

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program:
Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor:
Molekulární biologie a biochemie organismů



Specifické funkce podjednotek Arp2/3 komplexu
Specific functions of Arp2/3 complex subunits

bakalářská práce

Kamila Fišerová

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Lukáš Fischer, Ph.D.

Praha, 2014

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 15. 5. 2014

Podpis

Poděkování

Děkuji svému školiteli RNDr. Lukáši Fischerovi, Ph.D. za trpělivost a cenné rady při vytváření této práce. Dále bych chtěla poděkovat všem, kteří mne při psaní této práce podporovali.

Obsah

Abstrakt	1
Abstract	2
Seznam použitých zkratk	3
1. Úvod.....	4
2. Aktin - struktura a funkce	5
2.1. Regulace polymerace aktinu u rostlin	5
3. Arp2/3 komplex.....	6
3.1. Regulace Arp2/3 komplexu.....	8
3.2. Podjednotky Arp2/3 komplexu	11
3.2.1. Arp2 podjednotka	11
3.2.2. Arp3 podjednotka	12
3.2.3. ArpC1 podjednotka	13
3.2.4. ArpC2 podjednotka	15
3.2.5. ArpC3 podjednotka	16
3.2.6. ArpC4 podjednotka	18
3.2.7. ArpC5 podjednotka	19
4. Závěr	20
5. Seznam literatury.....	21-27

Abstrakt

Aktin je jedním z nejrozšířenějších proteinů v živých organismech. Regulaci aktinového cytoskeletu zajišťuje mnoho mechanismů, jedním z regulátorů dynamiky aktinu u rostlin i živočichů je vysoce konzervovaný - Arp2/3 komplex. U všech organismů je tvořen dvěma velkými podjednotkami (Arp2 a Arp3) a pěti malými podjednotkami (ArpC1- ArpC5). Arp2/3 komplex řídí větvení aktinových filament v úhlu 70° . V předložené práci jsou popsány funkce jednotlivých podjednotek se zvláštním důrazem na ty, které jsou pro jednotlivé podjednotky specifické. Vytvořený souhrn překračuje hranice rostlinné říše a věnuje se i živočichům a kvasinkám, u kterých je tento komplex aktivně zkoumán, a je dostupná řada informací o mechanismech jeho regulace. V práci jsou shrnuty vzájemné interakce mezi podjednotkami i jejich interakce s regulátory Arp2/3 komplexu a dalšími proteiny. Některé z podjednotek jsou u některých organismů kódovány i více než jedním genem, v takových případech mohou mít tyto izoformy i rozdílné funkce. Arp2/3 komplex je pro živočichy nezbytný k životu, u rostlin mají však mutace v podjednotkách tohoto komplexu mírnější projevy. V rostlinách se Arp2/3 komplex uplatňuje především v rychlém a orientovaném růstu, mutace podjednotek se proto projevují typickým poškozením trichomů.

Klíčová slova - Arp2/3 komplex, aktin, interakční domény, mutace, modulace genové exprese

Abstract

Actin is one of the most abundant proteins in living organisms. Regulation of the actin cytoskeleton is provided by many mechanisms, one of the regulators of actin dynamics in plants and animals is highly conserved - Arp2/3 complex. In organisms it consists of two large subunits (Arp2 and Arp3) and five small subunits (ArpC1 - ArpC5). Arp2/3 complex controls actin filament branching at an angle of 70°. This thesis describes the functions of individual subunits with a special emphasis on those which are specific for individual subunits. This summarize exceeds the boundaries of the plant kingdom, and it also discusses animals and yeast, in which the complex is actively studied, and it is a lot of information available about the mechanisms of its regulation. The paper summarizes the interactions between the subunits and their interactions with regulators of Arp2/3 complex and other proteins. Some of the subunits are in some organisms encoded by, more than one gene in such cases, these isoforms may have different functions as well. Arp2/3 complex is for animals necessary for living, but in plants mutations in the subunits of the complex have moderate symptoms. In plants the Arp2/3 complex is used primarily in fast and oriented growth, mutations of subunits showing typical distorted trichomes.

Key words - Arp2/3 complex, actin, interaction domains, mutation, modulation of gene expression

Seznam použitých zkratek

ABA – abscisic acid
ABI – Abl-interactor
ABIL – Abi-like proteins
ABPs – actin binding proteins
ADF/cofilin – actin depolymerizing factor
Arp(C) – Actin-related protein (component)
BRICK1 – Bub1-related kinase 1
CKIP-1 – casein kinase 2-interacting protein 1
CP – capping protein
DOCK – Deducator of cytokinesis
GEF – guanine exchange factor
HSPC300 – haematopoietic stem progenitor cell 300
MAPKAPK2 – Mitogen-Activated Protein Kinase-Activated Protein Kinase 2
MTOC – microtubule-organizing center
NAPP – Nck-associated protein
NPFs – nucleation promoting factors
NTA – N-terminal Arp2/3 binding domain
Pak1 – p21-activated kinase1
PH doména – Pleckstrin homology domain
PIRP – p53-inducible mRNA protein
PKC – protein kinase C
SCAR – suppressor of cAMP receptor
Sop2 – suppressor of profilin 2
Sra1 – steroid receptor RNA activator
Rac1 – Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1
RHAMM – hyaluronan-mediated motility receptor
ROP – Rho proteins of plants
Tiam – T-lymphoma invasion and metastasis 1
TEAD – TEF family protein
VCA – verprolin-homology-central-acidic
WASP – Wiskott-Aldrich syndrome protein
WAVE – WASP family verprolin homology protein
WT – wild type
YAP – Yes-associated protein

1. Úvod

Za vnitřní dynamiku rostlinných i živočišných buněk je zodpovědný především aktinový cytoskelet (Dominguez a Holmes, 2011). Aktin je nezbytný pro řadu buněčných procesů, jako je pohyb váčků a organel nebo organizace vnitřní stavby buňky, podílí se na formování tvaru a polarizaci buňky. Pro správnou funkci aktinu je nezbytná jeho polymerace, proto jsou regulátory aktinového cytoskeletu tak intenzivně studovány. U rostlin se na polymeraci aktinu účastní několik regulátorů. Profilin, ADF/cofilin (actin depolymerizing factor), CP (capping protein) a vilin zajišťují polymeraci/depolymeraci na koncích již existujícího filamenta. Forminy a Arp2/3 komplex (Actin-related protein) řídí *de novo* polymeraci aktinových filament (Staiger a Blanchoin, 2006).

Již od roku 1994, kdy byl Arp2/3 komplex poprvé popsán u *Acanthamoeba* (Machesky et al., 1994) je intenzivně zkoumaným komplexem. Je jisté, že Arp2/3 komplex hraje u všech organismů důležitou roli v regulaci aktinového cytoskeletu. Přesto u rostlin mutace v jednotlivých podjednotkách nejsou na rozdíl od živočichů letální (Goley a Welch, 2006). Důvodem by mohlo být to, že u rostlin, jejichž buňky se nepohybují, není regulace dynamiky aktinového cytoskeletu tak důležitá a funkci Arp2/3 komplexu mohou částečně převzít další *de novo* regulátory aktinu jako jsou forminy.

Pro porozumění Arp2/3 komplexu je nutné znát detailně vnitřní strukturu komplexu a mechanismy regulace komplexu. V této práci jsou proto popsány interakce podjednotek Arp2/3 komplexu s jeho regulátory. U živočichů jsou to především regulátory z rodiny WASP (Wiskott-Aldrich syndrome protein) a cortaktiny (Weaver et al., 2003). Aktivaci rostlinného Arp2/3 komplexu zajišťuje komplex WAVE (WASP family verprolin homology protein), který je regulován ROP GTPázami (Rho proteins of plants; Basu et al., 2004; Szymanski et al., 2005). Velký prostor je v předložené práci věnován také popisu mutantů, a to jak u rostlin, tak u živočichů a případně i kvasinek. Právě díky mutacím v jednotlivých podjednotkách totiž byly odhaleny základní zákonitosti fungování komplexu a jejich další analýzy povedou k detailnějšímu poznávání mechanismů regulace i funkce celého komplexu i jeho podjednotek. V literatuře jsem ale nenašla žádné recentní články, které by shrnovaly informace o funkci jednotlivých podjednotek komplexu, ani u rostlin ani u živočichů, což bylo také důvodem k vytvoření této rešerše. Shromážděné údaje o podjednotkách u jiných skupin organismů by navíc mohly po fylogenetické analýze konzervovanosti sekvencí posloužit k vytipování míst na jednotlivých podjednotkách, jejichž cílená mutagenese by mohla vést k zjištění dalších důležitých údajů o funkci tohoto komplexu u rostlin.

2. Aktin – struktura a funkce

Aktin je globulární protein složený z cca 375 aminokyselin, s velikostí okolo 42 kDa. U eukaryotických buněk je jedním z nejhojnějších proteinů. Účastní se řady interakcí a je vysoce konzervovaný napříč organismy. Aktin je kódován genovými rodinami. Vyskytuje se ve dvou formách - buď ve formě monomeru (G-aktin) nebo filament (F-aktin). Vzhledem ke klíčové úloze aktinu při fungování buněk i celých organismů je také část obranných toxinů cílená právě na aktinový cytoskelet (Dominguez a Holmes, 2011) – např. latrunculin a cytochalasin, které brání polymeraci a faloidin, který naopak brání depolymeraci aktinových filament (Cooper et al., 1987; Yarmola et al., 2000).

G-aktin polymeruje do vláken o průměru 7-9nm, tvořících pravotočivou šroubovici. Aktinová filamenta umožňují různé pohyby v buňce. Přestože na pohled se rostliny zdají nepohyblivé, jejich intracelulární struktury jsou velmi dynamické. Aktin zprostředkovává především pohyb organel a váčků, podílí se na endocytóze a exocytóze, na organizaci vnitřní stavby buňky a na utváření tvaru a polarizaci buněk. Polarizace buněk je u rostlin důležitá např. při růstu kořenových vlásků, pylové láčky nebo trichomů (Staiger a Blanchoin, 2006). U živočichů aktinový cytoskelet navíc zprostředkovává migraci buněk a v interakci s myozinem zajišťuje pohyb svalstva ve formě myofibril (Dominguez a Holmes, 2011).

Poměr aktinu ve formě monomerní a ve formě filament není vždy stejný a liší se např. mezi rostlinami a kvasinkami. Zatímco u rostlin je ve formě filament jen 1-10% aktinu (Gibbon et al., 1999), u kvasinek tvoří většina přítomného aktinu filamenta (Karpova et al., 1995). To poukazuje na rozdílné potřeby buněk a rozdílný způsob regulace aktinu.

2.1. Regulace polymerace aktinu u rostlin

Přesná regulace dynamiky aktinového cytoskeletu je nezbytná pro řadu buněčných procesů, proto ji zprostředkovává množství proteinů, které s aktinem interagují, tzv. ABPs (actin binding proteins). U vyšších rostlin není popsáno mnoho těchto regulujících proteinů, jsou to profilin, ADF/cofilin, CP, villin, forminy a Arp2/3 komplex (Staiger a Blanchoin, 2006).

