

Průběžná výroční zpráva projektu specifického výzkumu  
zakázka č. 2110/2023

**Název projektu:** Analýza metabolitů centrální nervové soustavy pomocí hmotnostní spektrometrie

**Specifikace řešitelského týmu**

Odpovědný řešitel: Mgr. Tereza Langerová, doc. Ing. Miroslav Lísa, Ph.D.

Studenti doktorského studia na UHK: Mgr. Tereza Langerová, Mgr. Zdeňka Neuerová

Studenti magisterského studia na PřF UHK: Bc. Sára Rademacherová, Bc. Aneta Bábíková

Další výzkumní pracovníci: Ing. Eva Cífková, Ph.D., Mgr. Maria Khalikova, CSc., RNDr. Oleksandr Kozlov, Ph.D., doc. Ing. Miroslav Lísa, Ph.D.

**Celková částka přidělené dotace: 202 720 Kč**

**Stručný popis postupu při řešení projektu (max. 2 strany).**

Vzhledem k vzrůstajícímu zájmu o studium onemocnění souvisejících s centrální nervovou soustavou se specifický výzkum zabývá analýzou metabolitů důležitých pro sledování změn metabolomu. S touto problematikou je spojena také analýza lipidů, které mají významnou biologickou funkci a zastoupení v nervové soustavě. Pro pochopení fyziologických procesů probíhajících při poruchách centrální nervové soustavy byl hlavním cílem vývoj metod pro analýzu metabolitů a lipidů v biologických vzorcích pomocí kapalinové chromatografie a superkritické fluidní chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií.

V rámci projektu byl řešen vývoj metod pro analýzu gangliosidů, který navazuje na diplomovou práci Mgr. Terezy Langerové. Gangliosidy jsou skupinou polárních glykosfingolipidů, které jsou hlavní složkou neuronálních lipidů a podílí se na základních procesech probíhajících v nervovém systému. Jejich nedostatek nebo nadbytek vede k závažným neuronálním poruchám, proto je vývoj metod pro jejich analýzu důležitý. S ohledem na strukturu gangliosidů byly optimalizovány dvě metody – HILIC/MS a RP-LC/MS. Optimalizované metody byly porovnány a zhodnoceny s ohledem na separaci a schopnost identifikace. Výsledky budou zpracovány do vědecké publikace, která bude publikována v druhé polovině roku 2024.

Vývojem metody se ve své práci zabývala také Mgr. Zdeňka Neuerová. Její prací byla optimalizace LC/MS metody pro analýzu polárních a středně polárních metabolitů, která je důležitým nástrojem pro identifikaci a kvantifikaci metabolitů obsažených v biologických vzorcích. Vývoj metody je klíčový pro pozorování rozdílů v zastoupení a koncentraci metabolitů, které mohou být vhodnými kandidáty na biologické markery. Pro získání ideálních podmínek analýzy byla optimalizována mobilní a stacionární fáze a nastavení MS parametrů. Výsledná metoda byla validována pro analýzu metabolitů ze vzorků plazmy, placenty a mozku. Výsledky budou zpracovány do aktuálně připravované vědecké publikace.

Bc. Aneta Bábíková se ve své práci zabývá optimalizací LC/MS podmínek pro analýzu oxylipinů, které jsou charakteristické velkým množstvím polohových a strukturních izomerů, což je velmi náročné jak pro jejich separaci, tak i identifikaci. V rámci své práce se seznámila s charakteristickým fragmentačním chováním těchto látek, které pak aplikovala při identifikaci oxylipinů pomocí MS s využitím iontové mobility. Dále se v rámci své diplomové práce snažila o zlepšení separace polohových izomerů pomocí LC podmínek používaných pro metabolomickou analýzu polárních až středně polárních látek. Vzhledem ke špatné dostupnosti standardů všech polohových izomerů probíhala optimalizace na extraktech plazmy a dalších biologických vzorcích. Výsledky práce budou součástí diplomové práce, jejíž obhajoba je plánována v roce 2024.

Superkritická fluidní chromatografie byla využita pro analýzu optických izomerů acylglycerolů pomocí chirálních stacionárních fází. V rámci projektu Mgr. Sára Rademacherová optimalizovala postup syntézy nesymetrických diacylglycerolů na základě chránění OH- skupin glycerolu a následné stereospecifické esterifikaci mastnými kyselinami. Pomocí optimalizovaného postupu byla připravena sada standardů izomerů acylglycerolů, které byly využity pro identifikaci izomerů v analyzovaných vzorcích. Experimenty byly součástí diplomové práce, která byla obhájena v r. 2023.

