

Diplomová práce: **Porovnání metod pro stanovení proteinů v biologickém materiálu**

Autor: Bc. Karolína Š t o c h l o v á

Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.

Stanovení koncentrace proteinů je velmi důležitou metodou využívanou ve výzkumné laboratorní praxi, neboť standardizace koncentrace daného analytu, popř. aktivity enzymů, je často dosahováno právě vztahením ke koncentraci proteinů ve vzorku (tkáni, buněčném lyzátu, či homogenátu). S ohledem na to je správnost stanovení koncentrace proteinů zcela zásadní pro relevanci dosažených výsledků. V praxi je využívána celá řada metod založených na různém principu – nejčastěji jsou ale rutinně používány metody spektrofotometrické, a to zejména stanovení dle Bradforda, Lowryho či s využitím kyseliny bicinchoninové (BCA). Výstupy při použití těchto metod jsou ve většině případů velmi srovnatelné, při použití vzorku se složitější biologickou či chemickou maticí se ale může vyskytovat zvýšené riziko interference, a to obzvláště u stanovení principiálně založených na metodě dle Bradforda.

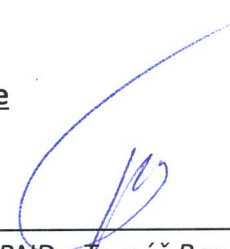
Plánovanými cíli diplomantky Bc. Karolíny Štochlové byla optimalizace dvou stanovení koncentrace proteinů - metody dle Bradforda a metody využívající kyselinu bicinchoninovou. Po zavedení obou metod studentka charakterizovala vliv teploty a doby inkubace a dále pak porovnávala specifitu obou stanovení v přítomnosti daných možně interferujících látek. Hlavním výsledkem celé práce bylo nalezení optimálních podmínek obou stanovení a zároveň zjištění, že stanovení dle Bradforda je robustní metodou. Na rozdíl od něj BCA metoda vykazovala při použití acetaminofenu a dalších látek velkou míru interference a to až do zanedbatelných koncentrací řádech jednotek  $\mu\text{mol/l}$ . Z tohoto pohledu má práce studentky poměrně významný dopad pro využití v laboratorní výzkumné praxi, kdy by volba vhodné metody pro stanovení koncentrace proteinů měla být vždy důkladně zvažena.

Při řešení diplomové práce se diplomantka seznámila se základy laboratorní práce s biologickým materiálem, stejně jako s principy obou metod. Po počátečních drobných problémech při zavádění obou metod nakonec studentka během práce pracovala přesně a samostatně a pro tuto přesnost i svědčí dosažené výsledky. Diplomová práce je členěna dle klasického schématu, rozsah je dle mého názoru dostatečný, text je sepsán přehledně s velkým množstvím překlepů či interpunkčních nepřesností, a je přiměřeně doplněn obrázky, grafy, tabulkami a citacemi pocházejícími převážně z recentních zahraničních článků, v porovnání k nimž diplomantka své výsledky i diskutuje.

Diplomová práce Bc. Karolíny Štochlové splňuje všechny původně kladené cíle, celkově ji považuji za zdařilou a **doporučuji ji k obhajobě.**

Mé celkové závěrečné hodnocení celé práce je: velmi dobře

V Pardubicích 25.5.2015

  
doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.