

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Mykyta Starovoit

Školitel: PharmDr. Juraj Lenčo, Ph.D.

Název diplomové práce: **Vysokoteplotní LC-MS metoda pro bottom-up proteomické analýzy se sníženým výskytem artefaktů**

Proteomické bottom-up LC-MS analýzy vyžadují účinnější chromatografickou separaci, aby udržely krok s rozvojem hmotnostní spektrometrie a plně tak využily potenciál i těch nejmodernějších MS přístrojů. Zvýšení teploty separační kolony představuje jedno z nejefektivnějších a nejdostupnějších řešení, jak separaci peptidů v proteomických aplikacích zlepšit. Vysoká teplota však zároveň vede ke vzniku nežádoucích modifikací v chemické struktuře peptidů, což proteomické analýzy významně komplikuje.

Tato metoda je zaměřená na snížení výskytu artefaktů vznikajících na koloně za vysoké teploty. Řešením je zavedení nového vysokoprůtokového *trap-elute* systému za použití rozdílného vyhřívání kolon. Vyvinuté trap-elute uspořádání zkracuje čas, který peptidy stráví na vyhřívané separační koloně, což snižuje počet vzniklých modifikovaných peptidů. Zmírňuje to jeden z negativních následků využití zvýšené teploty, avšak neomezuje její pozitivní vliv na separační účinnost. Ve výsledku se použití vysoké teploty kolony stává výhodnější cestou ke zlepšení separace.

Vyvinutá metoda snížila četnost artefaktů ve vyhledávací jednonástřikové analýze proteomu lidské buněčné linie a zároveň poskytla počet identifikovaných unikátních peptidových sekvencí srovnatelný s metodou přímého nástřiku. Navrhované uspořádání bylo také úspěšně zavedeno pro charakterizaci terapeutických proteinů, kde opět přispělo k zamezení tvorby nežádoucích modifikací v oblastech s kritickým vlivem na kvalitu léčiva.

Klíčová slova: bottom-up, proteomika, kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie, vysoká teplota, artefakty, biofarmaceutika.