

Abstrakt

Specializované mikrobiální metabolity jsou popisovány jako nízkomolekulární bioaktivní látky, které svému producentovi neslouží pro růst, vývoj, ani reprodukci. Do této skupiny látek se řadí také linkosamidy, produkované převážně některými druhy bakterií z rodu *Streptomyces*. Součástí biosyntézy těchto antibiotik jsou mimo jiné dva nízkomolekulární thiole, ergothionein (ESH) a mykothiol (MSH). Mykothiol v této biosyntetické dráze figuruje jako zdroj síry, zatímco ergothionein tvoří s aminooktosovou jednotkou konjugát, který je jakožto substrát neobvyklého kondenzačního enzymu následně schopný vazby s enzymaticky aktivovanou aminokyselinou.

Cílem této práce je izolace substrátu enzymu LmbD – linkomycinového biosyntetického konjugátu ESH a aminooktosy. Dalším cílem je pak studovat propojení metabolismu MSH a ESH s biosyntézou linkosamidů, konkrétně linkomycinu, celesticetinu a intervencinu, které jsou produkovány třemi různými kmeny.

Bakteriální kmeny byly kultivovány v laboratorních podmínkách a k jednotlivým analýzám byly použity metody kapalinové chromatografie s UV a MS detekcí, jejichž konkrétní parametry byly vyvinuty a optimalizovány v rámci této diplomové práce.

Výsledkem této diplomové práce je purifikovaný konjugát ESH s aminooktosovou jednotkou o hmotnosti 1,39 mg a čistotě 71,4 %. Dále se podařilo zjistit, že minimálně u dvou kmenů produkujících linkosamidy souvisí množství vyloučených linkosamidů do kultivačního média s množstvím thiolů v buňkách produkčních kmenů.

Klíčová slova: ergothionein, mykothiol, linkosamidy, biosyntéza, LmbD substrát, purifikace, UHPLC-DAD-MS, HPLC-UV