

Abstrakt

Tato práce se zabývá studiem lidských transkripčních faktorů FOXO4 a p53. FOXO4 je členem podrodiny „O“ FOX transkripčních faktorů. Geny kódující FOXO proteiny jsou evolučně konzervované mezi druhy. FOXO transkripční faktory regulují expresi genů, které se podílí na řízení metabolismu, buněčného cyklu a buněčné proliferace, přežití buněk a odolnosti vůči stresu. Pro svou schopnost zastavit buněčný cyklus a vyvolat apoptózu jsou považovány za tumorové supresory. Jejich funkce v rámci tumorigeneze se však ukazuje být složitější, protože nedávné studie poukazují na horší prognózu vývoje nádorů, u kterých je vyšší hladina exprese FOXO4. Protein p53 je důkladně studovaným přirozeně se vyskytujícím tumorovým supresorem. Buněčná odpověď po jeho aktivaci je do jisté míry podobná jako v případě FOXO4, rovněž umí blokovat progresi buněčného cyklu nebo vyvolat apoptózu v závislosti na buněčném typu a závažnosti/typu buněčného stresu. FOXO4 i p53 se ukazují být klíčové molekuly ovlivňující stárnutí. Za stresových podmínek spolu p53 a FOXO4 interagují, a společně tak zvyšují expresi proteinu p21, čímž indukují přechod buněk do senescentního stavu. Akumulace senescentních buněk je považována za jednu z hlavních příčin stárnutí a rozvoje s věkem spojených patologií. Tato bakalářská práce vznikla jako součást většího projektu, který si klade za cíl charakterizovat vazebné rozhraní proteinového komplexu FOXO4 s p53. Za tímto účelem byly exprimovány a purifikovány zkrácené konstrukty lidských transkripčních faktorů FOXO4 a p53 (FOXO4-DBD₍₈₆₋₂₁₁₎ a p53-TAD₍₁₋₉₃₎). Pomocí NMR metody paramagnetického zesílení relaxace (PRE NMR) bylo zjištěno, že C-koncová oblast helixu H2 forkhead domény FOXO4 interaguje především s residui 20–26 a 50–58 N-koncové transaktivační domény p53. Tato práce dále pojednává o současných strategiích používaných k vývoji léčiv – tzv. senolytik, která jsou schopna selektivně zabít senescentní buňky. Z předběžných studií se totiž ukazuje, že redukováním počtu senescentních buněk je tlumen chronický zánět a je zlepšena kondice organismu.

Klíčová slova: FOXO, p53, buněčná senescence, protein-protein interakce, senolytika