

## Abstrakt

Pro diagnostiku poruch lipidového metabolismu, které je třeba podrobně sledovat u řady společensky závažných onemocnění, se v posledních 10 letech ukazuje jako velmi přínosné stanovení velikosti částic jednotlivých lipoproteinových tříd, především lipoproteinu o nízké hustotě. Z několika známých metod jsme zvolili gelovou filtraci s detektorem rozptylu světla.

Lipoproteinové frakce byly separovány ultracentrifugací z plazmy čtyř dárců. Rutinně byly stanoveny biochemické parametry – celkový cholesterol, triacylglycerol a celková bílkovina – pro plazmu i pro jednotlivé frakce. Kolona plněná silikagelem BioBasic SEC 300x7,8 mm byla kalibrována proteiny thyroglobulinem, ovalbuminem a angiotenzinem II s UV detekcí (280 nm). Tyto proteiny nejsou vhodné (velikostí) pro kalibraci metody SEC-LLSD. Proto byly vyzkoušeny latexové kuličky různých modifikací a velikostí. Jediný záznam se podařilo získat od latexových kuliček barvených tmavě modře o velikosti 55 nm, ostatní zůstaly zadrženy v koloně. Lipoproteinové frakce VLDL a LDL byly zkoumány metodou SEC-LLSD při různém pH (7,3; 7,5; 7,7; 8,0) a iontové síle (0,1M fosfátový pufr, 0,1M fosfátový pufr a 0,9% NaCl, 0,05M fosfátový pufr a 0,9% NaCl). Optimální mobilní fáze je 0,1M fosfátový pufr a 0,9% NaCl. Dále byla provedena analýza spojených frakcí VLDL a LDL, která poskytla dva nedokonale rozdělené píky. Pro stanovení střední molekulové hmotnosti by rozdělení bylo vyhovující, pro sledování kvantitativních vztahů by bylo třeba dokonalejšího rozdělení – spojením více kolon v sérii, případně volbou jiné stacionární fáze.