

ABSTRAKT

Kalorimetrické metódy sa využívajú na štúdium mechanizmov regulácie a riadenia biologických procesov na molekulárnej úrovni. Izotermálna titračná kalorimetria sa používa na sledovanie tepelnej výmeny pri molekulových interakciách v prostredí s konštantnou teplotou, využívaná je najmä pre jej priamy prístup merania termodynamických parametrov spojených s formáciou komplexov. Štandardne sa metódou ITC skúmajú biochemické interakcie, ako sú interakcie typu proteín – proteín, proteín – ligand alebo enzým – substrát. Cieľom tejto práce bolo (I) osvojiť si prácu s nano izotermálnym titračným kalorimetrom, (II) pripraviť DNA-väzbovú doménu ľudského transkripčného faktora FOXO4 (FOXO4-DBD) a (III) preskúmať termodynamické aspekty interakcie medzi FOXO4-DBD a dvojvláknovej molekuly DNA (dsDNA) obsahujúcej špecifický väzbový motív. Proteín FOXO4 je jedným zo štyroch zástupcov „O“ podskupiny forkhead transkripčných faktorov FOXO, ktoré hrajú významnú rolu v mnohých bunkových procesoch, vrátane onkogenézy, alebo ochrany pred stresom a starnutím. Forkhead doména sa viaže na sekvenciu DNA obsahujúcu väzbový motív 5'-(A/C)AA(C/T)A-3' so stechiometriou 1:1. Výsledky tejto práce potvrdili, že DNA-väzbová doména FOXO4 viaže študovanú dsDNA s disociačnou konštantou $K_D = 3,58 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Okrem väzbovej afinity boli získané aj hodnoty pre štandardnú väzbovú entalpiu a entropiu tejto interakcie.