

Abstrakt

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova

Katedra Analytické chemie

Kandidát: Ondřej Tužil

Školitel: PharmDr. Juraj Lenčo Ph.D.

Název diplomové práce: Optimalizace složení mobilních fází pro analýzu peptidů vícemodální chromatografií

Při bottom-up proteomických analýzách prováděných pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí se mobilní fáze okyseluje slabými kyselinami, které intenzitu analytů při detekci netlumí v takové míře jako běžně používané kyseliny pro separace bez hmotnostní detekce. Takovým aditivem mobilní fáze je kyselina mravenčí, která je nejběžněji používaná v koncentraci 0,1 % (v/v). Tato práce byla zaměřena na hledání nejnížší možné koncentrace kyseliny mravenčí, která by v kombinaci s vícemodální stacionární fází kolony ACQUITY UPLC CSH C₁₈ od firmy Waters stále zajišťovala účinnou separaci peptidů, přičemž by se zároveň mělo dosáhnout zvýšení odezvy v hmotnostním spektrometru. Nejprve byly provedeny separace standardů peptidů na kapalinové chromatografii s UV detekcí s klesajícím množstvím kyseliny mravenčí v mobilní fázi. Bylo zjištěno, že pro vyhovující parametry separace peptidů je možné použít výrazně nižší koncentrace kyseliny mravenčí. Tři nejnížší koncentrační hladiny byly použity k analýzám s hmotnostní detekcí, kde byl skutečně pozorován nárůst intenzity píků peptidů. Dvě koncentrační hladiny kyseliny mravenčí v mobilní fázi byly poté otestovány také při bottom-up analýze tryptických peptidů z lyzátu bakterie *F. turalensis*. Nejvyšší počet identifikovaných peptidů byl získán při použití 0,02% kyseliny mravenčí v mobilní fázi. V porovnání se standardní koncentrací 0,10 % bylo identifikováno o 11,9 % více peptidů.

Klíčová slova: peptidy, mobilní fáze, kyselina mravenčí, LC/MS, CSH, intenzita