

Abstrakt

Tato práce se zabývá studiem „O“ podskupiny FOX transkripčních faktorů, která sestává ze čtyř zástupců (FOXO1, FOXO3, FOXO4 a FOXO6). Jedná se o významné regulační molekuly, které hrají zásadní roli v kontrole buněčného cyklu, odpovědi organismu na stres, diferenciaci a apoptóze. Na základě jejich schopnosti vyvolat buněčnou smrt jsou obecně považovány za tumorové supresory. Nedávné studie však ukázaly, že jejich působení může mít i opačný účinek, tedy že mají schopnost podpořit vývoj nádoru, či vyvolat rezistenci na léčiva používaná při léčbě některých typů nádorů. Přes intenzivní výzkum zůstává řada otázek týkajících se funkce FOXO proteinů stále nezodpovězená. Jednou z nich je, zda drobné strukturní rozdíly pozorované v jinak vysoce konzervovaných DNA-vazebných doménách (DBD) jednotlivých zástupců FOXO transkripčních faktorů mají vliv na DNA-vazebnou afinitu. Dále pak, zda má nedávno popsaná protein-proteinová interakce FOXO-DBD s transkripčním faktorem p53 vliv na jejich DNA-vazebné vlastnosti, nebo jaký je význam vazebného místa pro Mg^{2+} ion nalezeného v krystalové struktuře komplexu FOXO4-DBD:DNA. Pro objasnění těchto otázek byly exprimovány a purifikovány DNA-vazebné domény lidských transkripčních faktorů FOXO3 a FOXO4 (FOXO3-DBD₁₄₂₋₂₆₇ a FOXO4-DBD₈₂₋₂₀₇). Pomocí změn stacionární anisotropie fluorescence byly stanoveny DNA-vazebné afinity připravených FOXO3-DBD₁₄₂₋₂₆₇ a FOXO4-DBD₈₂₋₂₀₇ za různých podmínek, tedy v přítomnosti a nepřítomnosti proteinu p53₁₋₃₁₂ a Ca^{2+} a Mg^{2+} iontů. Výsledky ukázaly výrazné zvýšení DNA-vazebných afinit obou FOXO-DBD v přítomnosti Ca^{2+} iontů a proteinu p53₁₋₃₁₂ v porovnání s DNA-vazebnou afinitou naměřenou za jejich nepřítomnosti. Přítomnost Mg^{2+} měla na DNA-vazebné vlastnosti FOXO-DBD překvapivě negativní vliv.

Klíčová slova: FOXO, forkhead, p53, transkripční faktor, protein-protein interakce