



Prof. RNDr. Pavel Coufal, Ph.D.
Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie
Hlavova 2030/8, 128 40 Praha
E-mail: pcoufal@natur.cuni.cz

Oponentský posudek na disertační práci

Mgr. Kataríny Molnárové

na téma

"Hydrofilná interakčná kvapalinová chromatografia v analýze intaktných glykopeptidov"

Předložená disertační práce se zabývá využitím hydrofilní interakční kapalinové chromatografie (HILIC) pro separaci glykopeptidů a ukazuje potenciál hydrofilního interakčního mechanismu v separacích glykopeptidových isomerů lišících se větvením anebo typem vazby a v obohacování glykopeptidů pomocí extrakce na pevné fázi před jejich vlastní analýzou. Spojení HILIC chromatografie s hmotnostní spektrometrií (MS) pak umožňuje identifikaci glykopeptidů na základě interpretace hmotnostních spekter bez dostupnosti standardů jednotlivých analyzovaných glykopeptidů.

Předložená disertační práce je vypracována přehledně, srozumitelně a čtivě bez formálních nedostatků. V literárním přehledu předložené práce je uvedeno celkem 141 citací, což svědčí o velmi systematické a vyčerpávající literární rešerši zpracované autorkou. Disertační práce je podložena 6 kvalitními původními publikacemi uveřejněnými v renomovaných odborných časopisech a jedním zcela vyčerpávajícím literárním přehledem (publikace IV v příloze), který vychází ze 190 původních prací. Obsahová stránka předložené disertační práce je na vysoké úrovni a svědčí o tom, že autorka zvládla instrumentální stránku hydrofilní interakční kapalinové chromatografie, spojení této chromatografie s hmotnostní detekcí, interpretaci hmotnostních spekter z hmotnostního analyzátoru qTOF a techniku extrakce na pevné fázi s využitím HILIC separačního mechanismu, dále pak plánování experimentů a jejich provedení, vyhodnocení a prezentaci naměřených experimentálních dat, interpretaci získaných výsledků a z nich vyvozených příslušných závěrů.

K předložené disertační práci mám následujících pět dotazů:

1. Na straně 15 v obrázku 1, ona prostá čárka ve vzorci reprezentuje methyl či pokračování peptidové vazby?
2. Na straně 18 autorka uvádí, že glykoproteiny vykazují v MS nízkou ionizační účinnost v porovnání s neglykosylovanými peptidy. Existuje pro tuto sníženou ionizační účinnost nějaké vysvětlení?
3. Na straně 22 autorka uvádí, že přítomnost neglykosylovaných peptidů ve vzorku potlačuje v MS ionizaci glykopeptidů. Čím lze tedy vysvětlit zvýšení ionizační účinnosti glykopeptidů odstraněním neglykosylovaných peptidů?
4. Na straně 30 v tabulce 3.2.2. u levého gradientu obsah složky B (acetonitril s 0,1% mravenčí kyselinou) nejprve vzroste z 80% na 90% a poté klesá na 65%. Proč obsah složky B zprvu roste a pak teprve klesá?
5. Jak dlouhé byly časy ustavování rovnováhy (kondicionace) HILIC kolon po použití v disertační práci uváděných gradientů eluce? Bylo by možné v některých případech použít i isokratickou eluci?

Závěrem konstatuji, že předložená disertační práce slečny Mgr. Kataríny Molnárové jasně ukazuje přednosti hydrofilní interakční kapalinové chromatografie jako vhodné separační techniky pro kvalitativní a případně i kvantitativní analýzu glykopeptidů a glykoproteinů, a také jasně demonstruje, že separační mechanismus HILIC chromatografie lze využít i pro obohacování glykopeptidů pomocí extrakce na pevné fázi před jejich vlastní analýzou. Předložená práce splňuje všechny požadavky na disertační práce kladené. Na základě všech výše uvedených skutečností doporučuji předloženou disertační práci k přijetí jako podklad pro udělení titulu Ph.D.

V Praze, 12. března 2024