

ABSTRAKT

Kináza Src má stěžejní roli v množství fundamentálních buněčných procesů. Mimo jiné je součástí signálních drah řídících proliferaci, motilitu či diferenciaci a často bývá deregulována v různých typech nádorů. Aktivita Src proto podléhá přísné a komplexní regulaci, která je zprostředkována SH3 a SH2 doménami a fosforylačním stavem tyrosinů 416 a 527. V kompaktním inaktivním stavu kinázu udržují intramolekulárními inhibiční interakce. Jejich narušením dochází k otevření struktury Src a přechodu do aktivního stavu. Identifikovali jsme nový mechanismus, skrze který může být Src regulována. Jedná se o fosforylaci konzervovaného tyrosinu 90 vazebného povrchu SH3 domény, která vede ke snížení afinity SH3 domény k ligandům včetně CD linkeru a aktivaci kinázy. Fosfomimikující mutace tyrosinu 90 indukovala transformaci buněk a zvýšený invazivní potenciál. Jelikož je katalytická aktivita Src reflektována jeho strukturou, lze prostřednictvím stanovení tvaru kinázy usuzovat na její aktivitu. Na základě této korelace jsme sestrojili FRET senzor konformace Src umožňující sledovat s prostorovým a časovým rozlišením dynamiku aktivace kinázy v buňkách. Dokumentovali jsme, že aktivační mutace v SH3, SH2 i kinázové doméně nebo některé typy inhibitorů jsou schopny vyvolat otevření struktury Src. Analýza aktivace Src ve fokálních adhezích ukázala, že během vzniku adheze dochází k výraznému lokálnímu nárůstu jeho katalytické aktivity, která zůstává stabilní během maturované fáze a klesá s rozpadem adheze.