Profilin může aktin jak aktivovat, tak inhibovat. V buňce se vyskytuje ve vysoké koncentraci. Navázáním G-aktinu, brání jeho spontánní polymeraci. Profilin také udržuje množství ATP-aktinu, který se využívá při aktivaci aktinu, kdy je nutná jeho rychlá polymerace. Podílí se tak na vzniku aktinových filament, která jsou nutná pro prodlužování buněk. (Pantaloni a Carlier, 1993; Staiger et al., 1997)

ADF/cofilin spolupracuje s profilinem, způsobuje depolymeraci aktinového filamenta z minus konce. Váže se na ADP F-aktin (Blanchoin a Pollard, 1998).

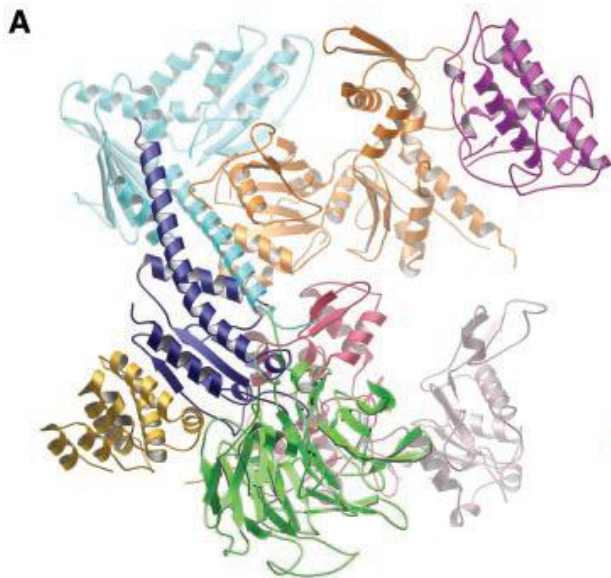
CP je heterodimer, vázající filamenta na plus konci, inhibuje polymeraci aktinu. Jeho aktivitu neovlivňují vápenaté ionty jako u profilinu, ale je ovlivněn fosfatidilinositol-4,5-bifosfátem. CP je jedním z hlavních regulátorů aktinu u vyšších rostlin. Spolu s profilinem udržuje malé množství F-aktinu u rostlin (Huang et al., 2003).

Villin, který je regulovaný vápenatými ionty, indukuje tvorbu svazků z aktinových filament (Yokota et al., 2005).

De novo polymeraci aktinu zajišťují u rostlin forminy a Arp2/3 komplex. Forminy váží profilin a zajišťují tak polymeraci aktinu, bez větvení. Mají v rostlinách více než dvacet izoform (Deeks et al., 2004).

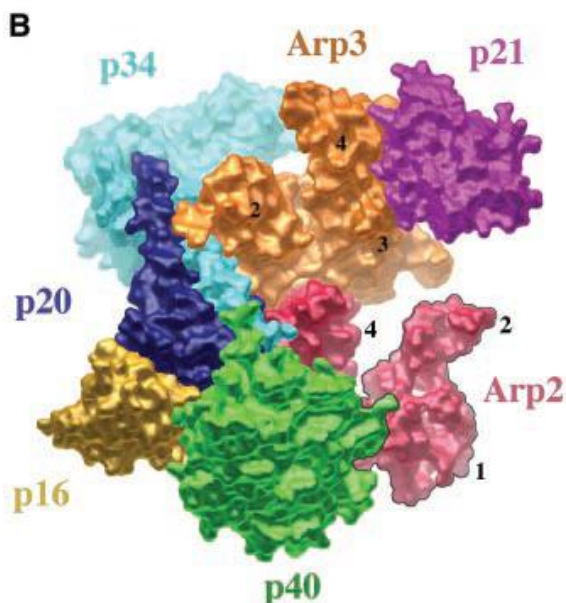
3. Arp2/3 komplex

Arp2/3 komplex řídí tvorbu nového aktinového filamenta na již existujícím vlákně, čímž dochází k větvení filamenta v konstantním úhlu 70° . Celková velikost tohoto komplexu je 220 kDa. Je tvořen dvěma velkými podjednotkami – Arp2 a Arp3 – a pěti menšími podjednotkami ArpC1-C5 (actin-related protein component) o velikosti 16-41 kDa viz Obr. 1. Podle dvou velkých podjednotek, které jsou homologní aktinu, dostal Arp2/3 komplex svoje jméno (Pollard a Beltzner, 2002). Pro přehled užívaných názvů a synonym podjednotek viz Tab. 1.



Obr. 1 - Strukturní obrázek celého Arp2/3 komplexu. A) stuhový model s vyznačením sekundárních struktur a B) model povrchu.

Barevně jsou od sebe odlišené jednotlivé podjednotky – Arp2 růžová, Arp3 oranžová, ArpC1 (p40) zelená, ArpC2 (p34) světle modrá, ArpC3 (p21) fialová, ArpC4 (p20) tmavě modrá a ArpC5 (p16) žlutá. Číselně jsou popsány jednotlivé úseky u Arp2 a Arp3 podjednotek.



(Převzato a upraveno podle Robinson et al., 2001)

Název podjednotky	Další používané názvy				
Arp2	wrm				
Arp3	dis1				
ArpC1	Arc40	p41, p40	arx-3	Sop2	
ArpC2	Arc34	p34-Arc	PR2446	PNAS-139	dis2
ArpC3	Arc21	p21-Arc			
ArpC4	Arc20	p20-Arc	p20-Arp		
ArpC5	Arc16	p16-Arc	crk		

Tab. 1 - Přehled názvů podjednotek Arp2/3 komplexu a jejich synonym.

Arp2/3 komplex byl poprvé popsán u *Acanthamoeba*, jako komplex vázající profilin a regulující nukleaci aktinových filament (Machesky et al., 1994). Brzy po objevení se stal centrem zájmu právě díky velkému vlivu na regulaci cytoskeletu. Později byl identifikován i v savčích a rostlinných buňkách. Všechny podjednotky Arp2/3 komplexu u eukaryot vykazují mezi sebou značnou podobnost. Struktura a funkce tohoto komplexu je v evoluci konzervovaná (Machesky et al., 1997).

Mutace v jednotlivých podjednotkách Arp2/3 komplexu se u rostlin nejvíce projevují ve fázích, kdy je nutný rychlý a orientovaný růst (Mathur et al., 2004). Ze skupiny genů, identifikovaných na základě fenotypových analýz náhodných změn listů u *Arabidopsis thaliana*, bylo 8 seskupeno do skupiny DISTORTED, vykazující společný fenotyp ve zkroucení trichomů, což naznačuje špatnou funkci aktinového cytoskeletu. Mezi ně patří geny - *DISTORTED-1*, *DISTORTED-2*, *GNARLED*, *KLUNKER*, *SPIRRIG*, *WURM*, *CROOKED*, *ALIEN* (Hulskamp et al., 1994) viz Tab. 2. Později bylo objeveno, že většina z těchto genů kóduje právě podjednotky Arp 2/3 komplexu nebo jeho regulátory. Společným znakem pro mutace v jednotlivých podjednotkách je tedy defekt v morfogenezi trichomů.

Název genu	Mutant - zkratka	Kóduje protein	Citace
<i>DISTORTED-1</i>	<i>dis1</i>	Arp3	Mathur et al., 2003a
<i>DISTORTED-2</i>	<i>dis2</i>	ArpC2	Saedler et al., 2004a
<i>GNARLED</i>	<i>grl</i>	Nap1	Brembu et al., 2004
<i>KLUNKER</i>	<i>klk</i>	Sra1	Saedler et al., 2004b
<i>SPIRRIG</i>	<i>spi</i>	WD40/BEACH domain	Saedler et al., 2009
<i>WURM</i>	<i>wrm</i>	Arp2	Mathur et al., 2003a
<i>CROOKED</i>	<i>crk</i>	ArpC5	Mathur et al., 2003b
<i>ALIEN</i>	<i>ali</i>	ArpC4?	Brembu et al., 2005?

Tab. 2 - Seznam genů ze skupiny DISTORTED (Hulskamp et al., 1994), jejich zkratky a proteiny, které kódují. V případě *ALIEN* je přiřazení k proteinu spekulativní, souvislost s ArpC4 podjednotkou nebyla v uvedené práci jednoznačně prokázána).

Pro celý Arp2/3 komplex platí, že mutace v jednotlivých podjednotkách nejsou pro rostlinné buňky tak zásadní, na rozdíl od *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* i lidských HeLa buněk, u kterých má mutace pro buňky výrazné až letální důsledky (Goley a Welch, 2006). To ukazuje na jistou úroveň redundance – možné zastoupení jinými aktivátory aktinu u rostlin, případně to, že role nukleace aktinu není u rostlin tak významná jako u živočichů.

3.1. Regulace Arp2/3 komplexu

REGULACE Arp2/3 KOMPLEXU U ŽIVOČICHŮ

Živočišný Arp2/3 komplex je regulován proteiny z rodiny WASP a rodinou cortaktinů. Stejně jako WASP jsou i cortaktiny mezi živočišnými organismy konzervovány (Weaver et al., 2003).

WASP

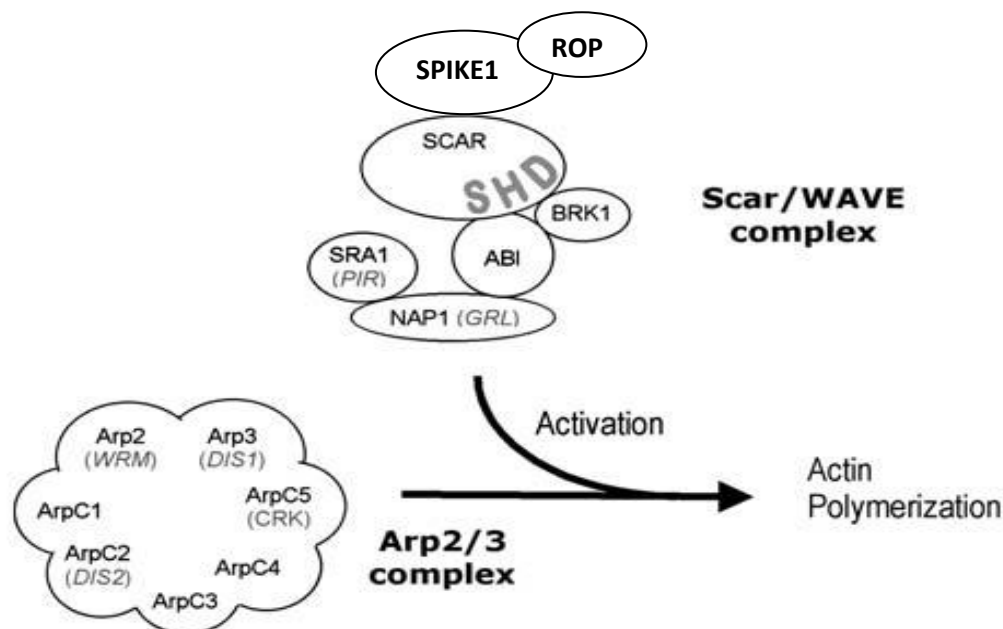
Nukleární aktivitu celého Arp2/3 komplexu zprostředkovávají především proteiny z rodiny WASP, které jsou hlavními aktivátory tohoto komplexu. Do této rodiny patří WASP proteiny a SCAR/WAVE proteiny (Wastneys a Galway, 2003). U kvasinek a savčích buněk se WASP ke komplexu váží přes specifickou doménu VCA (verprolin-homology-central-acidic), označovaná i jako WA doména (Wiskott-Aldrich; Pan et al., 2004). Doména VCA se skládá ze tří oblastí – V = actin binding region, C = central connecting region a A = acidic region. Právě V oblast váže a přináší aktinové monomery na Arp2/3 komplex (Boczowska et al., 2008). VCA doména má homologii s VCA doménou proteinu SCAR/WAVE (suppressor of cAMP receptor) i u rostlinných buněk (Uhrig et al., 2007).

