

Abstrakt

Sepse je celosvětově rozsáhlé akutní onemocnění vyvolané nepřiměřenou reakcí imunitního systému na přítomnost patogenu v těle pacienta. Rychlá a správná diagnostika sepse umožňuje lékařům nasadit vhodnou léčbu, na které závisí pacientův život.

Jako její specifický ukazatel se v klinické diagnostice používá protein prokalcitonin (PCT). Koncentrace PCT v krevním oběhu se při sepsi zvýší až tisícinásobně během krátkého časového úseku. Míra závažnosti sepse koreluje se zvyšující se koncentrací PCT. Všechny metody detekce prokalcitoninu v klinických laboratořích vycházejí z měření interakce PCT s protilátkou. Koncentrace prokalcitoninu je následně stanovena metodou kalibrační křivky. U metod využívaných v klinické praxi může dojít k nespecifickým interakcím použité protilátky s biomolekulami přítomnými ve vzorku. Nespecifické interakce mohou zkreslovat laboratorní výsledky. Další nevýhodou je potřeba specializovaných přístrojů pro detekci prokalcitoninu.

Díky svým vlastnostem by mohla hmotnostní spektrometrie představovat vhodnou alternativní nebo doplňkovou metodu při kvantifikaci PCT. Cílem této diplomové práce bylo *in situ* nabohacení PCT na povrchově upravených afinitních nosičích s imobilizovanou protilátkou, které jsou kompatibilní s hmotnostní spektrometrií s laserovou ionizací/desorpcí za přítomnosti matrice s analyzátozem doby letu (MALDI-ToF MS). Ze získaného spektra lze pak identifikovat signály PCT i nespecificky navázaných molekul.

Afinitní nosiče byly připraveny imobilizací protilátky proti PCT s využitím metody měkkého přistávání iontů za atmosférického tlaku. Protilátka byla imobilizována na vodivém skle povrchově upraveném vrstvou oxidu india a cínu. Použití afinitních nosičů umožnilo nabohacení PCT ze vzorku a následnou detekci za použití MALDI-ToF MS. Dosažený detekční limit rekombinantního PCT ve vzorku séra byl 7 ng/ml.

Klíčová slova: hmotnostní spektrometrie, funkcionalizované povrchy, MALDI, prokalcitonin, kvantifikace