

## **Hemokoagulace a fibrinolýza**

Cílem projektu je popsání vztahů mezi jednotlivými složkami koagulační kaskády a jejich ovlivnění patofyziologickými podmínkami (např. oxidačním stresem). Koagulaci studujeme od aktivace serinových proteáz, přes dynamiku vzniku a strukturu vzniklé fibrinové sítě, až po fibrinolýzu. Ke studiu používáme nejen obvyklé koagulační metody, ale i nové přístupy v podobě hmotnostní spektrometrie či elektronové mikroskopie a metod strukturní biologie. Získané poznatky jsou aplikovány ve vývoji nových diagnostických přístupů u koagulopatií (např. hluboká žilní trombóza, plicní embolie, infarkt myokardu, trombotické komplikace při COVID-19).

## **Charakterizace poruch fibrinogenu**

U pacientů se suspektní dysfibrinogenemií a hypofibrinogenemií z celé ČR vyšetřujeme všechny exony genů kódující fibrinogen (FGA, FGB a FGG). V případě nálezu mutace zkoumáme její vliv na změnu struktury a funkce fibrinogenu pomocí specializovaných vyšetření (polymerační křivky, kvantifikace odštěpování fibrinopeptidů pomocí HPLC, SEM, LC-MS/MS, strukturní modelování). Celkově bylo zatím u nás na pracovišti identifikováno přes 100 případů z více než 70 rodin, z toho je 16 mutací nově objevených.

## **Počítačové modelování**

Teoretické metody strukturní biologie, jako je molekulární modelování a molekulární dynamika, používáme především ke studiu fibrinogenu a jeho interakcí s dalšími molekulami v krvi. Konkrétně se jedná o studium vlivu post-translačních modifikací a mutací na strukturu a funkci fibrinogenu, popis interakcí fibrinogenu s trombinem a hemostatickými hadími jedy a předpověď struktury částí fibrinogenu, které se nepodařilo určit experimentálními metodami. Při práci využíváme i metody sekvenční a fylogenetické analýzy.

## **Metabolomika plazmy/séra/buněčných extraktů u onkohematologických a jiných onemocnění**

Pomocí spojení kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) se zabýváme cílenou analýzou nízkomolekulárních látek. Konkrétně studujeme změny v koncentracích metabolitů glykolýzy, citrátového cyklu, energetického poolu, metabolismu karnitinu, tryptofanu a vybraných aminokyselin. Nalezli jsme rozdíly u pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML) v závislosti na průběhu onemocnění. Dále se zabýváme monitorováním markerů oxidačního stresu (malondialdehydu, kyseliny močové, allantoinu, atd.). Pro analýzu karbonylace bílkovin využíváme spektrofotometrické stanovení.

## **Protein-protein interakce pomocí povrchové plasmonové rezonance (SPR)**

Cílem práce je navrhnout diagnostickou SPR metodu a proteinový čip k přesnější stratifikaci podskupin onkohematologického či jiného onemocnění. Navrhli jsme proteinový (mikro) čip, který analyzuje interakce mezi proteiny spojenými s patogenezi daného onemocnění a

plazmatickým proteomem pacientů. Další navržený Hsp70 trap (micro) čip využívá pět odlišných subcelulárních chaperonů Hsp70 rodiny a slouží k detekci poškozeného subproteomu pacientů. Proteinový (mikro) čip již prokázal schopnost rozlišovat mezi různými podskupinami myelodysplastického syndromu (MDS) a zdravými dárci, zatímco Hsp70 trap (micro) čip prokázal schopnost rozlišovat MDS pacienty s nízkým a vysokým rizikem. Identifikace interagujících proteinů pomocí hmotnostní spektrometrie odhalila další vhodné kandidáty ke zvýšení diagnostické citlivosti proteinového čipu.

## **Proteomika krevních buněk a ostatních složek krve**

Cílem práce je objasnění fyziologických a patofyziologických pochodů u vybraných chorob nebo využití poznatků v diagnostice či monitorování léčby. Hlavním zaměřením jsou onkohematologická onemocnění (např. myelodysplastický syndrom), ale také další onemocnění (např. kardiovaskulární choroby). Další oblastí výzkumu je sledování interakcí umělých (polymerních) povrchů s krví s využitím poznatků v širokém spektru oblastí od konstrukce diagnostických nástrojů po biomedicínu (tkáňové inženýrství, implantáty, atd.).