

# **Studium vazebných partnerů a modulace funkčních vlastností kalmodulinu a jeho fúzních proteinových variant**

## **Abstrakt**

Disertační práce se zabývá studiem kalmodulin (CaM) - dependentní modulace podrodiny iontových kanálů TRPM, zapojených do patogeneze kardiovaskulárních, neurodegenerativních či nádorových chorob. Celkem bylo na iontových kanálech TRPM4, TRPM5, TRPM6 a TRPM7 detailně charakterizováno pět nových vazebných epitopů pro CaM. Výsledky molekulového modelování a dokování prokázaly dobrou přístupnost vazebných epitopů pro interakci s CaM. Formace komplexů s CaM byla podmíněna přítomností bazických reziduí, typických pro nekovalentní interakce CaM s iontovými kanály rodiny TRP. V případě TRPM5, TRPM6 a TRPM7 se jedná o první studie poukazující na potencionální modulaci kanálů prostřednictvím CaM. CaM byl dále studován s ohledem na možnou optimalizaci vlastností molekuly v rámci fúzních proteinových konstruktů. Spojením CaM s vnitřně neuspořádanou C-koncovou doménou proteinu ameloblastinu (AMBN-Ct) byla získána inovativní fúzní molekula CaM/AMBN-Ct. Spektroskopie cirkulárního dichroismu (CD) a vazebné studie prokázali zachování požadovaných strukturně-funkčních vlastností CaM v CaM/AMBN-Ct. Výsledky sedimentačních analýz i spektroskopie CD poukázaly na komunikaci fúzních partnerů. Vzájemné kontakty mezi CaM a AMBN-Ct ve fúzní molekule vedly k signifikantnímu navýšení teplotní stability CaM. Fúzní konstrukt CaM/AMBN-Ct tak může být základem designu stabilnějších biomedicínsky/biotechnologicky využitelných molekul založených na unikátních vlastnostech molekuly CaM.

## **Klíčová slova**

Ameloblastin, fúzní proteiny, iontové kanály TRPM, kalmodulin, proteinové inženýrství, vnitřně neuspořádané proteiny