

Całą wiedzę na temat otaczającego nas świata czerpiemy z analizy jego pojedynczych elementów, a także z interakcji zachodzących między nimi. Nawet procesy w skali „makro” są najczęściej wynikiem zjawisk zachodzących na poziomie „mikro”. Aby móc badać poziom „mikro”, potrzebujemy odpowiednich narzędzi analitycznych, które są w stanie nie tylko rozdzielać mieszaniny, ale także mierzyć właściwości fizykochemiczne cząstek materii, których ludzkie oko nie jest w stanie dostrzec. Do takich narzędzi zaliczają się między innymi techniki separacyjne. Jedną z nich jest elektroforeza kapilarna (CE), w której mechanizm rozdzielania składników mieszaniny opiera się na różnicy w ich ruchliwościach elektroforetycznych. Upraszczając, cząstki materii znajdujące się w roztworze i posiadające ładunek elektryczny zaczynają się poruszać pod wpływem przyłożonego napięcia: cząstki dodatnie w kierunku elektrody naładowanej ujemnie, a cząstki ujemne w kierunku przeciwnym. Prędkość poruszania się cząstek zależy m.in. od wielkości ich ładunku oraz masy, dlatego wszystkie cząstki posiadające taki sam ładunek i masę będą migrowały wspólnie, oddzielone od reszty składników mieszaniny, przez co zostaną zarejestrowane jako pojedynczy sygnał detektora. Wielkość tego sygnału zależy od ilości wspólnie migrujących cząstek, dzięki czemu może zostać wykorzystana do ilościowej analizy składników mieszaniny.

Badanie próbek biologicznych wymaga użycia narzędzi będących w stanie rozdzielić bardzo złożone mieszaniny związków chemicznych (nawet kilka tysięcy!), które występują w nich w bardzo szerokim zakresie stężeń. W takim przypadku większość tradycyjnych technik analitycznych, w tym CE, okazują się niewystarczające. Dlatego też, dynamiczny rozwój nauk separacyjnych przynosi nowe strategie, które mogą rozwiązać problem niedostatecznej rozdzielczości oraz czułości. Zwiększenie rozdzielczości można uzyskać przez zastosowanie analiz dwuwymiarowych (2D). Analizy 2D polegają na połączeniu ze sobą dwóch różnych technik rozdzielania, których mechanizm opiera się na różnych właściwościach cząstek (np. masa, ładunek, hydrofobowość, czy chiralność). Dzięki temu, związki które nie uległy rozdzielaniu w pierwszym wymiarze zostają przeniesione do drugiego wymiaru, gdzie znajdują „dodatkowe miejsce”, w którym mogą ulec dalszej separacji. W przypadku CE, analizy 2D można przeprowadzić w pojedynczej kapilarze, gdzie transfer próbki z jednego wymiaru do drugiego przeprowadza się za pomocą przyłożonego napięcia i/lub ciśnienia. Zwiększenie czułości uzyskuje się tradycyjnie dzięki zastosowaniu ekstrakcji i zagęszczeniu próbki przed analizą, bądź poprzez wykorzystanie czulszych sposobów delektacji tj. spektrometria mas. Jednakże dodatkowy sprzęt jest często kosztowny, co ogranicza jego szerokie użycie. Sposobem na przezwycięzenie tego problemu w CE mogą być techniki zagęszczania analitu bezpośrednio w kapilarze. Dzięki manipulowaniu wielkością pola elektrycznego i „chemią” roztworów możliwe jest wprowadzenie do kapilary większej niż zazwyczaj ilości próbki, a następnie spiętrzenie analitów w wąskie pasmo na granicy próbka/bufor separacyjny. Dzięki temu czułość może być zwiększona nawet 1 000 000 razy! Zarówno w przypadku 2D-CE, jak i zagęszczania analitu w kapilarze, nie jest potrzebny dodatkowy sprzęt, a wszystkie czynności można wykonać w komercyjnie dostępnych systemach do CE. Obie powyższe techniki są stosunkowo nowe i nie zostały jeszcze wykorzystane w analizie rzeczywistych próbek. W związku z tym, wymagają one jeszcze dokładnego poznania i kontroli wszystkich parametrów, tak aby uzyskiwane wyniki były powtarzalne i nie budziły żadnych wątpliwości.

Celem prowadzonych przeze mnie badań jest opracowanie nowych technik CE ze zwiększoną zdolnością rozdzielczą oraz czułością, które stanowiłyby atrakcyjne narzędzie w naukach biologicznych, takich jak np. metabolomika. Metabolomika jest młodą dziedziną nauki, zajmującą się badaniem wszystkich metabolitów znajdujących się w organizmie, tkance lub komórce. Jakościowe i ilościowe oznaczenie tych endogennych małowcząsteczkowych substancji może pomóc w zrozumieniu procesów fizjologicznych oraz patofizjologicznych zachodzących w organizmie. Duże nadzieje związane są z poszukiwaniem nowych biomarkerów chorób we wczesnym stadium rozwoju. Na tym etapie, choroby nie dają jeszcze widocznych objawów klinicznych, ale procesy na poziomie komórkowym zostają zaburzone, czego wynikiem jest zmiana w składzie jakościowym i/lub ilościowym metabolitów.

Badania metabolomiczne są niezwykle trudne ze względu na złożoność analizowanych próbek. Dlatego też, tak istotne jest poszukiwanie i wdrażanie nowych narzędzi analitycznych, które pozwolą na dokładniejsze badanie próbek. 2D-CE wraz z technikami zagęszczania analitu w kapilarze ma duże szanse stać się jednym z takich narzędzi.