

ABSTRAKT

Hemové sensorové proteiny se podílejí na řadě významných funkcí v prokaryotických i eukaryotických organismech. Příkladem eukaryotického hemového sensorového proteinu je hemem regulovaný inhibitor (HRI), který katalyzuje fosforylaci α -podjednotky eukaryotického iniciačního faktoru 2 (eIF2 α). V rámci této bakalářské práce byl nejprve amplifikován plasmid pET-21c(+)/eIF2 α a jeho vhodnost pro expresi proteinu eIF2 α byla ověřena pomocí dvou nezávislých metod. Následně byly připraveny proteiny HRI a eIF2 α rekombinantní expresí v buňkách *E. coli* BL-21(DE3) transformovaných plasmidem pET-21c(+)/eIF2 α , resp. HRI. Oba proteiny byly z buněčných preparátů izolovány a purifikovány pomocí afinitní a gelové permeační chromatografie. Protein eIF2 α byl získán v dostatečně vysokém výtěžku (560 μ g z 1 l TB média) i čistotě (90 %). Nižšího výtěžku (25 μ g z 1 l TB média) i čistoty (20 %) bylo dosaženo v případě proteinu HRI, autenticita získaného preparátu byla nicméně potvrzena spektrofotometrickou charakterizací a ověřením jeho enzymové aktivity. V rámci pilotních experimentů bylo dále zjištěno, že GTP může nahradit ATP při fosforylaci eIF2 α , zatímco UTP a CTP nikoli.