Přírodovědecká fakulta Jihočeské university

Mikrobiologický ústav AV ČR

Cyklin-dependentní kinasy v buněčném cyklu zelené řasy *Scenedesmus quadricauda*

Rigorózní práce

Kateřina Bišová

školitel: Dr. Vilém Zachleder, CSc.

Třeboň 2008

Prohlašuji, že svoji rigorózní práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s §47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své rigorózní práce, a to v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

10. března 2008

Rigorózní práce

Bišová, K., Vítová, M., Zachleder, V., (2000) The activity of total histone H1 kinases is related to growth and commitment points while p13(suc1)-bound kinase activity relates to mitoses in the alga Scenedesmus quadricauda, *Plant Physiol. Biochem.* 42, 341-348

Anotace:

Za optimálních růstových podmínek uskuteční synchronizované kultury zelené řasy *Scenedesmus quadricauda* tři replikace DNA a tři jaderná dělení v průběhu jednoho buněčného cyklu. To vede ke vzniku osmi dceřiných buněk. Za použití různých režimů osvětlení a přidání inhibitioru protesyntézy cykloheximidu jsme získali buňky, které se během jednoho buněčného cyklu rozdělily za vzniku dvou, čtyř či osmi dceřiných buněk. Vybrané typy buněčných cyklů se lišily v načasování dosažení „commitment point“, počtu jaderných dělení a jejich umístění v průběhu buněčného cyklu. Tyto specifické buněčné cykly nám umožnily srovnat načasování kinasové aktivity vůči histonu H1 s dosažením „commitment point“ a průběhem mitózy. Aktivita kináz fosforylujících histon H1 byla stanovena v celkových buněčných extraktech a po afinitní purifikaci na proteinu $p13^{suc1}$. Hlavní vrcholy kinasové aktivity v celkovém buněčném extraktu korelovaly s dosažením “commitment point”, nižší vrcholy kinasové aktivity předcházely jaderným dělením. Naproti tomu kinasová aktivita vázaná na protein $p13^{suc1}$ předcházela jadernému dělení a byla zanedbatelná v době dosažení “commitment point”. Díky schopnosti manipulovat s načasování dosažení „commitment point“ a buněčného dělení pomocí změny vnějších podmínek jsme byli schopni přesně srovnat s aktivitu zatím neznámé kinasy histonu H1 a dosažení „commitment point“, respektive průběh mitosy s aktivitou kinasy vázané na proteinu $p13^{suc1}$. Naše výsledky prokazují, že místní aktivace cyklin-dependentních kinas reguluje určité události v buněčném cyklu.

Tato práce byla financována z grantu GA ČR 204/97/0576.

Abstract

Under optimal growing conditions, synchronous cultures of the alga *Scenedesmus quadricauda* underwent three DNA replications and three mitoses during one cell cycle. This resulted in eight daughter cells. By different illumination regimes and temporal addition of cycloheximide, cell divisions resulting in two, four or eight daughter cells per cycle were obtained. The selected cell cycle patterns differed in timing of commitment points, the number of nuclear divisions, and their positioning in the cell cycle. These distinct cell cycle patterns allowed to assess the correlation of histone H1 kinase activity with commitment points and mitoses. The activity of the histone H1 kinases was assayed in cellular protein extracts and after affinity purification using the $p13^{suc1}$ protein. The main peaks of kinase activity in the cellular extract were found to correlate with the commitment points. Small histone H1 kinase activity peaks were also found which preceded the nuclear division. Contrary to the histone H1 kinase activity of cellular extracts, the p13suc1-bound kinase activity preceded the nuclear division, whilst its activity was negligible at the commitment points. Being able to manipulate the timing of commitment points and cell division by manipulating experimental conditions, we could precisely match the commitment points to an as yet unidentified histone H1 kinase activity and mitosis to $p13^{suc1}$-bound CDK activity during a particular cell division pattern with overlapping cycles. This provides molecular evidence, that local activation of CDKs regulates distinct events of the cell cycle.

This work was supported by the Grant Agency of the Czech Republic, grant 204/97/ 0576.

Prohlášení

Jako korespondenční autor a jako vedoucí Laboratoře buněčných cyklů řas prohlašuji, že publikace uvedená jako součást rigorózní práce Mgr. Kateřiny Bišové, PhD. je výsledkem kolektivní práce členů laboratoře. Mgr. Kateřina Bišová, PhD. se z minimálně 70% podílela teoreticky i prakticky na všech experimentech včetně jejich vyhodnocování a na přípravě rukopisů k publikaci.

RNDr. Vilém Zachleder, CSc.

Jako spoluautorka potvrzuji výše uvedené prohlášení:

RNDr. Milada Vítová, Ph.D. .....

Bišová, K., Vítová, M., Zachleder, V., (2000) The activity of total histone H1 kinases is related to growth and commitment points while p13(suc1)-bound kinase activity relates to mitoses in the alga Scenedesmus quadricauda, *Plant Physiol. Biochem.* 42, 341-348