Abstrakt

Vodík/deuteriová výměna v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (HXMS) je stále populárnější technikou strukturní biologie. Její prostorové rozlišení závisí na účinnosti fragmentace nebo proteolytickém štěpení studovaného proteinu. Z toho důvodu je snaha hledat nové proteasy, které by nejen byly schopné štěpit zkoumaný protein při podmínkách HXMS, ale také poskytovaly co největší pokrytí sekvence proteinu.

Tato práce se zabývá nalezením optimálních podmínek produkce aspartátové proteasy Oryzasinu 1 pro potenciální použití v experimentech HXMS. Z dostupných plazmidů byly vybrány vhodné produkční klony, pomocí peptidového mapování byla ověřena identita produkovaného proteinu a následně byly nalezeny vhodné produkční podmínky. Na základě těchto výsledků bylo přistoupeno k produkci proteinu ve velkém objemu a k izolaci inkluzních tělísek.

Klíčová slova: Oryzasin 1, proteasy, vodík/deuteriová výměna v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (HXMS)