Cortaktiny

Cortaktiny obsahují NTA (N-terminal Arp2/3 binding domain) doménu, přes kterou váží Arp2/3 komplex. Stejně jako u WASP se na Arp2/3 komplex váže A (acidic) doména, zřejmě pouze přes Arp3 (Weaver et al., 2002; Weaver et al., 2003).

REGULACE Arp2/3 KOMPLEXU U ROSTLIN

U rostlin je hlavním aktivátorem Arp2/3 komplexu WAVE komplex. WAVE komplex je konzervovaný u rostlin a živočichů a skládá se z pěti podjednotek - SCAR/WAVE, Sra1 (PIRP/PIR121), NAPP, BRICK (HSPC300) a ABI (Szymanski et al., 2005). Tento komplex je regulován pomocí ROP GTPáz, které jsou specifické pro rostliny (Basu et al., 2004). U *Arabidopsis thaliana* byly identifikovány čtyři geny pro SCAR/WAVE označované jako *AtSCAR1* - *AtSCAR4* (Frank et al., 2004). Stejně tak ABI (Abl-interactor), který je nejméně konzervovaným z rostlinných regulátorů, je kódován čtyřmi geny - *ABIL1-ABIL4* (Basu et al., 2005). Ostatní regulátory - BRK1, SRA1 a NAP1 - jsou kódovány pouze jedním genem (Frank et al., 2004). Schéma regulace Arp2/3 komplexu u rostlin viz Obr. 2.



Obr. 2 – Stručné schéma nukleace aktinového filamenta. WAVE komplex je aktivován pomocí GEF (guanine exchange factor) SPIKE1 a ROP GTPáz, komplex WAVE poté aktivuje Arp2/3 komplex, který následně řídí polymeraci aktinu. (Převzato a upraveno podle Zhang et al., 2005)

SCAR/WAVE

SCAR/WAVE je u *Arabidopsis thaliana* kódován čtyřmi geny *AtSCAR1-AtSCAR4*, SCAR2 je kódován genem *DISTORTED-3*. Mutanti *dis3* vykazují fenotyp zkroucených trichomů (Basu et al., 2005), tedy SCAR2 není plně zastupitelná dalšími paralogy. SCAR/WAVE funguje jako pozitivní regulátor Arp2/3 komplexu. SCAR/WAVE interaguje s BRICK1 (Bub1-related kinase 1; Frank et al., 2004) a ABI proteinem (Basu et al., 2005).

Sra1/PIRP (steroid receptor RNA activator protein /p53-inducible mRNA protein)

Sra1 neboli PIRP je protein, který se účastní regulace Arp2/3 komplexu, homolog živočišného PIRP byl nalezen i u rostlin (Brembu et al., 2004). Později bylo zjištěno, že *AtSRA1* je kódován genem *KLUNKER*, který patří do skupiny genů vykazujících fenotyp zkroucených trichomů a narušenou organizaci aktinového cytoskeletu. (Saedler et al., 2004b)

BRICK1/HSPC300 (haematopoietic stem progenitor cell 300)

BRICK1 (BRK1) neboli HSPC300 je vysoce konzervovaný protein u rostlin i živočichů. Je s velikostí 8 kDa nejmenší z podjednotek WAVE komplexu. Mutanti *brk1* vykazují defekt v organizaci F-aktinu a polaritě buněčného růstu (Frank a Smith, 2002). Mutací v BRICK1 vznikají morfologická poškození v buňkách, která souvisí se špatnou funkcí aktinového cytoskeletu. Podobně jako u Arp2/3 komplexu bylo pozorováno i poškození trichomů. Bylo potvrzeno, že se BRK1 účastní regulace Arp2/3 komplexu. BRK1 brání také degradaci SCAR (Djakovic et al., 2006). BRICK1 interaguje s Arp2/3 komplexem přes podjednotky ArpC3 a Arp3 (Uhring et al., 2007).

NAPP (Nck-associated protein)

Bylo zjištěno, že mutanti v NAPP jsou identičtí s mutanty *grl*, NAPP je tedy u *Arabidopsis thaliana* kódován genem *GNARLED*. To poukazuje na jeho funkci v aktivaci Arp2/3 komplexu, tyto mutanti vykazují podobný fenotyp zkroucených trichomů a defekt ve vývoji buněk v epidermis jako mutanti v podjednotkách Arp2/3 komplexu (Brembu et al., 2004).

ABI

ABI, u rostlin ABIL (ABI-like proteins) je u *Arabidopsis thaliana* kódován čtyřmi geny (*ABIL1-ABIL4*) a účastní se regulace Arp2/3 komplexu. ABIL1 interaguje se SCAR/WAVE u rostlin skrze specifickou doménu, na živočišný SCAR/WAVE nebyl protein ABI schopný se navázat (Basu et al., 2005). Všechny čtyři ABIL jsou spojeny s BRICK1, se kterou spolupracují. S Nap1 interagují dva z ABIL proteinů (Uhring et al., 2007). Při umlčení exprese *ABI* (*ABIL3*) RNA interferencí byly pozorovány poškozené trichomy a změny v organizaci aktinového cytoskeletu, podobně jako u mutantů v Arp2/3 komplexu. To poukazuje na funkci ABI, jako aktivátoru tohoto komplexu. Byla pozorována také asociace ABI s mikrotubuly (Jörgens et al., 2010).

SPIKE1

SPIKE1 patří do genové rodiny DOCK (Dedicator of cytokinesis), proteiny z této rodiny spolu sdílí konzervovanou doménu na C-konci (Qui et al. 2002). Proteiny z rodiny DOCK se účastní signalizace, fungují jako GEF u Rho GTPáz (Côté a Vuori, 2002).

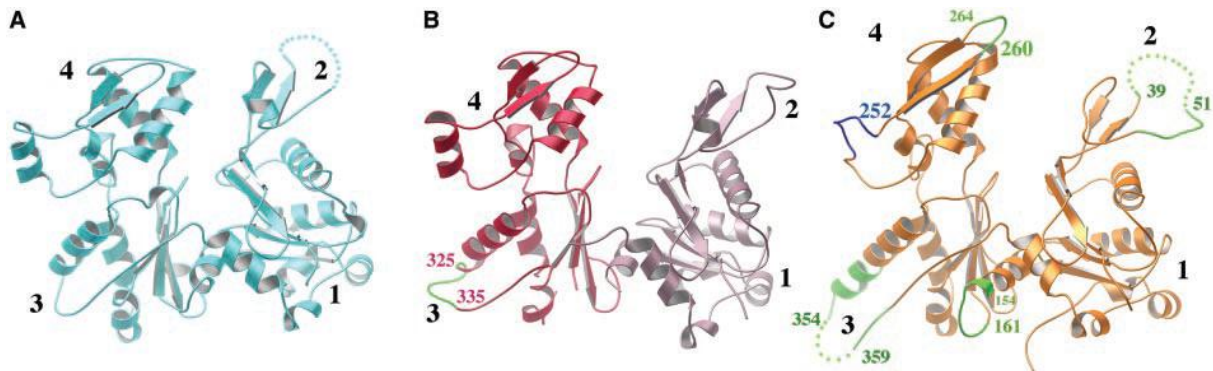
Už podle Qui et al. (2002) bylo předpokládáno, že se SPIKE1 účastní v reorganizaci aktinového cytoskeletu. Mutanti ve SPIKE1 vykazovali typický defekt v trichomech a zmenšené výběžky pokožkových buněk.

Bylo zjištěno, že SPIKE1 zřejmě působí jako GEF u ROP, který reguluje proteiny SCAR/WAVE u rostlin a účastní se signalizace. Bylo prokázáno, že SPIKE1 přímo interaguje s ABI proteiny a SCAR/WAVE proteiny u *Arabidopsis thaliana* a je tedy zřejmě součástí WAVE komplexu u rostlin (Uhring et al., 2007). Vazba na ROP rostlin je specifická, na živočišný Rac nebyla vazba SPIKE1 pozorována (Basu et al., 2008)

3.2. Podjednotky Arp2/3 komplexu

3.2.1. Arp2 podjednotka

Arp2 je spolu s Arp3 homologní k aktinu, s velikostí okolo 45 kDa je druhou největší podjednotkou Arp2/3 komplexu. Tvoří ji čtyři úseky (subdomény), tyto úseky sdílí homologii s aktinem a mají podobnou sekundární i terciální strukturu (viz Obr. 3). Arp2 podjednotka je v komplexu spojena s podjednotkami Arp3, Arpc1, Arpc4 a Arpc5 (Robinson et al., 2001).



Obr. 3 - Porovnání struktury aktinu (A) s podjednotkami Arp2 (B) a Arp3 (C). Rozdílné části oproti aktinu jsou vyznačeny zeleně. Všechny tyto struktury obsahují čtyři úseky. (Převzato od Robinson et al., 2001)

Funkce Arp2 v živočišné říši

Pro správnou aktivaci Arp2/3 komplexu pomocí NPFs (nucleation promoting factors) je nutná fosforylace Arp2/3 komplexu. Tato fosforylace probíhá na více podjednotkách a je nutná pro navázání minus konce (pointed end) nukleovaného aktinového filamenta. Fosforylovány jsou podjednotky Arpc1 (treonin 21), Arpc5 (serin 77) a Arpc2. Právě fosforylace na konzervované části Arp2 podjednotky (na evolučně konzervovaných zbytcích treoninu 237 a treoninu 238) je u eukaryotických buněk klíčová. Tyto fosforylované threoninové zbytky totiž tvoří solné můstky se zbytky argininu na Arpc4, tím se zřejmě stabilizuje celý Arp2/3 komplex (LeClaire et al., 2008).

