

## Abstrakt

Plasmatická membrána T buněk obsahuje různé druhy receptorů a dalších povrchových molekul nezbytných pro správnou imunitní odpověď. Mnoho studií ukazuje, že lokalizace proteinů v buňce není náhodná a jejich mislokalizace jak v rámci plasmatické membrány, tak i v rámci nesprávného sortingu v rámci buňky, může vést ke špatné funkci proteinů a v důsledku tak i k nesprávné T buněčné odpovědi. V mém prvním Ph.D. projektu jsme se zaměřili na roli složení a délky transmembránové domény, jejích proximálních sekvencí a přítomnosti palmitoylace nebo extracelulární domény na lokalizaci transmembránových adaptorových molekul LAT, PAG a NTAL v T buňkách. Ukázali jsme, že v membránové lokalizaci PAGu a NTALu hraje roli jeho transmembránová doména a že je tato lokalizace nezávislá na palmitoylaci. Na základě našich pozorování tvrdíme, že je membránová lokalizace NTALu usnadněná asymetrií jeho transmembránové domény i přes to, že je její délka je suboptimální. Mezi zkoumanými adapterovými proteiny nás zaujal zejména LAT. Konkrétně kombinace závislosti jeho membránové lokalizace na přítomnosti palmitoylace s neobvyklým složením jeho transmembránové domény nás přivedla na myšlenku zpracovat toto téma v separátním projektu. Můj prvoautorský projekt se zabývá právě objasněním role vysoce konzervovaných prolinů a glycinu v transmembránové doméně LATu a jejich vlivu na helikální dynamiku a flexibilitu. Zjistili jsme, že centrální prolin způsobuje v  $\alpha$ -helikální struktuře TMD LATu ohyb a také, že i zbývající prolin a také glycin mají roli v celkové dynamice TMD LATu. LAT mutovaný v těchto aminokyselinách byl schopen lokalizace na plasmatickou membránu T buněk i bez přítomnosti palmitoylace, mutantní proteiny však nedokázaly spustit aktivaci T buněk přes T receptor. Na základě těchto dat jsme došli k závěru, že palmitoylace je pravděpodobně důležitá pro lokalizování LATu do specifických membránových domén, nicméně jsme nebyli schopni tuto teorii ověřit. Cílem mého druhého Ph.D. projektu bylo ověřit důležitost strukturních motivů CD4 koreceptoru pro jeho nanoskopickou lokalizaci. Abychom byli schopni analyzovat naše data, vyvinuli jsme robustní, na modelu nezávislý přístup založený na SOFI algoritmu. Zjistili jsme, že nativní nanoskopická lokalizace CD4 koreceptoru závisí především na jeho palmitoylačním stavu a také na přítomnosti jeho extracelulární domény. Tento jev jsme se rozhodli dále zkoumat pomocí pokročilého algoritmu, který je schopen mapovat distribuci proteinů v 3D rozlišení. Zjistili jsme, že CD4 lokalizuje na konce mikrovilů a že je tato lokalizace významně negativně ovlivněna absencí palmitoylace.