

Abstrakt

Genetické regulační mechanismy genové exprese podmiňují správný vývoj, funkci a odpověď na potřeby organismu ve vztahu k proměnlivým životním podmínkám. Jsou však relativně pomalé. Životní procesy vyžadující rychlou odpověď na změny prostředí a metabolismu jsou z velké části prováděny na úrovni proteinů, především jejich posttranslačních modifikací a protein-proteinových interakcí.

Cílem experimentální práce spojené s touto disertací bylo využití modelového systému *Caenorhabditis elegans* ke studiu regulace genové exprese transkripčními faktory ze skupiny jaderných receptorů. Modelový systém *C. elegans* nabízí velmi výkonné experimentální přístupy především v oblasti genetiky, genomiky a funkční fenotypické analýzy. V práci spojené s touto disertací jsem studoval regulaci genové exprese za experimentálních podmínek z hlediska funkční proteomiky a zaměřil jsem se na využití separačních metod a metod pokročilé proteomiky, především hmotnostní spektrometrie.

V první části práce jsem charakterizoval jaderný receptor NHR-60 na úrovni proteinu. Tento jaderný receptor je exprimován ve dvou proteinových formách o velikosti 50 kDa a 64 kDa, které jsou s různou intenzitou detekovány v materiálu z kultur *C. elegans* a to přes to, že na úrovni mRNA je *nhr-60* exprimován ve formě jediné mRNA odpovídající proteinu s molekulární hmotností 50 kDa. Cílem bylo poznat molekulární podstatu vyšší formy NHR-60 a její možné funkční důsledky.

Detekci NHR-60 pomocí specificky vytvořené protilátky jsem následně použil k charakterizaci možností a limitací komparativní dvoudimensionální chromatografie s hlavním výzkumným cílem vytvoření metodického postupu spojení proteomiky s ustanovenými metodami *C. elegans* k analýze kompletních proteomů pocházejících z velkoobjemových kultur *C. elegans* za speciálních experimentálních podmínek. Práce prokázala použitelnost dvoudimensionální chromatografie k frakcionaci solubilizovatelného proteomu a jeho další využití pro diferenciální porovnání proteomů vázaných na specifické experimentální podmínky.

V druhé části práce jsem se zaměřil na identifikaci proteinových interakcí Mediátorové podjednotky MDT-28. Práce prokázala, že MDT-28 vykazuje interakce s podjednotkami tvořícími modul Hlavy Mediátorového komplexu *C. elegans*. Výsledky potvrdily správnost klasifikace MDT-28 jako ortologního proteinu MED28 a vedla k odhalení dalších proteinů vykazujících afinitu k MDT-28.

Experimentální práce spojená s touto disertací potvrzuje velmi zásadní přínos proteomických metod pro studium mechanismů regulace genové exprese.