

Mihály Gábor, ÁOK IV. évf.
SZTE ÁOK, Pszichiátriai Klinika

Fehérjék mérésére alkalmas új és egyben univerzális módszer kidolgozása a fluoreszcens BisANS festék alkalmazásával

Bevezetés: Számos biológiai és biokémiai kutatás kiinduló pontját képezi a különböző minták peptid és/vagy proteinkoncentrációjának kvantitatív meghatározása. Az erre való törekvés eredményeként több adekvát módszert is találhatunk a szakirodalomban, többségük a fotometria elvén alapszik. A klasszikus vizsgálati módszerek egyik kiemelhető hátránya, hogy nem alkalmazhatóak bizonyos kísérleti környezetben, mint például inhibitorok, kelátorok vagy detergenssek jelenlétében. Laboratóriumunkban az átlagon felüli molekuláris komplexitással rendelkező humán könny minta vizsgálatát tűztük ki célul, mely munkafolyamat során igény merült fel egy nagy tűrőképességű, pontos és megbízható fehérjemérő módszer kifejlesztésére.

Módszerek: Munkánk során a szakirodalomban már standardizált fehérjemérő módszereket alkalmaztunk, mint pl. Bradford tesztet (Coomassie kék), BCA-t (bicinkoninsav) és Qubit™-ot, az új BisANS-teszt validálásához. A kapott eredményeket összehasonlítottuk a saját fejlesztésű módszerünk méréseivel, amelyhez BSA (bovine serum albumine), NCS (newborn-calf serum) mintákat, rotifer és élesztő homogenizátumot, valamint humán könnymintát (n = 180) alkalmaztunk. A BisANS festéket teszteltük különböző fizikai (pl. UV fény) és kémiai környezetben is, többek között proteáz inhibitor, kelátor és detergens jelenlétében.

Eredmények: A BisANS festéken alapuló, kvantitatív fehérje meghatározó módszerünk – változó kísérleti körülmények között is – tökéletesen az elvárt követelményeket teljesítette. Eredményeinket a standard módszerek hitelesítették. A humán könny minta protein tartalmának mérése sikeresen megvalósult: minimum 500 nl térfogat, 280 ng/ml detekciós határ, jó reprodukálhatóság és nagyfokú inszenzitivitás a környezeti tényezőkre.

Megbeszélés: A BisANS teszt az általunk bizonyított előnyös tulajdonságai révén, valamint összehasonlítva a klasszikus módszerekkel, alkalmasnak bizonyult komplex minták széleskörű mérésére. Az új módszer moduláris, kiválóan adaptálható speciális körülményeket igénylő kísérletek során is, mint fehérje koncentrációt meghatározó alternatív metodika.

**Témavezetők: Dr. Datki Zsolt László tudományos főmunkatárs,
Dr. Oláh Zita tudományos segédmunkatárs**
