

Abstrakt

Mikrotubuly (MT) jsou jednou ze základních buněčných struktur a účastní se mnoha klíčových dějů v rostlinných buňkách a jejich vlastnosti a funkce jsou ovlivňovány a modifikovány dalšími proteiny. Tyto proteiny řadíme do skupiny proteinů asociovaných s mikrotubuly (MAPs, microtubule-associated proteins). Jedním z MAP je také mnou zkoumaný molekulární chaperon Hsp90, který zastává v buňce velké množství nejrůznějších funkcí. Mimo jiné u něj byla již v minulosti prokázána kolokalizace s MT (Freudenreich a Nick, 1998; Petrášek *et al.*, 1998). Přímá vazba k MT byla však popsána teprve nedávno, a to za pomoci kosedimentačních reakcí specifické tabákové cytozolické izoformy Hsp90, která byla díky své schopnosti vázat MT nazvána Hsp90_MT. Zároveň bylo zjištěno, že vazba k MT je nezávislá na aktivitě ATP (Krtková *et al.*, 2012). Ve zmíněné práci autoři také zjistili pozitivní vliv Hsp90_MT na obnovu MT vystavených chladovému stresu.

Přestože se na dynamice MT cytoskeletu podílí v obrovské míře právě MAP, je s podivem, že u mnohých z nich dosud není známá molekulární podstata interakce s MT, tedy jejich MT-vazebná doména. Rozhodli jsme se proto určit tuto doménu u tabákového Hsp90_MT za pomoci tvorby rekombinantních proteinů obsahujících charakteristické domény pro rodinu Hsp90 a následných kosedimentačních reakcí s polymerovaným tubulinem. Již na počátku práce jsme předpokládali, že by za vazbu k MT mohla být zodpovědná variabilní KE-bohatá doména vzhledem k její podobnosti s jinými MT-vazebnými motivy u jiných živočišných i rostlinných MAP. Z našich výsledků vyplývá, že kandidátní úsek Hsp90_MT obsahující KE-bohatou doménu se opravdu nejvíce váže k MT, a je tedy zřejmě zodpovědný za vazbu Hsp90_MT k MT. Tento výsledek však bude nutné podpořit ještě dodatečnými experimenty a nelze vyloučit, že kromě specifického KE-motivu by za vazbu tohoto molekulárního chaperonu na MT mohly být zodpovědné také hydrofobní interakce či například specifická terciární struktura.

Klíčová slova: Hsp90, kosedimentace, mikrotubuly