

Abstrakt

Cytochrom b_5 je malý amfipatický protein. Jeho lidská forma se nachází ukotvena ve vnější membráně endoplazmatického retikula a mitochondrií, volně se nachází v červených krvinkách. Skládá se ze dvou domén: Větší hydrofilní doména váže hem, menší hydrofobní doména ukotvuje cytochrom b_5 v mikrosomální membráně. Obě domény jsou spojeny linkerem, což je řetězec asi 15 aminokyselin, který dodává proteinu potřebnou flexibilitu. Jeho délka hraje významnou roli při přenášení elektronů na cytochrom P450. Pokud je linkerová doména příliš krátká, cytochrom b_5 nedokáže přenášet elektrony na cytochrom P450 a neúčastní se tak reakcí MFO systému. Ostatní funkce jsou však zachovány.

Cílem této práce bylo navrhnout a pomocí genové syntézy vytvořit 4 deleční mutanty cytochromu b_5 . Jejich linkerová doména obsahovala krátké i dlouhé delece, u kterých se předpokládá narušení interakce s cytochromem P450.

Součástí práce byla heterologní exprese proteinů pomocí buněk *Escherichia coli* kmenů XL10-Gold a DH5 α . Jako expresní vektory pro transformaci byly použity plasmidy pET-30a(+) a pET-22b. DNA byla z buněk izolována a sekvenací byla ověřena správnost genetického kódu.

Klíčová slova: cytochrom b_5 , heterologní exprese, genová syntéza