

Abstrakt:

Cytochrom P450 3A4 je integrální protein vyskytující se v membráně endoplasmatického retikula. U člověka se v nejvyšší míře vyskytuje v jaterní tkáni. Je důležitým enzymem metabolismu xenobiotik. V procesech biotransformace přeměňuje zhruba polovinu všech používaných léčiv.

Hlavním cílem diplomové práce bylo ověřit vliv genové optimalizace na heterologní expresi lidského cytochromu P450 3A4. Při řešení práce byly nejprve připraveny a ověřeny expresní konstrukty založené na vektoru pET22b. Byla porovnána efektivita exprese zkrácené formy zájmového proteinu za použití syntetického genu optimalizovaného pro produkci v hostitelském organismu odvozeném od parentálního kmene K-12 vůči produkci stejně zkráceného cytochromu P450 3A4 v témže vektoru ovšem s originálním lidským genem získaným z cDNA. Bylo potvrzeno, že optimalizace nukleotidové sekvence genu pro hostitelský organismus *E. coli* skutečně činnost exprese zkrácené formy proteinu zvyšuje, i když množství aktivní formy proteinu nedosahuje výtěžků obvyklých u jiných netoxických solubilních proteinů.

Kromě toho byl učiněn pokus o produkci kompletní nezkrácené formy lidského cytochromu P450 3A4 v expresním vektoru pET22b. Množství této formy proteinu přítomné v bakteriální membránové frakci však bylo ve srovnání se zkrácenou formou mnohem nižší.

Klíčová slova: cytochrom P450 3A4, heterologní exprese, pET22b, genová syntéza