

ABSTRAKT

Protein-proteinové interakce (PPI) hrají klíčovou roli téměř ve všech biologických procesech. Mnoho proteinů vyžaduje pro své fungování dynamické interakce s dalšími proteiny či biomolekulami. Proteomické studie naznačily, že lidský proteomický interaktom zahrnuje několika set tisíc proteinových komplexů. Detailní charakterizace PPI je proto nezbytná pro plné pochopení procesů zprostředkovaných proteinovými komplexy. Mnoho PPI je také zapojeno do procesů spojených s přenosem signálu (signálních drah) v rámci řady patologických stavů a tyto PPI představují důležité cíle pro vývoj nových léků, zejména v situacích, kdy nelze použít běžnější strategie, např. obsazení aktivního místa enzymu či vazebné místo receptoru.

Tato disertační práce se zaměřuje na proteiny 14-3-3, rodinu adaptorových proteinů účastnících se regulace mnoha signálních drah. 14-3-3 proteiny fungují jako tzv. interakční uzly a kritické regulátory mnoha enzymů, receptorů a strukturních proteinů. Hlavním cílem této práce bylo strukturně charakterizovat vybrané komplexy proteinů 14-3-3 a zkoumat možnost jejich stabilizace nízkomolekulárními látkami. Pomocí kombinace proteinové krystalografie, diferenční skenovací fluorimetrie, fluorescenční polarizace a analytické ultracentrifugace byly studovány PPI mezi proteiny 14-3-3 a jejich dvěma fyziologicky důležitými vazebnými partnery: Ca^{2+} /kalmomodulin-dependentní protein kinasou 2 (CaMKK2) a inhibítozem nukleárního faktoru NF κ B (I κ B α). Dále byla studována stabilizace komplexu CaMKK2:14-3-3 pomocí derivátů Fusicoccinu A. Výsledky práce ukázaly, že stabilizace komplexu CaMKK2:14-3-3 by mohla být alternativní strategií inhibice CaMKK2. Screening knihovny fragmentů navíc umožnil identifikovat tři molekuly, které se váží na dva různé povrchy proteinu 14-3-3 mimo vazebný žlábek, což naznačuje nové možnosti pro selektivní modulaci komplexů proteinů 14-3-3.