

## Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Daniel Herbolt

Školitel: RNDr. Jakub Hofman, Ph.D.

Název diplomové práce: Příprava savčích vektorů kódujících vybrané aldo-ketoreduktasy

Aldo-ketoreduktasy 1B1, 1B10 a 1C1 (AKR1B1, AKR1B10, AKR1C1) jsou NADPH-dependentní enzymy metabolizující celou řadu substrátů obsahujících karbonylovou skupinu. Tyto enzymy z nadrodiny aldo-ketoreduktas zprostředkovávají redukci endogenních látek, jako např. steroidních hormonů a cukrů, stejně tak jako mnoha různých xenobiotik a léčiv. Mimo svých fyziologických rolí se významnou měrou podílí na genezi několika závažných onemocnění (např. rakovina, diabetes aj.). Inhibice AKR1B1, AKR1B10 a AKR1C1 je považována za slibný terapeutický přístup pro léčbu těchto onemocnění. Cílem předkládané práce bylo připravit savčí vektory kódující AKR1B1, AKR1B10 a AKR1C1.

Prvními kroky bylo navržení primerů a amplifikace cDNA klonovaných enzymů. Primery nesly sekvenci rozpoznávanou restrikčními endonukleasami přítomnými v multiklonovacím místě pCI plasmidu, což umožnilo vytvoření lepicích konců pomocí restrikce a následné spojení insertu a plasmidu za využití ligace. Připravené vektory byly transformovány do bakterií *Escherichia coli* HB101. U vybraných kolonií byla ověřena úspěšnost zaklonování insertu pomocí elektroforézy a kontrolní a zpětné restrikce. Plasmidy s potenciálem úspěšného zaklonování byly namnoženy, izolovány a purifikovány v midi formátu a ověřeny sekvenací.

Podářilo se připravit savčí plasmidy pCI kódující enzymy AKR1B1, AKR1B10 a AKR1C1, které budou v budoucnu využity pro transfekci ve studiích zaměřených na charakterizaci inhibiční a substrátové afinity těchto enzymů.