

# Abstrakt

Distální konec eukaryotického bičíku je jednou z nejdůležitějších částí bičíku v mnoha eukaryotických buňkách. S distálním koncem bylo asociováno několik důležitých funkcí, avšak jeho proteinové složení zůstává záhadou. Hlavním cílem této dizertační práce je identifikovat a charakterizovat proteiny distálního konce eukaryotického bičíku. Využitím modelového organismu, *Trypanosoma brucei*, který je známý jako parazit, a TrypTag.org projektu, který má za cíl lokalizovat všechny protein-kódující geny v genomu tohoto modelového organismu, se nám podařilo identifikovat 78 proteinů, které lokalizují na distální konec bičíku *T. brucei*. Abychom mohli tyto kandidátní proteiny charakterizovat, bylo nutné zavést v naší laboratoři nové přístupy. Za prvé jsme vyvinuli protilátkové markery, které označují distální konec nově vznikajícího bičíku, přesněji konektor spojující bičíky. Za druhé jsme vyvinuli rychlý přístup bez klonování pro značení a indukibilní overexpresi trypanozomálních proteinů. Prokázali jsme, že tento přístup je vhodný jak pro overexpresi velkých proteinů, tak i proteinů distálního konce bičíku. To umožňuje studium fenotypů při overexpresi proteinů a generuje materiál pro purifikaci proteinů pro následnou biochemickou charakterizaci. Za třetí jsme optimalizovali ultra-expanzní mikroskopii, rychlý a všestranný přístup s vysokým rozlišením pro využití u bičíkatých prvoků *T. brucei* a *Leishmania major*. Tento přístup byl použit k charakterizaci cytoskeletu organismů na bázi mikrotubulů a byl velmi nápomocný při lokalizaci proteinů distálního konce bičíku v souvislosti s axonemou a při charakterizaci fenotypů deplece proteinů. Finální set proteinů distálního konce bičíku sestává ze 78 proteinů. Na základě evoluční analýzy je většina z nich evolučně konzervovaná. Minimum proteinů bylo stanoveno jako strukturní část bičíku, zatímco ostatní jsou součástí rozpustné matrice nebo membránových struktur. Funkčně lze tyto proteiny rozdělit do několika kohort podle toho, zda jejich deplece ovlivnila axonemální konstrukci nebo regulaci délky. Tato práce je souborem kompletního katalogu proteinů distálního konce bičíku u *T. brucei* a charakterizuje jejich funkci ve vztahu k axonemě. Kromě toho jsou zavedené přístupy použitelné pro charakterizaci jiných proteinů nejen u *T. brucei*.

Tato práce je psaná ve formě shrnujícího komentáře, jelikož sestává ze 3 publikovaných článků – 1 prvoautorského a 2 spoluautorských, a 1 prvoautorského manuskriptu. Část PhD projektu byla také podpořena jako GAUK projekt (číslo 103120) uděleným Univerzitou Karlovou.