

# Abstrakt

Hlavním úkolem eukaryotické iniciace translace je rozpoznání správného start kodonu. Start kodon určuje nejen pozici, z které je zahájena translace proteinu, ale rovněž čtecí rámec, ve kterém je dekodována sekvence proteinu. Přesnost rozeznání start kodonu je řízena pomocí iniciačních faktorů a jejich vzájemnými interakcemi. Jeden z nich, největší, je nazýván eukaryotická iniciační factor 3 (eIF3). Přesný mechanismus, jakým eIF3 ovlivňuje přesnost rozpoznání start kodonu není známý. Zde jsme pomocí CryoEM, formaldehydem zasítěných gradientů a řady biochemických metod objasnila vliv jednotlivých lidských eIF3 podjednotek na tento komplikovaný proces.

Moje práce a práce našich spolupracovníků zejména ukázala, že eIF3d podporuje vazbu eIF3 na ribozom na začátku iniciace translace a že minimalistický eIF3 subkomplex (YLC- komplex podobný kvasinkovému eIF3) má zachované základní funkce eIF3 jako je sestavení 43S preiniciačního komplexu a navázání mRNA. Další studie ukázala, že lidské eIF3c je zapojeno do vyladování přesnosti rozeznání start kodonu, jelikož snížení hladiny eIF3c způsobuje kodon specifické snížení přesnosti rozpoznání start kodonu a zvýšení množství eIF5; eIF5 je společně s eIF1, 1A a 2 jedním z hlavních faktorů v ovlivňující tento proces. Objevila jsem, že eIF3 váže eIF5 špičkou svého N-terminálního ocásku, přes tři specifická residua. Překvapivě jsem také zjistila, že tento specifický kontakt chybí u Trypanozom, což naznačuje, že se tyto organismy liší ve způsobu, jakým zajišťují přesnost rozeznání start kodonu. Tato strukturní práce navíc popisuje řadu dalších zvláštních rysů 43S preiniciačního komplexu specifických pro kinetoplastida a odhaluje do té doby neznámé detaily o pozici nestrukturovaných ocásků několika důležitých eIF, a zejména dříve nejasnou pozici C-terminální domény eIF5. Důležité je, že tato zjištění otevřela možnost vývoje cílených léčiv pro boj s těmito parazity.

V neposlední řadě, pomocí systému Crispr/Cas9 se mi podařilo vnesení mutací a ustanovení dvou lidských homozygotních HEK293T stabilních linií, které nesou rozdílnou jednobodovou mutaci vazebného místa pro eIF5 na eIF3c a pomocí luciferázových esejí jsem ukázala, že narušení této vazby způsobuje snížení přesnosti rozeznání start kodonů a horší buněčnou zdatnost.

Moje navazující práce, které se nyní věnuji, je zaměřená na úplnou charakterizaci těchto vůbec prvních vygenerovaných AUG selekčních mutantů u savců a zkoumání důležitosti eIF3 v tomto základním procesu přímo na myším modelu, který plánujeme vytvořit.