

Abstrakt

Cytoskelet poskytuje živým organismům nástroje k pohybu. V molekulárním měřítku procházejí stejné složky cytoskeletu neustálou reorganizací, aby přispívaly k různým buněčným procesům, jako je například navigace neuronálních růstových kónů v procesu vývoje mozku nebo vytváření chirálních aktinových toků během buněčného dělení.

Během vývoje mozku je navigace neuronálních růstových kónů umožněna vzájemnými interakcemi mezi sítěmi aktinových vláken a mikrotubuly (v angličtině „cytoskeletal crosstalk“). V růstových kónech byla část těchto intra-cytoskeletálních interakcí spojena s významnou mikrotubulární polymerázou CKAP5 (homolog XMAP215, MSPS, Zyg9). Nicméně role CKAP5 v molekulárním mechanismu remodelace mikrotubulů i aktinových sítí zatím nebyla objasněna. K lepšímu pochopení molekulárního mechanismu jsme použili fluorescenční mikroskopii s úplným vnitřním odrazem (TIRF, z angl. „total internal reflection fluorescence“) v kombinaci s *in vitro* rekonstituovanými mikrotubuly a sítěmi aktinových vláken, které jsme pozorovali v přítomnosti rekombinantních proteinů. V této práci ukazujeme, že CKAP5 vytváří svazky z aktinových vláken (jak náhodně, tak paralelně orientovaných), propojuje aktinová vlákna s mikrotubuly bez ohledu na jejich polaritu, a dále umožňuje umístění aktinových svazků podél „šablon“ z mikrotubulů a také následování plus konců dynamických mikrotubulů podél svazků aktinových vláken.

Aktomyosinový kortex umístěný pod buněčnou membránou je navíc neustále a dynamicky přetvářen, čímž vytváří chirální aktinové toky, které postupně vedou k protichůdné rotaci protilehlých polovin dělicích se embryí a k vytvoření levopravé asymetrie těla. Molekulární mechanismus, který přispívá k narušení symetrie těla a zahrnuje proteiny spojené s aktinovými filamenty např. myosiny a forminy, není detailně popsán. Pomocí TIRF mikroskopie a *in vitro* rekonstituce jsme proto ukázali, že shlukování forminů myosiny není dostatečné pro chiralitu dynamicky rostoucích aktinových sítí a svazkování aktinových vláken nehraje v tomto zjednodušeném systému roli, zatímco tření mezi rostoucími aktinovými vlákny a povrchem vyvolává chirální tendenci studovaného systému pro rotaci v protisměru hodinových ručiček.

Závěrem tato práce stručně pojednává o obecném pokroku v metodice, jehož cílem bylo mírně usnadnit přípravnou fázi rekonstitučních studií *in vitro*, které využívají fluorescenční mikroskopii pro vizualizaci zkoumaného systému.

Klíčová slova: aktinová vlákna, mikrotubuly, mezimolekulární interakce cytoskeletu, CKAP5/XMAP215, chirální aktinové toky