

Oponentský posudek dizertační práce

Zdeněk Tůma: Analýza a identifikace proteinů při orgánových dysfunkcích pomocí proteomických metod

předkládané na Lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Plzni

Předložená práce má formu komentovaného souboru devíti publikací autora z let 2009 až 2016. Doktorand je prvním autorem jedné experimentální a jedné přehledové práce a spoluautorem u prací ostatních. Všechny práce byly publikovány v impaktovaných časopisech. Požadavky na rozsah publikační aktivity doktorandů jsou tedy splněny.

V souladu se současnými trendy je zaměřena na studium proteomu namísto donedávna studovaného transkriptomu.

Úvodní část dokládá, že doktorand v rámci své vědecké přípravy zvládl celou šíři metod používaných v proteomice i metod podpůrných, potřebných k přípravě vzorků pro proteomickou analýzu.

Počet literárních odkazů v dizertaci není při devíti komentovaných pracích příliš velký, ale vzhledem k tomu, že se tematicky týká vždy několik prací téže oblasti (práce I až III, práce V a VI), lze ho považovat za akceptovatelný.

Struktura práce je přehledná a grafická úprava zcela vyhovující.

Práce po mém soudu dokládá schopnost samostatné vědecké činnosti doktoranda a jeho schopnost o svých výsledcích odpovídajícím způsobem referovat. Práci proto **doporučuji k obhajobě.**

K doktorandovi mám následující otázky, ke kterým by se měl při obhajobě vyjádřit:

Doktorand nebo jeho pracoviště zjevně upřednostňují hmotnostní spektrometrii pro absolutní kvantifikaci proteinů. Tu ale umožňují i jiné metody (ELISA apod.), patrně výrazně levnější a tudíž snazší pro zavedení do praxe. Jak vychází porovnání těchto metod s hmotnostní spektrometrií?

K pracím II a III (proteom plasmy v rané fázi sepse a v delším průběhu)

Ve studii II šlo o porovnávání dvou vzorků plasmy – před sepsí a po jejím vyvolání. Tady by místo separátního zkoumání bylo patrně s výhodou možné použít i metody iTRAQ. Proč nebylo její použití zváženo? Není zmíněna ani v úvodním teoretickém přehledu metod.

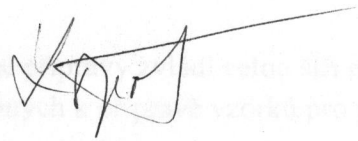
V pracích II a III není zmíněno použití žádné z metod odstranění abundantních plasmatických proteinů. Spoléhal se autoři pouze na separaci elektroforézou?

K pracím V a VI (interakce krve s membránou dialyzátoru a aktivaci komplementu):

Z popisu získávání proteinů adsorbovaných na vnitřním povrchu dialyzační membrány vyplývá, že byl použit pouze proplach krevní cesty kombinací různých roztoků. Proč nebyl prostý proplach doplněn nebo kombinován s reverzní ultrafiltrací?

Měření byla dělána vesměs na polysulfonových membránách. Byl pro to nějaký speciální důvod? Bylo by velmi zajímavé srovnat skladbu adsorbovaných proteinů na různých membránových materiálech.

Poznámka: Vyvinutou metodu získávání adsorbovaných proteinů by rovněž bylo velmi žádoucí uplatnit pro ověření dnes často deklarované lepší biokompatibility dialýzy s dialyzátem acidifikovaným kyselinou citronovou oproti klasickému roztoku s kyselinou octovou.



V Praze, dne 20. 8. 2016

doc. Ing. František Lopot, CSc,
VFN a 1. LF UK v Praze
Interní oddělení Strahov
Šermířská 4, 16900 Praha 6
tel. 225003206, email f.lopot@vfn.cz