

Abstrakt

Mikrotubulární cytoskelet se v rostlinných buňkách účastní mnoha důležitých dějů během dělení, růstu a vývoje. Výkon jeho četných funkcí je však umožněn interagujícími proteiny, které jednak modulují jeho dynamiku a organizaci, jednak umožňují funkční či strukturní propojení s dalšími složkami rostlinné buňky. Identifikace zprostředkovatelů těchto interakcí a jejich fyziologická funkce za specifických podmínek byla hlavní náplní předkládané dizertační práce.

Pomocí biochemických metod byly identifikovány membránové proteiny, které zároveň kosedimentují s mikrotubuly. Překvapivě mezi nimi nebyli žádní zástupci klasických konzervovaných proteinů asociovaných s mikrotubuly (MAP), ale jednalo se o enzymy, chaperony a rostlinně specifické proteiny. Pro další studium jeho role související s rostlinnými mikrotubuly byl vybrán identifikovaný heat-shock protein 90 (Hsp90_MT). Rekombinantní Hsp90_MT se váže přímo na mikrotubuly a dimery tubulinu *in vitro*. Za vazbu není zodpovědná jeho ATP-vazebná doména. Hsp90_MT v BY-2 kolokalizuje s mikrotubuly fragmoplastu i s kortikálními mikrotubuly a podílí se na obnově mikrotubulů po jejich depolymeraci způsobené chladem. Dále se Hsp90 účastní postupu buněčného cyklu, jeho inhibice u rostlinných buněk blokuje buněčný cyklus v G1 fázi.

Na základě literárního studia funkcí poměrně nedávno popsaných +TIP proteinů u živočichů byl pro další studium v rostlinných buňkách vybrán protein CLASP, který by mohl zprostředkovávat interakci mikrotubulů a aktinových filament. CLASP se v BY-2 nachází na mikrotubulech v průběhu celého buněčného cyklu. Kromě toho má prominentní lokalizaci na hranách přepážek mezi dvěma sousedícími buňkami, kde zřejmě interaguje s plazmatickou membránou. V kortikální oblasti byla místy pozorována i jeho kolokalizace s aktinovými filamenty. CLASP se zřejmě podílí na růstu a dělení rostlinných buněk.

Toxicita hlinitých iontů vede k zastavení růstu kořenů. Není doposud zcela jasné, co je jeho primární příčinou. K zastavení růstu kořenů dochází podle našich pozorování hydroponicky kultivovaných rostlin *Arabidopsis* již během 2 min působení Al. Al během 10 min inhibuje endocytózu, během prvních 30 min stabilizuje kortikální mikrotubuly a snižuje fluiditu plazmatické membrány. Po dodání benzyl alkoholu, který zkapalňuje membrány, se částečně obnovuje fluidita membrán a částečně i růst kořenů během prvních 30 min. Lze tedy učinit závěr, že ztráta fluidity membrán a inhibice endocytózy způsobené Al jsou jedny z prvních projevů jeho toxicity a že procesy spojené s plazmatickou membránou a membránami, jako např. transport váčků, jsou cíli raného působení Al toxicity.

