

# Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Pavlína Kolečková

Školitel: Mgr. Maria Khalikova, CSc.

Název diplomové práce: Analýza bioléciv pomocí kapalinové chromatografie. Optimalizace přípravy vzorků

Tato diplomová práce je zaměřena na vývoj a optimalizaci postupu přípravy vzorků v kyselém pH pro peptidové mapování současně při minimalizaci vzniku nežádoucích modifikací peptidu v průběhu přípravy.

V rámci optimalizace postupu byly provedeny přípravy několika vzorků, které se lišily jak postupem přípravy, použitými chemikáliemi či enzymy, tak i rozdílnými podmínkami inkubace. Enzymy použité pro přípravu vzorků byly trypsin, endoproteináza Lys-C, endoproteináza Glu-C, endoproteináza Asp-N a endoproteináza Sap-9. V diplomové práci se také používaly komerčně dostupné soupravy pro přípravu vzorků v kyselém prostředí a výsledky byly porovnány. Vzorky byly analyzovány metodou UHPLC-UV a LC-MS. Výsledky z LC-MS analýzy se poté zpracovávaly pomocí proteomických softwarů jako FragPipe a Byonic (Protein Metrics) díky kterým, mohly být vyhodnoceny postupy pro štěpení a přípravu vzorků v kyselém pH, popsány jejich výhody a úskalí.

Pro celkové porovnání a vyhodnocení nejlepších postupů pro přípravu vzorků pro peptidové mapování byla provedena příprava vzorků jak manuálně, tak i online na koloně s imobilizovaným trypsinem STYROSZYME TPCK-TRYPSIN (2,1x150 mm).