

ABSTRAKT

Mikroorganismy se mohou vyskytovat v planktonní formě nebo mohou ulpívat na povrchu a vytvářet trojrozměrné útvary zvané biofilmy. Plovoucí biofilmy, tvořené na rozhraní prostředí voda-vzduch, jsou jednou z životních strategií, kterou se mohou bakterie ubírat. Při studiu tohoto typu biofilmu nám jako laboratorní model sloužil nepatogenní druh *Mycobacterium smegmatis*. Pochopení mechanismů tohoto druhu by mohlo být aplikovatelné i na patogenní zástupce rodu *Mycobacterium*, jejichž studium obnáší v laboratorních podmínkách řadu nevýhod.

Tato diplomová práce se zabývá morfologickou a proteomovou analýzou plovoucího biofilmu *M. smegmatis*. S využitím binokulární lupy a skenovací elektronové mikroskopie bylo pozorováno, že se bakterie na počátku tvorby biofilmu shlukují a vytváří tzv. „nukleační centra“, ze kterých dochází k postupnému rozrůstání biofilmu do okolí. V pozdějších fázích vývoje dochází k jejich postupnému splynutí a vytvoření jednolité vrstvy, která s dalším vývojem sílí a utváří se vícevrstevnatý biofilm.

Stěžejní metodou této práce byla dvourozměrná elektroforéza proteinů. S její pomocí byla provedena proteomová analýza plovoucího biofilmu. Před samotným provedením 2D elektroforézy bylo nutné optimalizovat přípravu proteinových vzorků a měření jejich koncentrace. Stejně jako u morfologické analýzy byla sledována 4 vývojová stádia plovoucího biofilmu v 8., 18., 24. a 30. hodině růstu. Výsledkem bylo určení 22 proteinů, 4 z nich jsou unikátní pro určitou vývojovou fázi, exprese zbylých 18 se v čase signifikantně mění. U 18 měnicích se proteinů byly popsány expresní profily v čase a pomocí korelační analýzy byly určeny skupiny proteinů se stejným expresním profilem a tedy se stejnou nebo podobnou regulací jejich exprese. Tyto proteiny budou dále identifikovány pomocí hmotnostní spektrometrie, což nám umožní lepší interpretaci dosažených výsledků.