

## Abstrakt

Galektiny jsou živočišné lektiny s afinitou k terminálním  $\beta$ -galaktosidům. Tyto lektiny jsou charakteristické evolučně konzervovanou doménou rozpoznávající sacharidy (CRD). Galektiny se *in vivo* účastní mnoha procesů, jako např. buněčné adheze; signalizace; proliferace buněk a kancerogeneze. Lze je využít jako markery u některých typů rakovin a též pro cílenou vazbu terapeutik v diagnostice a terapii rakovinného bujení. Galektiny byly definovány jako proteinová rodina složená z 15 členů (11 z nich známo u lidí). Jsou klasifikovány do tří podskupin, dle své struktury: prototypické; chimerické; tandemové. Galektin-8 patří mezi tandemové galektiny, které jsou tvořeny dvěma různými podjednotkami spojenými peptidovým můstkem; obsahují dvě různé CRD domény, a jsou proto bivalentní.

Interakce galektin-glykan jsou založeny na afinitě CRD galektinů ke glykanům obsahujícím terminální  $\beta$ -galaktosid, přičemž tuto afinitu formuluje právě soubor konzervovaných aminokyselin v rámci každého CRD. Tyto interakce je možno zkoumat mnohými metodami, jako např. rentgenová krystalografie; kompetitivní ELISA; interferometrie na biovrstvě. Díky širokému zapojení galektinů do biologických procesů je známa řada metod značení galektinů pro jejich detekci. Nejpoužívanějšími metodami jsou fluorescenční metody a biotinylace galektinů, u které je výhodné využití tzv. AVI-kotvy (GLNDIFEAQKIEWHEGSGGS).

V této práci byl připraven genový konstrukt jednoho galektinu (N-podjednotka galektinu-8) nesoucího peptidovou kotvu pro selektivní biotinylací proteinů *in vivo* (AVI-kotva). Tento konstrukt byl spolu s dalšími galektinovými konstrukty (k dispozici na školicím pracovišti) rekombinantně exprimován v *Escherichia coli*. U konstruktů celého galektinů-8 spolu s jeho N-podjednotkou a její formě nesoucí biotinylovanou AVI-kotvou byla stanovena vazebná afinita k vybraným standardním sacharidovým ligandům. U forem galektinů s biotinylovanou AVI-kotvou byla potvrzena přítomnost biotinylace.

## Klíčová slova

biotinligasa; značení; ELISA; galektin; sacharid; *Western blot*