

ABSTRAKT

Translace představuje složitě regulovaný a vysoce provázaný proces výroby proteinů v buňce. Má několik základních fází-iniciaci, elongaci, terminaci a recyklaci ribosomů. Naše laboratoř se zabývá studiem multifaktoriálního komplexu eukaryotického iniciačního faktoru 3 (eIF3). Zajímá nás nejen odhalování jeho molekulárních rolí v průběhu translačního cyklu, ale také jeho úloha při specifických mechanismech, které se podílí na regulování translace v závislosti na buněčných potřebách.

eIF3 se skládá v kvasinkách z pěti esenciálních podjednotek (a/Tif32, b/Prt1, c/Nip1, g/Tif35 a i/Tif34). V savcích je jeho složení komplexnější s 12 podjednotkami (a-i, k-m).

eIF3 je klíčový hráč nejen v iniciaci translace, ale také ve fázi recyklace ribosomů a překvapivě i v translační terminaci a pročitání stop kodonu. Posledně zmiňovaný proces má velký klinický potenciál, jelikož téměř 1/3 geneticky podmíněných onemocnění je způsobena přítomností předčasného terminačního kodonu v protein kódující oblasti. Porozumění molekulárním detailům pročitání stop kodonu a translačně terminační mašinerie je důležité pro další vývoj selektivních a méně toxických léčiv vhodných k terapii. V této disertační práci jsem popsala jak protein malé ribosomální podjednotky Rps3 řídí efektivitu rozpoznávání stop kodonu. Identifikovala jsem konkrétní residua v Rps3 zodpovědná za udržení terminační přesnosti a prokázala jsem, že Rps3 ovlivňuje pročitání stop kodonu díky interakci s eIF3. Konkrétně jsem prokázala, že k ovlivňování terminační fidelity jsou důležité minimálně tři různé kontakty, které vznikají mezi C-terminální doménou a/Tif32 podjednotky eIF3 a Rps3.

Navíc jsem se podílela na dvou projektech zaměřených na savčí eIF3. První projekt se zabýval genově specifickým mechanismem translační reiniciace a jeho konzervací mezi kvasinkami a vyššími eukaryoty. Zjistili jsme, že úloha eIF3 podporovat reiniciaci je zachována i v savcích buňkách, jen se na ni nepodílí a/Tif32 jako v kvasinkách, ale eIF3h podjednotka. Druhý projekt byl zaměřený na klíčovou a základní úlohu eukaryotického iniciačního faktoru 3- a to na zajištění správného složení 43S a 48S preiniciačního komplexu v savcích buňkách. Prokázali jsme důležitou úlohu eIF3d podjednotky v rekrutaci 40S podjednotky k eIF3 a popsali jsme úlohu podjednotek eIF3c, eIF3k a eIF3l v rekrutaci mRNA k 43S preiniciačnímu komplexu.

Předkládaná disertační práce rozšiřuje znalosti o zapojení ribosomálních proteinů do translační regulace a dále odhaluje molekulární detaily translačních procesů ovlivňovaných eIF3 nejen v kvasinkách, ale i v savčích buňkách.