Abstrakt

Předkládaná práce zahrnuje tři původní články a jeden článek přehledový zaměřené na tematiku flotillinů (FLOT) a hypersensitive induced reaction proteinů (HIR) u *Arabidopsis thaliana*. FLOT a HIR jsou příbuzné rodiny proteinů asociovaných s membránami, které náležejí do nadrodiny proteinů s SPFH doménou. Zatímco FLOTy jsou přítomné u organismů všech evolučních linií, HIRy se specificky vyskytují jen u rostlin. Přehledový článek sumarizuje poznatky o FLOTech a HIRech z různých organismů, především s ohledem na jejich buněčnou lokalizaci, interakci s membránami, interakci s ostatními proteiny a na jejich možnou funkci. Prezentované původní články sledovaly tři směry zkoumání *At*FLOTu a *At*HIRů: zapojení do reakcí na exogenní podněty; nalezení proteinových interakčních partnerů; a vnitrobuněčnou lokalizaci a popis dynamiky těchto proteinů. První přístup spočíval v měření transkripce a sady fenotypovacích pokusů provedených na deletantech pro jednotlivé *AtFLOT* při ošetřeních biotickým a abiotickým stresem a fytohormony. Byly zjištěny změny v transkripci, nicméně jsme nepozorovali žádný měřitelný fenotypový projev u deletantů *AtFLOT*, který by se lišil od účinku ošetření na divoký typ. V druhém článku jsme se zaměřili na interaktom *At*FLOT2 a pomocí koimunoprecipitace a následné hmotnostně spektrometrické analýzy jsme nalezli možné interaktory *At*FLOT2. Mezi nimi byly zejména proteiny s transportní funkcí a dále proteiny zapojené v reakci rostliny na útok patogenů. U některých proteinů byla pomocí split-ubiquitin kvasinkového systému potvrzena přímá interakce s *At*FLOT2. Nalezené interaktory mohou být vodítkem pro odhalení funkce *At*FLOT2. Ve třetím článku (prezentovaném jako submitovaný rukopis) jsme pozorovali buněčnou lokalizaci a dynamiku všech isoforem *At*FLOTů a *At*HIRů. Všechny isoformy se až na jednu výjimku, která lokalizovala pouze do tonoplastu, vyskytovaly na plasmatické membráně. Minoritní pool na tonoplastu doprovázející převládající lokalizaci na plasmatické membráně se však vyskytoval i u jiných isoforem. Na plasmatické membráně se *At*FLOTy a *At*HIRy vyskytovaly agregovány v mikrodoménách. Tyto mikrodomény byly velmi stabilní v čase, zejména u *At*FLOTů, *At*HIRy byly mírně, avšak signifikantně mobilnější. Proteiny obou skupin chyběly v lineárních oblastech v rámci plasmatické membrány, tzv. korálech, které kolokalizovali s mikrotubuly. Destabilizace mikrotubulů i aktinového cytoskeletu však nevedla ke změně charakteru lokalizace *At*FLOTů ani *At*HIRů. Zvýšení mobility bylo pozorováno u *At*HIR1 při inhibici syntézy celulózy a stejný efekt měla i enzymatická degradace buněčné stěny, která vedle *At*HIR1 zvýšila i laterální mobilitu *At*FLOT2. V souhrnu naše výsledky ukazují, že *At*FLOTy a *At*HIRy lokalizované v mikrodoménách na plasmatické membráně interagují s buněčnou stěnou, která omezuje jejich mobilitu. Tento vztah může hrát roli v komunikaci odehrávající se na rozhraní plasmatické membrány a buněčné stěny. *At*FLOTy se mohou na takových dějích podílet, zejména na reakcích rostliny na vodní stres nebo setkání s patogenem, což naznačují změny transkripce *At*FLOTů v takovýchto podmínkách, stejně jako fyziologické působení proteinů interagujících s *At*FLOT2 nalezených v naší studii.