

ABSTRAKT

Forkhead transkripční faktory jsou strukturně příbuzné molekuly obsahující přibližně 110 aminokyselin-velkou konzervovanou DNA-vazebnou doménu známou jako forkhead doména. Protein FOXO4 náleží do podskupiny "O" forkhead transkripčních faktorů. Zástupci podskupiny FOXO forkhead transkripčních faktorů se podílejí na mnoha důležitých biologických procesech. FOXO faktory se účastní kontroly metabolismu, buněčného cyklu, apoptózy a ochrany vůči oxidativnímu stresu. DNA-vazebná doména členů FOXO se skládá ze tří α -helixů (H1, H2 a H3), tří β -vláken (S1, S2 a S3) a dvou flexibilních ohybů (nazývaných jako křídla W1 a W2). Úloha ohybu W2 při vazbě FOXO na DNA je nejasná. Ohyb W2 pravděpodobně interaguje s oblastí DNA předcházející hlavní vazebný motiv FOXO faktorů. Spekuluje se, že vazebná afinita DNA-vazebné domény FOXO4 k DNA roste s obsahem A-T párů v oblasti DNA předcházející hlavní vazebný motiv. Pro ověření této hypotézy byla exprimována a purifikována DNA-vazebná doména FOXO4 a byla určena její vazebná afinita ke třem různým DNA duplexům lišících se obsahem A-T párů v oblasti před hlavní vazebnou sekvencí. Vazebná afinita byla určena pomocí měření změn stacionární anisotropie fluorescence. Toto stanovení neukázalo žádné signifikantní rozdíly mezi vazebnou afinitou DNA-vazebné domény FOXO4 k DNA o různém obsahu A-T párů v oblasti před hlavním vazebným motivem.