

Abstrakt

Rodina SUN proteinů (Uth1p, Sun4p, Sim1p, Nca3p) je skupina proteinů vyskytujících v houbach a podobných glucanazům buněčné stěny. SUN proteiny mají vysokou homologie v jejich C-terminalní doméně která je 256 aminokyselin dlouhá. Naše předchozí studium vývoje kvasinkových kolonií odhalilo, že členy rodiny SUN proteinů mohou být zapojeny do procesu stárnutí a také mohou hrát důležitou roli pro přežívání během vývoje a růstu mnohobuněčné kvasinkové populace. V naší laboratoři jsme provedli microarray analýzu změn expresí genů v koloniích, která ukázala výrazné změny v úrovni exprese člena SUN rodiny UTH1. Kmen s deletovaným UTH1 genem vykazuje zpomalenější růst a horší přežívání v kvasinkových koloniích při porovnání s wild type kmenem. Nicméně v své práci jsem se soustředil na identifikaci a získání více informací o funkcích jednotlivých SUN proteinů a zjištění jejich přesné lokalizace. Je zajímavé, že některé SUN proteiny mají duální lokalizaci (Uth1p a Sun4p) v mitochondriích a buněčné stěně a mohou být spojeny s jejich funkcí. V této disertační práci, kapitola "Results and discussion" byla rozdělena na dvě části: první adresovaná otázkám, které se týkají lokalizace, regulaci závislé na kyslíku a možné zapojení SUN proteinů v remodelaci buněčné stěny. Druhé části předcházela vývoj nové metody vizualizací jizvy zrodu a proteinů lokalizovaných v buněčné stěně a týkala se účasti Sun4p ve složení jizvy zrodu. Ve své práci jsem ukázal, že tři členy rodiny SUN proteinů (Uth1p, Sun4p a Sim1p) jsou uvolňovány z buňek. Zjistil jsem, že exprese genů UTH1, SUN4 a SIM1 je odlišně regulována při podmínkách s různou koncentrací kyslíku v prostředí a během jednotlivých fází vývoje kvasinkové kultury. Předpokladám, že se SUN proteiny účastní remodelace buněčné stěny a mění rezistenci proti toxickým látkám. Jsem ukázal, že Uth1p může být zajímavým cílem pro studium způsobu účinkování kyseliny borité. Zavedli jsme novou metodu vizualizace proteinů buněčné stěny pomocí protilátek s připojenými fluorescenčními barvami. Tato metoda umožní získání nových znalostí o jizvě zrodu: poměrně málo studované struktury s neznámým složením, která je součástí buněčné stěny kvasinek. Určil jsem, že proteiny Sun4p, Dse2p, Dse4p jsou lokalizovány v jizvě zrodu. Zjistil jsem přesnou lokalizaci Sun4p, Dse2p, Dse4p v rámci buněčné stěny. Ukázal jsem, že specifická lokalizace Sun4p

zavíslá na přítomnosti Dse2p a že lokalizace obojích proteinů Sun4p a Dse2p v jizvě zrodu zavíslá na Egt2p které je ukotvené pomocí GPI. Delece nebo kombinace dvojité delece těchto predikovaných glukánáz véde k defektu buněčné separace. Předpokládám, že tyto proteiny jsou součástí komplexu degradujícího septum, který je lokalizován v dceřiné části bud neck a v jizvě zrodu a je nezbytný pro buněčnou separaci v pozdní mitóze. Přítomnost Sun4p v jizvě zrodu a v mezibuněčném prostoru je nepřímo zavíslá na transcripčním faktoru Ace2.

Použitím nového imunofluorescenčního přístupu pro vizualizaci kvasinkové jizvy zrodu jsem objevil, že Aim44p je nezbytný pro správný výběr nového místa pučení. Kmen s deletovaným genem AIM44 ukazuje tak zvaný “budding-within-birth scar” fenotyp, v kterém nový pupen vždy vzniká v rámci jizvy zrodu neboli oblasti omezené pro pučení. Podobný fenotyp má kmen s deletovaným genem SWI5, kodujícím transkripční regulátor pro AIM44. Ve shrnutí moje výsledky přespívají ke znalostem o lokalizaci rodiny SUN proteinů, jejich roli v biogenezi buněčné stěny, buněčné separaci a složení jizvy zrodu.