

Abstrakt

DREPP (Developmentally regulated plasma membrane polypeptide, syn. PCaP1 u *Arabidopsis thaliana*) je membránový protein velikosti 20-25 kDa specifický pro rostliny. Fylogenetickou analýzou jsme doložili jeho vznik u kapradin. Během evoluce velkých čeledí (*Poaceae*, *Brassicaceae*, *Solanaceae* a *Asteraceae*) a jehličnanů *Coniferophyta* došlo k několika nezávislým duplikacím genu, které byly následovány druhotnou ztrátou jednoho z paralogů u podčeledí *Pooideae* a *Solanoideae*. Ve skupinách *Asparagales* a *Brassicaceae* proběhly dvě rozsáhlé modifikace proteinu. Takto vzniklý divergovaný paralog u huseníčku byl již dříve popsán jako MAP18 (Microtubule-associated protein 18, syn. PCaP2). Testem kolinearitě chromosomových úseků v okolí lokusů *AtPCaP1* a *AtMAP18* se nám podařilo dokázat, že gen *MAP18* vznikl nejspíše během celogenomové duplikace na počátku čeledi *Brassicaceae*.

V předchozích studiích byl protein DREPP doložen v detergentuvzdorné frakci plasmatické membrány a bylo dokázáno, že k membránové lokalizaci proteinu je nezbytná myristylová kotva. Vazba proteinu na membránu je dále modifikována interakcí s PtdInsPs, která je inhibovatelná komplexem Ca-kalmodulin (Nagasaki et al., 2008). Mutace v myristylačním místě (Gly2 substituován Ala) či připojení GFP na N-konec proteinu blokuje jeho membránovou lokalizaci (Nagasaki et al., 2008). Ovšem u řady rostlinných druhů spatřujeme přirozenou substituci Gly2 jinými aminokyselinami (Ser, Thr or Asp) a v případě tabáku jsme pomocí fluorescenčního proteinu DREPP4-GFP doložili, že tato substituce neovlivňuje membránovou lokalizaci proteinu – ve stabilně transformovaných tabákových buňkách BY-2 jsme potvrdili uniformní lokalizaci proteinu DREPP-GFP na plasmatické membráně a po biologické transformaci jsme pozorovali zpravidla nehomogenní distribuci proteinu v cytosolických váčcích.

Sekundární struktura proteinu DREPP je vnitřně neuspořádaná s řadou motivů VEEKK, které by mohly být zodpovědné za vazbu proteinu k mikrotubulům, která byla prokázána u paralogu MAP18 (Wang et al., 2007). V našich experimentech jsme prokázali, že s mikrotubuly *in vitro* kosedimentuje taktéž tabákový homolog proteinu DREPP, což nasvědčuje možnosti, že funkce všech proteinů DREPP souvisí s kortikálním cytoskeletem a mohly

by tak být specifickým signalizačním rozhraním mezi plasmatickou membránou a cytoskeletem u rostlin. Použitá metoda vizualizace proteinu DREPP *in vivo* pomocí GFP-fúze neumožnila ověřit interakci proteinu DREPP s mikrotubuly. K důkazu této interakce a k objasnění fyziologické role proteinu DREPP bude třeba použít další experimentální přístupy.