

Abstrakt

γ -laktamasa je enzym štěpící pětičlenné laktamové cykly. Jedním z jejích potenciálních substrátů je polyvinylpyrrolidon (PVP). Degradace PVP γ -laktamasou je zkoumána s ohledem na využití v čistírnách odpadních vod. Cílem této práce proto bylo připravit synteticky gen γ -laktamasy z bakterie *Comamonas acidovorans* a provést jeho klonování do expresního vektoru pET22b. Pro syntézu genu γ -laktamasy byla použita metoda PCA. Sekvence genu γ -laktamasy o délce 1725 bp byla rozdělena do dvou částí (syntonů), které byly syntetizovány samostatně. Po syntéze bylo provedeno restriční štěpení a ligace do vektoru pUC19. Takto připravenými konstrukty byly transformovány kompetentní buňky *E. coli* kmene DH5a. Po ověření správnosti sekvencí byly oba syntony vyštěpeny restričními endonukleasami a spojeny jedнокrokovou ligací do plazmidu pET22b. Rekombinantním plazmidem obsahujícím spojené syntony byly transformovány expresní buňky *E. coli* kmene BL21(DE3)RIL a byla testována exprese rekombinantní γ -laktamasy. Sekvence klonu produkujícího protein odpovídající délky byla potvrzena sekvenční analýzou. Připravený expresní plazmid bude použit pro produkci rekombinantní γ -laktamasy. (In Czech)