

Abstrakt

Eukaryontní translační iniciační faktor eIF4E1 řídí iniciaci translace závislou na čepičce, vyskytuje se v P-tělicích a je důležitý pro vznik stresových granulí (SG). V lidských buňkách jsou obsaženy také dva další nekanonické translační iniciační faktory, eIF4E2 a eIF4E3. Oba váží čepičku, ačkoliv slaběji než eIF4E1.

V rámci této práce jsem se zabývala schopností jednotlivých členů z rodiny proteinů eIF4E a jejich variant lokalizovat do stresových granulí a P-tělisek za klidových podmínek a za podmínek tepelného a arsenitanového stresu. Za všech testovaných podmínek lokalizovaly proteiny eIF4E1 a eIF4E2 a všechny jejich testované varianty do P-tělisek na rozdíl od variant proteinu eIF4E3. Za obou stresových podmínek všechny varianty proteinu eIF4E1 a varianta eIF4E3-A lokalizovaly do SG, avšak schopnost jednotlivých proteinů lokalizovat do SG se lišila. Protein eIF4E2 lokalizoval ve zvýšené míře pouze do SG vyvolaných tepelným stresem.

Při detailnějším studiu jsme ukázali, že za tepelného stresu vznikají dva typy SG ve vztahu k eIF4E proteinům. Přibližně 75 % SG indukovaných tepelným stresem obsahuje všechny tři eIF4E proteiny, zatímco ve 25 % z nich protein eIF4E2 chybí. Dále jsme ukázali, že protein velké ribosomální podjednotky L22 je specificky nabohacen v SG vyvolaných arsenitanovým stresem. Tepelný stress vede k přechodu několika proteinů typických pro P-tělíska do SG. Jedná se o proteiny eIF4E2, DCP-1, AGO-2 a v závislosti na intenzitě teplotního stresu také o DDX6. Dlouhý stres způsobený extrémně vysokou teplotou vede k fúzi SG s P-tělísky, podobně jako je to publikováno u kvasinek.

V práci jsem se též zabývala hledáním interakčních partnerů faktoru eIF4E2. Pomocí imunoprecipitace následované identifikací vazebných partnerů pomocí hmotnostní spektrometrie jsem našla eIF3, eIF4E-T, eIF4E-BP2 a PABP v komplexu s eIF4E2. Možná role proteinu eIF4E2 v iniciaci translace nebo naopak v potlačení translace je v práci diskutována.