

Souhrn

Váčekový poutací komplex exocyst patří mezi hlavní regulátory buněčné polaridy eukaryot. Tento proteinový komplex propojuje sekretorické váčky s plazmatickou membránou a reguluje vznik cis SNARE komplexu, jehož formování pohání fúzi membrány váčku s cílovou membránou. Výzkum funkce komplexu exocyst u kvasinkových a savčích buněk ukázal, že dvě z jeho osmi podjednotek, SEC3 a EXO70, poutají komplex k plazmatické membráně díky přímým interakcím se specifickými proteiny a membránovými fosfolipidy. Podjednotka exocystu EXO70 je v genomech krytosemenných rostlin kódována velkým počtem paralogů, v případě modelových rostlin huseníčku a tabáku se jedná o více než 20 genů. Rozdílné izoformy EXO70 pravděpodobně tvoří součást funkčně odlišných typů komplexu exocyst a regulují jejich zacílení do rozličných membránových domén, jelikož specifické interakce periferních membránových proteinů s různými fosfolipidy obecně přispívají k nasměrování proteinů do cílových organel a membránových domén. Tato práce se zaměřuje na funkci specifických interakcí proteinů a lipidů v rámci regulace buněčné polaridy u rostlin a přispívá k objasnění rozmanitosti izoform podjednotky exocystu EXO70 v rostlinných buňkách. Úvodní přehledné články přinášejí recentní shrnutí souhry proteinů a lipidů v ustálení membránových domén rostlinných buněk na různých časových a prostorových škálách a funkce poutacího komplexu exocyst na rozhraní cytoskeletu a váčkového membránového transportu. Studium rozdílné role podjednotek EXO70 v rámci buňky je jádrem první systematické studie srovnávající buněčnou lokalizaci všech izoform EXO70 v klíčící pylové láčce tabáku, klasickém modelovém systému pro výzkum regulace buněčné polaridy rostlin. Transformovali jsme pylové láčky tabáku konstrukty kódujícími fluorescenčně značené izoformy EXO70 a pozorovali lokalizaci do různých buněčných kompartmentů, jako například subapikální oblast cytoplazmy bohatá na membránové váčky, buněčné jádro a dvě rozdílné domény plazmatické membrány s různým obsahem fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátu a fosfatidové kyseliny. Na tuto studii navazuje podrobná analýza široce exprimované isoformy EXO70A1, která je nezbytná pro polarizovanou exocytózu v mnoha rostlinných pletivech. Pomocí pokročilé fluorescenční mikroskopie, biochemických analýz a počítačových simulací interakcí EXO70A1 s lipidy jsme ukázali, že EXO70A1

interaguje s vybranými záporně nabitými fosfolipidy a tyto interakce jsou nezbytné pro zacílení komplexu exocyst do míst buněčné sekrece. Práce dále zahrnuje výsledky několika projektů popisujících funkci izoform EXO70A1, EXO70B1 a EXO70B2 v rámci buněčného transportu do specifických membránových domén a vakuoly u modelového organismu *Arabidopsis thaliana*, na jejichž řešení jsem se podílel. V rámci diskuse představujeme důkladnou studii shrnující známé poznatky o vztahu vnitrobuněčné lokalizace a biologické funkce izoform EXO70 u rostlin.