

## Abstrakt

Růstové faktory představují skupinu významných látek metabolismu organismů. Jedná se o signální molekuly, které kontrolují aktivitu buňky na endokrinní, parakrinní nebo autokrinní úrovni. Jsou klíčovým prostředníkem vázajícím se na receptory buňky, čímž spouští kaskádu reakcí vedoucí k regulaci genetické transkripce v jádře buňky a stimulaci buněčné odpovědi. Růstové faktory ovlivňují řadu fyziologických funkcí jako buněčnou proliferaci, diferenciaci a hojení tkání.

Využití růstových faktorů se nabízí například v regenerativní medicíně. Za obdobným účelem byla zahájena výzkumná práce na přípravu růstového faktoru TGF- $\beta$ 3 s možným připojením na polymerní nosič pomocí coiled-coil kotvy. Tato práce se zabývá rekombinantní produkcí TGF- $\beta$ 3, resp. jeho obdoby spojené s peptidem asociovaným s latencí (LAP) a aplikací některé z technik, která by byla využitelná pro záměr této práce, tedy k připojení proteinu k polymernímu nosiči na bázi aminokyselin.

Vzhledem ke strukturní komplexitě, se kterou se růstové faktory fyziologicky z buněk uvolňují, příprava růstových faktorů s coiled-coil kotvou *in vitro* představuje na poli rekombinantní exprese proteinů neprobádanou výzvu. V našem expresním systému buněčné linie HEK293T bylo možné připravit latentní formu LAP-TGF- $\beta$ 3, pro niž byla ověřena biologická aktivita na krysích mesenchymálních kmenových buňkách. Bylo navrženo a úspěšně zaklonováno několik konstruktů růstového faktoru s coiled-coil kotvou, jež by měly teoreticky umožnit jeho řízené uvolňování z polymerního nosiče do kultivačního média. V rámci experimentální práce byl taktéž objeven potenciál sortasy A jako alternativní metody k přípravě kýženého proteinu.