

Proteomika

Proteomika je odvětví biochemie zabývající se studiem proteinů. Proteiny jsou jedním ze základních stavebních prvků buňky, kde zajišťují většinu funkcí od metabolických až po opěrné, nebo reprodukční. Identifikací proteinů tak můžeme odhalit procesy odehrávající se v buňce. Porozumění těmto procesům napomáhá k přesnější diagnostice nemocí nebo k vývoji nových léčebných postupů.

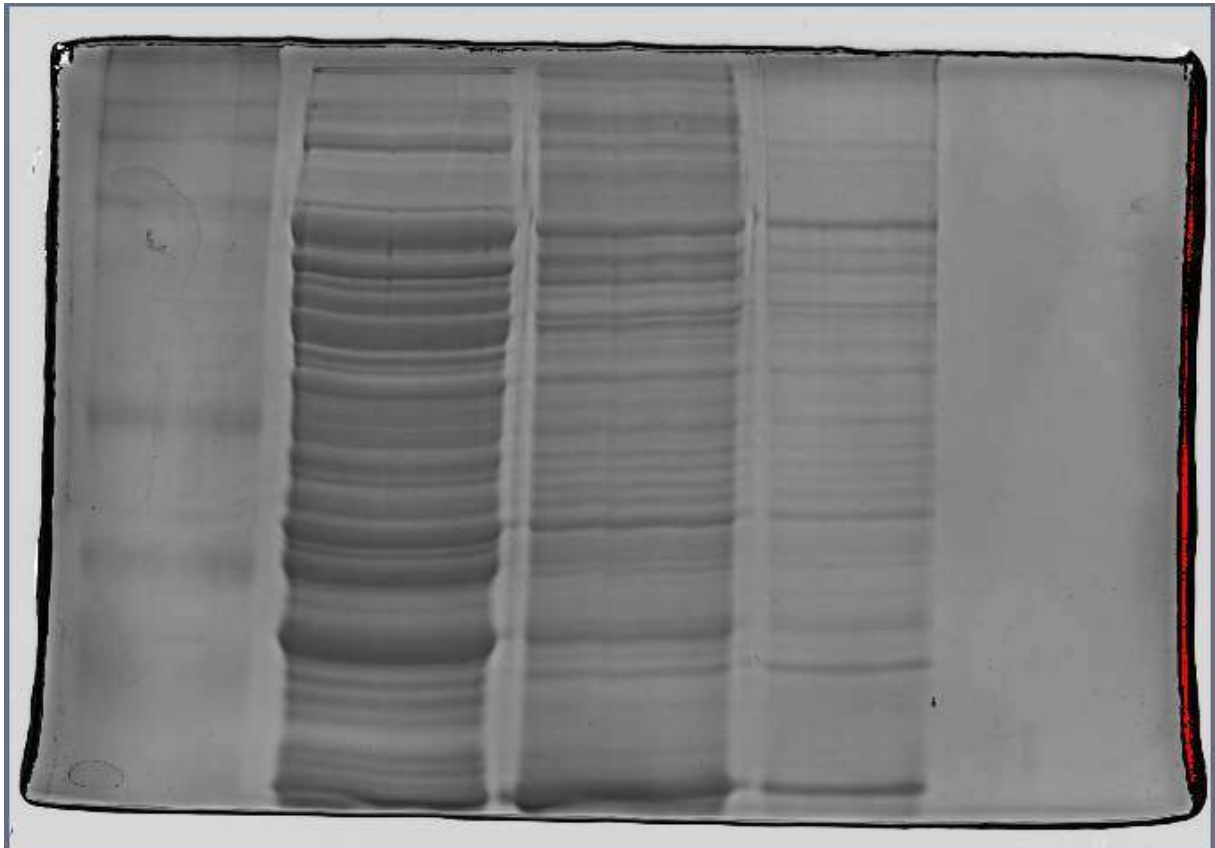
Ačkoliv proteomika nabízí velké možnosti při odhalování buněčných procesů, je samotná analýza komplikovaná. Běžná buňka obsahuje kolem deseti tisíc proteinů, krevní sérum oplachující celý organismus stovky tisíc proteinů. Všechny tyto proteiny jsou přitom složeny z 21 základních aminokyselin. Naštěstí existuje několik přístupů, jak od sebe jednotlivé proteiny rozlišit. Tyto přístupy využívají fyzikálně chemické vlastnosti proteinů jako je velikost anebo specifické pH jednotlivých proteinů. Metody, které tyto vlastnosti využívají, počítají s pohybem proteinů v elektrickém poli. První metoda, nazvaná **elektroforéza**, separuje proteiny podle jejich pohyblivosti v elektrickém poli. Tato pohyblivost je z velké míry závislá na jejich velikosti, protože menší proteiny migrují rychleji. Druhá metoda, **isoelektrická fokusace**, počítá se specifickým pH, při kterém je protein nenabitý, tzv. pI. Pokud tedy necháme protein putovat v elektrickém poli přes škálu pH, bude putovat podle svého náboje až do místa, kde se pH škály a pI budou rovnat. V tomto místě je protein nenabitý, a tím pádem také nepohyblivý v elektrickém poli. Tyto metody lze také zkombinovat. Pokud proteinovou směs rozdělíme pomocí isoelektrické fokusace a následně je z fokusační pásky necháme vycestovat elektroforeticky, získáme takzvanou **2D elektroforézu**. Tato metoda umožnila už od 70. let minulého století separaci větších proteinových směsí a v podstatě stojí za současnou podobou proteomiky.

