

SOUHRN

Mikrotubuly (MTs) hrají zásadní roli ve vnitřní organizaci buňky a vnitrobuněčném transportu, v regulaci polarity, pohyblivosti a přenosu signálů i v buněčném dělení a diferenciaci. MTs vytvářejí složité struktury, které jsou díky jejich dynamické povaze schopné rychlé reorganizace dle potřeb buňky. Dynamika, stabilita a prostorové uspořádání MTs jsou regulovány mnoha faktory. Jedním z nich jsou proteiny regulující MTs. V této práci jsme se zabývali funkční charakterizací tří proteinů regulujících MTs: Ca^{2+} -senzoru STIM1, spastinu, proteinu štěpícího MTs, a γ -tubulinu, který je zásadní pro nukleaci MTs.

Zjistili jsme, že aktivace žírných buněk kostní dřene (BMSCs) vede ke tvorbě výběžků cytoplasmatické membrány, které obsahují MTs. Tvorba těchto MT výběžků je závislá na transportu extracelulárních Ca^{2+} iontů do buňky, který je řízen proteinem STIM1 lokalizovaným na endoplasmatickém retikulu. STIM1 se váže na MTs a potlačení jeho exprese zabraňuje tvorbě MT výběžků. To naznačuje, že Ca^{2+} ionty mohou hrát roli při regulaci MTs. Jelikož snížení exprese STIM1 způsobuje také poruchy chemotaxe, popsané MT výběžky mohou být hypoteticky důležité pro vnímání vnějších signálů.

Glioblastoma multiforme je nejčastější a nejagresivnější maligní primární nádor mozku u člověka, jehož možnosti léčby jsou dosud velmi omezené. Ukázali jsme, že koncentrace proteinu spastinu, který katalyzuje štěpení MTs, je zvýšená u gliomů a glioblastomových buněčných linií a že jeho množství se zvyšuje se vzrůstající malignitou nádoru. Snížení exprese spastinu v glioblastomové linii vede k významnému snížení jejich pohyblivosti a zároveň ke zvýšené proliferaci. Ovlivnění funkce spastinu v buněčné migraci a proliferaci může potenciálně vést k zavedení nových přístupů k léčbě glioblastomů.

Jako první jsme ukázali, že klíčový protein pro nukleaci MTs γ -tubulin je přítomen v jadéřkách různých typů buněk. Pomocí hmotnostní spektrometrie jsme v buněčném jádře identifikovali protein C53, který interaguje s γ -tubulinem. Zjistili jsme, že γ -tubulin může modulovat funkci C53 v G2/M kontrolním bodu po jeho aktivaci poškozením DNA. Dále jsme ukázali, že savčí γ -tubulin 2 je schopen nukleovat MTs a nahradit tak γ -tubulin 1. γ -Tubuliny jsou také rozdílně exprimované v průběhu časné myší embryogeneze i ve tkáních dospělého. Z našich výsledků vyplývá, že savčí γ -tubuliny jsou při nukleaci MTs funkčně ekvivalentní.