

Abstrakt

Senzorové proteíny detekujúce hem sú skupina hemoproteínov, ktorým slúži hem ako signálna molekula. Asociácia alebo disociácia hemu a hem-detekujúceho sensorového proteínu má vplyv na reguláciu mnohých fyziologických procesov riadených týmito proteínmi. Príkladom je regulácia enzýmovej aktivity alebo génovej expsie.

Predkladaná bakalárska práca sa zaoberá hemovým sensorovým proteínom Bach1 a jeho interakčným partnerom, transkripčným faktorom MafK. Bach1 patrí do skupiny transkripčných faktorov s represívnymi účinkami. Cieľovými génmi, ktoré Bach1 reguluje, sú gény enzýmu hemoxygenáza, ktorá riadi degradáciu voľného hemu v bunkách. Bach1 interaguje s nadbytkom voľného hemu v bunke. Táto interakcia inaktivuje represívny účinok Bach1 a v konečnom dôsledku je v prípade nadbytku voľného hemu hemoxygenáza exprimovaná. V medziach fyziologickej koncentrácie hemu v bunkách proteín Bach1 s hemom neinteraguje a väzbou na regulačné oblasti cieľových génov inhibuje ich expresiu. Bach1 sa dokáže viazať na DNA iba v kooperácii so svojim interakčným partnerom, transkripčným faktorom MafK.

Teoretickú časť tejto bakalárskej práce tvorí zhrnutie doterajších poznatkov o transkripčných faktoroch Bach1, MafK, ich vzájomnej interakcii a väzbe na DNA ako aj neodmysliteľný vplyv hemu na ich spoločnú funkciu. Experimentálna časť tejto práce je zameraná na transkripčný faktor MafK. Prvým cieľom bola príprava vhodného plazmidu s génom kódujúcim MafK s histidínovou kotvou, jeho amplifikácia a izolácia. Ďalším cieľom bola expresia proteínu MafK v prokaryotickom systéme a jeho pilotná izolácia. Bolo získané malé množstvo proteínu MafK a jeho totožnosť bola overená imunochemickou metódou, použitím protilátok proti histidínovej kotve. Posledným cieľom bola základná charakterizácia získaného preparátu obsahujúceho proteín MafK. Na základe priebehu experimentov a získaných výsledkov bola navrhnutá optimalizácia izolačného postupu.

Kľúčové slová: hem, hem-obsahujúce sensorové proteíny, prokaryotická expresia, izolácia proteínu