Dále byla vyvinuta metoda pro analýzu polárních i nepolárních metabolitů pomocí superkritické fluidní chromatografie a hmotnostní spektrometrie založená na postupném dávkování polárních a nepolárních extraktů získaných pomocí extrakce kapalina/kapalina. Získané experimentální výsledky byly přijaty k publikaci v časopise Analytical Chemistry (D1, Analytical Chemistry).

### Splnění cílů řešení a přínos projektu.

Cíle projektu byly splněny. Byly optimalizovány a validovány odlišné LC/MS metody pro metabolomickou analýzu polárních metabolitů i lipidů pro různé biologické vzorky. Byl optimalizován postup syntézy komerčně nedostupných standardů izomerů acylglycerolů pro analýzu superkritickou fluidní chromatografií. Připravované publikace jsou ve fázi zpracování výsledků a budou publikovány do konce roku 2024.

### Splnění kontrolovatelných výsledků řešení.

Uveďte jen výstupy, které vznikly na základě řešení tohoto projektu. Dále uveďte, zda byly publikace skutečně zadány do OBD s vazbou na RIV.

O. Kozlov, E. Hančová, E. Cífková, M. Lísa, Comprehensive Single-Platform Lipidomic/Metabolomic Analysis Using Supercritical Fluid Chromatography–Mass Spectrometry, Analytical Chemistry (2024), in press, <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c04771>

### Tab. 1 Sumář výstupů řešení projektu

U výstupů na WOS s nenulovým AIS a na SCOPUS s nenulovým SJR uveďte do závorky kvartil časopisu dle AIS, resp. SJR.

Typ výstupu	Plán	Skutečnost	Poznámka
Article, Review, Letter (databáze WoS dle AIS) *	1	1	
Article, Review, Letter (databáze Scopus dle SJR) **			
B (recenzovaná odborná kniha) ***			
C (kapitola v recenzované odborné knize)***			
D (článek ve sborníku ve WoS, Scopus)			
P (patent)			
Počet obhájených dizertačních prací			
Počet obhájených diplomových prací	1	1	
Počet výsledků	2	2	

\* Povinný výstup.

\*\* Týká se pouze časopisů z problematiky společenskovedních a humanitních oborů.

\*\*\* Pouze renomovaná nakladatelství Elsevier, Springer, Bentham apod.



Výsledek čerpání rozpočtu:

a) Spotřeba materiálu (položka dle IS Magion č. 501):

Materiálové náklady (nutno soutěžit v rámci DNS)	Stručné zdůvodnění nákupu	Přesná specifikace	Cena včetně DPH (Kč)
Cam lock pro FastPrep	Uzamykací systém pro FastPrep homogenizátor	Uzamykací systém pro adaptéry homogenizátoru FastPrep se snadným použitím umožňující rychlou výměnu vzorků pro homogenizaci tkání. CPV: 38436000-0 (Třepačky a příslušenství)	7 038,57,-
TeenPrep adapter, upevňovací část	Upevňovací adaptér pro FastPrep homogenizátor	Adaptér TeenPrep umožňuje na přístroji FastPrep homogenizaci tkání. Horní část pro upevnění 15 ml plastových homogenizačních kónických zkumavek (maximální kapacita 12 ks). CPV: 38436000-0 (Třepačky a příslušenství)	14 898,73,-

Spotřební náklady (spotřební a kancelářské potřeby)	Stručné zdůvodnění nákupu	Cena včetně DPH (Kč)
---	---------------------------	----------------------

Spotřební materiál	Spotřební materiál pro: přípravu mobilních fází - nitrilové rukavice, špičky a další laboratorní plast, laboratorní sklo; přípravu vzorku - homogenizační zkumavky a kuličky; analýzu vzorku - skleněné vialky, inserty, septa; Chromatografické kolony; Chemikálie - rozpouštědla LC-MS kvality, aditiva, standardy pro kvantitativní metabolomickou analýzu (např. standardy gangliosidů GM1-d9, GM2- d9, GM3-d9)	108 922,96,-
--------------------	--	--------------

b) **Cestovné** (položka dle IS Magion č. 512):  
cestovné zaměstnanců a jeho stručné zdůvodnění;

