

ČESKÝ ABSTRAKT

Funkční studie potenciální nukleotidasy kódované genem *spr1057* v *Streptococcus pneumoniae*, homologa proteinu YjjG *Escherichia coli*.

Bakteriální buňky jsou neustále vystavovány nespočetným toxickým látkám, ať už z vnějšího prostředí či vedlejšími produkty jejich vlastního metabolismu. Z těchto důvodů jsou bakteriální buňky vybaveny několika mechanismy, které tyto toxické látky eliminují. Jedná se hlavně o: blokaci adsorbce, transport specifickými transportéry a specifickou inaktivaci těchto látek enzymy. Zvláštní skupinu těchto toxických látek jsou modifikované nukleotidy, které mohou v bakteriální buňce přímo zabránit replikaci DNA, nebo způsobit mutace. Enzymy rozpoznávající tyto modifikované deriváty se označují jako „house-cleaning“ „úklidové“ nukleotidfosfatasy, působí na modifikované potenciálně mutagenní nukleotidy a zabráňují tak jejich včlenění do DNA či RNA. Část z těchto „úklidových“ enzymů se řadí do skupiny haloacid dehalogenas (haloacid dehalogenase-like hydrolase superfamily), nalezených u mnoha bakteriálních druhů.

Tato diplomová práce je zaměřena na funkční studii hypotetického proteinu Spr1057 *Streptococcus pneumoniae* o doposud neznámé funkci. Na základě sekvenčního srovnání vyplynulo, že Spr1057 má významnou podobnost s proteinem YjjG *Escherichia coli*.

Analýza transkriptomu mutanta *S. pneumoniae* v genu *stkP* kódujícího eukaryotic-type Ser / Thr proteinkinasu zjistila velký pokles exprese *spr1057* (59x). Gen *spr1057* kóduje protein z nadčeledi haloacid dehalogenas (HAD), která zahrnuje celou řadu enzymů různých funkcí. Protein YjjG *E. coli*, člen nadčeledi HAD, vykazuje vysokou afinitu k monofosforylovaným nukleotidům. Tento enzym může tedy chránit bakteriální buňky před modifikovanými nukleotidovými deriváty a zabránit začlenění potenciálně mutagenních nukleotidů do DNA či RNA.

Modelovým organismem této diplomové práce byla gram pozitivní bakterie *Streptococcus pneumoniae*. Tato bakterie má ve svém genomu gen *spr1057* kódující hypotetický protein s neznámou funkcí.

Byly stanoveny tyto cíle:

Teoretické zhodnocení necharakterizovaného proteinu Spr1057 *S. pneumoniae* jako hypotetického homologu proteinu YjjG *E. coli*.

Studie zaměřená na citlivost mutanta Δ *stkP* *S. pneumoniae* k mutagenním nukleotidům.

Exprese, izolace a purifikace rekombinantního proteinu Spr1057.

Analýza biochemických vlastností purifikovaného rekombinantního proteinu Spr1057