

ABSTRACT IN CZECH

Fokální adheze jsou důležitými buněčnými strukturami, které pozůstávají z mnoha signálních a strukturních proteinů. Slouží nejen k ukotvení buňky k podkladu, ale i jako důležitá signalizační centra, která regulují různé buněčné děje jako například migraci, invazivitu, proliferaci a přežívání. Signalizace zprostředkovaná fokálními adhezemi musí být přísně regulována, protože změna v aktivitě nebo expresi mnoha proteinů fokálních adhezí může vést ke vzniku nádorů a tvorbě metastáz. Jedním z nejdůležitějších strukturních proteinů asociovaných s fokálními adhezemi je protein p130Cas. Důležitost proteinu p130Cas v regulaci buněčné migrace a invazivity je velice dobře zdokumentovaná. Protein p130Cas také hraje důležitou roli v regulaci buněčného dělení a přežívání. Navíc, vysoké hladiny lidského homologu proteinu p130Cas – BCAR1 jsou spojené s agresivnějšími nádory a špatnou prognózou.

V průběhu mého doktorandského studia jsem se zaměřil na studium úlohy proteinu p130Cas v integrinové signalizaci. Charakterizovali jsme úlohu fosforylace tyrozinu 12 v jeho SH3 doméně a potvrdili jsme, že tato fosforylace je zvýšená v myších embryonálních fibroblastech transformovaných aktivovaným Src527F v porovnání s jejich netransformovanými protějšky a také v některých lidských nádorech. Tato fosforylace ruší vazebné schopnosti SH3 domény proteinu p130Cas a mění hladinu fosforylace kinázy FAK. Fosfomimikující mutace Y12E navíc vede k delokalizaci proteinu p130Cas z fokálních adhezí, a zároveň zvyšuje migraci a invazivitu myších embryonálních fibroblastů. Tento efekt je způsoben zvýšenou dynamikou fokálních adhezí v buňkách exprimujících tuto variantu. Oproti tomu exprese nefosforylovatelné mutace v p130Cas (Y12F) má opačný efekt na dynamiku fokálních adhezí, migraci a invazivitu.

Následně jsme identifikovali vinculin jako nového vazebného partnera SH3 domény proteinu p130Cas a potvrdili jsme, že tato interakce je přímá. Ukázali jsme, že tato interakce je důležitá pro správnou lokalizaci p130Cas do fokálních adhezí a že ovlivňuje velikost a dynamiku adhezivních struktur. Navíc jsme zjistili, že interakce proteinů p130Cas a vinculin je důležitá pro fosforylaci substrátové domény proteinu p130Cas indukovanou mechanickým napětím a naopak fosforylace tyrozinu 12 ruší tuto interakci a zároveň ruší i mechanicky indukovanou fosforylaci substrátové domény. Tato interakce je rovněž důležitá pro tvorbu trakčních sil a udržování správných vlastností aktinového cytoskeletu.

V průběhu mého studia jsem se navíc podílel na charakterizaci tvorby a dynamiky fokálních adhezí v buňkách rostoucích v 3D prostředí.