

Školitelský posudek na diplomovou práci

Jméno školitele: RNDr. Jan Brábek, PhD.

Datum: 6.9.2010

Autor: Radoslav Janoštiak

Název práce: **Biologický význam tyrozínové fosforylace v SH3 doméně proteinu CAS**

Radoslav Janoštiak se zapojil do práce v naší laboratoři již v prvním ročníku svého studia na Přírodovědecké fakultě. Byl zapojen do projektu, zabývajícího se studiem úlohy proteinu CAS (Crk-associated substrate) v migraci a invazivitě nádorových buněk. V rámci projektu se nám podařilo prokázat zásadní důležitost proteinu CAS pro invazivitu a metastatické schopnosti buněk, transformovaných onkoproteinem Src. Ve spolupráci s laboratoří prof. Hankse na Vanderbilt University, USA se nám rovněž podařilo objevit nové místo tyrozínové fosforylace na proteinu CAS – tyr 12 (Y12) s SH3 doméně.

Cílem diplomové práce Radoslava Janoštiaka bylo studovat vliv Y12 na chování proteinu CAS a následně i biologický význam uvedené fosforylace.

Pro studium Radoslav využil variantu proteinu CAS, nesoucí fosfomimikující mutaci Y12/E a nefosforylovatelnou variantu Y12/F. Radoslav připravil celý soubor savčích linií, exprimujících tyto varianty samostatně i v kombinaci s aktivovaným onkoproteinem Src. Radoslavovi se podařilo získat řadu významných poznatků. Zjistil, že exprese fosfomimikující mutace Y12E vede ke snížení tyrozínové fosforylace kinázy FAK. S pomocí GFP-značených variant proteinu CAS následně zjistil, že mutace Y12E má za následek delokalizaci proteinu CAS z fokálních adhezí, přičemž nemá žádný vliv na lokalizaci proteinu CAS do podozómů v transformovaných buňkách. Nefosforylovatelná varianta Y12F způsobuje hyperfosforylaci substrátové domény proteinu CAS a snižuje dynamiku fokálních adhezí. V důsledku toho vede exprese varianty Y12F ke snížení migračních schopností i invazivity transformovaných fibroblastů. Výsledky práce Radoslava Janoštiaka jednoznačně ukazují důležitost fosforylace Y12 v SH3 doméně proteinu CAS pro dynamiku fokálních adhezí a následně i pro migraci a invazivitu buněk.

Radoslav Janoštiak plánuje pokračovat v práci na tomto projektu v rámci doktorandského studia v naší laboratoři. Dosavadní výsledky práce byly prezentovány několika mezinárodních konferencích a v současné době je připraven manuskript pro zaslání do mezinárodního impaktovaného časopisu.

V rámci své diplomové práce se Radoslav naučil a využil velké množství metod molekulární a buněčné biologie. Prokázal laboratorní zručnost, schopnost samostatně provádět komplexní experimenty, kriticky je hodnotit a výsledky uvádět do širších souvislostí. Text diplomové práce rovněž připravoval velmi samostatně, bez nutnosti větších zásahů.

Práce podle mě jednoznačně splňuje požadavky na diplomovou práci a proto navrhuji její přijetí.

Podpis školitele:

