

PŘEHLED PĚTI NEJVÝZNAMNĚJŠÍCH PRACÍ UCHAZEČE:

Brábek J, Constancio SS, Shin NY, Pozzi A, Weaver A, Hanks SK. CAS promotes invasiveness of Src-transformed cells. *Oncogene*. 2004; 23(44):7406-7415.

Hlavním cílem autorova snažení v rámci postdoktorálního pobytu na Vanderbilt University Medical Center, TN, USA bylo blíže objasnit úlohu proteinu CAS v procesu nádorové transformace. Úloha proteinu CAS v nádorové transformaci byla studována na autorem vytvořeném modelu myších embryonálních fibroblastů, transformovaných proteinem Src v přítomnosti nebo nepřítomnosti proteinu CAS. Překvapivě jsme zjistili, že přítomnost proteinu CAS není důležitá pro morfologickou transformaci fibroblastů transformovaných proteinem Src ani pro růst těchto fibroblastů nezávislý na podkladu. Ukázalo se však, že CAS má zásadní vliv na několik dalších aspektů transformace onkoproteinem Src. Expres proteinu CAS vedla ke značnému zvýšení tyrozínové fosforylace substrátů kinázy Src – zejména proteinů FAK a paxillin, což podporuje hypotézu o roli proteinu CAS jako pozitivního regulátoru aktivity kinázy Src v místech fokálních adhezí. Ještě důležitější bylo zjištění, že exprese proteinu CAS vedla k velikému zvýšení schopnosti buněk transformovaných onkoproteinem Src invadovat skrz mezibuněčnou hmotu. Zvýšená invazivita buněk byla sdružena s aktivací metaloproteinázy MMP-2 a s formací velkých agregátů podozómů, sdružujících se do pásů nebo prstenců. **Práce prokázala významnou úlohu signalizace přes protein CAS v oblasti adhezivních struktur pro rozvoj invazivních vlastností transformovaných buněk.**

Brabek J, Constancio SS, Shin NY, Fonseca-Siesser PM, Pozzi A, Hanks SK. CAS Substrate Domain Phosphorylation Sites are Critical for Invasion and Metastasis of Src-Transformed Cells. *Mol. Cancer Res*. 2005; 3(6): 307-315.

V této práci jsme zjistili, že přítomnost proteinu CAS neovlivňuje růst primárních nádorů z podkožně injikovaných myších embryonálních fibroblastů, transformovaných onkoproteinem Src. Přítomnost proteinu CAS však byla nezbytná pro tvorbu spontánních plicních metastáz z těchto nádorů. Tyrozínové zbytky v substrátové doméně CAS měly zásadní význam pro manifestaci invazivních i metastatických vlastností fibroblastů, transformovaných onkoproteinem Src. Schopnost proteinu CAS zesilovat invazivitu, tvořit velké agregáty podozómů a zvyšovat tyrozínovou fosforylaci FAK, paxillinu a kortaktinu byla rovněž závislá na přítomnosti tyrozínových zbytků v substrátové doméně. K aktivaci metaloproteinázy MMP-2 tyrozíny v substrátové doméně pouze přispívaly, hlavní úlohu pro aktivaci měla přítomnost SH3 domény proteinu CAS. **Práce prokázala kritickou úlohu proteinu CAS v invazitě a metastázování buněk, transformovaných onkoproteinem Src.** Výsledky práce rovněž naznačují, že úloha proteinu CAS v těchto procesech je zprostředkována několika nezávislými signálními mechanismy, přičemž hlavní úlohu má signalizace přes tyrozínové zbytky v substrátové doméně proteinu CAS.

Rösel D and Brábek J, Tolde O, Mierke CT, Zitterbart DP, Raupach C, Bicanová K, Kollmannsberger P, Pankova D, Veselý P, Folk P, Fabry B. Upregulation of Rho/ROCK signalling in sarcoma cells drives invasion and increased generation of protrusive force. Mol Cancer Res. 2008; 6(9):1410-1420.

