

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá využitím kapilární elektroforézy ve dvou významných oblastech „věd o životě“, konkrétně v proteomice a stanovení aktivity enzymů. V první části jsou studovány vlastnosti polymeru Pluronic F-127 jako separačního média v kapilární gelové elektroforéze. Byl zkoumán vliv termoasociace Pluronicu F-127 na selektivitu separace peptidů a aminokyselin, přičemž při teplotách pod, uvnitř a nad oblastí termoasociace žádný rozdíl v selektivitě pozorován nebyl. Funkce Pluronicu F-127 v kapilární gelové elektroforéze byla porovnána s dextranem, jakožto běžně používanou gelovou maticí. Výsledky ukazují, že Pluronic F-127 je výhodnějším médiem pro separace nízkomolekulárních bílkovin, protože poskytuje větší separační sílu při zachování nižší viskozity základního elektrolytu. Tato nižší viskozita usnadňuje výměnu základního elektrolytu po každém měření, což vede k výrazně vyšší opakovatelnosti pokusů. Dextran je na druhé straně díky své vyšší viskozitě vhodnější pro separace peptidových štěpů bílkovin, při kterých je zásadním parametrem vysoká účinnost separace.

Druhá část práce je zaměřena na elektroforetická stanovení aktivity enzymů. Byla vyvinuta nová metoda separace *N,N',N''*-triacetylchitotriosy, *N,N'*-diacetylchitobiosy a *N*-acetylglukosaminu, jako substrátu a produktů enzymu β -*N*-acetylhexosaminidasy. Po provedení optimalizace pH a koncentrace tetraboritanového základního elektrolytu byla vyvinutá metoda statisticky ohodnocena. Byla stanovena opakovatelnost měření stejně tak jako meze detekce a stanovitelnosti pro všechny tři analyty. Následně byly otestovány další možné přístupy k separaci sacharidů, které se objevují v odborné literatuře, a jejich výsledky byly kriticky srovnány s metodou námi vyvinutou. Vyvinutá metoda byla s úspěchem použita ke sledování enzymatické hydrolýzy *N,N',N''*-triacetylchitotriosy β -*N*-acetylhexosaminidasou v tzv. offline režimu. Stejný základní elektrolyt a separační podmínky byly použity k vývoji tzv. online metody stanovení enzymové aktivity výše jmenovaného enzymu vůči *N,N'*-diacetylchitobiose jako substrátu. Při vývoji online metody byl pro optimalizaci mísení složek reakční směsi použit model „Transverse Diffusion of Laminar Flow Profiles“. Použitelnost vyvinuté online metody byla prokázána na sledování inhibice β -*N*-acetylhexosaminidasy dimethylformamidem. Metoda byla po úpravě pH základního elektrolytu použitelná rovněž pro měření s *N,N',N''*-triacetylchitotriosou jako substrátem.