Funkce Arp2 v rostlinné říši

Arp2 je u *Arabidopsis thaliana* kódován genem *WURM*, jehož mutace rovněž vykazují fenotyp poškozených trichomů. U mutantů v Arp2 podjednotce byly pozorovány i další defekty v epidermis, jejíž buňky jsou méně uspořádané a epidermální buňky mají menší výběžky. Dále byl pozorován až třikrát kratší hypokotyl oproti WT (wild type). Bylo pozorováno také narušení fúze vakuol u těchto mutantů. Místo jedné velké vakuoly bylo v buňkách rozmístěno několik menších. To by mohlo naznačovat účast Arp2/3 komplexu v organizaci vakuolárního systému. Naopak v růstu kořenových vlásků a klíčení pylové láčky nebyly pozorovány výrazné defekty (Mathur et al., 2003a).

Mutanti v Arp2 i v Arp3 podjednotce u *Arabidopsis thaliana* vykazují poruchy i ve funkci průduchů. Byla pozorována menší průduchová štěrbina u těchto mutantů (Li et al., 2013). Na regulaci průduchů se podílí i vakuola, několik menších spolu fúzuje a vzniká tak jedna velká vakuola během otvírání průduchů. Při zavírání průduchů se naopak velká vakuola rozpadá na několik menších (Gao et al., 2005). Právě poškození fúze vakuol ve svěracích buňkách průduchů vykazovali mutanti *arp2* i *arp3*. Buňky měly buď nedokončenou fúzi vakuol, nebo bylo pozorováno více menších vakuol (Li et al., 2013). Dále byla sledována organizace aktinu ve svěracích buňkách u mutantů *arp2* a *arp3*. U WT rostlin *Arabidopsis thaliana* jsou filamenta při uzavření průduchů rozmístěna náhodně. Při otvírání průduchů mají filamenta radiální orientaci (Wang et al., 2008). Oproti tomu během otvírání u mutantních buněk (*arp2* a *arp3*), jsou aktinová filamenta umístěna na koncích svěracích buněk a okolo jejich jader. Byly pozorovány také silnější svazky aktinových filament (Li et al., 2013).

3.2.2. Arp3 podjednotka

Arp3 je s velikostí 47 kDa největší podjednotkou Arp2/3 komplexu. Je tvořena stejně jako Arp2 podjednotka čtyřmi subdoménami a má homologii s aktinem viz Obr. 3. Arp3 je spojena s podjednotkami Arp2, ArpC1 a ArpC3 (Robinson et al., 2001).

Funkce Arp3 v živočišné říši

U *Drosophila* má Arp3 dvě izoformy označované jako Arp3A a Arp3B, které jsou vzájemně identické ze 74 % a sdílí 83% podobnost (Hudson a Cooley, 2002).

Inzerční mutanti v Arp3 podjednotce vykazovali u *Drosophila* podobný fenotyp jako mutanti v ArpC1. Ve vajíčkách *Drosophila* byl u obou mutantů poškozený tzv. ring canal (struktura skrze kterou může procházet intracelulární materiál od podpůrných buněk do vznikajících buněk oocytů), byla poškozena jeho velikost a celistvost. Nejvíce byl ovlivněn ring canal spojující vzájemně podpůrné buňky (nurse cell) v ovariích (Hudson a Cooley, 2002).

I u lidských buněk byla objevena druhá izoforma Arp3, tato izoforma označovaná jako Arp3 β , vzniká zřejmě alternativním sestřihem transkriptu. Arp3 β sdílí 90% identitu s Arp3. Arp3 β byl pozorován především v mozku, v malém množství i ve svaly, slinivce a játrech, z čehož autoři usoudili na možnou specifickou funkci Arp3 β u nervových buněk (Jay et al., 2000).

U myších embryí hraje Arp3 významnou roli ve vývoji blastocysty. Rané stádium embryogeneze nevykazuje výrazné poškození při mutaci v Arp3 podjednotce. Ve stádiu blastocysty je už tato mutace letální (Vauti et al., 2007).

Funkce Arp3 v rostlinné říši

Projev absence Arp3 podjednotky je podobný jako u Arp2, dále je popsán fenotyp *arp3* mutantů. Arp3 je u *Arabidopsis thaliana* kódován genem *DISTORTED-1* vykazujícím fenotyp zkroucených trichomů. Hypokotyl je u těchto mutantů kratší v porovnání s WT. Dále byl pozorován defekt při fúzi vakuol (Mathur et al., 2003a). Podle Li et al. (2003) mají Arp3 mutanti také redukované výběžky (loby) pokožkových buněk. Mutace v Arp3 podjednotce nemá vliv na růst kořenových vlásků a klíčení pylové láčky.

U *arp3* mutantů (*dis1*) byly pozorovány prodloužené papily na trichomech, také byly detekovány mezery (gaps) mezi sousedními buňkami pokožky děložních listů (Le et al., 2003).

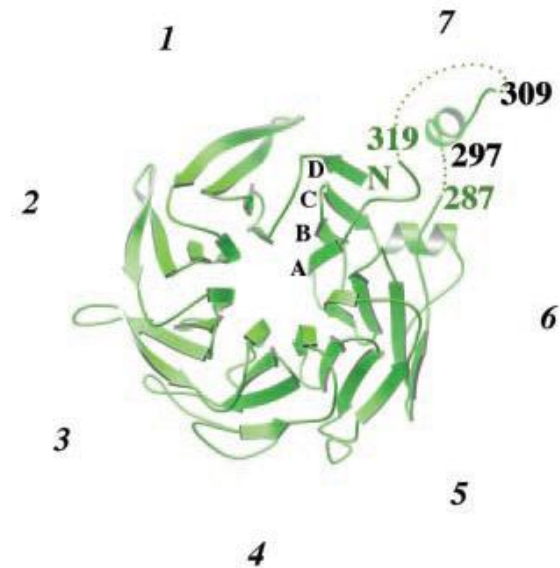
Mutanti v Arp3 podjednotce vykazují také poškození průduchů a vakuol ve svěracích buňkách podobně jako u Arp2 podjednotky (viz výše; Li et al., 2013).

U mutantů v Arp3 podjednotce (*dis1* mutantů) bylo pozorováno i ovlivnění gravitropismu (orientovaný růst ve směru gravitace) a fototropismu (růst za světlem). Arp3 ovlivňuje gravitropismus ve stonku a kořenech, ale ne v hypokotylu. Mutanti v Arp3 podjednotce mají také utlumenou fototropickou reakci stonku a hypokotylu. Arp3 se podílí i na pozitivním gravitropismu kořenů (Reboulet et al., 2010).

3.2.3. ArpC1 podjednotka

ArpC1 je největší z pěti podjednotek sekvenčně nepříbuzných aktinu a třetí největší podjednotkou celého komplexu. Velikost této podjednotky je 40-41 kDa. Terciární struktura ArpC1 je tvořena sedmi skládanými β listy uspořádanými dokola kolem centrální osy, které tvoří tzv. β -propeller (Obr. 4; Robinson et al., 2001).

Obr. 4 – Stužkový diagram ArpC1 podjednotky (p40) s vyznačeným C a N koncem proteinu. ArpC1 tvořený sedmi beta listy, vytvářející strukturu tzv. β -propeller. (Převzato a upraveno podle Robinson et al., 2001)



Funkce ArpC1 v živočišné říši

V živočišných buňkách se podjednotka ArpC1 vyskytuje ve dvou izoformách – ArpC1A a ArpC1B. Tyto izoformy se od sebe vzájemně sekvenčně liší a předpokládají se i funkční rozdíly. Vzhledem k odlišné velikosti, jsou také označovány jako p40-Arc (pro ArpC1A) a p41-Arc (ArpC1B; Welch et al., 1997). Předpokládá se, že ArpC1 se nepodílí na přímé interakci s aktinem a nukleaci nového vlákna, ale že hraje důležitou roli především v regulaci sestavení a udržování Arp2/3 komplexu. ArpC1 je také jednou z hlavních podjednotek komplexu, která se podílí na vazbě aktivátoru WASP (Gournier et al., 2001).

ArpC1A je důležitý i při navázání dalších proteinů, které regulují celý komplex. Jedním z těchto proteinů je CKIP-1 (Casein kinase 2-interacting protein 1), u něhož byl ArpC1A identifikován jako přímý vazebný partner. CKIP-1 je regulátorem kortikálního aktinu, který se váže na plasmatickou membránu přes svou PH doménu (Pleckstrin homology domain) a váže na sebe Arp2/3 komplex. CKIP-1 je nezbytný pro fúzi a elongaci myoblastů (prekurzorových buněk svalů). Bylo potvrzeno, že CKIP-1 je regulátorem aktinového cytoskeletu u *Danio rerio* i savčích buněk. Předpokládá se, že CKIP-1 ovlivňuje dynamiku aktinového cytoskeletu prostřednictvím regulace aktivity Arp2/3 komplexu (Baas et al., 2008).

Podle Vadlamudi et al. (2004) bylo zjištěno, že ArpC1B (p41-Arc) interaguje s Pak1 (p21-activated kinase1) v savčích buňkách zkoumaných *in vitro* i *in vivo*. ArpC1B funguje jako substrát pro Pak1, která je nezbytná pro správnou migraci savčích buněk. Pak1 fosforyluje ArpC1B na threoninu 21 a stimuluje tak celý Arp2/3 komplex.

ArpC1B byl u savčích buněk popsán také jako substrát a zároveň jako aktivátor Aurora A kinázy (Molli et al., 2010). Aurora A kináza je důležitá při dělení buňky, reguluje tvorbu vřeténka, vznik centrozómů a tím průběh mitózy (Berdnik a Knoblich, 2002). Potlačení exprese *Arpc1B* vedlo u většiny buněk ke zpoždění v nástupu do mitózy. To poukazuje na funkci ArpC1B v přechodu z S do G2/M fáze buněčného cyklu, zřejmě kvůli jeho vazbě s kinázou Aurora A (Molli et al., 2010).

ArpC1 u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*

ArpC1 plní velmi důležitou funkci při vazbě WASP proteinu přes doménu VCA. Přesný mechanismus této vazby byl popsán právě u kvasinek (Pan et al., 2004). Tato doména se váže na dvou místech, na ArpC1 a Arp2 podjednotky a na Arp3 a ArpC3 podjednotky. (Padrick et al., 2011). ArpC1 se váže přes konzervovaný tryptofanový zbytek (W503) v A oblasti této domény, který je k navázání u kvasinek nezbytný. Nejsilnější vazbu s VCA doménou zajišťuje právě ArpC1. Jeho ztrátou dochází k výraznému snížení vazby Arp2/3 komplexu k doméně VCA, na rozdíl od toho ztrátou Arp2 nebo Arp3 podjednotky se síla vazby výrazně nemění (Pan et al., 2004). ArpC1 se tedy významně podílí na nukleační aktivitě Arp2/3 tím, že na něm závisí vazba jednoho z hlavních aktivátorů komplexu.

