

Posudek na habilitační práci s názvem **VYUŽITÍ CHROMATOGRRAFIE A HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE V LIPIDOMICKÉ ANALÝZE**, jejímž autorem je Ing. Miroslav Lísa, Ph.D. z Přírodovědecké fakulty Univerzity Hradec Králové

Habilitační práce má charakter kombinovaného textu s úvodní autorskou částí a přílohami publikovaných prací. Úvodní část je včetně obsahu a seznamu použitých zkratk podána na 37 stranách. Přílohové práce byly publikovány vesměs v mezinárodních vědeckých časopisech s impaktivním faktorem. Výrazně jsou zastoupeny časopisy, které jsou v oboru analytická chemie považovány za kvalitní a prestižní, např. *Journal of Chromatography A* či *Analytical Chemistry*. Dr. Lísa je na uvedených přílohách 12krát prvním autorem, 6krát druhým autorem a 9krát třetím autorem v pořadí. Není tedy pochyb o tom, že jeho podíl na vzniku těchto vědeckých publikací je zásadní, či aspoň velmi významný.

Při hodnocení formálního zpracování lze na prvním místě vyzdvihnout kvalitu textu, který je psán úsporně a přitom věcně. I když je podána jen nejstručnější informace nutná pro orientaci čtenáře v problematice moderní analýzy lipidů, je zachována vysoká míra informativnosti a zároveň i čtivosti, takže před procházením příloh lze velmi rychle získat ucelený dojem o vědecké činnosti autora v posledních cca 15 letech působení ve vědeckém týmu na Univerzitě Pardubice. Formální nedostatky jsou minimální. Překlepy jsem zachytil všeho všudy dva, v obdobném počtu i nečeský slovosled v několika větách vzniklý překladem z anglického originálu. Citování má nejednotnou formu (velká a malá písmena slov). Postrádal jsem číslování jednotlivých příloh např. vkládáním úvodních listů s citacemi, a to tak, aby bylo snadné opakovaně přecházet na jednotlivé přílohy během čtení úvodního textu bez pomoci seznamu příloh. Také by bylo vhodné u habilitačního spisu zařadit specifikaci autorského podílu pro jednotlivé přílohové práce.

Po stránce obsahové bych měl několik komentářů k úvodní části, přílohu s publikovanými pracemi není třeba hodnotit, jelikož tyto prošly standardním recenzním řízením. Na úvod se vysvětlují pojmy lipidy a lipidomika, je nastíněna klasifikace lipidů a náročnost jejich analýzy s ohledem na izomerii a dynamický rozsah. Vysvětleny jsou i další záležitosti studia lipidů ve vzorku, tedy možnost cílené i necílené analýzy, použití plynové, kapalinové i superkritické fluidní chromatografie pro separaci a hmotnostní spektrometrie s různými ionizačními technikami pro detekci a identifikaci. Pozornost je věnována i kvantifikaci lipidů, zejména s použitím vnitřních standardů a hmotnostní spektrometrie. Celá tato pasáž je zaměřena úzce analyticky a navíc velmi specializovaně vzhledem k vlastní experimentální zkušenosti autora. Jako recenzent postrádám širší oborové i mezioborové souvislosti. Očekával bych větší záběr k biologické roli lipidů, např. se stručnou zmínkou (na základě rešerše literatury) o změnách lipidového složení v souvislosti s fyziologickými a patologickými procesy u živých organismů (potvrzené lipidové markery), zejména u člověka s ohledem na některé z příloh, kde byla tato záležitost autorem studována. Také postrádám zhodnocení problematiky analýzy lipidů nejen v kontextu chromatografie a hmotnostní spektrometrie, ale analytické chemie jako celku. Lipidy jsou studovány i jinak, např. s použitím spektroskopických metod (infračervená spektroskopie, NMR, rozptyl světla), nebo zobrazovací hmotnostní spektrometrie tkání bez separace. Ve větší šířce mohla být komentována i problematika extrakce lipidů, ať už rozpouštědly nebo na pevné fázi, protože je rozhodující pro další práci a zejména relevanci analýzy vzorku.

