

Abstrakt

Lipidomika je jedna z oblastí metabolomiky, která se v poslední době, díky rozvoji analytických metod, těší velké pozornosti. Tato práce se věnuje optimalizaci extrakce lipidů z biologických vzorků, pre-separaci pomocí extrakce kapalina kapalina, extrakci na pevné fázi, následné separaci a identifikaci větvených esterů hydroxylovaných mastných kyselin (FAHFA – branched-chain Fatty Acid esters of Hydroxy Fatty Acids) pomocí ultra účinné kapalinové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií. Tato třída lipidových molekul souvisí se sekrecí insulínu, schopností působit na metabolismus glukosy a poskytuje potenciál v léčbě diabetu druhého typu.

Extrakce na pevné fázi byla testována na kolonkách reverzní fáze obsahujících sorbent modifikovaný styren divinylbenzenovým polymerem nebo polymerem s vázaným oktadecylem a silikagelových kolonkách pro normální fázi. Zvolená kolonka Strata SI-1 Silica byla použita pro separaci FAHFA z komplexních biologických vzorků. FAHFA analýza byla optimalizována na sestavě UPLC Ultimate 3000 RSLC vybavené chromatografickou kolonou Kinetex C18 1,7 μm , 2,1 x 150 mm v gradientovém programu. UPLC byla spojena s hmotnostním spektrometrem QTRAP 5500/SelexION pracujícím v nastavení hybridní trojitý kvadrupól/lineární iontová past a přídanou iontovou mobilitní celou. Optimalizované ionizační parametry a nastavení byly použity pro strukturní identifikaci a určení množství těchto unikátních molekul ve vzorcích plasmy a bílé tukové tkáně myši.