

Abstrakt

Systém cytochromu P450 je velmi významný z hlediska metabolismu endogenních látek a xenobiotik. Tento systém se skládá z cytochromu P450, NADPH:cytochrom P450 oxidoreduktasy (CPR), cytochromu b_5 a NADH:cytochrom b_5 reduktasy (CYB5R3). Objasnění protein-proteinových interakcí mezi jeho částmi je nezbytné pro pochopení fungování celého systému. Metoda kovalentního síťování se jeví jako velmi vhodná pro studium těchto interakcí. V této práci byl použit fotoaktivovatelný analog aminokyseliny L-methioninu (L-foto-methionin) jako síťovací činidlo.

Tato práce se zabývá organickou syntézou L-foto-methionu, expresí a izolací CPR a CYB5R3 jako fotoaktivovatelných proteinů s inkorporovaným L-foto-methioninem. Pro expresi byl použit auxotrofní kmen *E.coli* B834 (DE3) a M9 minimální medium. Úspěšně byla exprimována a izolována CYB5R3 s inkorporovaným L-foto-methioninem. Míra inkorporace byla ověřena hmotnostní spektrometrií. Dále byla testována schopnost síťování CYB5R3 s cytochromem b_5 .

Klíčová slova: fotolabilní aminokyseliny, exprese proteinů, syntéza