

ABSTRAKT

Tubulin je základní stavební jednotkou mikrotubulů, které zajišťují vnitrobuněčný transport, morfologické změny, propojení proteinů metabolických drah, segregaci chromozómů během mitózy a mnohé další nezbytné procesy v rostlinných buňkách. Lokalizace tubulinu vzhledem k jádru je však přísně kontrolována a během interfáze se v jádře tubulin běžně nevyskytuje. Jak jsme dříve ukázali, jednou z výjimek přítomnosti tubulinu v jádře je chladový stres. Zároveň jsme v molekulách tubulinů odhalili několik rostlinně specifických jaderných exportních sekvencí (NES): jednu v α -tubulinu a dvě v β -tubulinu.

V této práci jsem zjistil, že mutace obou funkčních NES v β -tubulinu zároveň způsobuje slabou akumulaci tohoto proteinu v jádrech. Fenotyp transgenních rostlin exprimujících β -tubulin s mutacemi však pravděpodobně není přítomností mutovaného proteinu ovlivněn. Vliv exprese mutovaných β -tubulinů byl sledován i u buněk kultury *Nicotiana tabacum* BY-2. Exprese β -tubulinů nesoucích mutace v jednom z NES (NES3) či v obou NES způsobuje změny v dělivé aktivitě buněk, zatímco mutace v NES2 vliv nemá.

Dále bylo zjištěno, že chlad 0°C nezpůsobuje masivní akumulaci tubulinu v jádrech rostlinných buněk v kontextu celých rostlin *Arabidopsis thaliana*, čímž jsou doplněna naše dřívější zjištění o akumulaci tubulinu v jádrech chladem ošetřených rostlinných suspenzních buněk.

Ve snaze objasnit mechanismus exportu β -tubulinu z jádra jsme testovali vliv inhibitoru jaderného exportu leptomycinu B. Bylo zjištěno, že růst suspenzních buněk BY-2 byl spolehlivě zastaven, avšak růst rostlin *Arabidopsis thaliana* nebyl vůbec ovlivněn. Důvody odolnosti rostlin *Arabidopsis thaliana* vůči tomuto inhibitoru jsou diskutovány.

Testována byla též funkčnost jaderných exportních sekvencí α - a β -tubulinu ve fúzi s GFP v živočišných buňkách HeLa. Bylo zjištěno, že použitá forma GFP nebyla vhodná pro expresi v buňkách HeLa.