

U kvasinek a živočišných buněk se na polarizaci exocytózy významně podílí exocyst – oktamerní proteinový komplex, který je řízen pomocí Rab a Rho GTPáz. Nedávno byl exocyst popsán také jako funkční komplex podílející se na morfogenezi rostlin. Hála et al., (2008) objasnil zapojení tohoto komplexu do procesů růstu pylové láčky a elongace hypokotylu etiolovaných semenáčků, Fendrych et al., (2010) odhalil klíčovou roli exocystu při tvorbě nové buněčné přepážky, Kulich et al., (2010) podtrhl význam exocystu při tvorbě semenných obalů a Pečenková et al., (2011) popsala účast podjednotek exocystu v odpovědi rostliny k napadení patogenem. Všechny tyto procesy jsou úzce spjaty s polarizovanou sekrecí. Naše práce ukazuje zapojení exocystu v recyklaci auxinových přenašečů PIN.

Přímým měřením auxinového transportu jsme ukázali, že transport auxinu ke špičce kořene mutantu *exo70A1* je výrazně zpomalen. Na buněčné úrovni jsme odhalili akumulaci malého množství fúzního proteinu PIN2:GFP do kompartmentů odlišných od endosomů nesoucích VHAa1. Navíc byla v kořenech mutantů *exo70A1* a *sec8-m1* po působení brefeldinu A výrazně zpomalena recyklace fúzních proteinů PIN1:GFP a PIN2:GFP. Ještě výraznější recyklační defekt byl patrný po prodlouženém působení BFA. Tento přístup vyvolává transcytózu – tj. relokizaci PIN proteinů z BFA kompartmentů do apikální PM v buňkách kořene WT. Avšak v případě mutantů *exo70A1* a *sec8-m1* zůstávají fúzní proteiny PIN1:GFP a PIN2:GFP internalizovány v BFA kompartmentech. Zjistili jsme, že mutant *exo70A1* vykazuje defekt v recyklaci brasinosteroidového receptoru BRI1, obdobný jako v případě proteinů PIN1 a PIN2, což poukazuje na obecnější defekt při recyklaci bílkovin plazmatické membrány.

Lokalizace GFP značených podjednotek exocystu EXO70A1, SEC8 a SEC10 v plazmatické membráně je rezistentní k působení brefeldinu A, což indikuje, že studované podjednotky exocystu putují dráhou, která není citlivá k BFA. Naopak lokalizace těchto podjednotek je senzitivní k působení wortmanninu – inhibitoru modifikujícího membránové fosfolipidy. Tyto poznatky ukazují, že vazba studovaných podjednotek exocystu na PM by mohla záviset na fosfolipidovém složení membrány.

Pomocí koimunoprecipitace jsme ukázali, že EXO70A1 je přítomna v komplexu s ICR1. Tento protein funguje jako adaptor zprostředkovávající interakci aktivovaných ROP GTPáz se SEC3 podjednotkou exocystu (Lavy et al., 2007). Nedávno byl tento protein popsán při regulaci recyklace PIN1 proteinů (Hazak et al., 2010). To naznačuje, že by recyklaci PIN proteinů mohla být řízena společným působením exocystu, ICR1 a ROP GTPáz.

Zatímco EXO70A1 společně s dalšími podjednotkami exocystu je rozložena nepolárně v plazmatické membráně (Fendrych et al., 2010), EXO70G1 se lokalizuje přednostně do apikální a bazální plazmatické membrány buněk kořene *Arabidopsis*. Vzhledem k asimetrickému rozložení EXO70G1 můžeme hypotetizovat, že by se tato podjednotka mohla účastnit recyklace podobně distribuovaných protein, jako jsou například PIN protein. Jelikož *exo70G1* nevykazuje žádné odlišnosti ve fenotypu, bude potřeba připravit dvojité či trojitě mutanty *exo70G1*, *exo70G2* a *exo70A1* abychom odhalili funkci tohoto proteinu