

ABSTRAKT

Vypracovala: Lenka Krautová

Místo vypracování: Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Název: Vznik karbonylových skupin vlivem neenzymové glykace proteinů

Školitel: PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.

Tato diplomová práce byla zaměřena na optimalizaci stanovení množství karbonylových skupin v biologickém materiálu. Karbonylové skupiny vznikají vlivem oxidace nebo glykace proteinů. Jako modelovou bílkovinu pro spektrofotometrickou metodu stanovení jsem použila bovinní sérový albumin a pro elektroforetickou metodu aspartátaminotransferázu, které jsem glykovala několika glykačními činidly (glukóza, glukóza + měď, fruktóza, fruktóza + měď, metylglyoxal). U spektrofotometrického stanovení jsem optimalizovala různé parametry: rozpouštědlo, koncentraci činidla, množství bílkoviny a délku inkubace. Podařilo se mi nalézt vhodné podmínky stanovení, které jsem používala v dalších experimentech s různými glykačními činidly. U elektroforetického stanovení jsem prováděla SDS-PAGE s následným barvením stříbrem nebo imunobloting s chemiluminiscenční detekcí. Výsledky spektrofotometrického stanovení ukázaly, že nejvyšší glykační schopnost má metylglyoxal, následuje fruktóza s přidavkem měďnatých iontů, samotná fruktóza, glukóza s přidavkem měďnatých iontů a nejpomalejším glykačním činidlem je glukóza. U elektromigračních metod došlo ke snížení pohyblivosti glykovaných bílkovin díky zvýšení jejich molekulové hmotnosti v důsledku tvorby zkřížených vazeb. Zde se jako nejúčinnější glykační činidlo projevila fruktóza s přidavkem měďnatých iontů, kde již po sedmi dnech inkubace došlo k tak velkému nárůstu molekulové hmotnosti proteinu, že do gelu vůbec neprostoupil.