

## Abstrakt

Cytochromy P450 patří mezi jedny z nejdůležitějších enzymů podílejících se na biotransformaci cizorodých látek v organismu. Jsou součástí tzv. monooxygenasového systému, ve kterém interagují s dalšími enzymy – NADPH:cytochrom P450 reduktasou a cytochromem b<sub>5</sub>. Vzájemné interakce enzymů v monooxygenasovém systému nejsou zcela rozřešeny. K objasnění možných protein-proteinových interakcí a jejich důsledků by mohla přispět technika kovalentního síťování. Jednou z možností realizace tohoto záměru je využití fotoaktivovatelného cytochromu P450, který by po expozici UV záření vytvořil kovalentní komplex se složkami monooxygenasového systému, s nimiž je v kontaktu. Tato práce se proto zabývá vypracováním optimálních podmínek pro produkci rekombinantního cytochromu P450 2B4 s cílem získat poznatky pro produkci fotoaktivovatelného cytochromu P450 s inkorporovanými aminokyselinami L-fotomethioninem a L-fotoleucinem. V provedených experimentech byl cytochrom P450 2B4 exprimován ve dvou kmenech *Escherichia coli*, C41 (DE3) a BL21 (DE3) Gold, a ve dvou kultivačních nádobách, skleněné Erlenmayerově baňce a plastové Fernbachově baňce. V průběhu exprese byla měřena optická denzita bakteriální suspenze (absorbance při 600 nm) a koncentrace cytochromu P450. Byla vypracována metodika stanovení koncentrace cytochromu P450 přímo v bakteriální buňce. Exprimovaný cytochrom P450 byl solubilizován a následně zjištěn jeho specifický obsah v solubilizátu. Z porovnání exprese v jednotlivých kmenech *Escherichia coli* vzhledem k testovaným uspořádáním kultivace byly navrženy optimální podmínky pro produkci rekombinantního cytochromu P450 2B4.

Klíčová slova:

exprese proteinu, cytochrom P450, fotoaktivace, zesílení, MFO system