



Univerzita
Pardubice
Fakulta
chemicko-technologická

Oponentský posudek disertační práce

Název: Tandem mass spectrometry of sphingolipids with application for metabolic studies and diagnosis of sphingolipidoses

Autor: Mgr. Ladislav Kuchař

Oponent: Prof. Ing. Michal Holčápek, Ph.D.

Předložená disertační práce se zabývá vývojem nových analytických metod s využitím tandemové hmotnostní spektrometrie pro kvantitativní analýzu různých sfingolipidů. Vypracované metody byly použity pro analýzu vzorků pacientů s onemocněními spojenými s poruchami metabolismu lipidů. Disertační práce je založena na 5 článcích publikovaných v mezinárodních odborných časopisech a 1 kapitole v monografii. Doktorand je prvním autorem 4 z 6 uvedených publikací. Dále jsou uvedeny 2 rukopisy v přípravě, 10 přednášek a 21 posterů. Z osobní zkušenosti mohu potvrdit, že Mgr. Kuchař dokáže velice dobře prezentovat své výsledky i na mezinárodních konferencích a získal si již dobré renomé v mezinárodní komunitě. K jeho odbornému růstu přispěla i zahraniční stáž na špičkovém pracovišti prof. Turečka na University of Seattle. Disertační práce je sepsána v angličtině na dobré jazykové úrovni s malým množstvím jazykových nedostatků. Není příliš mnoho Ph.D. studentů, kteří si mohou dovolit sepsat disertační práci v angličtině.

Úvodní část disertace má dvě podkapitoly. První část týkající se biochemie a pathobiochemie sfingolipidů je podle mého názoru velmi dobře zpracována a sám z ní budu čerpat informace pro analýzu sfingolipidů. Druhá část týkající se hmotnostní spektrometrie by si podle mého názoru zasloužila pečlivější zpracování, protože hmotnostní spektrometrie je hlavní a pro práci zásadní analytickou technikou. V této části je několik nepřesností (viz připomínky níže) a některé části měly být zpracovány podrobněji, např. kapitoly 1.7.2 a 1.8, kde bych očekával alespoň stručný přehled základních typů hmotnostních spektrometrů a zejména konfigurací tandemových hmotnostních spektrometrů s možným využitím pro kvantitativní analýzu sfingolipidů. Autor se zaměřil pouze na konfiguraci trojitého kvadrupólu využitého v



jeho práci. Bylo by vhodné porovnat tento přístup s dalšími moderními přístupy kvantitativní analýzy v hmotnostní spektrometrii, např. s využitím přístrojů s vysokou rozlišovací schopností. Kapitola 1.8.2 popisující základní skenující módy použité v celé disertační práci mohla být názornější, aby byl postup měření srozumitelnější i expertům z jiných oborů než je hmotnostní spektrometrie.

Část výsledků a diskuze je založená na 5 publikovaných pracích v mezinárodních časopisech, kde práce prošly náročným recenzním řízením a já nemám žádné výhrady. Vypracované metody a získané výsledky jsou významným přínosem pro obor lipidomiky.

Drobné připomínky:

1/ Str. 35 - doporučuji termín "ionization technique" místo "ionization device".

2/ Str. 35, 43, atd. - nesprávné použití termínu "molecular ion", který náleží pouze molekulárnímu radikálkationtu nebo radikálaniontu. V tomto případě lze použít např. "protonated molecule, deprotonated molecule" nebo "molecular adducts".

3/ Str. 37 - nepřesnosti v popisu mechanismu elektrospreje. Nejedná se o "*Railegh* fission", ale "*Coulombic* fission". Ve skutečnosti Rayleigh popsal limit stability, navíc je nesprávně uvedeno jeho jméno.

4/ Str. 39 - místo "triplequadruple" má být "triple quadrupole".

5/ Str. 43 - technika "external calibration method" se mě pro hmotnostní spektrometrii nezdá příliš vhodná, proto by mělo být vysvětleno její uvedení a tuto kapitolu lépe diskutovat.

6/ str. 111 - termíny "parent ion" a "daughter ion" či jejich české ekvivalenty rodičovské a dceřiné ionty nejsou názvoslovnou komisí IUPAC doporučeny a ve formálním textu by se mělo používat "prekurzorové ionty" a "produktové ionty".



Univerzita
Pardubice
Fakulta
chemicko-technologická

Dotaz do diskuze:

Jaký je Váš názor na potenciál spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií ve srovnání s metodami založenými na přímé infúzi ("shotgun") pro kvantitativní analýzu lipidů?

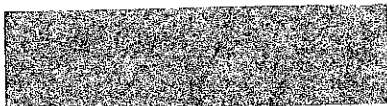
Celkově hodnotím předloženou disertační práci jako nadprůměrnou. Pozitivně oceňuji dobře zvládnutou kombinaci vývoje nových analytických metod pro stanovení sfingolipidů a aplikaci pro vzorky pacientů s lysosomálními onemocněními s přínosem pro diagnózu i studium molekulárních mechanismů těchto nemocí.

Předložená disertační práce splňuje všechny požadavky kladené na tyto práce, je na výborné vědecké úrovni, a proto

DOPORUČUJI

k disertační práci k obhajobě a udělení titulu Ph.D.

V Pardubicích dne 29. 11. 2013



Prof. Ing. Michal Holcápek, Ph.D.

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická, Katedra analytické chemie

Studentská 573, 53210 Pardubice

e-mail Michal.Holcapek@upce.cz