

## Záver

Moja dizertačná práca bola venovaná zvýšeniu poznatkov o fungovaní komplexnej regulačnej siete transkripčných faktorov v samčom gametofyte *Arabidopsis thaliana*. Transkripčné faktory sú riadiacou jednotkou mnohých významných zmien nielen v rastlinnom organizme a sú zodpovedné za ich správny časový a priestorový priebeh. Ich odhalenie vrátane ich podrobnej funkčnej charakterizácie je dôležitou súčasťou nášho poznania. Okrem vyššie spomenutej snahy, ďalšou úlohou dizertačnej práce bolo vytvorenie inovatívneho konceptu prezentácie a hodnotenia dostupných expresných dát pochádzajúcich z DNA microarray čipov a prevedenie tohto prístupu do praxe vo forme on-line databázy a hodnotiacich nástrojov pre tieto expresné dáta.

Výsledky mojej dizertačnej práce je možné zhrnúť do nasledujúcich bodov:

1. Bola vytvorená on-line sprístupnená databáza nazvaná Arabidopsis Gene Family Profiler (arabidopsisGFP, <http://agfp.ueb.cas.cz/>). Táto databáza vznikla za účelom poskytnutia nového nástroja pre prezentáciu transkriptomických dát, ktorý umožní užívateľovi rýchly a intuitívny spôsob ich zobrazenia pomocou virtuálnej rastliny. Virtuálna rastlina využíva inovatívny koncept "od jednoduchému k zložitému", ale zároveň ponúka užívateľovi aj tradičné možnosti zobrazenia expresných dát. Naša databáza môže slúžiť ako referenčná príručka expresie jednotlivých génov a génových rodín v rastline *Arabidopsis thaliana* za fyziologických podmienok v rôznych časových obdobiach života rastliny a s ohľadom na jej orgány, pletivá či jednotlivé bunky.

2. Ďalším výstupom mojej dizertačnej práce bola analýza siete neskorých transkripčných faktorov regulujúcich správny vývin samčieho gametofytu po druhej peľovej mitóze (PMII). *In-silico* identifikácia a výber týchto transkripčných faktorov bol zavŕšený genotypovým a fenotypovým hodnotením zrelých peľových zŕn jednotlivých T-DNA inzerčných línií s vyradenou funkciou rozličných transkripčných faktorov. Celkovo som analyzovala 37 T-DNA línií, ktoré prezentovali 21 neskorých transkripčných faktorov a zastupovali rôzne génové rodiny (C2H2 zinc finger, bZIP proteínová rodina, MADS-box proteínová rodina a ďalšie). Našla som a popísala niekoľko transkripčných faktorov, ktorých inzerčná mutácia spôsobila výrazné zmeny na vzhľade peľového zrna (napr. mŕtve peľové zrná, zvýšený počet peľových zŕn s dvoma alebo jedným jadrom a ďalšie

40 typy odchýlok). K potencionálnym kandidátom pre nájdenie ďalších peľovo špecifických regulátorov vývinu v rôznych metabolických či signálnych cestách patria At2g40620 gén (bZIP proteín), At3g10470 gén (C2H2 zinc finger proteín), At3g57390 gén (MADS-box proteín), At4g05330 gén (C2H2 zinc finger proteín), At5g54680 gén (bHLH proteín) alebo At1g35490 gén (bZIP proteín).

3. Ďalším výstupom vo forme článku, ktorý prezentujem v tejto dizertačnej práci je funkčná charakterizácia *atbZIP34* mutanta. Na tejto práci som sa podieľala fenotypovou analýzou zrelých peľových zŕn a jej vyhodnotením. *atbZIP34* mutant bol odhalený v priebehu výskumu siete transkripčných faktorov v samčom gametofyte *Arabidopsis thaliana*. Jeho zrelé peľové zrná vykazujú celý rad odchýlok pozorovaných na úrovni fluorescenčnej a elektrónovej mikroskopie, napríklad defekty v tvare a forme exiny či redukovaný endomembránový systém. Na základe dostupných výsledkov mojej kolegyne Antónie Gibalovej, prvej autorky príslušnej publikácie a ďalších členov autorského kolektívu je predpokladaná úloha *AtbZIP34* faktora v správnom formovaní exiny a jeho zapojenie v regulácii lipidového metabolizmu a/alebo bunkového transportu. Ďalšia analýza transkripčného faktora *AtbZIP34* je predmetom dizertačnej práce Antónie Gibalovej.

4. Moja predchádzajúca analýza transkripčných faktorov (viď odstavec 2) odhalila zaujímavú T-DNA líniu, ktorá vykazovala vyšší podiel mŕtvych peľových zŕn a ďalších odchýlok vo fenotype zrelých peľových zŕn v porovnaní s divokými rastlinami

*Arabidopsis thaliana*. Jednalo sa o líniu SAIL\_1168\_C11, ktorá obsahuje inzerciu v géne At1g70790. Moju pôvodnú predstavu, že ide o transkripčný faktor C2H2 potvrdenú dostupnými databázami transkripčných faktorov som následnými *in-silico* analýzami nepotvrdila. Pomocou bioinformatických nástrojov som v tomto géne odhalila len C2 doménu, čo aspoň zatiaľ jednoznačne vylučuje jeho funkciu ako transkripčnej regulačnej jednotky. Moje ďalšie testy, ktoré už nie sú predmetom predloženej dizertačnej práce budú zamerané na definitívne vylúčenie alebo nájdenie novej DNA väzbovej domény. Výstupom tejto časti dizertačnej práce je funkčná charakterizácia At1g70790 génu, ktorý sme vzhľadom na zvýšený počet mŕtvych peľových zŕn nazvali *DEPOLL* (DEath POLLen grains) gén. Výsledkom môjho skúmania bolo zistenie, že bielkovinový produkt *DEPOLL* génu je zodpovedný za správne utváranie intiny a/alebo funkčného prepojenia plazmatickej membrány a steny peľového zrna. Následná analýza expresných dát *depoll* peľových zŕn pochádzajúcich z DNA čipu odhalila niekoľko skupín génov s potvrdeným alebo predpokladaným vzťahom k metabolizmu steny peľového zrna (lipid transferové proteíny, polygalakturonázy, invertázy/pektín metylesterázové inhibičné proteíny, xyloglukán endotransglukozylázy/hydrolázy). Výskum týchto génov predstavuje ďalší potenciál pre nájdenie špecifických komponentov nevyhnutných pre správne utváranie intiny peľového zrna vrátane jeho funkčného prepojenia s plazmatickou membránou. V neposlednom rade bude mojou ďalšou úlohou zistenie zapojenia a funkcie *DEPOLL* proteínu s C2 doménou v konkrétnych metabolických a/alebo signálnych cestách.