

Abstrakt

Eukaryotické iniciační faktory (eIF) jsou pro průběh eukaryotické translace minimálně stejně důležité jako ribosom. Některé tyto faktory mají rozdílné úlohy napříč celou translací v zajištění korektního složení preiniciačního komplexu na mRNA, přesném výběru iniciačního kodonu, bezchybné produkci příslušného polypeptidu a jejím řádném ukončení. Patrně nejdůležitějším z těchto faktorů je eIF3, který integruje signály od ostatních faktorů a koordinuje jejich funkci na ribosomu. V případě *Saccharomyces cerevisiae* je eIF3 tvořen pěti podjednotkami. Všechny tyto podjednotky obsahují strukturní motivy zodpovědné za kontakt s ribosomálními proteiny a molekulami RNA. Kromě těchto vysoce strukturovaných částí je zbytek eIF3 nestrukturovaný a velmi flexibilní. Z toho důvodu nejsou i přes současný pokrok v kryoelektronové mikroskopii doposud známy ani přesná struktura eIF3, ani jeho přesná poloha na ribosomální podjednotce 40S. Rovněž přítomnost eIF3 na ribosomu 80S během časně elongace a role eIF3 v reiniciaci a pročítání stop kodonu nejsou zatím zcela prostudovány.

K rozluštění těchto tajemství eIF3 jsme použili rentgenovou krystalografii, chemické zesílení spojené s hmotnostní spektrometrií a rozličné biochemické a genetické metody.

Naše práce ukazuje, že je eIF3 velmi kompaktně sbalený, pokud se nachází volný v roztoku. Toto zjištění je v ostrém kontrastu se situací, kdy se eIF3 váže na 40S a téměř kompletně ji objímá od kanálu pro vstup mRNA až po kanál pro její výstup. Jelikož vazba eIF3 s jeho hlavními interakčními partnery eIF1 a eIF5 zřejmě nemá zásadní vliv na jeho globulární tvar, usuzujeme, že až kontakt s 40S spouští jeho dramatickou strukturní přeměnu. Za použití stejného přístupu jsme též blíže určili dosud neznámé vazebné místo eIF5 na 40S.

Rovněž jsme popsali, že eIF3 zůstává navázán na ribosom během elongace a terminace na krátkých otevřených čtecích rámcích a podporuje následnou reiniciaci shodně v kvasinkách i v savčích buňkách.

Tato dizertační práce tak výrazně rozšiřuje dosavadní znalost kvasinkového eIF3, jeho uspořádání, strukturních změn navozených vazbou interakčních partnerů a jeho rolí v reiniciaci a pročítání stop kodonu.