

# ABSTRAKT

Porozumění původu prvotních proteinů je pochopením přechodu komplexních chemických směsí k prvním biologickým systémům. Prvotní proteiny byly pravděpodobně strukturně flexibilní, s promiskuitní aktivitou a se sekvencemi představujícími spíše fyzikálně chemické vlastnosti než definované sekvenční motivy. Rané proteiny byly rovněž pravděpodobně složeny pouze z prebioticky dostupných aminokyselin z endogenních a exogenních zdrojů. V této práci jsme se zaměřili jak na studium vlivu nejpozdějších přírůstků aminokyselinového repertoáru na strukturu a funkci proteinů tak na charakterizaci nahodných sekvencí jakožto prekurzorů pro vznik nejranějších tak i současných proteinů generovaných z původně transkripčně/translačně neaktivních oblasti genomu. Výzkum náhodných proteinů je obzvláště zajímavý z pohledu neprobádané strany světa proteinových sekvencí. V této práci jsme charakterizovali *in silico* soubor náhodných proteinových sekvencí s přirozenými výskyty aminokyselin pomocí predikce sekundárních struktur/proteinové nesupořádanosti/agregace a rovněž jsme vybrali 45 sekvencí pro následující *in vitro* charakterizaci. Pomocí analýzy *in silico* knihovny jsme mohli konstatovat, že výskyt sekundárních struktur v náhodném sekvenčním prostoru není výrazně odlišný od toho v přírodních proteinech. Na druhou stranu, evoluční optimalizace se nejvíce projevovala v antiagregačních vlastnostech přirozených proteinových sekvencí. Experimentální charakterizace vedla k překvapivému odhalení, že neuspořádané sekvence jsou nejvíce tolerovanými náhodnými proteiny *in vivo*. Následně jsme připravili experimentální strategii pro charakterizaci proteinových knihoven složených z 20 a z prebioticky dostupných 10 aminokyselin. Za účelem experimentální charakterizace těchto knihoven jsme navrhli algoritmus CoLiDe pro optimalizaci aminokyselinových poměrů v rozsáhlých knihovnách náhodných proteinů pomocí kombinace degenerovaných kodonů. S použitím CoLiDe jsme připravili obě knihovny a otestovali jejich vlastnosti *in vitro* pomocí selektivní proteolýzy a vyhodnocení interakcí s chaperony. Předběžné výsledky naznačují vyšší přítomnost struktury v knihovně proteinu s prebiotickým aminokyselinovým složením a vysokou neuspořádanost knihovny složené ze všech 20 proteinogenních aminokyselin. V poslední studii této práce jsme vyhodnotili vliv substituce všech aromatických aminokyselin v sekvenci defosfo koenzym A kinázy jejími prebiotickými protějšky. Pomocí této modifikace jsme ukázali, že protein je schopen funkce při absenci aromatických aminokyselin i přes značnou destabilizaci terciární struktury. Pozoruhodným výsledkem byla výrazná změna struktury proteinu bez aromatických aminokyselin při interakci s ligandy jenž naznačuje klíčovou roli kofaktorů při stabilizaci raných proteinových struktur.

Táto práce je vzhledem do evolučně nevyvinutého sekvenčního prostoru proteinů s důrazem na charakterizaci rané proteinové abecedy. Výsledky disertace naznačují, že proteiny složeny z raných aminokyselin disponují strukturními a funkčními vlastnostmi jenž mohly hrát důležitou roli v časech prvotního vývoje biosféry.