Pro správnou funkci ArpC1, je nutný kontakt s dalšími podjednotkami Arp2/3 komplexu. U *Saccharomyces cerevisiae* bylo pozorováno, že pro navázání ArpC1 na WASP, je nutný kontakt s podjednotkou ArpC4 a ArpC5. K ArpC4 se váže přes vodíkové můstky, což je nutnou podmínkou pro jeho správnou interakci s aktivátorem WASP (Balcer et al., 2010).

Funkce ArpC1 v rostlinné říši

U rostlin nemá ArpC1 izoformy A a B, jak je tomu u živočichů. U modelového organismu *Arabidopsis thaliana* jsou sice přítomny dva geny pro ArpC1, ale jejich sekvence jsou téměř totožné, liší se pouze v několika bázích (dle databáze NCBI). Obě isoformy tedy zřejmě plní na rozdíl od živočichů stejnou funkci.

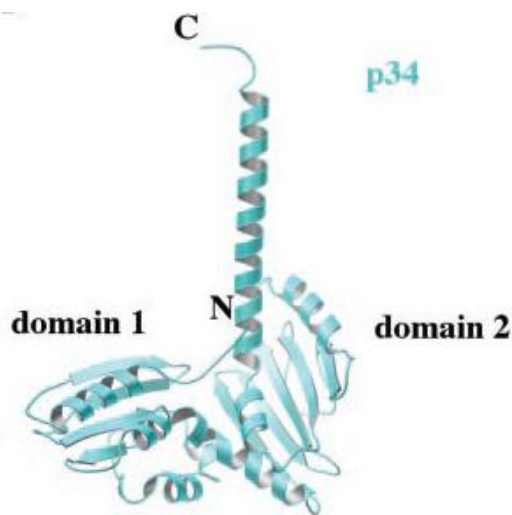
Mutanti *arpc1*, získaní pomocí RNAi, u *Physcomitrella patens* nebyli schopni polárního růstu, což naznačuje důležitou funkci ArpC1 i celého Arp2/3 komplexu v orientovaném růstu buňky u tohoto druhu. Tito mutanti vykazují také poruchu v určení buněčného osudu - diferenciaci. Dále bylo zjištěno, že mutanti *arpc1* u *Physcomitrella patens* jsou více náchylní k osmotickému stresu, zřejmě v důsledku změn ve složení buněčné stěny. To naznačuje funkci ArpC1 (celého Arp2/3 komplexu) při růstu buňky a ukládání komponent do tvořící se buněčné stěny (Harries et al., 2005).

U *Lotus japonicus* se mutace *arpc1* se projevila především zkroucenými trichomy, což odpovídá mutantům v ostatních podjednotkách komplexu. Dále byly u mutantů *arpc1* pozorovány viditelně kratší kořenové vlásky a menší plody (lusky). Stejně jako u ostatních mutantů v Arp2/3 komplexu, ani *arpc1* mutace u *Lotus japonicus* neovlivňuje klíčení pylové láčky (Hossain et al., 2012).

3.2.4. ArpC2 podjednotka

ArpC2 s velikostí 34 kDa je čtvrtou největší podjednotkou Arp2/3 komplexu (Robinson et al., 2001). Přestože je podjednotka ArpC2 konzervována u různých druhů organismů, identita sekvence je celkem nízká. V porovnání s *Arabidopsis thaliana* je homolog z rýže (*Oryza sativa*) identický jen z 68 %, podobné aminokyseliny tvoří 84 % sekvence, u *Dictyostelium* je homolog totožný jen z 54 % sekvence (Saedler et al., 2004a).

ArpC2 tvoří společně s ArpC4 dimer, který vytváří jádro Arp2/3 komplexu, kolem tohoto jádra jsou rozmístěny ostatní podjednotky. ArpC2 sdílí s ArpC4 podobnou strukturu (Obr. 5; Robinson et al., 2001). Podle modelu Arp2/3 komplexu je to právě ArpC2 v dimeru s ArpC4, které zprostředkovávají primární kontakt celého komplexu s mateřským aktinovým filamentem (Gournier et al., 2001, Rouiller et al., 2008).



Obr. 5 – Stužkový diagram ArpC2 podjednotky (p34) s vyznačeným C a N koncem proteinu a dvěma doménami. (Převzato a upraveno podle Robinson et al., 2001)

Funkce ArpC2 v živočišné říši

ArpC2 má důležitou funkci ve svalích živočichů. Bylo zjištěno, že ArpC2 je součástí v signalizační dráze Nox1. Nox1 zprostředkovává expresi ArpC2 indukovanou peroxidem vodíku v buňkách hladkého svalstva, které tím stimuluje k migraci. Umlčením ArpC2 podjednotky byla migrace buněk hladkého svalstva potlačena. Uvedené výsledky tedy ukazují, že migrace buněk řízená Nox1 zahrnuje ArpC2 jako downstream efektor (Al Ghouleh et al., 2013).

ArpC2 u kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*

Ztráta funkčního povrchu na ArpC2 je u *Saccharomyces cerevisiae* pro buňku letální. ArpC2 zde hraje důležitou roli v nukleaci aktinu. ArpC2 se na nukleaci nepodílí tak, že by vázal NPFs, místo toho slouží jako strukturní/funkční centrum na Arp2/3 komplexu. Předává signály a konformační změny komplexu mezi ostatní podjednotky. ArpC2 je u *Saccharomyces cerevisiae* důležitý pro buněčný růst, organizaci aktinu a endocytózu. I u kvasinek byla zjištěna interakce mezi ArpC2 a ArpC4 tvořícími jádro Arp2/3 komplexu (Daugherty et al., 2008).

Funkce ArpC2 v rostlinné říši

Gen *DISTORTED-2* je identický s genem pro ArpC2 podjednotku (Saedler et al., 2004a). Kromě ovlivnění trichomů se ukázalo, že ArpC2 ovlivňuje také otvírání/zavírání průduchů. Bodová mutace v ArpC2 podjednotce u *Arabidopsis thaliana* vede ke snížení senzitivity průduchů na stimuly, jako je vnímání světla/tmy nebo množství vápenatých iontů a ABA (abscisic acid), které řídí osmotický potenciál ve svěracích buňkách, a tím otevřenost průduchů. Bylo pozorováno, že ArpC2 se tvoří jak ve svěracích buňkách, tak i v celém listu (Jiang et al., 2012).

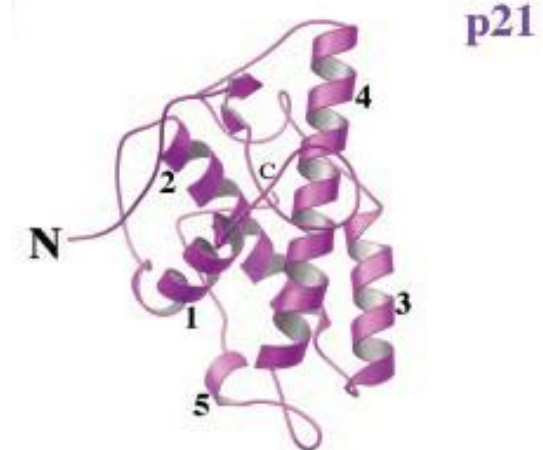
Role ArpC2 podjednotky byla popsána také v růstu rostlin. Bylo zjištěno, že ArpC2 (*DIS2* gen) společně s Arp3 (*DIS1* genem) ovlivňují gravitropismus rostlin v kořenech i v květenství, ale ne v hypokotylu. V kořenu je důležitější vliv Arp3, ale v květenství mají obě podjednotky rovnocennou funkci (Rebouled et al., 2010).

Je známo, že ke správnému vývoji kořenového vlášení i ke klíčení pylové láčky je třeba aktinu (Baluska et al., 2000; Gibbon et al., 1999). Přesto nebylo u *dis2* mutantů pozorováno výrazné poškození ani růstu kořenových vlásků ani klíčení pylové láčky (El-Assal et al., 2004).

3.2.5. ArpC3 podjednotka

ArpC3 s velikostí 21 kDa je globulárním proteinem. Je tvořen pěti α helixy, které jsou propojeny dlouhými smyčkami (Obr. 6). V komplexu interaguje pouze s Arp3 podjednotkou přes solné můstky (Robinson et al., 2001).

Obr. 6 – Stužkový diagram ArpC3 podjednotky (p21) s vyznačeným C a N koncem proteinu, s viditelně označenými pěti α helixy. (Převzato a upraveno podle Robinson et al., 2001)



Funkce ArpC3 v živočišné říši

Pozorováním myších embryí s mutací v ArpC3 vložení transpozónu bylo zjištěno, že se mutanti dostanou pouze do stádia blastocysty, dále je tato mutace pro embryo letální. ArpC3 je důležitý pro správný vývoj trofoblastu, vnější vrstvy na povrchu savčího embrya ve stadiu blastocysty. Předpokládá se, že zablokováním ArpC3 nebo jiných podjednotek Arp2/3 komplexu může vést k závažným ztrátám mobility invazivních buněk *in vivo*, včetně rostoucích nádorů. ArpC3 může být proto potenciální kandidát na nové místo pro léky na inhibici metastatických signálů (Yae et al., 2006).

Myší fibroblasty s inzerční mutací v ArpC3 poukazují na další defekty při ztrátě funkční ArpC3 podjednotky. Bylo pozorováno, že tito mutanti nebyli schopni prodloužení lamellipodií, vykazovali také silné narušení ve směrové migraci fibroblastů (Suraneni et al., 2012).

Ztrátou ArpC3 v epidermis embryonálních myších buněk nedocházelo k narušení stavby buněk. Byly ale objeveny dvě důležité funkce ArpC3 v epidermis, ArpC3 je nutný ke stabilnímu sestavení a k funkci těsných spojů (tight junctions) mezi buňkami a regulaci (tlumení) aktivity YAP (Yes-associated protein). Značný defekt u mutantů *arpc3* v těsných spojích mezi buňkami byl pozorován *in vivo* a v buněčných kulturách (Zhou et al., 2013). YAP je transkripční koaktivátor, způsobující změny v adhezi buněk. Nadměrná exprese YAP řídí proliferaci a inhibuje diferenciaci v buňkách epidermis a tím vede k tvorbě nádorů u myši (Schlegelmilch et al., 2011). Ztráta ArpC3 podjednotky působí, zřejmě prostřednictvím změn v aktinovém cytoskeletu, zvýšení aktivity YAP prostřednictvím jeho zvýšené asociace s kofaktorem TEAD (TEF family protein; Zhou et al., 2013).

Na dvouhybridovém systému kvasinek byla zjištěna interakce ArpC3 a myšního proteinu Tiam (T-lymphoma invasion and metastasis 1). Tiam po navázání na Arp2/3 komplex přes ArpC3 (p21-Arc) aktivuje Rac1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1). Rac1 poté funguje jako aktivátor Arp2/3 komplexu. Komplex tedy pomocí ArpC3 podjednotky staví lešení pro navázání Tiam a následnou aktivaci Rac1 a tím aktivaci celého Arp2/3 komplexu (Klooster et al., 2006).