Titul, jméno a příjmení zaměstnance	Ubytování (cca Kč)	Cestovné (cca Kč)	Stravné (cca Kč)	Celkem (Kč)	(Název, místo a datum konání)
Ing. Eva Cífková, Ph.D.	0,-	0,-	0,-	0,-	-
Mgr. Maria Khalikova, CSc.	0,-	0,-	0,-	0,-	-
RNDr. Oleksandr Kozlov, PhD.	0,-	0,-	0,-	0,-	-
doc. Ing. Miroslav Lísa, Ph.D.	0,-	0,-	0,-	0,-	-

c) **Ostatní služby** (položka dle IS Magion č. 518):  
náklady nebo výdaje na služby a jejich stručné zdůvodnění

Typ služby	Stručné zdůvodnění služby	Cena včetně DPH (Kč)
Tisk posterů	Prezentace výsledků na plánovaných konferencích.	2 100,-

d) **Mzdové náklady** (položka dle IS Magion č. 521):

Titul, jméno a příjmení	Odměna (Kč)	Zdůvodnění	Celkem (Kč)
Ing. Eva Cífková, Ph.D.	0,-	-	0,-
Mgr. Maria Khalikova, CSc.	0,-	-	0,-
RNDr. Oleksandr Kozlov, PhD.	0,-	-	0,-
doc. Ing. Miroslav Lísa, Ph.D.	0,-	-	0,-

e) **Zákonné pojištění** (položka dle IS Magion č. 524):

Titul, jméno a příjmení	Odvody z odměn 34,42 % (Kč)	Celkem (Kč)
Ing. Eva Cífková, Ph.D.	0,-	0,-
Mgr. Maria Khalikova, CSc.	0,-	0,-
RNDr. Oleksandr Kozlov, PhD.	0,-	0,-
doc. Ing. Miroslav Lísa, Ph.D.	0,-	0,-

f) **Jiné ostatní náklady** (položka dle IS Magion č. 549):  
zejména **stipendia** a jejich stručné zdůvodnění

**Stipendium studentů za práci na řešení projektu**

Titul, jméno a příjmení studenta/ky	Číslo studenta/ky	Typ studia (Mgr./PhD.) / ročník studia	Obor studia	Bankovní spojení	Stipendium (Kč)
Mgr. Tereza Langerová	S22CH003DP	PhD./1.	P0512D130007	2255869073/0800	8 000,-
Mgr. Zdeňka Neuerová	S22CH004DP	PhD./1.	P0512D130007	242567966/0300	8 000,-
Bc. Sára Rademacherová	S21CH017NP	NMgr./2.	N0531A13CZTX	-	0,-
Bc. Aneta Bábíková	S22CH008NP	NMgr./1.	N0531A13CZTX	-	2 000,-

**Cestovní stipendia studentů**

Titul, jméno a příjmení studenta/ky	Konferenční poplatek (cca Kč)	Ubytování (cca Kč)	Cestovné (cca Kč)	Stravné (cca Kč)	Celkem (Kč)	Plánovaná konference (název, místo a datum konání)
-------------------------------------	-------------------------------	--------------------	-------------------	------------------	-------------	--



Mgr. Tereza Langerová	11 869,10,-	6 897,79,-	1 760,15,-	5 130,-	25 657,04,-	HPLC 2023, Düsseldorf, 18.-22. 6. 2023
Mgr. Zdeňka Neuerová	11 869,10,-	6 897,79,-	1 760,15,-	5 130,-	25 657,04,-	HPLC 2023, Düsseldorf, 18.-22. 6. 2023

g) **Další položky** (položka dle IS Magion 545):  
další položky a jejich stručné zdůvodnění

Položka	Stručné zdůvodnění služby	Cena včetně DPH (Kč)
Kurzové ztráty, bankovní poplatky	Kurzové ztráty a bankovní poplatky při nákupu spotřebního materiálu.	719,15,-

Výsledek čerpání finančních prostředků uveďte v jednotné přehledné tabulce 2.

