

Abstrakt

Úvod:

V poslední době stále roste zájem o regulaci genové exprese pomocí malých nekódujících RNA (sRNA). Jako první sRNA byla v 60. letech objevena 6S RNA u *E. coli* (délka ~184 nt). Trvalo ovšem dalších ~ 30 let než byla pochopena její funkce. 6S RNA se váže během stacionární fáze na RNA polymerázu (RNAP), obsahující faktor σ^{70} (primární faktor sigma) a tím je zabráněno transkripci ze σ^{70} – dependentních promotorů.

V naší laboratoři byla objevena malá RNA (délka ~300 nt) ve stacionární fázi *Mycobacterium smegmatis*. Tato sRNA byla následně pojmenována jako Ms 1. Funkce Ms 1 je prozatím neznámá a předchozí experimenty naznačují, že by se mohla vázat na RNAP, neobsahující faktor sigma A.

Cíle:

Cílem této diplomové práce je přispět k charakterizaci Ms 1.

Přístupy:

Jako první jsem pomocí klonování, afinitní chromatografie a transkripce *in vitro* připravil komponenty pro následující experimenty *in vitro*: RNAP, σ^A , Ms 1 a její mutované varianty. Dále byly tyto komponenty použity ve vazebných pokusech na nativním gelu a v transkripčních experimentech.

Výsledky:

Byly připraveny RNAP, σ^A , Ms 1 a její varianty. *In vitro* vazebné testy ukázaly, že se *wt* Ms 1 váže na RNAP, na rozdíl od některých mutovaných Ms 1. Byly tak identifikovány oblasti Ms 1, důležité pro vazbu.

Následně byl sestaven aktivní transkripční systém. RNAP z *M. smegmatis* obsahující σ^A úspěšně transkribovala z promotoru *Pveg*.