

## **Abstrakt**

Proteínová fosforylácia predstavuje jednu z najdôležitejších posttranslačných modifikácií v signálnom prenose a zohráva kľúčovú úlohu v regulácii väčšiny bunkových procesov, vrátane bunkového cyklu, komunikácie s extracelulárnym prostredím, bunkovej migrácie, alebo apoptózy. Fosforylácia je sprostredkovaná kinázami, deregulácia ktorých často negatívne ovplyvňuje vývoj a celkovú homeostázu a vedie k vzniku viacerých druhov ochorení, vrátane rakoviny. V tejto práci sme sa zamerali na identifikáciu nových substrátov kinázy PKN3, ktorá je známym regulátorom organizácie cytoskeletu a pro-malígneho rastu nádorov. Za použitia analóg-senzitívnej mutácie PKN3 sme urobili fosfoproteomický screen a identifikovali sme 281 proteínov, ktoré by potenciálne mohli byť fosforylované kinázou PKN3. Spomedzi týchto proteínov sme pre ďalší výskum vybrali ARHGAP18 z rodiny Rho GAP proteínov. Potvrdili sme, že PKN3 je schopná fosforylovať ARHGAP18 na Thr154, Ser156 a Thr158, a že tieto proteíny sú schopné vzájomnej interakcie v závislosti na izoforme ARHGAP18. Ďalej sme ukázali, že zámena týchto troch miest za fosfomimikujúci aspartát viedla k aktivácii GAP domény ARHGAP18, výsledkom čoho došlo k zníženiu hladiny aktívneho RhoA naznačujúc možnú existenciu negatívnej spätnej väzby v regulácii RhoA signalizácie. V druhej štúdii sme popísali intramolekulárne regulačné mechanizmy ďalšieho Rho GAP proteínu, ARHGAP42, a charakterizovali sme funkciu jeho jednotlivých proteínových domén. Ukázali sme, že fosforylácia Tyr376 kinázou Src bola dostačujúca k rozrušeniu autoinhibičnej konformácie ARHGAP42 a k aktivácii jeho GAP domény. Aktivácia ARHGAP42 viedla k zníženiu celkového množstva aktívneho RhoA, výsledkom čoho došlo k zvýšeniu dynamiky fokálnych spojov a lamelipodiálnych výbežkov a k zvýšeniu bunkovej migrácie.

Táto práca prináša nové fosfoproteomické dáta, ktoré by mohli byť cenným zdrojom pre budúce štúdium signalizácie kinázy PKN3, a zdôrazňuje dôležitosť proteínovej fosforylácie ako jedného z kľúčových regulátorov aktivity proteínov.

**Kľúčové slová:** fosforylácia, PKN3, Rho GTPázy, ARHGAP18, ARHGAP42