

Závěry

Úloha AUXIN BINDING PROTEIN 1 (ABP1) v hospodaření rostlinných buněk s auxinem byla studována s využitím zjednodušeného modelového materiálu suspenzní kultury tabáku BY-2. ABP1 je předpokládaným receptorem pro auxin, který zprostředkovává rychlé odpovědi k auxinu nezávislé na expresi genů, a může být součástí veškerých procesů souvisejících s regulací odpovědi na auxin, jeho metabolismu a transportu. Z výsledků uvedených v této práci plynou čtyři hlavní závěry:

1) Auxin binding protein 1 je nezbytný pro dělení i růst buněk suspenzní kultury BY-2. Za běžných kultivačních podmínek ani za podmínek sníženého obsahu 2,4-D v kultivačním médiu nemá zesílení exprese *ABP1* v buňkách BY-2 žádný měřitelný vliv na dělení buněk nebo na jejich prodlužování. Pěstování buněk se zesílenou expresí *ABP1* v médiu s pětinasobně zvýšenou koncentrací 2,4-D vedlo k mírnému zvýšení buněčné elongace. Buňky s potlačenou expresí *ABP1* nejsou schopné prodlužování a intenzita buněčného dělení je výrazně zpomalena. *ABP1* je tedy důležitý pro řízení buněčného cyklu a je nezbytný pro kontrolu rovnováhy mezi buněčným dělením a buněčnou expanzí. *ABP1* je lokalizován v endoplazmatickém retikulu u buněk kultivovaných ve standardním médiu obsahujícím 2,4-D, ale pokud byly buňky vystaveny IAA namísto 2,4-D, *ABP1* protein se objevil i na plazmatické membráně.

2) *ABP1* reguluje transport auxinu mezi buňkami. Buňky se zesílenou expresí *ABP1* byly méně citlivé k inhibitoru aktivity přenašečů auxinu z buňky NPA, ale žádný rozdíl nebyl pozorován v případě použití PBA, inhibitoru dynamiky aktinu. Zesílení exprese *ABP1* za současně zesílené exprese transportérů auxinu typu PIN lokalizovaných na plazmatické membráně vedlo k potlačení fenotypu odpovídajícího auxinovému hladovění a mělo za následek snížení exportu auxinu zprostředkovaného PINy. Tyto výsledky naznačují, že *ABP1* působí na aktivní transport auxinů z buňky.

3) *ABP1* zasahuje do procesů transportu váčků zajišťujících dynamiku přenašečů z rodiny PIN. Pomocí metody FRAP bylo zjištěno, že *ABP1* zpomaluje dynamiku PIN1-GFP na plazmatické membráně. S použitím inhibitoru anterográdního transportu váčků (BFA) a inhibitoru endocytózy (Tyrphostin A23) bylo ukázáno, že účinek *ABP1* je nezávislý na anterográdním transportu váčků, ale že *ABP1* podporuje endocytózu PINů. Zesílená exprese

ABP1 vedla k ovlivnění aktivity fosfolipáz, které zprostředkovávají regulaci transportu váčků s proteiny PIN.

4) *ABP1* je zapojeno v procesech vnitrobuněčného řízení hladin auxinu a jeho metabolismu. Za přítomnosti IAA v kultivačním médiu byla zvýšená exprese *ABP1* schopna zabránit účinkům zesílené exprese na membráně endoplasmatického retikula umístěného transportéru *AtPIN5*, a přispěla k ochraně volné IAA před konjugací. *ABP1* tedy přispívá k udržení homeostáze auxinu uvnitř buněk tím, že zabraňuje *PIN5*-dependentním metabolickým změnám volné IAA.