Homocystein je aminokyselina, která obsahuje ve své struktuře síru, a je odvozená od methioninu. Jedná se o nekódovanou aminokyselinu, která je součástí několika metabolických drah a vyskytuje se v krevní plazmě. Zvýšená koncentrace homocysteinu v krvi doprovází řadu onemocnění, jako jsou kardiovaskulární a neurodegenerativní choroby, cukrovka nebo osteoporóza. Proto v posledních dvou desetiletích dochází k velmi intenzivnímu zkoumání mechanizmů souvisejících s metabolizmem homocysteinu.

V rámci této bakalářské práce byla provedena proteomická analýza sekretomu jaterních buněk, konkrétně byly porovnávány proteiny sekretované primárními lidskými hepatocyty vystavenými 2mM koncentraci homocysteinu s proteiny sekretovanými stejnými buňkami v prostředí bez přidaného homocysteinu. Analýza byla provedena pomocí dvojrozměrné elektroforézy.

Buňky byly 48 hodin kultivovány v bezsérovém médiu (kontrolní skupina a skupina s 2mM homocysteinem) a proteiny sekretované do média byly vysráženy acetonitrilem. Byla provedena dvojrozměrná elektroforéza. Výsledné proteinové mapy byly vyhodnocovány pomocí počítačového programu PDQuest Advanced 8.0.1 2D Gel Analysis Software (Bio-Rad, USA). Jako rozdílně sekretované proteiny byly určeny ty, jejichž skvrny měly intenzitu větší než 500 ppm a u nichž byl rozdíl v intenzitě mezi kontrolní skupinou a skupinou s homocysteinem minimálně trojnásobný s 95% pravděpodobností vypočítanou Studentovým t-testem. Tyto proteiny byly vyřezány z preparativních gelů a identifikovány pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie.

Celkem bylo nalezeno 17 skvrn odpovídajích 15 proteinům, které byly označeny jako rozdílně exprimované. Mezi těmito proteiny byly jak proteiny sekretované, tak i proteiny vnitrobuněčné (cytoplazmatické, mitochondriální). U velkého množství z těchto proteinů bylo možné nalézt souvislost s metabolizmem homocysteinu.