Biologické přístupy využívají enzymovou aktivitu těch proteinů, které tuto aktivitu mají, anebo specifické vazby protilátek. Protilátky jsou jednou ze základních složek imunitního systému. Protilátky se za normálních okolností váží na specifický znak cizorodé bílkoviny, kterou tělo už někdy v minulosti potkalo. Imunologickými metodami je možno připravit protilátky se specifickou vazbou na libovolný protein. Nevýhodou metod využívajících protilátky je to, že je identifikován vždy jen jeden protein. Metody imunologické detekce proteinů lze využít k vizualizaci, nebo obohacení proteinů ze směsi. Proteiny můžeme vizualizovat jak v buněčných lyzátech, tak i v tkáňových řezech. Obohacování proteinů ze směsi probíhá pomocí protilátek imobilizovaných na nosiči. Na nosič s protilátkou se tak zachytí pouze protein zájmu a zbytek se vymyje.

Metoda, která je schopná identifikovat tisíce proteinů, se nazývá **hmotnostní spektrometrie**. Možnost identifikace přesné hmoty společně s moderními separačními technikami a výpočetním zázemím schopným určit sekvenci peptidu a vyhledat ji v databázi vytvořila z hmotnostní spektrometrie jedinečný nástroj, který se dnes stal zlatým standardem proteomiky.

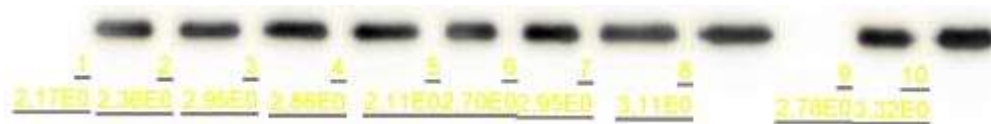
Dnešní proteomika je nejen vědecký obor, ale má své uplatnění i v klinické biochemii. Tam se už dlouho využívá imunohistochemie pro přesnou detekci onemocnění z tkáňových řezů pacientů. Také elektroforéza krevního séra slouží k všeobecnému posouzení zdravotního stavu pacienta.

Obr.1 Proteinová elektroforéza



Proteinová elektroforéza: Záznam z gelové proteinové elektroforézy. Sloupce jsou jednotlivé vzorky a proužky jsou jednotlivé proteiny. Za normálních okolností jsou proteiny bezbarvé, musí se proto barvit, v tomto případě barvou Coomassie brilliant blue.

Obr. 2 Western blot



Western blot je metoda imunologické vizualizace jednotlivého proteinu z elektroforeticky děleného vzorku. V tomto případě se jedná o vizualizaci metabolického enzymu glyceraldehyd-3fosfátdehydrogenázy, která se účastní procesu glykolýzy.