Pro studium invazivity sarkomových buněk byl použit sarkomový model metastázování, vyvinutý MUDr. P. Veselým (ÚMG, Praha). Model se skládá ze 4 sarkomových linií - parentální nemetastazující linie K2 a tří odvozených linií s postupně se zvyšující schopností metastazovat (T1, A2 a A3). Linie A3 s nejvyšším metastatickým potenciálem byla srovnávána s nemetastazující linií K2. Překvapivě jsme zjistili, že metastazující buňky linie A3 neprodukovaly detekovatelné množství aktivních forem extracelulárních proteáz. Oproti tomu buňky linie A3 vykazovaly zesílenou signalizaci přes proteiny dráhy Rho/ROCK. Ve spolupráci s laboratoří prof. B. Fabryho (Universitaet Erlangen-Nuernberg, Německo) se nám podařilo prokázat u linie A3 améboidní způsob invazivity. Zesílená signalizace přes dráhu Rho/ROCK vedla u linie A3 ke zvýšení dynamiky aktinového cytoskeletu, lokalizaci fosforylovaného lehkého řetězce myozínu a zvýšených trakčních sil na vedoucím okraji buněk. Tyto změny společně vyústily ve zvýšenou invazivitu v 3D kolagenu a zvýšené metastatické schopnosti linie A3 in vivo. **Uvedené výsledky poprvé dokumentovaly améboidní invazivitu (dosud popsanou jako primární způsob invazivity pouze u buněk epitelálního původu) jako primární způsob invazivity u buněk mezenchymálního původu.** Rovněž poprvé přímo ukázaly souvislost mezi améboidní invazivitou, zprostředkovanou přes dráhu Rho/ROCK a zvýšenou schopností buněk vytvářet síly, působící na vedoucím okraji buňky.

Gandalovičová A, Rosel D, Fernandes M, Veselý P, Heneberg P, Čermák V, Petruželka L, Kumar S, Sanz-Moreno V, Brábek J. MIGRASTATICS—anti-metastatic and anti-invasion drugs: promises and challenges. Trends In Cancer, 2017; 3(6):391-406

V této práci jsme uveřejnili deklaraci a definici nové kategorie protinádorových léčiv. Článek je vyvrcholením naší dlouholeté snahy o zavedení protimetastatické léčby do protinádorové terapie. U pevných nádorů jsou invazivita a metastázování zodpovědné za více než 90 % všech úmrtí. V současné paletě protinádorových léčiv však chybí specifická kategorie léků proti invazivitě a metastázování. V práci jsme přišli se zcela novou strategií léčby pevných nádorů, spočívající v kombinaci klasické cytostatické léčby s cílenou inhibicí invazivity a metastázování. V článku jsme zavedli nový název „migrastatika“ pro látky, inhibující všechny způsoby invazivity nádorových buněk, k odlišení od široce používaných cytostatik, která většinou inhibují buněčnou proliferaci. Jsou zde rovněž definovány buněčné biologické mechanismy, které jsou vhodné pro zásah migrastatiky a je zde obsažen i přehled kandidátních látek s migrastatickými účinky. **Zavedení migrastatik do protinádorové terapie může znamenat zásadní průlom v léčbě solidních nádorů a je největším konceptuálním přínosem pro protinádorovou léčbu od zavedení protinádorové imunoterapie.** To se odráží i v mezinárodním ohlasu, přínos osobními dopisy ocenily vedoucí osobnosti výzkumu v oblasti nádorové biologie, např. Prof. Yuri Lazebnik (objevitel zásadních mechanismů apoptózy, Prof. Carlos Sonnenschein (autor Tissue organization field theory), Prof. Gordon Cragg (hlavní zásluha o zavedení taxanů do protinádorové léčby), Prof. David Mankoff (vůdčí osobnost v oblasti zobrazování nádorů) nebo Prof. Robin Weiss (objevitel receptoru pro virus HIV).

Gemperle J, Dibus M, Koudelková L, Rosel D, Brábek J. The interaction of p130Cas with PKN3 promotes malignant growth. *Molecular Oncology* 2019, 3(2):264-289

Protein p130Cas (dále jen CAS) je adaptorový protein, který se podílí hlavně na signalizaci přes integrinové receptory, zprostředkované kinázami rodiny Src. Díky své modulární struktuře působí CAS jako obecný regulátor růstu a invazivity nádorových buněk, indukovaných různými onkogeny. Další mechanismy signalizace přes protein CAS, které vedou k maligní progresi, však nejsou dostatečně objasněny. V uvedené publikaci jsme prokázali novou interakci mezi proteinem CAS a serin-threoninovou kinázou PKN3, která se podílí na progresi u karcinomu prostaty a prsu. Tato přímá interakce je zprostředkována doménou SH3 proteinu CAS a centrálně umístěnou polyprolinovou sekvencí kinázy PKN3. PKN3 je první identifikovaná serin-threoninová kináza, která se váže na protein CAS, fosforyluje jej a lokalizuje s proteinem p130Cas v buněčných strukturách, které mají významnou funkci pro invazivitu nádorových buněk. Kromě toho je interakce PKN3-CAS důležitá pro růst myších embryonálních fibroblastů a invazivitu nezávislou na transformaci onkoproteinem Src, což naznačuje mechanismus odlišný od toho, který byl dříve popsán pro úlohu CAS v maligní progresi. **Naše výsledky naznačují, že komplex PKN3-CAS představuje atraktivní terapeutický cíl u maligních onemocnění i v pozdním stádiu.**