trifluoroctové a 100 μ l vody. Ke 3 μ l přečištěného vzorku bylo přidáno 11 μ l takto připravené matrice. Tato směs byla nanášena na ocelovou měřicí destičku po 2 μ l alespoň ve třech opakováních a ponechána vykristalizovat. Následně byla deska vložena do hmotnostního spektrometru MALDI-TOF (Autoflex Speed, Bruker Daltonics, Německo). Měření bylo prováděno v pozitivním reflektorovém módu a rozsah měření pro jednotlivé vzorky byl nastaven na 900–2000 Da. Škála byla získána sumarizací dílčích spekter z minimálně 3000 laserových shotů.

Vyhodnocení dat pomocí PCA

Data z naměřených spekter pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie byla vyhodnocena pomocí softwaru mMass a následně pomocí analýzy hlavních komponent (PCA). Data z hmotnostních spekter byla extrahována do textových souborů „peaklist“ a „spectrum“, pomocí nástroje pro extrakci a preprocessing spekter ms.exe [KUČKOVÁ, 2015]. Následně byla data zpracována v matematickém softwaru R pomocí skriptu multiMS-toolbox [KUČKOVÁ, 2015; CEJNAR, 2018] pro extrakci vrcholů, normalizaci dat a analýzu hlavních komponent (PCA).



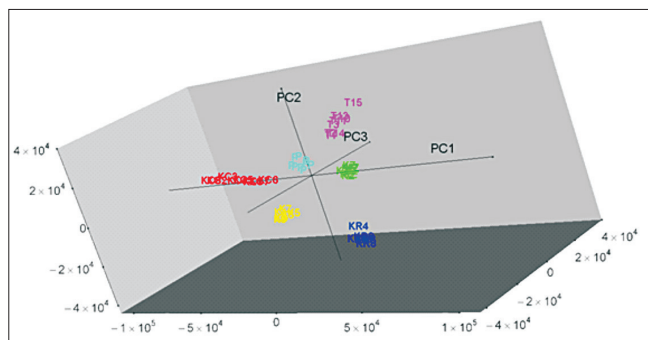
Obr. 3 Analýza chlupů domestikovaných a divokých zvířat pomocí PCA
Analysis of hairs of domesticated and wild animals by means of PCA

VÝSLEDKY A DISKUZE

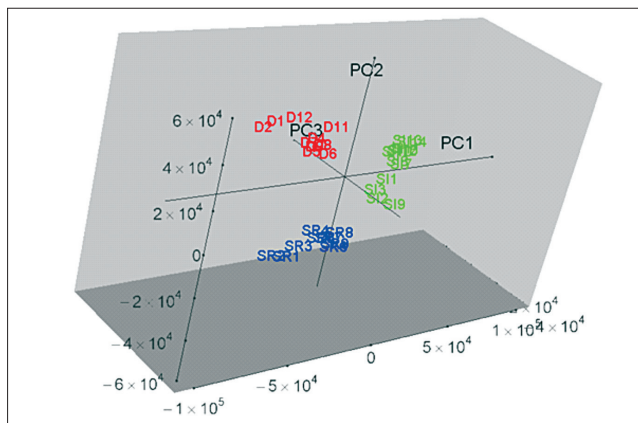
V této práci byla použita metoda MALDI-TOF s velmi jednoduchou a rychlou přípravou vzorků pro rozlišení zvířecích druhů.

V první části experimentu byla analyzována dohromady domestikovaná a divoká býložravá zvířata. Graf statistického vyhodnocení pomocí analýzy hlavních komponent (PCA) těchto zvířat zobrazuje (Obr. 3), že lesní zvířata, tj. daněk (D), jelen (SI) a srnec (SR), tvoří skupinu, ve které jsou tyto druhy vzájemně propojeny, ale jsou odděleny od ostatních zvířat. Druhou skupinu tvoří ostatní zvířata – kočka (KC), koza (KZ), kůň (K), králík (KR), osmák degu (O), pes (P) a kráva (T). Skupiny vzorků kočičí a kravské srsti se s ostatními shluky dalších zvířat neprolínají, což znamená, že tyto dva druhy je možné identifikovat bez další podrobnější analýzy. Následně byly tyto dvě skupiny zvířat (domestikovaná vs. divoká býložravá) analyzovány odděleně, aby bylo možné zjistit, zda se dají rozlišit jednotlivé druhy.

Na izolované skupině divokých býložravců (Obr. 4) je vidět, že se všechny tři studované druhy (daněk, jelen a srnec) oddělily dostatečně na to, abychom je byli schopni rozlišit. S kožešinami těchto tří druhů lesních zvířat je zcela běžné se setkat jako s mysliveckými trofejemi jak v historických objektech, tak ve sbírkách současných myslivců a lovců. Dále jsou zobrazena pouze domestikovaná zvířata a můžeme vidět, že tyto druhy mohou být také rozlišeny na základě analýzy PCA (Obr. 5). Vybrali jsme chlupy ze psů a koček, protože jejich kožešiny nejsou v současné době tak raritní, jak se může zdát, přestože Evropská unie zakázala jejich distribuci na svém území již v roce 2008.⁷ Tyto kožešiny se do Evropy dostávají z jihovýchodní Asie a Číny a zde jsou prodávány pod falešnými názvy.⁸ Králíčí kožešina se stejně jako u lesních zvířat vyskytuje jako myslivecká trofej, zatímco kožešina z kozy, krávy i koně se do dnešní doby používá k dekorativním účelům do interiéru. Všechny tyto druhy se tedy mohou objevit v historických sbírkách.