Autor by mohl reagovat v rámci veřejné habilitační přednášky či přednášky před vědeckou radou zařazením příslušného shrnutí a vysvětlení výhod a nevýhod používaných postupů a metodik.

Komentář k přílohám je z mého pohledu velmi zdařilý. Jediné, co postrádám v této části úvodní stati habilitační práce, je shrnutí vědeckého působení autora v poslední době zasazené do širšího kontextu současné analytické chemie lipidů a lipidomiky. Autor produkuje výsledky mezinárodní úrovně kvality, je proto vhodné zhodnotit a komentovat přínos jeho práce pro poznání v oboru. Z mého pohledu je například příprava a využití izomerních standardů pro posun analýzy lipidů zásadním a velmi záslužným počinem. Text tohoto komentáře je tematicky rozdělen do čtyř oddílů, které popisují: 1) analýzu triacylglycerolů (TAG) v tucích a olejích; 2) vývoj metod pro analýzu izomerů triacylglycerolů; 3) necílenou lipidomickou analýzu vzorků extraktů biologických materiálů a 4) lipidomickou analýzu biologických vzorků pro klinické studie.

Pro analýzu TAG se osvědčila zejména kapalinová chromatografie na obrácené fázi a hmotnostní spektrometrie s chemickou ionizací za atmosférického tlaku s metodou odezvočných faktorů pro kvantifikaci, případně byla aplikována vícerozměrná chromatografie. Analýza izomerů si vyžádala především zvládnutí syntézy standardů, např. randomizační reakcí. K této kapitole mám dotaz:

Jak si vysvětlujete, že v tuku domácího i divokého prasete byla jistá preference výskytu nasycených zbytků mastných kyselin v poloze 2 ve srovnání s ostatními analyzovanými živočišnými tuky? Je to dáno složením potravy (všežravci) ve srovnání s jinými živočichy? Nebo má příslušná glycerolfosfát-acyltransferasa odlišnou preferenci substrátů? Co je o tom známo?

Pro lipidomickou analýzu biologických materiálů se zdá být výhodná 2-D separace nebo jednorozměrná separace na dlouhé koloně a gradientem složení mobilní fáze v řádu hodin.

Jak se autor dívá na možnosti zkrácení doby analýz využitím rychlé prefrakcionace vzorku bez přístrojové chromatografie (např. pipetovými špičkami se stacionární fází, TLC frakcionací, použitím nanočástic a „chytrých“ povrchů), nebo rychlé separace na stacionárních fázích umožňujících vyšší průtoky (perfúzní chromatografie, využití mikrofluidiky apod.)? Jaké jsou možnosti využití enzymů, např. lipas, fosfolipas a jiných, pro snížení komplexity vzorku pro skupinové analýzy? Jaké je využití gelové permeační chromatografie pro separace spojené s hmotnostní spektrometrií v lipidomice?

Jako celek má habilitační práce vysokou úroveň. Je postavena na originálních vědeckých experimentech, většina výsledků již byla publikována v relevantních a kvalitních časopisech, kde prošla standardním recenzním řízením. Tato práce svědčí o autorově vědomostním a tvůrčím potenciálu, schopnosti dlouhodobě a systematicky vědecky pracovat, získávat seriózní data a správně je vyhodnocovat.

Po prostudování habilitační práce jsem jako recenzent nabyl pevného přesvědčení o tom, že kandidát je zcela kompetentní a kvalifikovanou osobou v oboru analytická chemie a dospěl do úrovně vysokoškolského pedagoga, který aspiruje na udělení vědeckopedagogického titulu docent podle §71 a 72 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb. Úplným závěrem posudku je moje jednoznačné doporučení pro přijetí spisu jako kvalitní a plnohodnotné součásti podkladů pro habilitační řízení.

V Olomouci dne 23.7.2018



Prof. Marek ŠEBELA