

Abstrakt

Hybridní antibiotika kombinují struktury nebo mechanismy účinku dvou nebo více známých antibiotik a představují tak jednu z cest ke zlepšení účinnosti antibiotik. V naší laboratoři bylo *in vitro* biosyntézou připraveno hybridní antibiotikum CELIN, jež kombinuje strukturně podobná antibiotika linkomycin a celesticetin. CELIN má ve své struktuře propylový zbytek navázaný na prolinu, který přirozeně obsahuje antibiotikum linkomycin, a kyselinu salicylovou, která je přirozenou součástí antimikrobiální látky celesticetinu. Jelikož se jedná o kombinaci dvou přirozeně syntetizovaných antibiotik, nabízí se možnost přípravy producenta tohoto hybridního antibiotika. Nicméně snaha připravit producenta CELINu mutagenézí kmene *Streptomyces lincolnensis*, produkujícího linkomycin, zatím nebyla úspěšná. Cílem této diplomové práce je určit klíčové kroky pro přípravu producenta CELINu. Nejprve byla ověřována schopnost mutanty *Streptomyces caelestis*, přirozeně produkující celesticetin, produkovat CELIN. Následně byla za účelem detekce interakčního partnera proteinu LmbF, jež katalyzuje klíčový biosyntetický krok v biosyntéze linkomycinu, provedena metoda pulldown s bakteriálním lyzátem *Streptomyces lincolnensis* a *in vitro* reakce obsahující různou kombinaci proteinů LmbF, LmbG a CcbF. Výsledky této diplomové práce indikují, že *Streptomyces caelestis*, bez dodatečných genetických modifikací, není vhodným organismem pro produkci CELINu, jelikož schopnost produkce hybridního antibiotika připravenou mutantou *Streptomyces caelestis* nebyla detekována. Analýza metody pulldown provedené s lyzátem *Streptomyces lincolnensis* naznačuje, že možným interakčním partnerem proteinu LmbF by mohl být protein LmbG. Z naměřených hodnot *in vitro* reakcí lze usuzovat, že protein CcbF je schopen pravděpodobně katalyzovat nejen reakci vedoucí k jeho přirozenému produktu a také reakci vedoucí k analogu produktu enzymu LmbF. Výsledky této práce tedy ukazují další směr v přípravě producenta CELINu mutagenézí *Streptomyces lincolnensis*, kdy k zastavení produkce linkomycinu je nutno inaktivovat i gen kódující enzym pro následný krok, *lmbG*, v již dříve připravené mutantě *Streptomyces lincolnensis* s deletovaným genem *lmbF* a vloženým genem *ccbF* a geny kódujícími biosyntézu salicylátové podjednotky.

Klíčová slova

linkomycin, celesticetin, hybridní antibiotika, biosyntéza