

## Abstrakt:

Protein eIF4E patří mezi důležité eukaryotické translační iniciační faktory, jelikož zprostředkovává vazbu na 5'konec mRNA, tzv. čepičku. U člověka se nachází tři zástupci této proteinové rodiny, konkrétně eIF4E1, eIF4E2 a eIF4E3. Vedle iniciace translace se eIF4E1 účastní například exportu vybraných mRNA do cytoplazmy. Regulace tohoto proteinu z velké části probíhá prostřednictvím mTOR signální dráhy, přičemž poruchy v regulaci vedou

ke zvýšené proliferaci buněk, což může vyústit ve vznik nádorového bujení. eIF4E2 hraje roli v regulaci translace během embryogeneze a zprostředkovává translaci za hypoxie. Úloha eIF4E3 je dosud opředená tajemstvím. Některé studie naznačují jeho tumor-supresorový potenciál, zatím však nebyl nikdy studován lidský eIF4E3. Velký potenciál naší práce tedy spočívá ve skutečnosti, že všechny eIF4E proteiny se kterými pracujeme jsou lidské. Na základě našich výsledků víme, že endogenní množství eIF4E3 v buňce je vyšší než se dosud myslelo, což je jeden z důvodů, proč by tento protein rozhodně neměl uniknout vědecké pozornosti.

Ve své práci jsem porovnávala fyziologické parametry buněk s nadprodukovanými eIF4E proteiny po aplikaci inhibitorů mTOR kinázy. Zjistila jsem, že nejúčinnějším inhibitorem ve všech testovaných buněčných kulturách je PP-242, který se váže, na rozdíl od jiných, přímo do aktivního místa mTOR kinázy.

Vytvořila jsem konstrukty eIF4E s 3xC FLAG fúzí a následně pozorovala zda eIF4E3 lokalizuje s P-bodies a stresovými granulemi. Podařilo se mi jednoznačně potvrdit, že eIF4E3 nelokalizuje do P-bodies, což je v souladu s našimi předchozími poznatky získanými s GFP fúzovanými eIF4E proteiny.

Klíčová slova: eIF4E1, eIF4E2, eIF4E3, mTOR, stresové granule, P-bodies, polyzomy, Rapamycin, PP-242, Resazurin, translace