

Abstrakt

Hmotnostní spektrometrie (MS) je rychlá, specifická, citlivá a experimentálně variabilní metoda, kterou lze s úspěchem použít v celé řadě proteomických aplikací, např. při identifikaci a řešení primární struktury proteinů nebo pro studium terciární struktury a protein-proteinových interakcí. Zavedení tzv. měkkých ionizačních technik na konci 80. let minulého století umožnil ionizovat bez nežádoucí fragmentace biologické makromolekuly jako jsou proteiny, oligosacharidy nebo nukleové kyseliny, a tak nejvíce ovlivnil využití hmotnostní spektrometrie na poli proteomiky.

Cílem této práce bylo použití současných přístupů hmotnostní spektrometrie při řešení několika proteomických otázek. První část práce je zaměřena na studium terciární struktury a protein-proteinových interakcí pomocí kombinace techniky chemického zesíťení s MS analýzou ve třech modelových systémech: (1) homodimeru lidského regulačního proteinu 14-3-3 ζ , (2) systému proteinu 14-3-3 ζ s regulační doménou tyrosinhydroxylasy, a (3) systému dvou membránových proteinů účastnících se biotransformace xenobiotik – cytochromu P450 2B4 a cytochromu b₅. Tento metodický přístup pracuje s proteiny ve vodných roztocích za fyziologických podmínek a zachovává tak jejich nativní struktury.

Ve druhé části práce byly pomocí MS studovány proteinové profily houbových spór kmenů *Aspergillus* a *Pseudallescheria*. Byly hledány peptidové/proteinové diagnostické znaky, které by bylo možné využít pro včasnou detekci invazivních mykóz způsobovaných těmito plísněmi.

Třetí část práce představuje MS přístupy použité při řešení několika konkrétních proteomických a lipidomických projektů. Dílčími cíly této části bylo (1) určit polohu dvojnásobné vazby v molekulách peptidů nebo lipidů, (2) identifikovat nové alergeny v pšeničné mouce, (3) sledovat změny v proteomu lidských leukemických buněk (mimo jiné izoformou 14-3-3 proteinu) po podání léčiva indukujícího apoptózu.