Obr. 5 Analýza chlupů u domestikovaných zvířat pomocí PCA.
Legenda: K – kůň, KC – kočka, KR – králík, O – osmák degu, P – pes, T – kráva / Analysis of hairs of domesticated animals by means of PCA. Explanatory notes: K – horse, KC – cat, KR – rabbit, O – degu, P – dog, T – cow



Obr. 4 Analýza srsti u lesních zvířat pomocí PCA. Legenda: D – daněk, SI – jelen, SR – srnec / Analysis of fur of wood animals by means of PCA. Explanatory notes: D – fallow deer, SI – red deer, SR – roe deer

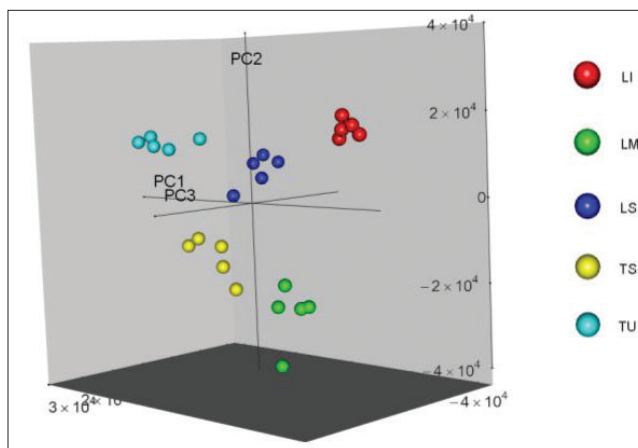
Druhá část experimentů se zaměřila na možnost rozlišení zvířecích druhů podle chlupů exotických šelem, které byly od nepaměti loveny právě pro svou srst. Bylo analyzováno pět druhů šelem – lev indický, lev stepní, levhart mandžuský, tygr sumaterský a tygr ussurijský, které se pomocí PCA podařilo úspěšně rozlišit (Obr. 6).

ZÁVĚR

Cílem práce bylo zjistit, zda lze na základě zvířecích chlupů rozlišit jednotlivé zvířecí druhy (jejich kožešiny) od sebe. Bylo zjištěno, že v rámci definované skupiny zvířat (skupiny domestikovaných zvířat, divokých býložravých zvířat a exotických šelem) to možné je. Tato metoda se v rámci těchto vybraných zvířecích druhů ukázala jako vhodná pro snadné a rychlé odlišení. V současné době byla metoda testována na malém množství vzorků, ale v budoucnu bychom rádi tuto techniku aplikovali na rozmanitější a hlavně větší počet vzorků, u kterých bude znám jejich zvířecí původ, a následně ji pak rozšířili na výzkum historických objektů.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A2_FPBT_2020_060. Autoři děkují také grantu specifického vysokoškolského výzkumu (MSMT No 21-SVV/2020) z České republiky.



Obr. 6 Analýza chlupů u exotických šelem pomocí PCA. Legenda: LI – lev indický, LM – levhart mandžuský, LS – lev stepní, TS – tygr sumaterský, TU – tygr ussurijský / Analysis of hairs of exotic predators by means of PCA. Explanatory notes: LI – Asiatic lion, LM – Amur leopard, LS – African lion, TS – Sumatran tiger, TU – Siberian tiger

POZNÁMKY

- ¹ Trocha historie nikoho nezabije....: Vše o kůži. *Vše o kůži* [online] [cit. 17. 3. 2020]. Copyright © 2010 Všechna práva vyhrazena. [cit. 20. 3. 2020]. Dostupné z www: <<https://vseokuzi.webnode.cz/pro-amatery/trocha-historie-nikoho-nezabije>>
- ² Luxury Fur Coats | Chicago, Illinois | Andriana Furs [online] [cit. 19. 3. 2020]. Dostupné z www: <<https://www.andrianafurs.com/our-blog/2016/02/the-early-history-of-fur-in-fashion>>
- ³ The Royal Touch: ERMINE – Furlinsider. *Furlinsider – Fashion Focused. Fur Friendly*. [online]. Copyright © The State Hermitage Museum, St Petersburg [cit. 19. 3. 2020]. Dostupné z www: <<https://www.furlinsider.com/the-royal-touch-ermine/>>
- ⁴ Kožešinová zvířata [on-line] [cit. 17. 3. 2020]. Dostupné z www: <http://cojeco.cz/index.php?detail=1&id_desc=48640&s_lang=2&title=ko%9Ee%9Ainov%E1%20zv%ED%F8ata>
- ⁵ Barvení kožešin. *e-LTex* [online] [cit. 18. 3. 2020]. Dostupné z www: <<http://www.skolatextilu.cz/elearning/56/textilni-terminologie-zboziznalstvi/kuze-a-kozeseiny/Barveni-kozesein.html>>
- ⁶ E-Sbirky.cz [on-line] [cit. 28. 6. 2020] Dostupné z www: <<https://www.esbirky.cz/hledat/rychle/vysledky?keywords=ko%C5%BE-e%C5%A1ina&order=relevance>>
- ⁷ Regulation (EC) No 1523/2007 of the European Parliament and of the Council of 11 December 2007 banning the placing on the market and the import to, or export from, the Community of cat and dog fur, and products containing such fur. [on-line] [cit. 11. 2. 2020] Dostupné z www: <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX%3A32007R1523>>
- ⁸ V obchodech s kožešinami prodávají kočky psů a koček. [online] [cit. 12. 3. 2020]. Dostupné z www: <<http://www.tn.nova.cz/clanek/zpravy/domaci/v-obchodech-s-kozeseinami-prodavaji-kozy-psu-a-kocek.html>>

