

## ABSTRAKT

Transkripce je zásadním krokem exprese genetické informace. Tento proces závisí na proteinovém komplexu vícepodjednotkových RNA polymeráz, které jsou mimořádně konzervované mezi všemi buněčnými organismy. Tyto enzymy, spolu s RNA dependentními RNA polymerázami podílejícími se na umlčování genů, tvoří monofyletickou proteinovou rodinu, jejíž členové obsahují ve svém aktivním centru dva *double- $\psi$   $\beta$ -barrel* strukturní motivy. Do této rodiny patří také skupina převážně *in silico* predikovaných nekanonických DNA dependentních RNA polymeráz, které se od vícepodjednotkových RNA polymeráz odlišují redukovaným složením. Předpokládaná nekanonická RNA polymeráza, skládající se ze dvou podjednotek, je kódována také lineárními cytoplasmatickými plasmidy kvasinky *Kluyveromyces lactis* a velmi pravděpodobně přepisuje geny těchto plasmidů. Charakterizace unikátního transkripčního aparátu plasmidů *Kluyveromyces lactis*, s hlavním důrazem na nekanonickou RNA polymerázu, se stala cílem této práce.

Bioinformatická analýza *in silico* byla použita k prověření důkazů vedoucích k předpokladu existence specifické RNA polymerázy. Následné genetické a biochemické metody byly použity pro: 1) produkci podjednotek předpokládané RNA polymerázy v několika expresních systémech; 2) testování interakce mezi některými komponentami transkripčního aparátu; 3) značení epitopu velké podjednotky RNA polymerázy rekombinací *in vivo*.

Tato práce rozšířila sekvenční podobnost aminokyselin předpokládané RNA polymerázy s vícepodjednotkovými RNA polymerázami. Také se podařilo produkovat a částečně purifikovat podjednotky předpokládané RNA polymerázy.

**Klíčová slova:** transkripce, vícepodjednotková RNA polymeráza, izolace, charakterizace, pGKL plasmidy