Abstrakt

DNA kódované knihovny peptidů jsou základem in vitro selekčních metod, které využívají různé biologické systémy („phage display“;„yeast display“;„mRNA display“). Přes velký úspěch těchto selekčních metod je jejich zřejmou nevýhodou omezený počet stavebních bloků, které jsou tvořeny pouze dvaceti proteinogenními aminokyselinami. Zapojení dalších neproteinogenních aminokyselin a dalších stavebních bloků by mohlo podstatně rozšířit spektrum možných aplikací těchto selekčních metod. Například zavedením chemických modifikací v postranních řetězcích aminokyselin v takových knihovnách by umožnilo efektivní studium posttranslačních modifikací (fosforylace, acylace, glykosylace, methylace atd.) v živých organismech. Cílem této práce byl vývoj metody pro přípravu plně syntetické DNA kódované knihovny peptidů. Základními kroky byla chemická syntéza peptidu a s tím spojená enzymová syntéza kódující DNA. Pro syntézu DNA kódovaných knihoven peptidů je nezbytná kompatibilita chemických reakcí s DNA. Jelikož finální kyselé odchránění postranních řetězců v peptidu není kompatibilní s DNA, byly testovány dva přístupy k odstranění tohoto problému. Prvním z nich byl pokus o vývoj jemnějších podmínek odchránění postranních řetězců syntetizovaných peptidů, které mohou být kompatibilní s DNA. Podařilo se najít nové, mírné podmínky odchránění BOC a *t*-Bu chránících skupin. Bohužel další běžně používané chránící skupiny byly vůči této metodě rezistentní. Druhým novým přístupem, který se jevil produktivním, byla postsyntetická stabilizace samotné DNA značky proti vlivům silně kyselého prostředí zavedením 7-deaza purinových nukleotidů. Tímto způsobem byl připraven modelový konstrukt DNA kódované knihovny peptidů, který byl testován s modelovou proteasou.

Klíčová slova: DNA kompatibilní chemické reakce, DNA syntéza a amplifikace, DNA sekvenace