

Souhrn práce

Předkládaná práce se zabývá funkcí a regulací vnitrobuněčné signalizace, které se účastní fosfolipázy D (PLD) a fosfatidová kyselina (PA), a to zejména v kontextu buněčné morfogeneze rostlin. Fosfolipázy D štěpí membránové fosfolipidy za produkce fosfatidové kyseliny, která má významné biofyzikální a signalizační funkce v mnoha kontextech, jako je například odpověď na stres, regulace dynamiky cytoskeletu a regulace váčkového transportu. Váčkový transport hraje nezastupitelnou roli v ostře lokalizované expanzi buněk pylové láčky a kořenových vlásků. Část práce se věnovala i NADPH oxidázám, u kterých se ukazuje úzká souvislost se signální drahou fosfatidové kyseliny.

Pylová láčka tabáku posloužila jako hlavní experimentální model, který umožňuje snadno hodnotit změny v sekretorické dráze při farmakologických a genetických experimentech. Zde se dobře uplatnila metodika cíleného potlačení genové exprese pomocí modifikovaných antisense oligonukleotidů, která byla využita pro snížení exprese izoform fosfolipázy D, NADPH oxidázy a nově zkoumané rodiny rostlinných lipid fosfát fosfatáz (LPP). Tím se umožnilo hodnocení funkce jednotlivých proteinů v růstu pylové láčky.

Při zkoumání uvedených genových rodin byly využity nástroje bioinformatiky, jako je konstrukce dendrogramů, analýza dostupných expresních dat nebo vytvoření tzv. virtuálního proteomu. Všechny tyto metody umožnily vytypovat potenciálně zajímavé paralogy pro experimentální zkoumání.

V rámci zkoumání funkcí PA byly využity inhibitory degradace PA, které jsou známy z biomedicínské literatury a z publikací týkajících se kvasinek. Tyto inhibitory shodně stimulují růst pylových láček, což je ve shodě se známou funkcí pozitivní PA na růst pylových láček. Následně se práce zaměřila na bližší zkoumání rodiny membránových lipid fosfát fosfatáz (LPP), které jsou kandidátem na negativní regulátory signalizace využívající PA. Na základě dendrogramu a expresních dat byla vytypována izoforma LPP4 s vysokou pylovou expresí. Odpovídající cDNA (spolu s ostatními) byla úspěšně vyklonována z tabákového pylu. Potlačení exprese NtLPP4 vedlo k mírnému zvýšení růstové rychlosti pylových láček, což je ve shodě s farmakologickými výsledky. Značený protein NtLPP4 je lokalizován do tečkovitých struktur v cytoplazmě. Tyto výsledky naznačují, že proteiny z rodiny LPP fungují jako negativní regulátory PA v sekretorické dráze.

Další zkoumání fylogeneze LPP u krytosemenných ukázalo neobvyklou dynamiku genové rodiny u jednoděložných rostlin.

Bylo zjištěno, že rostliny *Arabidopsis* s mutovaným genem AtPLD β 1 jsou méně citlivé k abscisové kyselině (ABA).

Použití jednoho z inhibitorů degradace PA vedlo ke změně v orientaci růstu kořene *Arabidopsis* při pěstování in vitro.

Práce ukazuje význam signalizačního modulu PLD/PA v několika kontextech, jak na

buněčné, tak organismální úrovni.