

Abstrakt

Tato diplomová práce se zaměřuje na inovativní přístup kombinující dvě vysokokapacitní metody, DNA metabarkódování a bottom-up proteomickou analýzu pro detekci a identifikaci alergenů v prachu včetně rizikových organismů.

Teoretická část se zaměřuje na složení prachu, jeho fyzikálně-chemické vlastnosti a hlavní skupiny alergenů a původce alergenů jako jsou roztoči, houby, bakterie a různé environmentální částice.

Metodická část se věnuje možnostem vzorkování prachových částic, metodám detekce a identifikaci alergenů. Jako efektivnější alternativa k imunochemickým metodám je představena proteomická analýza, která umožňuje komplexní identifikaci širokého spektra proteinů a alergenů, včetně potenciálních dosud necharakterizovaných alergenů a proteinů indikujících přítomnost rizikových mikroorganismů. Moderní přístup zahrnující DNA sekvenování je popsán jako komplementární metoda, která poskytuje detailní informace o taxonomickém složení vzorků, což výrazně zlepšuje přesnost identifikace na proteinové úrovni.

Praktická část práce kombinuje proteomickou a genomickou analýzu pro detailní charakterizaci prachových vzorků. Byla provedena optimalizace protokolu izolace DNA, následně bylo provedeno úspěšné sekvenování amplifikovaných 16S rRNA a 18S rRNA genů, které poskytlo informace o prokaryotických a eukaryotických organismech. Informace z DNA metabarkódování byly využity pro vytvoření databáze pro vyhodnocení proteomických dat z nanoLC-MS/MS. Tento kombinovaný přístup umožnil identifikovat široké spektrum alergenů z trav, zvířecích alergenů, lidských proteinů či běžné vnitřní i venkovní mikroorganismy jako je *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* a *Alternaria*. Byl rovněž testován přístup založený na spajkování proteinů pomocí exkrementů roztoče *D. farinae*, který sloužil jako standard pro hodnocení přítomnosti roztočových alergenů ve vzorku prachu. Testovány byly vzorky z různých prostředí, včetně veřejných míst s vysokou kumulací osob a prostorů CARC, které jsou bohaté na producenty alergenů. Vzorky byly odebírány dvěma způsoby – stěrem a pomocí čističky vzduchu a výsledky byly porovnány.

Celkově tato práce demonstruje, že kombinace proteomických a genomických metod a integrace dat z nich umožňuje získat komplexní obraz o biologickém složení prachu a jeho potenciálních zdravotních rizicích a vyzdvihuje důležitost správného nastavení databáze.

Klíčová slova: prach, alergeny, proteomická analýza, metabarkódování, DNA, proteiny