U *Drosophila* má ArpC3 dokonce dvě izoformy - ArpC3A (velikost 20,3 kDa) a ArpC3B (19,9 kDa). ArpC3A byl pozorován ve všech tkáních, ArpC3B se vyskytuje především v ováriích, nikoliv ale v testes *Drosophila* (Hudson a Cooley, 2002)

ArpC3 u kvasinky *Schizosaccharomyces pombe*

Potlačení exprese *Arpc3* u *Schizosaccharomyces pombe* vyvolalo změny ve tvaru buněk z protáhlých až na kulovité a byly pozorovány změny v uspořádání cytoskeletu. Buňky *Schizosaccharomyces pombe* vykazovaly poškození nejen v organizaci aktinových vláken, ale i při tvorbě endocytických váčků (Cabrera et al., 2011).

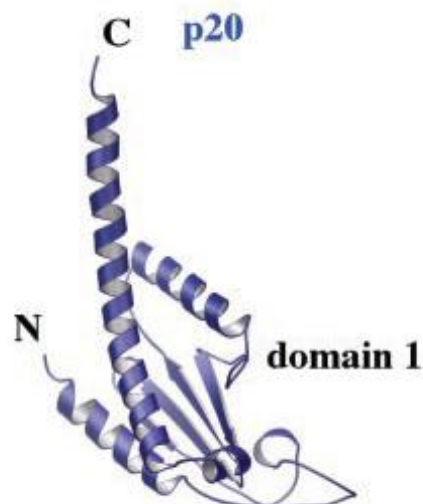
Funkce ArpC3 v rostlinné říši

U *Arabidopsis thaliana* byla popsána vazba ArpC3 se SCAR2. Vazba SCAR2 přes tuto podjednotku je nezbytná pro jeho funkci v aktivaci celého Arp2/3 komplexu. SCAR2 je k této podjednotce vázán přes svoji specifickou VCA (WA) doménu (Basu et al., 2005).

3.2.6. ArpC4 podjednotka

ArpC4 je podjednotkou o velikosti 20 kDa, druhou nejmenší z Arp2/3 komplexu, strukturně podobný C-terminální polovině ArpC2 (Obr. 7; Robinson et al., 2001). Vytváří dimer s ArpC2 podjednotkou, který je nezbytný pro sestavení a stabilitu Arp2/3 komplexu (Zhao et al., 2001).

Obr. 7 – Stužkový diagram ArpC4 podjednotky (p20) s vyznačeným C a N koncem proteinu a s NH₂ koncovou α/β doménou. (Převzato a upraveno podle Robinson et al., 2001)



Funkce ArpC4 v živočišné říši

V dimeru s ArpC2 je nezbytný pro nukleaci aktinu a tedy k větvení F-aktinových vláken (Gournier et al., 2001; Goley et al., 2010). V linii rakovinných buněk slinivky byla po umlčení ArpC4 podjednotky výrazně snížena migrace buněk. Snížením migrace u rakovinných buněk by mohl být snížen rozvoj metastáz, proto bude zřejmě v budoucnu tato podjednotka a celý Arp2/3 komplex dále studován za účelem cílené terapie tohoto onemocnění (Rauhala et al., 2013).

Funkce ArpC4 v rostlinné říši

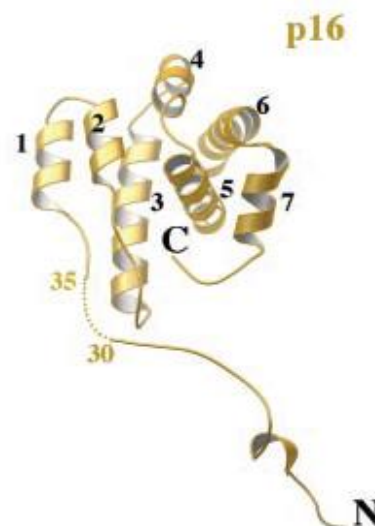
Deleci ArpC4 podjednotky v mechu *Physcomitrella patens* bylo zjištěno, že je tento mutant životaschopný. Byl pozorován omezený růst protonemat, která byla poškozena i v reakci na polarizované bílé světlo. ArpC4 se podílí na polarizovaném růstu buněk spolu s BRICK1 (Bub1-related kinase 1; Perroud a Quatrano, 2006; Perroud a Quatrano, 2008). Růst indukovaný cytokininy a auxinem nebyl ovlivněn nepřítomností ArpC4 podjednotky, přesto je ArpC4 nutný při rychlém růstu a rozšíření rhizoidů (Perroud a Quatrano, 2006).

U *Arabidopsis thaliana* bylo zjištěno, že ArpC4 vytváří vazbu s ArpC2, společně tvoří jádro celého Arp2/3 komplexu. (El-Assal et al., 2004). Narušením ArpC4 podjednotky u *Arabidopsis thaliana* dochází ke zmenšení délky hypokotylu. I u mutantů *arp4* se objevuje poškození trichomů (Kotchoni et al., 2009).

ArpC4 také výrazně ovlivňuje fungování průduchů. U *Arabidopsis thaliana* bylo pozorováno, že ArpC4 je exprimován ve svěracích buňkách, účastní se zde spolu s ArpC5 podjednotkou reorganizace cytoskeletu. Při deleci ArpC4 podjednotky docházelo ke zpožděnému otvírání průduchů, průduchy pomaleji reagovaly na množství ABA a peroxidu vodíku (Li et al., 2013).

3.2.7. ArpC5 podjednotka

ArpC5 s velikostí 16 kDa je nejmenší z podjednotek Arp2/3 komplexu. Tento protein je tvořen sedmi α helixy, propojenými smyčkami (Obr. 8; Robinson et al., 2001). Interaguje s ArpC4, tato interakce je důležitá pro správné sestavení celého komplexu (Zhao et al., 2001). Dále je v komplexu spojen s Arp2 a ArpC1. ArpC5 s ArpC1 jsou na sobě vzájemně závislé při navázání do Arp2/3 komplexu (Gournier et al., 2001; Beltzner et al., 2004).



Obr. 8 - Stužkový diagram ArpC5 podjednotky (p16) s vyznačeným C a N koncem proteinu. ArpC5 je tvořen sedmi α helixy, očíslovány 1-7. (Převzato a upraveno podle Robinson et al., 2001)

Funkce ArpC5 v živočišné říši

U lidských buněk byly zjištěny dvě izoformy ArpC5 podjednotky - ArpC5A (p16-A) a ArpC5B (p16-B), které vznikají alternativním sestřihem. Obě tyto izoformy interagují s ArpC4 podjednotkou, obsahují tedy konzervovanou sekvenci. ArpC5A je ve větším množství ve slezině a brzlíku, zatímco vyšší exprese ArpC5B byla pozorována v mozku (Millard et al., 2003).

ArpC5 se účastní MAP kinazové dráhy, na lidských neutrofilech bylo zjištěno, že interaguje s MAPKAPK2 (Mitogen-Activated Protein Kinase-Activated Protein Kinase 2). Ve větší míře interaguje ArpC5A (p16-A), která je MAPKAPK2 fosforylována na serinu 77. Druhá izoforma ArpC5B je vůči fosforylaci MAPKAPK2 resistentní. Fosforylovaný serinový zbytek se nachází v centru pátého α helixu ArpC5A, který je nastavený tak, že umožňuje interakci s kinázou (Singh et al., 2003). MAPKAPK2 se účastní při oxidačním vzplanutí (likvidace agens bílými krvinkami), při exocytóze a chemotaxi (Zu et al., 1996; Coxon et al., 2003).

Umlčením ArpC5 podjednotky v krysích buňkách pomocí RNA interference byl sledován vliv ArpC5 na organizaci cytoskeletu a migraci buněk v endotelu. Po fosforylaci PKC (protein kinázou C) asociuje ArpC5 s MTOC (microtubule-organizing center) a řídí spolu s RHAMM (hyaluronan-mediated motility receptor) polarizaci MTOC buněk hladkého svalstva v endotelu cév. ArpC5 i RHAMM tak ovlivňují migraci buněk hladkého svalstva, která vyžaduje reorganizaci cytoskeletu pomocí MTOC (Silverman-Gavrila et al., 2011).

Funkce ArpC5 v rostlinné říši

Gen *CROOKED* ze skupiny genů *DISTORTED*, které vykazují zkrácené, jinak tvarované a poškozené trichomy u *Arabidopsis thaliana* (Hulskamp et al., 1994), kóduje ArpC5 podjednotku Arp2/3 komplexu. Buňky s delecí ArpC5 podjednotky vykazují defekt ve tvaru buněk, který vznikl důsledkem poškození cytoskeletu při rychlém růstu buňky. Kořenové vlásky u *arp5* mutantů jsou kratší v porovnání s WT. V buňkách *arp5* se také objevuje fenotyp, kdy z jedné buňky vyrůstá více kořenových vlásků (Mathur et al., 2003b).

Podobně jakou ostatních mutantů v Arp2/3 komplexu, delece ArpC5 podjednotky neovlivňuje u *Arabidopsis thaliana* klíčení pylové láčky (Li et al., 2003). U mutantů *arp5* u *Arabidopsis thaliana*, byla podobně jako u *arp4* mutantů, pozorována zpožděná reakce při otvírání průduchů, pomaleji reagovaly na množství ABA a peroxidu vodíku (Li et al., 2013).

4. Závěr

V této práci jsem se pokusila shrnout poznatky o jednotlivých podjednotkách Arp2/3 komplexu u živočichů i rostlin. Přestože je mnoho prací věnováno funkcím jednotlivých podjednotek, není ještě o Arp2/3 podjednotkách zdaleka vše známé. Funkce jednotlivých podjednotek Arp2/3 komplexu si jistě zaslouží další podrobné zkoumání.

V mé další práci bych chtěla přispět k výzkumu Arp2/3 komplexu studiem úlohy ArpC1 podjednotky tohoto komplexu, která je u *Arabidopsis thaliana* kódována dvěma tandemově uspořádanými paralogy.

5. Seznam použité literatury

Al Ghoulah, I., Rodríguez, A., Pagano, P. J., & Csányi, G. (2013). Proteomic analysis identifies an NADPH oxidase 1 (Nox1)-mediated role for actin-related protein 2/3 complex subunit 2 (ARPC2) in promoting smooth muscle cell migration. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 20220–35.

Baas, D., Caussanel-boude, S., Guiraud, A., & Calhabeu, F. (2008). CKIP-1 regulates mammalian and zebrafish myoblast fusion. *Journal of Cell Science*, 124, 3790–3800.

Balcer, H. I., Daugherty-Clarke, K., & Goode, B. L. (2010). The p40/ARPC1 subunit of Arp2/3 complex performs multiple essential roles in WASp-regulated actin nucleation. *The Journal of Biological Chemistry*, 285, 8481-8491.

