

## SUMMARY IN CZECH

Adaptorový protein p130Cas (CAS, BCAR1) propojuje signalizaci od integrinových receptorů s receptory růstových faktorů a ovlivňuje správný embryonální vývoj a tkáňovou homeostázu. Jeho změněná exprese může vyvolat mnoho patologických stavů, včetně nádorového bujení, metastazování a rezistence vůči různým protinádorovým lékům. Molekulární mechanismy, jakými p130Cas přispívá k různým patologickým stavům nejsou zatím jednoznačně popsány. Cílem mé doktorské práce bylo tedy poskytnout nové poznatky o signalizaci p130Cas a o její regulaci.

Doména SH3 je nepostradatelná pro signalizaci proteinu p130Cas, ale její vazebné preference/regulace nebyly dosud přesně charakterizovány ani strukturně popsány. Proto jsme začali spolupracovat se skupinou Dr. Veverky (Strukturní biologie) a Dr. Lepšíkem (Výpočetní biochemie, AV ČR). S jejich pomocí jsme pak připravili fúzní chiméry SH3 domény proteinu p130Cas se svými ligandy a provedli strukturní analýzu NMR, která nám pomohla strukturně popsat atypický vazebný motiv SH3 domény proteinu p130Cas. Díky této spolupráci jsem se navíc naučil, jak tyto struktury vizualizovat a analyzovat. Tato práce rozšířila naše znalosti o regulaci vazby mezi p130Cas SH3 a jejími ligandy a dále vedla k vylepšenému modelu vazby mezi Src-p130Cas-FAK. Naše snaha sledovat aktivitu kinázy Src a její konformaci, která ovlivňuje, jak Src fosforyluje p130Cas, vedla k vytvoření nového biosenzoru Src na bázi FRET. Díky tomu jsem si vyzkoušel pokročilou zobrazovací mikroskopickou techniku FRET.

Navíc jsem vyvinul pracovní postup, který nám umožnil nalézt nové přímé vazebné partnery p130Cas a identifikovat DOK7, GLIS2 a PKN3, a také pomohl validovat přímou vazbu s Vinculinem. U interakce p130Cas-Vinculin jsme dále prokázali, že má důležitou roli v přenosu mechanického napětí a na dynamiku fokálních adhezí. Interakce s DOK7 a GLIS2 přinesla nový vhled do možných procesů vedoucích k neuromuskulárním a ledvinovým patologiím. Na závěr jsem pomohl prokázat, že p130Cas interaguje se Ser/Thr kinázou PKN3 v pro-invazivních buněčných invadopodiích/lamellipodiích a ukázal, že tato interakce je důležitá pro růst a invazivitu myších embryonálních fibroblastů. Oboje bylo nezávislé na transformaci kinázou Src, což poukazuje na nový mechanismus, který je odlišný od dříve prokázaného pro p130Cas. Fyziologický význam těchto zjištění jsem dále podpořil analýzou proteomických dat z nádorů od pacientů s rakovinou prsu, která poskytla důkaz, že PKN3 fosforyluje p130Cas u invazivních nádorů prsu.