

## ABSTRAKT

Analýza glykoproteínov predstavuje obrovskú výzvu v rámci glykoproteomiky, a to hlavne kvôli makro- a mikroheterogenite glykozylácie. Hydrofilná interakčná kvapalinová chromatografia (HILIC) je vhodnou alternatívou k chromatografii na reverznej fáze, ktorá sa najbežnejšie využíva v glykoproteomickej analýze. Táto dizertačná práca sa venuje potenciálu HILIC v glykoproteomickej analýze, zahrňujúca separáciou glykopeptidov na polárnych stacionárnych fázach až po využití HILIC v rámci prípravy vzoriek.

Na úvod bol preskúmaný vplyv koncentrácie acetonitrilu na precipitáciu glykopeptidov v závislosti na typu pripojeného glykánu. Následne boli testované tri, komerčne dostupné stacionárne fáze – kolóna obsahujúca silikagél modifikovaný piatimi hydroxylovými skupinami, amidová a zwitteriónová stacionárna fáza. Porovnaná bola ich účinnosť v separácii glykopeptidových izomérov, ktoré sa líšili iba vo vetvení a/alebo v type väzby. Ďalší výskum bol venovaný separácii glykopeptidov ľudského imunoglobulínu G na relatívne nových kolónach, ktoré zatiaľ neboli charakterizované v rámci glykoproteomickej analýze. Jednalo sa o kolóny od spoločnosti Advanced Chromatography Technologies s nemodifikovaným silikagélom (HILIC-A), s aminopropylom-modifikovaným sorbentom (HILIC-B) a s polyhydroxylovou stacionárnou fázou (HILIC-N). Zároveň bola porovnaná separácia glykopeptidov na reverznej fáze. Všetky HILIC kolóny poskytovali lepšiu separáciu glykoforiem v porovnaní so separáciou na oktadecylovej stacionárnej fáze, avšak poskytovali odlišnú účinnosť separácie. Navyše v prípade kolón HILIC-A a HILIC-B bol pozorovaný viacmodálny retenčný mechanizmus glykopeptidov.

V rámci tejto dizertačnej práce bol vyvinutý model na predikciu retenčných okien glykopeptidov v HILIC módu, ktorý môže slúžiť ako doplnujúci nástroj k identifikácii glykopeptidov pomocou hmotnostnej spektrometrie a tým zamedziť ich falošnú identifikáciu v glykoproteomike.

Posledná časť dizertačnej práce bola venovaná štúdiu experimentálnych podmienok obohatenia glykopeptidov s využitím extrakcie tuhú fázou (SPE) na polárnych stacionárnych fázach v HILIC módu. Boli testované dve stacionárne fáze, komerčne dostupný aminopropylový a nami pripravený polyanilínom pokrytý silikagél. Bol preskúmaný vplyv rôznych experimentálnych podmienok na účinnosť obohatenia, pričom každý testovaný parameter hral kľúčovú rolu v obohatení.