

Abstrakt

Tato práce se zabývá optimalizací přípravy vzorků moči před jejich proteomickou analýzou kapalinovou chromatografií s hmotnostně spektrometrickou detekcí. Ačkoliv se proteomická analýza moči provádí řadu let mnoha zavedenými postupy, je často neefektivní z důvodu nízké koncentrace proteinů v moči, kolísání pH a přítomnosti solí, pigmentů a dalších složek moči. Je proto i nadále potřebné vyvíjet nové efektivnější metody přípravy vzorků moči.

Hlavním přínosem této práce je optimalizace metody pro efektivní zakoncentrování proteinů ze vzorku moči využívající paramagnetické mikročástice s vázanými karboxylovými skupinami na povrchu a principu HILIC chromatografie. Tento inovativní postup byl porovnán s rutinní metodou využívající centrifugační filtry (FASP) a s metodou izolace proteinů na celulóзовých magnetických částicích aktivovaných divinylsulfonem.

Metodou využívající paramagnetické mikročástice s vázanými karboxylovými skupinami na povrchu se podařilo pomocí LC-MS/MS identifikovat 856 proteinů z pouhého 0,5 mL moče zdravých dárců. Tato metoda poskytovala srovnatelné výsledky jako standardní metoda FASP v několikanásobně kratší době a s nižšími náklady na analýzu.