

Krátké shrnutí práce

Farnesylované proteiny mají velký význam ve vedení signálu buňkou a jako takové mohou hrát roli ve vzniku řady chorob, zejména rakoviny. Hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem je metoda široce využívaná v analýze peptidů a proteinů, proto byla zvolena k vyvinutí snadného způsobu nalezení farnesylovaných proteinů v buňce. Na synteticky farnesylovaných jednoduchých peptidech a hovězím albuminu byl objasněn způsob, jakým se farnesylované peptidy štěpí v hmotnostním spektrometru. Charakteristickým rysem MS/MS spekter těchto peptidů jsou dva píky, které vznikly odštěpením farnesyly od samotného peptidu. Tyto fragmenty se liší v počtu nábojů na fragmentu, to je způsobeno rozdílným druhem štěpení. Rozštěpením vazby mezi sírou cysteinu a farnesyly rovnoměrně, vzniká nový náboj na peptidu a odstupující nabitá skupina o atomové hmotnosti 205. Pokud štěpení probíhá za ztráty neutrálního fragmentu farnesyly, na peptidu zůstává pouze původní náboj a odstupuje fragment o atomové hmotnosti 204, který ztratil jeden atom vodíku ve prospěch peptidu. Tato zjištění lze aplikovat z jednoduchých peptidů i na hledání farnesylylace ve vzorcích, obsahující složitou směs proteinů z buněk. Při hledání farnesylovaných proteinů ve vzorku získaném z proteinů buněčné membrány buněk rakoviny prsu, jsem však narazil na problém neměřitelně nízké koncentrace farnesylovaných proteinů. Musí tedy být vyvinuta metoda jejich izolace z buněk v dostatečném množství.