

Abstrakt

Bc. Hana Hřebíková

Identifikace membránově lokalizovaných peptidů nativních proteinů bakterie *Francisella tularensis*

Diplomová práce

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Odborný pracovník v laboratorních metodách

Cíl práce: Cílem diplomové práce bylo vyvinout novou metodu vhodnou pro stanovení koncentrace peptidů v biologickém vzorku a identifikace membránově asociovaných proteinů bakterie *Francisella tularensis* (*F. tularensis*).

Metody: Odkoušení metod bylo nejprve provedeno na standardních proteinech alfa kasein a BSA. Proteiny o známé koncentraci byly štěpeny trypsinem a koncentrace získaných peptidů byla měřena modifikovanou a nemodifikovanou metodou mikro BCA (bicinchoninic acid protein assay). Metoda pak byla aplikována na reálný bakteriální vzorek *F. tularensis* kmen FSC200. Bakteriální peptidy byly získány kultivací celých bakterií v různých časových intervalech v roztoku, který obsahoval trypsin. Tato metoda je v literatuře popisována jako „shaving“.

Výsledky: Pomocí nemodifikované mikro BCA byla stanovena koncentrace peptidů. Peptidy pak byly separovány HPLC a identifikovány pomocí hmotnostní spektrometrie. Správnost celého postupu dokazuje identifikace dvou bakteriálních peptidů z proteinu s názvem 17 kDa major membrane protein (ZP_0227498).

Závěry: Další studium navazující na tuto diplomovou práci bude věnováno přípravě frakce obohacené o membránové proteiny metodou „shaving“ a identifikace dalších membránových proteinů *F. tularensis*.