

## Abstrakt

Proteiny rodiny CSL (CBF1/RBP-Jκ, Suppressor of Hairless, Lag-1) jsou transkripční faktory s klíčovou rolí ve vývoji metazoálních organismů, kdy působí nejen jako součást dráhy Notch, ale i nezávisle na této dráze. Homology proteinů CSL byly identifikovány i v houbových organismech postrádajících signální dráhu Notch. Proteiny Cbf11 a Cbf12 jsou antagonistické paralogy důležité pro koordinaci buněčného a jaderného dělení, regulaci buněčné adheze a integrity chromosomů v jednobuněčné kvasince *Schizosaccharomyces pombe*. Rovnováha v aktivitě proteinů Cbf11 a Cbf12 je klíčová pro jejich správnou funkci a doposud připravené chromosomálně značené alely těchto proteinů vykazují chování v různé míře odlišné od divokého typu. Dostupnost specifických protilátek by tedy výrazně usnadnila studium biologické funkce proteinů CSL v kvasince *S. pombe*. V předkládané bakalářské práci je prezentován návrh a příprava imunogenu a testování protilátek proti proteinům CSL získaných z komerčního zdroje. Pomocí bioinformatických nástrojů byly vybrány vhodné imunogenní fragmenty proteinů Cbf11 a Cbf12 a korespondující sekvence DNA byly klonovány do expresního plasmidu. Expese solubilních proteinů značených hexahistidinem na N-konci byla optimalisována a nativní protein byl purifikován pomocí afinitní (chelatační) chromatografie. Produkt purifikace byl použit k přípravě králičí polyklonální protilátky. Citlivost a specificita připravené protilátky byly určeny metodou imunodetekce proteinů imobilisovaných na nitrocelulosoové membráně. Připravená protilátka rozpoznává oba paralogy proteinů CSL kvasinky *S. pombe* fusovaných se značkou pro tandemovou afinitní purifikaci (TAP). Vazba protilátky na endogenní neznačené proteiny CSL nebyla pravděpodobně kvůli nízké koncentraci těchto proteinů v buňce detekována.