

High-performance chromatographic methods for determination of proteins

Abstrakt disertační práce

Praha, 2006

Autor:

Mgr. Tereza Vařilová

Školitelé:

Prof. RNDr. Věra Pacáková, CSc. (Katedra analytické chemie, Karlova Univerzita, Praha)

Prof. Dr. Hans-Gerd Janssen (Unilever Research & Development, Nizozemí)

Analýza biologicky aktivních látek je rychle se rozvíjející obor, který tvoří důležitou část aplikací v analytické chemii. Mezi látkami jako jsou peptidy, hormony, léky a drogy tvoří proteiny důležitou skupinu biologicky aktivních látek. Náročným úkolem je izolace, separace a identifikace jednotlivých složek složitých směsí (např. krevní sérum). Pro tyto účely mají vysokoúčinné chromatografické metody své nezastupitelné místo.

Proteomika je dynamicky se rozvíjející a důležitá vědní disciplína. Její pokrok by nebyl možný bez vývoje v metodách analytických a preparativních separací. Komplexnost biologických systémů klade velké požadavky na použité metody. V současnosti se běžně využívá šest různých módů HPLC pro analýzu proteinů: iontově výměnná chromatografie (IEC), vylučovací (SEC), afinitní (ALC), chromatografie s hydrofobní interakcí (HIC), chromatografie na normální fázi (NPLC) a chromatografie na reverzní fázi (RPLC). Dva z těchto módů, konkrétně afinitní chromatografie a vylučovací chromatografie, byly využity v této práci.

Velký důraz je v této Disertaci věnován analýze proteinů. Hlavními cíly této práce bylo:

* Připravit afinitní stacionární fáze a otestovat je standardními a reálnými vzorky a vyvinout afinitní chromatografické metody pro charakterizaci a analýzu vybraných proteinů a glykoproteinů.

* Využít metodu chromatografie na reverzní fázi pro charakterizaci peptidových fragmentů pepsinu získaných rozštěpením pomocí α -chymotrypsinu.

* Vyvinout dvojdimenzionální vylučovací chromatografii pro studium chování agregace mléčných proteinů po tepelné úpravě v neutrálním pH a určit poměr β -lactoglobulin/ α -lactalbumin (BLG/ALA) ve směsných agregátech. Tato část Disertace byla vypracována ve výzkumných laboratořích firmy Unilever, Vlaardingen (Nizozemí).