Baluska, F., Salaj, J., Mathur, J., Braun, M., Jasper, F., Samaj, J., Chua, N.-H., Barlow, P. W., Volkmann, D. (2000). Root hair formation: F-actin-dependent tip growth is initiated by local assembly of profilin-supported F-actin meshworks accumulated within expansin-enriched bulges. *Developmental Biology*, 227, 618–32.

Basu, D., El-Assal, S. E.-D., Le, J., Mallery, E. L., & Szymanski, D. B. (2004). Interchangeable functions of Arabidopsis PIROGI and the human WAVE complex subunit SRA1 during leaf epidermal development. *Development (Cambridge, England)*, 131, 4345–55.

Basu, D., Le, J., El-Essal, S. E.-D., Huang, S., Zhang, C., Mallery, E. L., Koliantz, G., Staiger, C. J., Szymanski, D. B. (2005). DISTORTED3/SCAR2 is a putative arabidopsis WAVE complex subunit that activates the Arp2/3 complex and is required for epidermal morphogenesis. *The Plant Cell*, 17, 502–524.

Basu, D., Le, J., Zakharova, T., Mallery, E. L., & Szymanski, D. B. (2008). A SPIKE1 signaling complex controls actin-dependent cell morphogenesis through the heteromeric WAVE and ARP2/3 complexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, 4044–9.

Beltzner, C. C., & Pollard, T. D. (2004). Identification of Functionally Important Residues of Arp2/3 Complex by Analysis of Homology Models from Diverse Species. *Journal of Molecular Biology*, 336, 551–565.

Berdnik, D., & Knoblich, J. A. (2002). Drosophila Aurora-A is required for centrosome maturation and actin-dependent asymmetric protein localization during mitosis. *Current biology*, 12, 640–7.

Blanchoin, L., & Pollard, T. D. (1998). Interaction of Actin Monomers with Interaction of Actin Monomers with Acanthamoeba Actophorin (ADF / Cofilin) and Profilin. *The Journal of Biological Chemistry*, 273, 25106-25111,

Boczkowska, M., Rebowski, G., Petoukhov, M. V., Hayes, D. B., Svergun, D. I., & Dominguez, R. (2008). X-ray scattering study of activated Arp2/3 complex with bound actin-WCA. *Structure (London, England: 1993)*, 16, 695–704.

Brembu, T., Winge, P., Seem, M., & Bones, A. M. (2004). NAPP and PIRP Encode Subunits of a Putative Wave Regulatory Protein Complex Involved in Plant Cell Morphogenesis. *The Plant Cell*, 16, 2335–2349.

Brembu, T., Winge, P., & Bones, A. M. (2005). Catching the WAVES of Plant Actin Regulation. *Journal of Plant Growth Regulation*, 24, 55–66.

Cabrera, R., Suo, J., Young, E., & Chang, E. C. (2011). *Schizosaccharomyces pombe* Arc3 is a conserved subunit of the Arp2 / 3 complex required for polarity, actin organization, and endocytosis. *Yeast*, 28, 495–503.

Cooper, J. A. (1987). Effects of Cytochalasin and Phalloidin on Actin. *The Journal of Cell Biology*, 105, 1473–1478.

Coxon, P., Rane, M., Uriarte, S., Powell, D., Singh, S., Butt, W., Chen, Q., McLeish, K. (2003). MAPK-activated protein kinase-2 participates in p38 MAPK-dependent and ERK-dependent functions in human neutrophils. *Cellular Signalling*, 15, 993–1001.

Côté, J., & Vuori, K. (2002). Identification of an evolutionarily conserved superfamily of DOCK180-related proteins with guanine nucleotide exchange activity. *Journal of Cell Science*, 115, 4901–4913.

Daugherty, K. M., & Goode, B. L. (2008). Functional surfaces on the p35/ARPC2 subunit of Arp2/3 complex required for cell growth, actin nucleation, and endocytosis. *The Journal of Biological Chemistry*, 283, 16950–9.

Deeks, M. J., Cvrcková, F., Machesky, L. M., Mikitová, V., Ketelaar, T., Zársky, V., Davies, B., Hussey, P. J. (2004). Arabidopsis group Ie formins localize to specific cell membrane domains , interact with actin-binding proteins and cause defects in cell expansion upon aberrant expression. *New Phytologist*, 168, 529–540.

Djakovic, S., Dyachok, J., Burke, M., Frank, M. J., & Smith, L. G. (2006). BRICK1/HSPC300 functions with SCAR and the ARP2/3 complex to regulate epidermal cell shape in Arabidopsis. *Development (Cambridge, England)*, 133, 1091–1100.

Dominguez, R., Holmes, K. C. (2011) Actin structure and function. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 40, 169–186.

El-Assal, S. E.-D., Le, J., Basu, D., Mallery, E. L., & Szymanski, D. B. (2004). DISTORTED2 encodes an ARPC2 subunit of the putative Arabidopsis ARP2/3 complex. *The Plant Journal*, 38, 526–38.

Frank, M. J., & Smith, L. G. (2002). A small, novel protein highly conserved in plants and animals promotes the polarized growth and division of maize leaf epidermal cells. *Current biology*, 12, 849–53.

Frank, M., Egile, C., Dyachok, J., Djakovic, S., Nolasco, M., Li, R., & Smith, L. G. (2004). Polymerization by plant proteins distantly related to Scar WAVE. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 16379–16384.

Gao, X., Li, C., Wei, P., Zhang, X., Chen, J., & Wang, X. (2005). The Dynamic Changes of Tonoplasts in Guard Cells Are Important for Stomatal Movement in *Vicia faba*. *Plant Physiology*, 139, 1207–1216.

Gibbon, B. C., Kovar, D. R., & Staiger, C. J. (1999). Latrunculin B has different effects on pollen germination and tube growth. *The Plant Cell*, 11, 2349–63.

- Goley, E. D., Rammohan, A., Znameroski, E. A., Firat-Karalar, E. N., Sept D. & Welch, M. D. (2010). An actin-filament-binding interface on the Arp2/3 complex is critical for nucleation and branch stability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 8159–8164.
- Goley, E. D., & Welch, M. D. (2006). The ARP2/3 complex: an actin nucleator comes of age. *Molecular cell biology - Review*, 7, 713–727.
- Gournier, H., Goley, E. D., Niederstrasser, H., Trinh, T., & Welch, M. D. (2001). Reconstitution of human Arp2/3 complex reveals critical roles of individual subunits in complex structure and activity. *Molecular Cell*, 8, 1041–52.
- Harries, P. A., Pan, A., & Quatrano, R. S. (2005). Actin-Related Protein2 / 3 Complex Component ARPC1 Is Required for Proper Cell Morphogenesis and Polarized Cell Growth in *Physcomitrella patens*. *The Plant cell*, 17, 2327–2339.
- Hossain, M. S., Liao, J., James, E. K., Sato, S., Tabata, S., Jurkiewicz, A., Madsen, L. H., Stougaard, J., Ross, L., Szczyglowski, K. (2012). *Lotus japonicus* ARPC1 is required for rhizobial infection. *Plant physiology*, 160, 917–28.
- Hudson, A. M., & Cooley, L. (2002). A subset of dynamic actin rearrangements in *Drosophila* requires the Arp2/3 complex. *The Journal of Cell Biology*, 156, 677–87.
- Huang, S., Blanchoin, L., Kovar, D. R., Staiger, C. J. (2003). Arabidopsis capping protein (AtCP) is a heterodimer that regulates assembly at the barbed ends of actin filaments. *The Journal of Biological Chemistry*, 278, 44832–42.
- Hülkamp, M., Miséra, S., Jurgens, G. (1994). Genetic Dissection of Trichome Cell Development in Arabidopsis. *Cell*, 76, 555–566.
- Jay, P., Bergé-Lefranc, J. L., Massacrier, a, Roessler, E., Wallis, D., Muenke, M., Gastaldi, M., Taviaux, S., Cau, P., Berta, P. (2000). ARP3beta, the gene encoding a new human actin-related protein, is alternatively spliced and predominantly expressed in brain neuronal cells. *European Journal of Biochemistry*, 267, 2921–8.
- Jiang, K., Sorefan, K., Deeks, M. J., Bevan, M. W., Hussey, P. J., & Hetherington, A. M. (2012). The ARP2/3 Complex Mediates Guard Cell Actin Reorganization and Stomatal Movement in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 24, 2031–2040.
- Jörgens, C. I., Grünewald, N., Hülkamp, M., Uhrig, J. F. (2010). A role for ABIL3 in plant cell morphogenesis. *The Plant Journal*, 62, 925–935.
- Karpova, T. S., Tatchell, K., Cooper, J. A. (1995). Actin filaments in yeast are unstable in the absence of capping protein or fimbrin. *The Journal of cell biology*, 131, 1483–93.
- Klooster, J. P., Evers, E. E., Janssen, L., Machesky, L. M., Michiels, F., Hordijk, P., Collard, J. G. (2006). Interaction between Tiam1 and the Arp2 / 3 complex links activation of Rac to actin polymerization. *Biochemical Journal*, 45, 39–45.

- Kotchoni, S. O., Zakharova, T., Mallery, E. L., Le, J., El-Assal, S. E.-D., & Szymanski, D. B. (2009). The association of the Arabidopsis actin-related protein2/3 complex with cell membranes is linked to its assembly status but not its activation. *Plant Physiology*, 151, 2095–109.
- Le, J., El-assal, S. E., Basu, D., Saad, M. E., Szymanski, D. B., Street, W. S., & Lafayette, W. (2003). Requirements for Arabidopsis ATARP2 and ATARP3 during Epidermal Development. *Current Biology*, 13, 1341–1347.
- LeClaire, L. L., Baumgartner, M., Iwasa, J. H., Mullins, R. D., & Barber, D. L. (2008). Phosphorylation of the Arp2/3 complex is necessary to nucleate actin filaments. *The Journal of Cell Biology*, 182, 647–54.
- Li, S., Blanchoin, L., Yang, Z., & Lord, E. M. (2003). The Putative Arabidopsis Arp2 / 3 Complex Controls Leaf Cell Morphogenesis, 132, 2034–2044.
- Li, X., Li, J.-H., Wang, W., Chen, N.-Z., Ma, T.-S., Xi, Y.-N., Zhang, X.-L., Lin, H.-F., Bai, Y., Huang, S.-J., Chen, Y.-L. (2013). ARP2/3 complex-mediated actin dynamics is required for hydrogen peroxide-induced stomatal closure in Arabidopsis. *Plant, Cell & Environment*, 3, 1–13.
- Machesky, L. M., Atkinson, S. J., Ampe, C., & Vandekerckhove, J. (1994). Purification of a Cortical Complex Containing Two Unconventional Actins from. The Rockefeller University Press, 127, 107–115.
- Machesky, L. M., Reeves, E., Wientjes, F., Mattheyse, F. J., Grogan, A., Totty, N. F., Burlingame, A. L., Hsuan, J. J., Segal, A. W. (1997). Mammalian actin-related protein 2/3 complex localizes to regions of lamellipodial protrusion and is composed of evolutionarily conserved proteins. *Biochemical Journal*, 112, 105–112.
- Mathur, J., Mathur, N., Kernebeck, B., & Hülskamp, M. (2003a). Mutations in Actin-Related Proteins 2 and 3 Affect Cell Shape Development in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 15, 1632–1645.
- Mathur, J., Mathur, N., Kirik, V., Kernebeck, B., Srinivas, B. P., & Hülskamp, M. (2003b). Arabidopsis CROOKED encodes for the smallest subunit of the ARP2 / 3 complex and controls cell shape by region specific fine F-actin formation. *Development*, 5, 3137–3146.
- Mathur, J. (2004). Cell shape development in plants. *Trends in Plant Science*, 9, 583–90.
- Millard, T. H., Behrendt, B., Launay, S., Fütterer, K., & Machesky, L. M. (2003). Identification and characterisation of a novel human isoform of Arp2/3 complex subunit p16-ARC/ARPC5. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 54, 81–90.
- Molli, P. R., Li, D., Bagheri-yarmand, R., Pakala, S. B., Katayama, H., Sen, S., Iyer, J., Chernoff, J., Tsai, M.-Y., Nair, S. S., Kumar, R. (2010). Arpc1b, a centrosomal protein, is both an activator and substrate of Aurora A. *The Journal of Cell Biology*, 190, 101–114.
- Pan, F., Egile, C., Lipkin, T., Li, R. (2004). ARPC1 / Arc40 Mediates the Interaction of the Actin-related Protein 2 and 3 Complex with Wiskott-Aldrich Syndrome Protein Family Activators. *The Journal of Biological Chemistry*, 279, 54629-54636.

