

Abstrakt

Konjugace auxinu patří k zásadním metabolickým procesům regulujícím aktivitu auxinu v rostlinných buňkách. Mezi důležité enzymy konjugující auxin s aminokyselinami patří skupina amidoacyl syntetáz z rodiny Gretchen Hagen 3 (GH3). Díky existenci citlivějších metod detekce auxinových metabolitů i aktuálnosti studia účinku abiotických stresů je v poslední době výzkum GH3 enzymů na vzestupu. Lépe známy jsou tyto enzymy u huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*), sóji (*Glycine max*) a rýže (*Oryza sativa*). Tyto modely však neumožňují detailnější biochemické studium jejich aktivit. Proto bylo cílem této práce sledování metabolismu auxinu v zavedeném modelu tabákových buněčných linií BY-2 (*Nicotiana tabacum*). Geny *NtGH3.1* a *NtGH3.6*, u kterých byla v tomto systému prokázána variabilní regulace jejich exprese auxinem, byly cíleně mutovány metodou CRISPR/Cas9. Mutace v odvozených liniích byly ověřeny sekvenací a u těchto linií byl analyzován pomocí LC/MS metabolický profil auxinu. Toto metabolické profilování poukázalo na souvislost formy *NtGH3.6d* se specifickou produkcí metabolitu oxIAA-Gln (N-(2-oxindol-3-acetyl)-glutamin). Studium případné zástupnosti jednotlivých forem genů *GH3* v mutovaných liniích metodou RT-qPCR ukázalo, že zástupnost je nejspíš poměrně malá. Jednotlivé geny byly také označeny pomocí GFP, exprimovány pod inducibilními promotory a jejich produkty lokalizovány pomocí konfokální mikroskopie v cytoplasmě a jádře tabákových buněk BY-2. Výsledky této práce představují první komplexní analýzu exprese, funkce a lokalizace jednotlivých členů skupiny auxinových amidoacyl syntetáz u tabáku.