ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra Katedra farmaceutické botaniky a ekologie
Kandidát **PharmDr. Jindřiška Matoušková**
Školitel **Doc. RNDr. Jiřina Dušková, CSc**
Název disertační práce **Úloha cytoskeletu a fosfolipidů v signalizaci obranných reakcí rostlin**

Po působení abiotických nebo biotických stresových faktorů spouští rostliny současně mnoho komplexních signálních dějů, které mohou během několika hodin vyústit v účinnou obranu. Na molekulární úrovni je signalizace postupný sled velmi rychlých biochemických reakcí.
Je velice těžké sledovat během interakce patogenu a rostliny jeden konkrétní signalizační děj od začátku do konce. Signální dráhy jsou vzájemně propojeny a působí, jak synergisticky,
tak i antagonisticky, aby mohly jemně vyrovnávat situace, kterým je rostlina vystavena v konkrétní chvíli.
Předložená práce se zaměřuje na několik složek této komplikované signální sítě, především na úlohu kyseliny salicylové, fosfatidové, změn cytoskeletu a jejich vzájemného působení, které v samotném závěru obranné reakce může vyústit ve změnu metabolomu. Mikroskopické zobrazení fluorescenčně značených proteinů v živých pletivech – live imaging – může pomoci odhalit lokalizaci a dynamiku vybraných proteinů během obranné reakce. Při obranné odpovědi probíhá mnoho důležitých dějů v plasmatické membráně: rozpoznání patogenu, endocytosa, exocytosa, přenos iontů a jiných molekul ap. Aktivitou fosfolipas D vzniká v plasmatické membráně kyselina fosfatidová (PA). U jedné z jejích izoforem, PLDδ,
se předpokládá přímá vazba na cytoskelet. Signální dráha spuštěná PA se podílí přes proteiny vázající se k cytoskeletu na změnách jeho dynamiky.
Tato práce se pokouší popsat lokalizaci PLDδ a její propojení s mikrotubuly těsně
pod plasmatickou membránou, především s použitím in vivo mikroskopických technik. Exprese reportérového genu GFP-PLDδ v Arabidopsis thaliana odhalilo velice dynamické bodové uspořádání PLDδ, stějně jako zřídka se vyskytující stabilní filamenta, která někdy kopírují dráhy mikrotubulů a pravděpodobně se nacházejí v místě lipidových raftů
na plasmatické membráně.
Pozorováním regenerace mikrotubulů v průběhu několika hodin působení solného stresu v rostlinách s vyřazenou PLDδ, byla zjištěna její důležitá úloha při stabilizaci interakce mikrotubulů s plasmatickou membránou, ať už přímo nebo přes další proteiny.
Hmotnostní spektrometrie pomohla zjistit snížené množství sekundárních metabolitů
po zablokování funkce PA v buňkách, tím se potvrdilo, že fosfolipidová signalizace ovlivňuje všechny složky obranné reakce.
Kyselina salicylová (SA) je zapojena v signalizaci nastupující jak po biotickém,
tak i po abiotickém stresu. Zjistili jsme, že po působení SA dochází k rychlému snižování počtu aktinových vláken, ale i opačnou reakci – zvyšování počtu aktinových filament, jestliže byla předem přidána PA. Tento jev by mohl být vysvětlen nutností správné posloupnosti změn v aktinové dynamice a dalších signálů při obranné reakci. SA nebo krátká, depolymerovaná vlákna aktivují PLD, která přes působení PA aktinová vlákna opět polymeruje. Na základě našich pozorování a dalších publikovaných údajů lze usuzovat,
že správně načasované střídání fáze polymerace a depolymerace aktinových vláken by mohlo být nezbytnou podmínkou úspěšně probíhající obranné reakce.