

Lokalizace proteinu ARPC2 v rostlinné buňce

Kateřina Šlajcherová

1 Abstrakt

Aktinový cytoskelet je všudypřítomný a plní mnohé nezastupitelné role. Na nukleaci aktinu se u rostlin vedle forminů podílí také ARP2/3 komplex (actin-related protein), složený ze sedmi podjednotek (ARP2, ARP3, ARPC1-C5) a aktivovaný proteinovým komplexem SCAR/WAVE. ARP2/3 komplex je vázán na membránu, vedle nukleace též větví existující mikrofilamenta a mutanti v ARP2/3 komplexu u většiny organismů vykazují vážné poruchy. Rostlinní mutanti mají však mírné fenotypy, např. mutant *Arabidopsis thaliana* postrádající ARPC2 (*dis2-1*) má deformované trichomy a buňky listové epidermis, jeho viabilita však není zasažena. Cílem této práce bylo zmapovat lokalizaci proteinu ARPC2 v rostlinné buňce a detailněji prozkoumat roli ARP2/3 komplexu v morfogenezi rostlinné buňky. Tabáková podjednotka ARPC2 (NtARPC2) byla vizualizována pomocí fúzního proteinu i imunofluorescenčně pomocí protilátek v rostlinách *Arabidopsis* a byly provedeny experimenty s cílem kolokalizovat ji s aktinovým i mikrotubulárním cytoskeletem, s mitochondriemi a membránovými organelami. Vizualizace byly provedeny na konfokálním i TIRF mikroskopu. Bylo zjištěno, že protein GFP-NtARPC2 má v rostlině podobu motilních teček, jejichž pohyb, nikoli však existence, je závislá na aktinovém cytoskeletu. Pohyb těchto teček nápadně připomíná *stop-and-go* pohyb Golgiho aparátu. Kolokalizace teček s konkrétními buněčnými strukturami nebyla přesvědčivě prokázána. Na základě biochemických analýz bylo zjištěno, že fúzní GFP-NtARPC2 protein se v cytoplasmě transformovaných buněk zřejmě částečně rozpadá. Dále bylo zjištěno, že tabákový protein ARPC2 je schopen komplementovat mutantní fenotyp u *dis2-1* rostlin, a to jak ve verzi fúzované s GFP, tak samostatně.

2 Klíčová slova:

ARP2/3 komplex, aktin, cytoskelet, NPF, SCAR/WAVE, ARPC2