LITERATURA

- CEJNAR, P. et al. Principal component analysis of normalized full spectrum mass spectrometry data in multiMS-toolbox: An effective tool to identify important factors for classification of different metabolic patterns and bacterial strains. *Rapid communications in mass spectrometry*, March 2018, vol. 32, no. 11, s. 871–881.
- DOUBKOVÁ, E. 2014. *Analýza procesu výroby konfekce a doplňků z kožešin*. Diplomová práce na Technické univerzitě v Liberci na Fakultě textilní. Vedoucí diplomové práce Marie Nejedlá.
- DYCE, K. M. et al. *Textbook of veterinary anatomy-E-Book*. Elsevier Health Sciences, 2009.
- FOLIN, M. – CONTIERO, E. Electrophoretic analysis of non-human primates hair keratin. *Forensic science international*, December 1996, vol. 83, no. 3, s. 191–199.
- HARIZI, T. Thermoanalytical characterisation of dromedary hair. *The Journal of the textile institute*, January 2010, vol. 101, no. 7, s. 668–673.
- HOLLEMEYER, K. – ALTMAYER, W. Identification and quantification of feathers, down, and hair of avian and mammalian origin using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Analytical chemistry*, November 2002, vol. 74, no. 23, s. 5960–5968.
- HOLLEMEYER, K. – ALTMAYER, W. Identification of furs of domestic dog, raccoon dog, rabbit and domestic cat by hair analysis using MALDI-ToF mass spectrometry. *Spectroscopy Europe*, April 2007, vol. 19, no. 2, s. 8–15.
- HOUCK, M. M. – BUDOWLE, B. Correlation of microscopic and mitochondrial DNA hair comparisons. *Journal of forensic science*, September 2002, vol. 47, no. 5 s. 1–4.
- KHAWAR, S. L. – WATSON, K. Peptide mapping of S-carboxymethylated hair and feather proteins using two-dimensional electrophoresis. *The international journal of biochemistry & cell biology*, October 1996, vol. 28, no. 10, s. 1155–1162.
- KUCKOVA, S. et al. Evaluation of mass spectrometric data using principal component analysis for determination of the effects of organic lakes on protein binder identification. *Journal of mass spectrometry*, October 2015, vol. 50, no. 11, s. 1270–1278.
- MARIACHER, A. et al. A combined morphological and molecular approach for hair identification to comply with the European ban on dog and cat fur trade. *PeerJ*, November 2019, vol. 7, s. e7955.
- MELTON, T. – HOLLAND, C. Routine forensic use of the mitochondrial 12S ribosomal RNA gene for species identification. *Journal of forensic sciences*, September 2007, vol. 52, no. 6, s. 1305–1307.
- SOLAZZO, C. et al. Characterisation of novel α -keratin peptide markers for species identification in keratinous tissues using mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry*, October 2013, vol. 27, no. 23, s. 2685–2698.
- STROHALM, Martin, et al. mMass data miner: an open source alternative for mass spectrometric data analysis. *Rapid communications in mass spectrometry: An international journal devoted to the rapid dissemination of up-to-the-minute research in mass spectrometry*, February 2008, vol. 22, no. 6, s. 905–908.
- TRIDICO, S. Examination, Analysis, and Application of Hair in Forensic Science-Animal Hair. *Forensic science review*, January 2005, vol. 17, no. 1, s. 17–28.
- WANG, Bin, et al. Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration. *Progress in materials science*, March 2016, vol. 76, s. 229–318.
- WHEWELL, C. S. The chemistry of hair. *Journal of the society of cosmetic chemists*, December 1961, vol. 12, s. 207–223.
- WORTMANN, F.-J. – ARNS, W. Quantitative Fiber Mixture Analysis by Scanning Electron Microscopy: Part I: Blends of Mohair and Cashmere with Sheep's Wool. *Textile research journal*, July 1986, vol. 56, no. 7, s. 442–446.