

SOUHRN

Rab GTPázy jsou malé signální molekuly, které hrají důležitou roli ve váčkovém transportu. Jejich správné fungování umožňuje regulaci váčkového transportu mezi buněčnými organelami a také směrem do buněčné stěny, kdy je zdrojem materiálu pro růst a prodlužování buněk. Zapojení Rab GTPáz v regulaci endomembránového transportu je jeden z evolučně velmi konzervovaných aspektů řízení a kontroly sekrece. Mezi interaktory Rab GTPáz patří také různé 'downstream' efekторы. Jedním z nich je komplex exocyst, který je nejvíce známý pro své zapojení do váčkového transportu na plazmatické membráně. Tento komplex je složen z osmi různých podjednotek (Sec3, Sec5, Sec6, Sec8, Sec10, Sec15, Exo70 and Exo84) a byl objeven jako efektor Sec4p Rab GTPázy v kvasinkách. Dostupné informace z živočišných modelových organismů uvádějí SEC15 podjednotku jako podjednotku která interaguje s Rab GTPázami. Jaká je situace v rostlinách není dosud známo. Početné studie uvádějí důležitou funkci komplexu exocyst v 'tip growth' (vrcholový růst) pylových láček a kořenových vlásků, ve vytváření semenných obalů a také ve tvorbě buněčné přepážky, buněčné stěny a prodlužování hypokotylu. Také je známo zapojení komplexu exocyst v recyklaci auxinových přenašečů - PIN proteinů. V genomu *Arabidopsis* můžeme nalézt dva paralogy SEC15 podjednotky označované jako SEC15a a SEC15b z nichž, jak již bylo dříve ukázáno SEC15a podjednotka je důležitá pro polární růst pylové láčky.

V předkládané práci, jsme se nejdříve soustředili na konzervovanost interakce RAB GTPáz s komplexem exocyst v rostlině *Arabidopsis thaliana*. Použitím *in vitro* a *in vivo* metod, jsme ukázali interakci SEC15b podjednotky s RAB GTPázou z RAB-A4 podskupiny. Výsledky našich experimentů ukazují na fascinující možnost, že RAB GTPázy z RAB-A4 podskupiny nejsou v kontextu interakce s exocystem redundantní.

Protože dřívější výsledky ukázaly, že komplex exocyst je důležitý pro prodlužování buněk hypokotylu, které tvoří flexibilní spojení mezi kořenem a kotyledonovými listy, použili jsme tuto část etiolovaných semenáčů *Arabidopsis* jako modelový systém. Morfologické, anatomické a buněčné analýzy mutantů *Arabidopsis* v několika podjednotkách komplexu exocyst, zahrnující také SEC15 podjednotku, odhalily vytvoření odlišitelné části etiolovaného hypokotylu blízko rozhraní podzemní a nadzemní části rostliny.

Morfologicky se tento odlišný region podobal právě tomuto druhému rozhraní, které je důležitou přechodovou zónou mezi odlišnými prostředími a navzdory jeho klíčovému významu pro vývoj rostlin se málo ví o tom, jak je tato přechodová zóna determinována. Dále jsme také popsali a diskutovali další aspekty mutace SEC15b genu u *Arabidopsis* a redundanci obou SEC15 paralogů.

Homozygotní mutantní rostliny *rgtb1-1*, které jsou defektivní v enzymu RAB geranylgeranyláze jsou charakteristické krátkými etiolovanými hypokotily s nepravidelným buněčným uspořádáním a akumulací škrobu. Pro uchopení tohoto jevu jsme použili etiolované hypokotily *Arabidopsis* divokého typu (WT) opůsobené isoxabenem. Rostliny pěstované na médiu se sacharózou reagovaly na porušení buněčné stěny alokací cukrů a jejich uložením ve formě škrobu. Dále jsme také použili různé mutantní linie defektní v buněčném transportu, které vykazovaly stejný fenotyp jako WT rostliny opůsobené isoxabenem. Objevili jsme, že existuje kontrolní mechanismus který přepíná mezi využitím cukrů pro syntézu buněčné stěny a nebo jejich uložením ve formě škrobu.

Na konci celé práce také diskutujeme možnosti použití Rab GTPáz v biotechnologiích.