**Tab. 2 Čerpání finančních prostředků v Kč**

Položka magionu	Položka	Plán Kč	Žádost o změnu	Skutečnost	Poznámka
Položka magionu	Počet členů řešitelského týmu čerpajících mzdové prostředky	0		0	
	Počet studentů čerpajících mzdové prostředky	3		3	
501	Spotřeba materiálu DHIM	117 720,-	+ 13 140,26,-	130 860,26,-	
512	Cestovné	0,-		0,-	
518	Ostatní služby	3 000,-	- 900,-	2 100,-	
521	Mzdové náklady	0,-		0,-	
524	Zákonné pojištění	0,-		0,-	
549	Jiné ostatní náklady (stipendia)	82 000,-	- 12 685,92,-	69 314,08,-	
545	Kurzové ztráty, bankovní poplatky	0,-	+ 719,15,-	719,15,-	
	<b>Celkové náklady</b>	<b>202 720,-</b>	<b>+ 273,49,-</b>	<b>202 993,49,-</b>	

Ke zprávě přiložte:

- výpis z OBD – výstupy podpořené tímto projektem,
- výsledovku z ekonomického informačního systému Magion – vyúčtování dotace.

\* V případě potřeby přidejte další řádky s položkami dle IS Magion.

Datum: 8.1.2024

Podpis odpovědného řešitele:

*Yangetova*

## Seznam literatury podle šablony ČSN ISO 690

[1] KOZLOV, Oleksandr, E. HANČOVÁ, E. CÍFKOVÁ, M. LÍSA. Comprehensive Single-Platform Lipidomic/Metabolomic Analysis Using Supercritical Fluid Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytical chemistry*. 2024, 96 (3), 1320-1327. ISSN 0003-2700.



## Výsledovka po účtech obrátová

Období: 01 - 12 / 2023

Pracoviště: \*\*\*\*\* Všechny vybrané analytiky  
 Činnost: \*\*\*\* Všechny vybrané analytiky  
 Fullcost: \*\*\*\*\* Všechny vybrané analytiky  
 Zakázka: 2110 SV Analýza metabolitů centrální nervové  
 Podzakázka: \*\*\* Všechny podzakázky

Účet	Název účtu	Na poč. období	Má dáti	Dal	Zůstatek
501 099	Spotřeba materiálu ostatní DU	0,00	108 922,96	0,00	108 922,96
501	Spotřeba materiálu	0,00	108 922,96	0,00	108 922,96
512 001	Cestovné zahraniční zaměstnanci DU	0,00	58,04	0,00	58,04
512	Cestovné	0,00	58,04	0,00	58,04
518 009	Služby - tisk, graf.práce DU	0,00	2 100,00	0,00	2 100,00
518 068	Strav. a ubyt.zam. zahr. na fakturu	0,00	13 795,58	0,00	13 795,58
518 099	Ostatní služby	0,00	23 738,20	0,00	23 738,20
518	Ostatní služby	0,00	39 633,78	0,00	39 633,78
545 001	Kurzové ztráty DU	0,00	2 016,61	0,00	2 016,61
545	Kurzové ztráty	0,00	2 016,61	0,00	2 016,61
549 003	Bankovní poplatky DU	0,00	184,80	0,00	184,80
549 006	Jiné ostatní náklady mimoř.stip. DU	0,00	29 628,00	0,00	29 628,00
549 093	Pojištění cestovní	0,00	612,00	0,00	612,00
549 097	Jiné ostatní náklady TZ DU	0,00	21 937,30	0,00	21 937,30
549	Jiné ostatní náklady	0,00	52 362,10	0,00	52 362,10
	Náklady celkem	0,00	202 993,49	0,00	202 993,49
691 006	Provoz.dotace věda MŠMTspecifický	0,00	0,00	202 720,00	202 720,00
691	Přijaté přís. mezi zúčt.mezi org.slož.	0,00	0,00	202 720,00	202 720,00
	Výnosy celkem	0,00	0,00	202 720,00	202 720,00
<b>HOSPODÁŘSKÝ VÝSLEDEK:</b>					<b>-273,49</b>
	Celkem náklady za vybrané:	0,00	202 993,49	0,00	202 993,49
	Celkem výnosy za vybrané:	0,00	0,00	202 720,00	202 720,00
	<b>Hospodářský výsledek za vybrané:</b>				<b>-273,49</b>

Výběrová kritéria (omezení sestavy se řídí právy uživatele rybakka1 (uvedena v závorce))

Pracoviště: ( 04\*\*|09927|09927 )  
 Činnost: ( \*\*\*|1560|\*\*\* )  
 Fullcost:  
 Zakázka: 2110 ( \*|5662|[4891|4892|4893|4897] )  
 Podzakázka: