

Abstrakt

Corynebacterium glutamicum je grampozitivní nesporeující půdní bakterie využívaná v průmyslu jako producent aminokyselin, nukleotidů, biopaliv a alkoholů. Cílem této práce bylo vytvořit hybridní faktor σ , který jako podjednotka RNA polymerázy bude rozpoznávat pouze příslušný hybridní promotor, takže neovlivní expresi hostitelských genů. Na základě aminokyselinových sekvencí faktorů σ^D a σ^H byly kombinací sekvencí genů navrženy 2 typy hybridních faktorů, σ^{DH} a σ^{HD} . Jako alternativa hybridních molekul σ^{DH} a σ^{HD} byly dále na základě *in silico* homologního modelování vneseny mutace do přirozeného faktoru σ^H v oblasti rozpoznávající -35 element σ^H -dependentního promotoru. Hybridní promotory byly vytvořeny kombinací promotorových oblastí -35 a -10, které pocházely ze σ^D - a σ^H -dependentních promotorů. Stanovení aktivity promotorů s použitím fluorescence reportérového proteinu GFPuv prokázalo, že exprese genu *gfpuv* pod kontrolou sledovaného hybridního promotoru v kmenech s hybridními faktory σ^{DH} a σ^{HD} byla nízká ve srovnání s kmeny, které nesly přirozený faktor σ a příslušný promotor. Při použití jednoho z mutantních faktorů σ^H ($\sigma^{\text{mutH-6A}}$) se záměnami v oblasti rozpoznávající element -35 σ^H -dependentních promotorů došlo ke specifické transkripci z hybridního promotoru *PsigDH* a tedy dosažení cíle.

Klíčová slova: *Corynebacterium glutamicum*, faktor sigma, promotor