

ABSTRAKT

Schopnost proteinů vázat jiné molekuly v reakci na různé podněty ve svém mikrokolím je základem rozsáhlých regulačních sítí, které koordinují následnou činnost buněk. Správná funkce těchto signálních drah závisí převážně na nekovalentních interakcích, které často ovlivňují strukturu proteinů a proteinových komplexů. Pochopení molekulárního mechanismu funkce proteinu v buněčné signalizaci je proto často závislé na znalosti jeho trojdimenzionální struktury.

V této disertační práci představuji studie, které vedly na molekulární úrovni k pochopení několika protein-proteinových a ligand-proteinových interakcí podílejících se na buněčné signalizaci. Použila jsem nukleární magnetickou rezonanci (NMR), malouhlový rozptyl rentgenového záření (SAXS) a další biofyzikální metody pro určení molekulární podstaty inhibice čtyř signálních proteinů: vápník/kalmodulin ($\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$)-dependentní proteinkinasy kinasy 2 (CaMKK2); proteasy kaspasy-2; forkhead transkripčního faktoru FOXO3 a proteinkinasy ASK1.

Konkrétněji byla zkoumána role proteinu 14-3-3 a CaM v regulaci CaMKK2 aktivity. Dále byl detailně studován mechanismus, jakým protein 14-3-3 ovlivňuje schopnost oligomerizace a jaderné lokalizace kaspasy-2 a také byla objasněna podstata modulace transkripční aktivity FOXO transkripčních faktorů díky zkoumání inhibičních schopností malé organické sloučeniny vážící se na DNA-vazbovou doménu proteinu FOXO3. Strukturní studie komplexu TRX vazebné domény proteinkinasy ASK1 s TRX odhalily, že TRX interaguje s ASK1 prostřednictvím redox-aktivního místa a oxidační stres způsobuje strukturní změny na vazebném rozhraní v komplexu ASK1 s TRX. To naznačuje, že oxidace ASK1 je důležitým regulačním signálem pro disociaci komplexu.

Disertační práce poskytuje přehled o vztahu mezi porozuměním molekulárním mechanismům modulace aktivity signálních proteinů a znalostí strukturních detailů jejich složitých interakcí. Integrovaný interdisciplinární přístup potom poukazuje na nové příležitosti oboru studia biologických struktur, kde tradiční metody již dosáhly svých hranic.