

Abstrakt

Tato dizertační práce ukázala možnosti využití gelově-separační techniky 2-DE při řešení tří nezávislých vědeckých projektů. Proteomické studie vhodně doplnily výsledky získané i jinými přístupy a přispěly k celkovému zobrazení proteinové situace v daných biologických systémech.

Srovnáváním celkového proteomu *E. coli* bylo identifikováno 61 proteinových změn v souvislosti s vývojem bakteriální populace v přítomnosti antibiotika erytromycinu. Tento „klasický“ experiment zahrnoval vhodnou izolaci vzorku, separaci a analýzu bílkovin pomocí 2-DE s následnou identifikací proteinů pomocí MS. Nevýhodou bylo velké množství výsledných dat, které bylo potřeba zpracovat (počítačovou analýzou dat).

Naproti tomu v případě studia membránového proteomu *B. subtilis* při pH stresu bylo třeba primárně modifikovat metodu izolace membránových a s membránou asociovaných bílkovin pro jejich vhodnou separaci na 2-DE. Optimalizace zahrnovala především úpravy v použitých chemikáliích-detergentech podílejících se na solubilizaci proteinů a časové prodloužení tohoto procesu. Detegováno bylo následně 5 významných proteinových změn v odpovědi na pH stres týkajících se proteinů AcoB, SodA, YjcH, YwaC a YkwC. Data byla doplněna údaji o rigidizaci membrány *B. subtilis* v kyselém prostředí (stanoveno pomocí pulzní časově rozlišená fluorescenční spektroskopie).

V poslední části práce využití techniky „imunodeplece“ vedlo k částečnému odstranění 12 majoritních bílkovin ze vzorku kostní plazmy, což pomohlo vylepšit proteinový profil kostní plazmy dětí s diagnostikovanou akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) a detegovat tak i minoritní proteiny ve vzorku jako potenciální *biomarkery* ALL.