

Abstrakt

Chemiluminiscenční proteinové enzymy jako je například luciferáza mají mnoho využití jak v aplikovaném tak i základním výzkumu. V této práci jsme využili metody *in vitro* selekce, abychom identifikovali deoxyribozomy, které katalyzují chemiluminiscenční reakci. Tyto DNA enzymy světlo produkují pomocí defosforylace komerčně dostupného substrátu CDP-Star. Jednu z neaktivnějších variant, kterou jsme pojmenovali Supernova, jsme dále vylepšili a popsali pomocí kombinace náhodné mutagenese, *in vitro* resekce, sekvenování nové generace, komparativní sekvenové analýzy a optimalizace reakčních podmínek. V současnosti Supernova produkuje světlo 6.500-krát účinněji než reakce CDP-Star bez přidaného enzymu a zaujímá nezvyklou strukturu obsahující trojšroubovici DNA. V rámci charakterizace reakčních podmínek Supernovy jsme dále popsali její nároky na pH, koncentraci Supernovy i substrátu a přítomnost iontů či zahušťovacích činidel. V neposlední řadě jsme ukázali, že Supernova může být pomocí racionálního designu přeměněna na alosterický senzor. Předpokládáme, že námi vyvinutý deoxyribozym bude využíván jako signální část v alostericky regulovaných senzorech, které detekují rozmanité ligandy, a doplní tak ostatní metody využívající radioaktivitu, fluorescenci, či změnu barvy.