

## Abstrakt

Zralý pyl tabáku obsahuje silně dehydratovanou cytoplazmu a je metabolicky neaktivní. Po rehydrataci cytoplazmy je jeho metabolismus nastartován a po dokončení aktivace vyrůstá pylovou aperturou pylová láčka. Změny v zavodnění cytoplazmy spolu s nastartováním metabolismu jsou doprovázeny regulací translace i post-translačních modifikací (zejména fosforylace) přítomných proteinů. V této disertační práci jsou prezentovány fosfopeptidy ze zralého pylu tabáku virginského (*Nicotiana tabacum*), pylu aktivovaného *in vitro* 5 min a pylu aktivovaného *in vitro* 30 min. Z každého stádia byl získán celkový proteinový extrakt, jenž byl naštěpen trypsinem a získaná peptidová směs byla obohacena metodou MOAC (afinitní chromatografie s využitím kovového oxidu/hydroxidu) s maticí z oxidu titaničitého. Fosfopeptidy v obohaceném eluátu byly identifikovány kapalinovou chromatografií v kombinaci s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC–MS/MS).

Celkem bylo identifikováno 471 fosfopeptidů, nesoucích 432 přesně lokalizovaných fosforylačních míst. Získané fosfopeptidy pocházely z 301 fosfoproteinů, které spadaly do třinácti funkčních kategorií. Převládajícími funkcemi se staly transkripce, syntéza proteinů, cílení a skladování proteinů a přenos signálu. Mnohé fosfopeptidy podléhaly koncentračním změnám mezi třemi studovanými stádii samčího gametofytu; 209 regulovaných fosforylovaných peptidů vykazovalo sedm regulačních trendů, z nichž většina patřila do skupiny zahrnující fosfopeptidy identifikované exkluzivně ve zralém pylu. Navíc bylo v získaném fosfoproteomickém datovém souboru nalezeno pět kinázových motivů obsahujících fosforylovaný serin a jeden fosfothreoninový motiv. V pylovém proteomu a v sekretomu pylových láček tabáku pak byly vyhledány kinázy, jež mají podle predikce rozpoznávat nalezené sekvenční motivy.

Souhrnně vzato se jedná o první fosfoproteomickou studii aktivovaného pylu krytosemenných rostlin (Angiospermae) a o studii značně rozšiřující identifikovanou část fosfoproteomu zralého pylu tabáku virginského (*Nicotiana tabacum*).

**Klíčová slova:** samčí gametofyt, aktivace pylu, oxid titaničitý, obohacování o fosfopeptidy, fosfoproteomika, kináza, fosforylační motiv