

ABSTRAKT

Rab GTPázy (Raby) jsou nejpočetnější rodinou eukaryotické super-rodiny Ras GTPáz. V aktivní GTP-vázající formě slouží jako nástroje vymezující proměnlivou identitu membrán a skrz rozličné efekторы regulují utváření, transport, proměnu a fúzi membránových váčků. To je zásadní pro udržení kompartmentalizované struktury charakteristické pro eukaryotické buňky a pro zajištění endo- a exocytózy. K deaktivaci Rabů dochází skrz vazbu Rab GAPů, tj. proteinů disponujících schopností výrazně urychlit hydrolyzu GTP vázaného v Rabech. Tímto procesem mohou Rab GAPy omezovat rozsah aktivity Rabů a vytyčovat časoprostorové ohraničení odlišných populací Rab GTPáz. V této práci jsem se pokusil popsat Rab GAP, označený jako GAP2, který je zřejmě nutný pro standardní vývoj rostlin huseníčku rolního. Kromě charakteristické katalytické TBC domény obsahuje GAP2 (produkt genu At2g39280) C-terminální coiled-coil strukturní motiv, který byl už dříve pozorován v interakcích s konkrétními Rab GTPázami. Provedl jsem experimenty, jejichž cílem mělo být komplementování T-DNA inzerčního mutanta v genu GAP2, zjištění vnitrobuněčné lokalizace GAP2 proteinu, nalezení dosud nepopsaných interaktorů a popis interakce s Raby objevenými v pilotních experimentech. Výsledky nasvědčují, že GAP2 je primárně cytoplasmatický protein a jeho interakce s RabA1a a RabE1d probíhá pouze skrz coiled-coil motiv. Dvouhybridní kvasinkový screen jako nového interaktora odhalil coiled-coil motiv z blízkce příbuzného Rab GAPu (At3g55020) a vedl ke zjištění, že GAP2 může skrz C-terminální coiled-coil motiv dimerizovat sám se sebou. Snahy o komplementaci mutanta byly přes veškeré úsilí neúspěšné.

Klíčová slova: GTPázy-aktivující protein (GAP), membránový transport, efektor Rabu, Tre-2/Bub2/Cdc16 (TBC) protein, Rab GTPáza, super-rodina Ras, dimerizace skrz coiled-coil, exocytóza, GAP kaskáda, Rab kaskáda