- Padrick, S. B., Doolittle, L. K., Brautigam, C. A., King, D. S., & Rosen, M. K. (2011). Arp2/3 complex is bound and activated by two WASP proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, E472–9.
- Pantaloni, D., & Carlier, M. F. (1993). How profilin promotes actin filament assembly in the presence of thymosin beta 4. *Cell*, 75, 1007–14.
- Perroud, P.-F., & Quatrano, R. S. (2006). The role of ARPC4 in tip growth and alignment of the polar axis in filaments of *Physcomitrella patens*. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 63, 162–71.
- Perroud, P.-F., & Quatrano, R. S. (2008). BRICK1 is required for apical cell growth in filaments of the moss *Physcomitrella patens* but not for gametophore morphology. *The Plant Cell*, 20, 411–22.
- Pollard, T. D., & Beltzner, C. C. (2002). Structure and function of the Arp2/3 complex. *Current Opinion in Structural Biology*, 12, 768–74.
- Qiu, J., Jilk, R., Marks, M. D., & Szymanski, D. B. (2002). The Arabidopsis SPIKE1 Gene Is Required for Normal Cell Shape Control and Tissue Development. *The Plant Cell*, 14, 101–118.
- Rauhala, H. E., Teppo, S., Niemelä, S., & Kallioniemi, A. (2013). Silencing of the ARP2 / 3 Complex Disturbs Pancreatic Cancer Cell Migration. *Anticancer Research*, 52, 45–52.
- Reboulet, J. C., Kumar, P., & Kiss, J. Z. (2010). DIS1 and DIS2 play a role in tropisms in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany*, 67, 474–478.
- Robinson, R. C., Turbedsky, K., Kaiser, D. A., Marchand, J., Higgs, H. N., & Choe, S. (2001). Crystal Structure of Arp2 / 3 Complex. *Science*, 294, 1679.
- Rouiller, I., Xu, X.-P., Amann, K. J., Egile, C., Nickell, S., Nicastro, D., Li, R., Pollard, T. D., Volkman, N., Hanein, D. (2008). The structural basis of actin filament branching by the Arp2/3 complex. *The Journal of Cell Biology*, 180, 887–95.
- Saedler, R., Mathur, N., Srinivas, B. P., Kernebeck, B., Hülskamp, M., & Mathur, J. (2004a). Actin control over microtubules suggested by DISTORTED2 encoding the Arabidopsis ARPC2 subunit homolog. *Plant & cell physiology*, 45, 813–22.
- Saedler, R., Zimmermann, I., Mutondo, M., & Hülskamp, M. (2004b). The Arabidopsis KLUNKER gene controls cell shape changes and encodes the AtSRA1 homolog. *Plant molecular biology*, 56, 775–82.
- Saedler, R., Jakoby, M., Marin, B., Galiana-Jaime, E., & Hülskamp, M. (2009). The cell morphogenesis gene SPIRRIG in Arabidopsis encodes a WD/BEACH domain protein. *The Plant Journal*, 59, 612–21.
- Schlegelmilch, K., Mohseni, M., Kirak, O., Pruszek, J., Rodriguez, J. R., Zhou, D., Kreger, B. T., Vasioukhin, V., Avruch, J., Brummelkamp, T. R., Camargo, F. D. (2011). Yap1 acts downstream of α -catenin to control epidermal proliferation. *Cell*, 144, 782–95.
- Silverman-Gavrila, R., Silverman-Gavrila, L., Hou, G., Zhang, M., Charlton, M., & Bendeck, M. P. (2011). Rear polarization of the microtubule-organizing center in neointimal smooth muscle cells depends on PKC α , ARPC5, and RHAMM. *The American Journal of Pathology*, 178, 895–910.

- Singh, S., Powell, D. W., Rane, M. J., Millard, T. H., Trent, J. O., Pierce, W. M., Klein, J.B., Machesky, L. M., McLeish, K. R. (2003). Identification of the p16-Arc subunit of the Arp 2/3 complex as a substrate of MAPK-activated protein kinase 2 by proteomic analysis. *The Journal of Biological Chemistry*, 278, 36410–7.
- Staiger, C., Gibbon, B. C., Kovar, D. R., & Zonia, L. E. (1997). Profilin and actin-depolymerizing factor: modulators of actin organization in plants. *Trends in plant science*, 2, 275–281.
- Staiger, C. J., & Blanchoin, L. (2006). Actin dynamics: old friends with new stories. *Current Opinion in Plant Biology*, 9, 554–62.
- Suraneni, P., Rubinstein, B., Unruh, J. R., Durnin, M., Hanein, D., & Li, R. (2012). The Arp2/3 complex is required for lamellipodia extension and directional fibroblast cell migration, 197, 239–251.
- Szymanski, D. B. (2005). Breaking the WAVE complex: the point of Arabidopsis trichomes. *Current opinion in plant biology*, 8, 103–12.
- Uhrig, J. F., Mutondo, M., Zimmermann, I., Deeks, M. J., Machesky, L. M., Thomas, P., Uhrig, S., Rambke, C., Hussey, P. J., Hülskamp, M. (2007). The role of Arabidopsis SCAR genes in ARP2-ARP3-dependent cell morphogenesis. *Development (Cambridge, England)*, 134, 967–977
- Vadlamudi, R. K., Li, F., Barnes, C. J., Bagheri-yarmand, R., & Kumar, R. (2004). p41-Arc subunit of human Arp2/3 complex is a p21-activated kinase-1-interacting substrate. *Scientific report*, 5.
- Vauti, F., Prochnow, B. R., Freese, E., Ramasamy, S. K., Ruiz, P., & Arnold, H.-H. (2007). Arp3 is required during preimplantation development of the mouse embryo. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 581, 5691–7.
- Wang, Y.-S., Yoo, C.-M., & Blancaflor, E. B. (2008). Improved imaging of actin filaments in transgenic Arabidopsis plants expressing a green fluorescent protein fusion to the C- and N-termini of the fimbrin actin-binding domain 2. *The New Phytologist*, 177, 525–36.
- Wasteneys, G. O., & Galway, M. E. (2003). Remodeling the cytoskeleton for growth and form. An Overview with Some New Views. *Annual Review of Plant Biology*, 54, 691–722.
- Weaver, A. M., Heuser, J. E., Karginov, A. V, Lee, W., Parsons, J. T., Cooper, J. A., & Louis, S. (2002). Interaction of Cortactin and N-WASp with Arp2 / 3 Complex. *Current Biology*, 12, 1270–1278.
- Weaver, A. M., Young, M. E., Lee, W.-L., & Cooper, J. a. (2003). Integration of signals to the Arp2/3 complex. *Current Opinion in Cell Biology*, 15, 23–30.
- Welch, M. D., DePace, a H., Verma, S., Iwamatsu, a, & Mitchison, T. J. (1997). The human Arp2/3 complex is composed of evolutionarily conserved subunits and is localized to cellular regions of dynamic actin filament assembly. *The Journal of cell biology*, 138, 375–84.
- Yae, K., Keng, V. W., Koike, M., Yusa, K., Kouno, M., Uno, Y., Kondoh, G., Gotow, T., Uchiyama, Y., Horie, K., Takeda, J. (2006). Sleeping Beauty Transposon-Based Phenotypic Analysis of Mice : Lack of Arpc3 Results in Defective Trophoblast Outgrowth. *Molecular and Cell Biology*, 26, 6185.

Yarmola, E. G., Somasundaram, T., Boring, T. a, Spector, I., & Bubb, M. R. (2000). Actin-latrunculin A structure and function. Differential modulation of actin-binding protein function by latrunculin A. *The Journal of Biological Chemistry*, 275, 28120–7.

Yokota, E., Tominaga, M., Mabuchi, I., Tsuji, Y., Staiger, C. J., Oiwa, K., & Shimmen, T. (2005). Plant villin, lily P-135-ABP, possesses G-actin binding activity and accelerates the polymerization and depolymerization of actin in a Ca²⁺-sensitive manner. *Plant & Cell Physiology*, 46, 1690–703.

Zhang, X., Dyachok, J., Krishnakumar, S., Smith, L. G., & Oppenheimer, D. G. (2005). IRREGULAR TRICHOME BRANCH1 in Arabidopsis encodes a plant homolog of the actin-related protein2/3 complex activator Scar/WAVE that regulates actin and microtubule organization. *The Plant cell*, 17, 2314–2326.

Zhao, X., Yang, Z., Qian, M., & Zhu, X. (2001). Interactions among subunits of human Arp2/3 complex: p20-Arc as the hub. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 280, 513–7.

Zhou, K., Muroyama, A., Underwood, J., Leylek, R., Ray, S., Soderling, S. H., & Lechler, T. (2013). Actin-related protein2/3 complex regulates tight junctions and terminal differentiation to promote epidermal barrier formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, 3820–9.

Zu, Y. L., Ai, Y., Gilchrist, a, Labadia, M. E., Sha'afi, R. I., & Huang, C. K. (1996). Activation of MAP kinase-activated protein kinase 2 in human neutrophils after phorbol ester or fMLP peptide stimulation. *Blood*, 87, 5287–96.

Internetové zdroje – databáze NCBI, dostupné z <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>