

ABSTRAKT

Autor: Bc. Jana Kolářová

Vedoucí práce: Mgr. Klára Konečná

Vedoucí práce - specialista: PharmDr. Ivona Pávková, Ph.D

Název: Izolace a proteomová analýza frakce obohacené o periplazmatické proteiny bakterie *Francisella tularensis*

Diplomová práce

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové,

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní obor: Odborný pracovník v laboratorních metodách

Cílem předkládané diplomové práce bylo otestování několika v literatuře uváděných postupů pro získání frakce obohacené o periplazmatické proteiny z bakterie *Francisella tularensis*. Vybraná metoda pak bude v následujících studiích využita ke hledání potenciálních substrátů hypotetického lipoproteinu s homologií k DsbA proteinu, z nichž některé pravděpodobně hrají klíčovou roli ve virulenci *F. tularensis*. DsbA proteiny se nacházejí v periplazmě gramnegativních bakterií, kde zaváděním disulfidických můstků zodpovídají za správnou konformaci a tím i funkčnost celé řady extracelulárních proteinů včetně známých faktorů virulence.

Mezi testované postupy patřily metoda studeného osmotického šoku, postupy s použitím chloroformu, polymyxin B sulfátu, EDTA s lysozymem a chloridu hořečnatého s lysozymem. Proteiny vzorků připravených jednotlivými postupy byly separovány pomocí dvourozměrné elektroforézy a získané 2-D proteinové mapy byly hodnoceny pomocí programu ImageMaster 2D Platinum. Vhodnost metody byla posuzována jednak z hlediska obohacení o proteiny s predikovanou periplazmatickou lokalizací a dále byly hodnoceny i rozdíly v tvorbě proteinů mezi divokým kmenem a kmenem s delecí genu pro příslušný protein s homologií k DsbA.

Z předběžných výsledků se jako nejvhodnější zdá být metoda studeného osmotického šoku a postup s chloroformem. Vhodnost a především reprodukovatelnost těchto postupů je však nezbytné ještě otestovat v dalších studiích.