

6 ZÁVĚR

U nervových kmenových buněk byly pomocí dvojrozměrné gelové elektroforézy a následné hmotnostní spektrometrie identifikovány konstitutivně syntetizované proteiny v 66 proteinových skvrnách. Nejčastěji byly zastoupeny proteiny účastníci se metabolismu a úprav RNA a proteinů, následované cytoskeletárními proteiny a anexiny, metabolickými proteiny a enzymy, proteiny účastníci se tvorby energie, obrany buňky a buněčných signalizací.

Bylo identifikováno 16 proteinů, jejichž hladina se statisticky významně měnila během diferenciaci nervových kmenových buněk do nervových buněk. Zvýšení hladiny α -B crystallinu, hnRNP A1 a hnRNP A2/B1 a jejich lokalizace v nervových buňkách byly potvrzeny imunoblotem a imunocytochemií.

Pomocí protilátkových mikročipů byly u nervových kmenových buněk detekovány fosforylace signálních proteinů související většinou s buněčnou proliferací (CDK1 a 2, PKC μ , PKC γ , Erk5 a α -B crystallinu) a zvýšená hladina proteinu GRK2. Naopak u diferencovaných buněk byl prokázán nárůst hladiny protein fosfatázy 4 (její katalytické podjednotky), hem-oxygenázy 2, kináz MEK3 a RafB a pro-kaspázy 1 a zvýšená fosforylace 40 kDa substrátu Akt kinázy bohatého na prolin.

U nádorových buněk bylo po separaci proteinů systémem ProteomeLabTM PF 2D identifikováno 8 proteinů, jejichž hladina byla ovlivněna inhibítorem cyklin-dependentních kináz. Pokles hladiny signálního adaptorového Crk-like proteinu a jeho fosforylace na Tyr207 byl potvrzen následnými studiemi *in vitro* i *in vivo*.

Pro kvantifikaci proteinů eluovaných z ProteomeLabTM PF 2D systému ve stejném retenčním čase byla zavedena metoda relativní kvantifikace pomocí aminoreaktivního izobarického značení iTRAQ. Optimalizovaný protokol na rozdíl od původně publikovaného iTRAQ značení [50] umožnil zvýšit citlivost relativní kvantifikace o 1-2 řády.