

## **Abstrakt**

Biologická funkce translačního iniciačního faktoru eIF4E2 v mitóze zatím nebyla studována. K lepšímu pochopení jeho možné role v regulaci mitotické translace jsem vytvořila dvě stabilní linie RPE-1 s inducibilní expresí fúzního proteinu GFP-eIF4E2, respektive eIF4E2-3XFLAG. Další dvě linie s inducibilní expresí proteinu eIF4E se stejnými proteinovými značkami jsem vytvořila pro budoucí porovnání spektra interagujících proteinů. Pilotní experiment s proteiny GFP-eIF4E a eIF4E-3XFLAG imunoprecipitovanými z buněčných lyzátů získaných z buněk RPE-1 v G2, M a G1 fázích buněčného cyklu a následná analýza pomocí hmotnostní spektrometrie a Western blotu však ukázaly, že jako jediný protein, který specificky interagoval s eIF4E, jsem identifikovala translační iniciační faktor eIF4G, což naznačuje, že jsem aplikovala příliš stringentní podmínky imunoprecipitace.

Pro budoucí studium genově-specifické regulace translace jsem vybrala 10 mRNA s rozdílnou translační účinností (TE) po vstupu buněk do mitózy z dat publikovaných kolektivem Tanenbaum et al. (2015). Provedla jsem polyzomové profilování buněčných kultur ve fázích G2, M a G1. Potvrdila jsem snížení TE pro mRNA kódující PPP1CC a ARHGAP5 v mitóze; zvýšení TE pro mRNA MCM2, MCM5 a CDT1 v mitóze bylo zaznamenáno v jednom ze dvou biologických replikátů. Pro ověření spolehlivosti našeho způsobu výpočtu TE z frakcí polyzomálního profilu by bylo zapotřebí analyzovat více mRNA a zvýšit počet biologických opakování.

**Klíčová slova:** translace; regulace translace; buněčný cyklus; mitóza; polyzomové profilování; ribozomové profilování; stabilní lidské buněčné linie