

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: David Klouček

Vedoucí: doc. Ing. Petra Matoušková, Ph.D.

Název diplomové práce: **Klonování a příprava plasmidu pro expresi reduktázy z vlasovky slezové**

Vlasovka slezová (*Haemonchus contortus*) je nejvýznamnější patogenní hlístice malých přežvýkavců, zejména ovcí a koz. Způsobuje haemonchózu, v důsledku čehož dochází k masivnímu úhynu nakažených zvířat. Hlavním řešením nákazy je farmakoterapie schválenými anthelmintiky. V současnosti je stále se zvětšujícím problémem narůstající rezistence vlasovky vůči dostupným anthelmintikům, což vede k dopadům ekologickým, tak ekonomickým.

Příčin rezistence vlasovky je několik. Mezi mechanismy rezistence, jiné než v cílové molekule anthelmintika, lze zařadit zvýšenou aktivitu enzymů 1. fáze biotransformace zprostředkovanou karbonyl-redukujícími enzymy. Konkrétně aldoketoreduktázy a dehydrogenázy/reduktázy. Zvýšená aktivita těchto enzymů vede k rychlejšímu metabolismu léčiv, vzniku neúčinných metabolitů a selhání léčby.

Cílem diplomové práce byla příprava plasmidu pro expresi vybrané reduktázy, který může být využit pro další studování aktivity a případně tvorbu nových cílených léčiv. Metody použité v experimentální části byly izolace RNA, reverzní transkripce, PCR, štěpení, ligace, colony PCR, kontrola sekvencí a transfekce buněk pro expresi proteinu.