

Abstrakt

Proteín CAS je hlavný tyrozín-fosforylovaný proteín v bunkách transformovaných virovými onkogénmi *v-src* a *v-crk*. Je to multidoménný adaptorový proteín slúžiaci ako lešenie pre zostavovanie signálnych komplexov dôležitých pre migráciu a invazivitu Src-transformovaných buniek. V N-koncovej SH3 doméne proteínu CAS bolo identifikované nové fosforylačné miesto – tyrozín 12 nachádzajúci sa na väzbovom povrchu SH3 domény. Pre štúdium biologického významu fosforylácie tyrozínu 12 boli pripravené nefosforylovateľná (Y12F) a fosfomimikujúca (Y12E) mutanta proteínu CAS. Zistili sme, že fosfomimikujúca mutácia Y12E znižuje asociáciu s kinázou FAK a fosfatázou PTP-PEST a taktiež znižuje tyrozínovú fosforyláciu kinázy FAK. Pomocou GFP značeného proteínu CAS sme následne zistili, že Y12E mutácia delokalizuje proteín CAS z fokálnych adhézií, pričom však nemá žiadny vplyv na lokalizáciu CAS do podozómov. Nefosforylovateľná mutácia Y12F zapríčiňuje hyperfosforyláciu substrátovej domény CAS a znižuje dynamiku fokálnych adhézií a s tým spojenú migračnú kapacitu myších embryonálnych fibroblastov (MEF) nezávisle na integrínovej signalizácii. Analogicky k migrácii, CAS Y12F znižuje i invazivitu Src-transformovaných MEF. Z výsledkov tejto diplomovej práce vyplýva dôležitosť fosforylácie Tyr 12 v SH3 doméne CAS pre dynamiku fokálnych adhézií a s ňou spojenú migráciu a invazivitu MEF.