

## Abstrakt

Tato práce je součástí projektu, který se zabývá způsobem interakce 14-3-3 proteinů s forkhead transkripčním faktorem FoxO4. 14-3-3 proteiny jsou proteiny interagující s celou řadou buněčných proteinů. Touto interakcí ovlivňují aktivitu, či buněčnou lokalizaci svých vazebných partnerů. Transkripční faktor FoxO4 hraje významnou roli v regulaci buněčného cyklu, apoptózy, reakce na oxidativní stres a řady dalších buněčných procesů. Transkripční aktivita FoxO4 je řízena skrze fosforylaci protein kinasou B. Fosforylace způsobí inhibici vazby FoxO4 na DNA, navázání 14-3-3 proteinu na FoxO4 a transport vzniklého komplexu z jádra. Jedním z cílů projektu je objasnění molekulárního mechanismu těchto interakcí.

Hlavním cílem této práce bylo vytvoření mutantní cDNA proteinu FoxO4 obsahujícího pouze dva tryptofanové zbytky pomocí cílené bodové mutagenese, který poslouží jako modelový systém pro studium konformačních změn DNA vazebné domény FoxO4 při interakci se 14-3-3 proteinem. Po získání cílové mutantní cDNA tento protein exprimovat a purifikovat. Kromě toho byla součástí práce ještě exprese a purifikace proteinu 14-3-3, který je součástí modelového systému pro studium mechanismu interakce těchto dvou proteinů.