

Klíčovým krokem biosyntézy linkosamidových antibiotik je kondenzace řízená oligomerním enzymem linkosamidsyntetázou (LS). Tento unikátní enzym katalyzuje spojení aminokyselinové a aminocukerné složky obou linkosamidů – linkomycinu a celesticetinu. Jednou z nejdůležitějších komponent LS je adenylační doména rozpoznávající a aktivující aminokyselinové prekurzory. Substrátová specifita adenylační domény je určena souborem 10 aminokyselinových zbytků, nazývaných neribozomální kód, jejichž postranní řetězce jsou v kontaktu se substrátem. Homologní adenylační domény LmbC z biosyntézy linkomycinu a CcbC z biosyntézy celesticetinu aktivují odlišné aminokyselinové prekurzory (2S,4R)-4-propyl-L-prolin (PPL) resp. L-prolin.

V první části práce byl experimentálně otestován vliv vybraných aminokyselinových zbytků neribozomálního kódu LmbC na substrátovou specifitu celé domény. Byly určeny aminokyselinové zbytky, jejichž postranní řetězce mají největší význam pro preferenci PPL substrátu oproti L-prolinu: G308, A207 a L246.

V druhé části práce byl posuzován vliv dvojitých mutací v neribozomálním kódu LmbC a CcbC na substrátovou specifitu obou domén. Byly připraveny a biochemicky charakterizovány domény LmbC G308V + A207F a CcbC V306G + F205A. Výsledky obou bloků experimentů přinesly nové důkazy pro platnost homologních modelů vazebných míst obou adenylačních domén LmbC a CcbC. Především přinesly důkazy pro existenci hydrofobního kanálu ve vazebném místě LmbC.