

# **Molekulární mechanismus regulace funkce kaspasy-2 pomocí proteinů 14-3-3**

## **Abstrakt**

Kaspasa-2 je proteasa stojící apikálně v kaskádě dějů vedoucích k apoptose. Správně vedený proces apoptosy likviduje poškozené buňky, autoreaktivní lymfocyty či nadbytečné skupiny buněk v ontogenezi. Proces aktivace kaspasy-2 musí být přesně regulovaný. Jedním z popsaných způsobů regulace kaspasy-2 způsobující její inhibici je posttranslační modifikace fosforylace spojená s následnou vazbou regulačního skafoldového proteinu 14-3-3. Cílem disertační práce je vysvětlit molekulární mechanismus této regulace. Pro porozumění interakce mezi proteiny bylo nezbytné nejprve určit fosforylační místa v molekule kaspasy-2 rozpoznávaná proteinem 14-3-3 a poté popsat detailní strukturu vazebného komplexu. Struktura byla popsána řadou biochemických a biofyzikálních metod, jako je analytická centrifugace, nativní elektroforesa v TBE pufru, polarizačně fluorescenční esej, vodík/deuteriová výměna spojená s hmotnostní spektrometrií či krystalizace, a výsledky vedly k podnětným závěrům. Aktivace kaspasy-2 začíná její vazbou na adaptorové proteiny, štěpením a dimerizací katalytických podjednotek. Z výsledků vyplynulo, že protein 14-3-3 může svou vazbou inhibovat aktivaci kaspasy-2 skrze blokování sekvencí nezbytných pro dimerizaci a/nebo vazbu adaptorových proteinů. Druhým možným způsobem inhibice je překrytí jaderné lokalizační sekvence kaspasy-2 a v důsledku toho vliv na translokaci kaspasy-2 do jádra buňky, kde se jako jediná z kaspas za určitých podmínek aktivuje.

## **Klíčová slova**

kaspasa-2, prokaspasa-2, 14-3-3, protein-proteinové interakce, fosforylace, jaderná lokalizační sekvence, apoptosa