

ABSTRAKT

O translaci lineárních cytoplasmatických plasmidů vyskytujících se u kvasinky *Kluyveromyces lactis* existují pouze velmi kusé informace. V současné době je poměrně dobře prozkoumán jejich transkripční aparát i celý transkriptom. Studium transkriptů lineárních plasmidů odhalilo velmi netypické uspořádání jejich 5' konců, které obsahují netemplátovou polyadenylaci a postrádají N⁷ methylguanosinovou čepičku. Právě přítomnost této struktury na 5' konci plasmidů specifických mRNA vyvolalo otázku iniciace translace.

Tato práce se zabývala přípravou reportérového systému vhodného pro studium vlivu počtu netěmplátově přidaných adenosinů na 5' konec mRNA lineárních plasmidů. Prvním krokem byla konstrukce duálního kvasinkového plasmidu nesoucího dva reportérové geny pod kontrolou dvou různých promotorů. Po jeho úspěšné konstrukci byla měřena aktivita promotorů TEF1 a PGK1, kdy se promotor TEF1 ukázal cca dvakrát silnější. Rovněž byl stanoven transkripční start obou promotorů. Druhým krokem byla konstrukce reportérového systému rovnou v kvasinkových plasmidech pGKL. Reportérové geny byly pod kontrolou dvou promotorů pocházejících z pGKL plasmidů iniciujících vznik transkriptů s různou strukturou. Po měření síly promotorů se ukázalo, že jejich síla je v porovnání s promotory TEF1 a PGK1 velmi nízká, až zanedbatelná.

Klíčová slova: iniciace translace, regulace genové exprese, reportérový systém, luciferáza, kvasinky, lineární plasmidy