

Abstrakt

α -tubulin je nezbytným proteinem pro přežití každé eukaryotické buňky. Společně s β -tubulinem polymerizuje do mikrotubulů, které se následně podílejí na formování a udržování tvaru buňky a ustavení jejích částí. Mikrotubuly vytvářejí komplexní síť, která prochází celým tělem buňky a poskytuje mnoho vazebných míst pro širokou paletu proteinů. Neuspořádané C-konce α - a β -tubulinu představují nejvíce různorodou část mezi izotypy obou molekul. Vždy se nacházejí na povrchu mikrotubulů, kde se účastní vazby proteinů. Post-translační modifikace dotváří variabilitu C-konců. Nemodifikovaný, tj. tyrozinovaný, C-konec α -tubulinu může být zkrácen o jednu aminokyselinu (detyrozinovaná varianta), o dvě ($\Delta 2$ varianta) nebo o tři aminokyseliny ($\Delta 3$ varianta), nebo může být modifikovaný přidáním polyglutamátového nebo polyglycinového postranního řetězce.

Rodina tubulin tyrozin ligáz-podobných proteinů (tubulin tyrosine ligase-like, TTLL) má 14 členů, kteří se podílejí na glutamylaci, glycylyaci a tyrozinaci tubulinu. Glutamylázy vykazují dvě odlišné aktivity, iniciaci a elongaci polyglutamátových řetězců. Iniciázy váží první molekulu glutamové kyseliny na γ -karboxylovou skupinu některého z glutamátů, který je součástí neuspořádaného C-konce tubulinu, čímž C-konec rozvětví. Elongázy rozpoznávají toto rozvětvení a přidávají jednotlivé glutamátové molekuly na větvící glutamát. TTLL11 je elongáza polyglutamátových řetězců α -tubulinu, která je exprimována v každé tkáni lidského těla. Její aktivita je soustředěna především do řasinek a bičíků příslušných buněk. Poruchy ve funkci TTLL11 se projevují ve formě ciliopatií, včetně defektů sítnice a páteře.

Cílem této práce bylo získat tyrozinovaný, detyrozinovaný a $\Delta 3$ tubulin a porovnat tyto tři post-translačně modifikované varianty jako substráty TTLL11 polyglutamylace *in vitro*.

Klíčová slova: α -tubulin, TTLL11, polyglutamylace, tyrozinace tubulinu, detyrozinace tubulinu, $\Delta 3$ tubulin