

Abstrakt

Programovaná buněčná smrt (PCD) je důležitý mechanismus, se kterým se u mnohobuněčných živočichů setkáváme nejen během vývoje a morfogeneze, ale i během jejich interakce s prostředím. PCD je přesně regulovaný proces, který je navíc evolučně velmi konzervovaný. Jedním z nejlépe popsáných typů PCD je apoptóza u živočichů, která se vyznačuje smrštěním cytoplasmy, specifickým štěpením DNA a tvorbou apoptotických tělísek, které jsou nakonec pohlceny okolními buňkami. U rostlin se však díky specifické stavbě rostlinné buňky setkáváme s PBS autofagického typu.

PCD může být spuštěna během nepříznivých podmínek okolního prostředí, zejména během přetrvávajícího poškození DNA v podobě dvouřetězcových zlomů (DSBs) molekuly DNA. U savců spuštění PCD navozené DSBs molekuly DNA vyžaduje aktivitu kinázy ATM a dalších proteinů jako například E2F a p53. Stabilizace p53 má za následek zastavení buněčného cyklu v kontrolním bodu G1/S zatímco E2F transkripční faktor spustí apoptózu aktivací PCD specifických genů, například kaspáz. Bylo popsáno, že E2F může navodit buněčnou smrt i během pouhé overexprese. Navzdory vysoké konzervovanosti signálních drah PCD u eukaryot, některé regulátory PCD (např. kaspázy nebo p53) nebyly dosud u rostlin identifikovány, proto toho o signalizaci rostlinné PCD moc nevíme. Výjimkou je E2F transkripční faktor, který byl nalezen jak u rostlin tak živočichů ale jeho role během rostlinné PCD zatím nebyla popsána.

Hlavním cílem mé dizertační práce bylo vysvětlit, jakým způsobem je kontrolována PCD navozena DSB poškozením DNA ve dvou různých modelových organismech. Prvním modelem byla suspenzní kultura nediferencovaných buněk tabáku BY-2 a druhým kořen Arabidopsis, který je naopak dobře prostudovaným souborem diferencovaných buněk. Navození DSB v buňkách BY-2 pomocí genotoxika bleomycinu (BLM) vedlo k zastavení buněčného dělení, aktivaci kontrolního bodu G2/M, aktivaci genů spojených s ROS i PCD a nakonec k prasknutí vakuoly, což je typický znak autofagické PCD. Dále jsme ukázali, že pozitivní regulace PCD pomocí E2F pozorovaná u živočichů u rostlin s vysokou pravděpodobností neexistuje. Naopak, v závislosti na použité koncentraci BLM a tudíž rozsahu poškození DNA overexprese E2F buď inhibovala buněčnou smrt anebo zvyšovala tzv. nestabilitu genomu díky narušení kontrolního bodu G2/M. Po ovlivnění rostlin Arabidopsis BLM jsme kromě indukce PCD detekovali značný nárůst buněk s endoreduplikovanou DNA. Na základě našich výsledků jsme navrhli model buněčné odpovědi na DSB, která značně závisí na koncentraci aplikovaných genotoxik. Předpokládáme důležitou úlohu pro rostliny specifických proteinů - tzv. Vacuolar processing enzymes a také transkripčního faktoru SOG1. Dále jsme ukázali, že zatímco PCD je přímým důsledkem poškození DNA, endoreduplikace je pouze důsledkem buněčné smrti v kořenovém meristému Arabidopsis. Poškození DNA vede k rozdílným reakcím rostlinných a živočišných buněk což je zřejmě způsobeno jejich rozdílnými životními strategiemi.