

Abstrakt

Trichomonas vaginalis je lidským anaerobním patogenem způsobujícím trichomoniasu, jednu z nejrozšířenějších nevírových pohlavně přenosných nemocí. Toto onemocnění postihující muže i ženy je v současnosti běžně léčeno metronidazolem, avšak jsou známy případy, kdy vznikla rezistence vůči tomuto léčivu. Jelikož je *Trichomonas vaginalis* eukaryotní organismus, je paleta cílů terapeutického zásahu proti tomuto patogenu bez ohrožení hostitele omezená.

Během evoluce se *Trichomonas vaginalis* přizpůsobila anaerobnímu prostředí vznikem alternativního anaerobního metabolismu, kdy se mitochondrie přeměnily na organely s výrazně omezenou enzymatickou výbavou. Jelikož je jedním z konečných produktů energetického metabolismu v těchto organelách molekulární vodík, nazývají se tyto organely hzdrogenosomy. Hydrogenosomy nemají vlastní genetickou informaci, všechny proteiny v nich přítomné jsou kódované v jádře, syntetizované na volných ribosomech v cytosolu a poté transportovány do hydrogenosomů pomocí N-koncových presekvenčí. Peptidasa rozeznávající a odštěpující tyto presekvence, hydrogenosomální procesující peptidasa, je pro hydrogenosomy unikátní a představuje jeden z mála potencionálních terapeutických cílů pro léčbu trichomoniasy.

Cílem této práce bylo určení substrátové specifity hydrogenosomální procesující peptidasy, a to pomocí charakterizace N-koncových peptidů po odštěpení N-koncových presekvenčí. Byla provedena proteomická analýza lyzátu hydrogenosomů *Trichomonas vaginalis* pomocí nově navrženého a optimalizovaného protokolu pro N-koncové sekvenování. N-koncové peptidy byly z komplexní směsi získány metodou negativní selekce pomocí takzvaného “bottom-up” přístupu spojením kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Na základě identifikovaných N-koncových peptidů byly zpětně identifikovány hydrogenosomální proteiny přítomné v analyzovaném vzorku. Následně byla posouzena relevance nalezených proteinů ve vzorku a navrženy kroky pro zlepšení protokolu pro příští experimenty.