

Abstrakt

Hemové sensorové proteiny představují čtvrtou skupinu hemoproteinů. V této skupině hemoproteinů slouží hem jako signální molekula. Disociace a asociace hemu u proteinů detekujících hem má vliv na regulaci fyziologických procesů např. regulace enzymové aktivity nebo genové exprese.

V předkládané bakalářské práci jsou shrnuty dosavadní poznatky o vybraných zástupcích hlavně ze skupiny eukaryotických hemových sensorových proteinů publikované v odborných časopisech. V experimentální části této bakalářské práce jsme se zaměřili na přípravu rekombinantního proteinu, inhibitoru regulovaného hemem (HRI) a jeho proteinového substrátu, alfa podjednotky eukaryotického translačního iniciačního faktoru 2 (eIF2 α). Nejprve byly připraveny, posléze amplifikovány a následně izolovány plasmidy nesoucí buď gen pro HRI nebo pro eIF2 α . Následně byly dané proteiny připraveny heterologní expresí v bakteriálních buňkách *E. coli* BL-21(DE3) a celý proces zakončila jejich purifikace. Získali jsme finální preparát HRI o koncentraci 7,7 μ M a celkovém objemu 400 μ l a 60% homogenitě a finální preparát eIF2 α o koncentraci 51,3 μ M a celkovém objemu 400 μ l a 80% homogenitě. Pilotní charakterizace obou získaných preparátů s ohledem na jejich teplotní stabilitu, přinesla důležité informace nezbytné pro správné uchování proteinů před dalšími experimenty.

Klíčová slova:

sensorové proteiny detekující hem, hem, kinasa, transdukce signálu, izolace plasmidu, heterologní exprese, purifikace proteinů