

Univerzita Karlova  
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Molekulární Biologie a Biochemie Organismů



Adam Samuel Rákos

Organizace cytoskeletu v buňkách s orientovaným růstem u modelového organismu  
*Caenorhabditis elegans*

Cytoskeletal organization in cells with oriented growth in the *Caenorhabditis elegans*  
model system

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Mgr. Marie Macůrková, Ph.D.

Praha 2024

*Poděkování: Rád bych poděkoval paní Macůrkové, za její ochotu a snahu, své rodině a všem, kteří mi přáli štěstí.*

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 12.12.2024

## Abstrakt

Orientovaný růst buněk je těsně provázán s organizací cytoskeletu a polaritou buněk. Polymerace aktinu za účasti WRC a Arp2/3 komplexů umožňuje neuronům větvení dendritů, buňky, díky svazkům aktinu, vytvářejí filopodia zkoumající své okolí, rozdílným uspořádáním mikrotubulů je zajišťován transport do odlišných oblastí buněk, dynamiky aktinu či tlaku kapaliny je využíváno k orientovanému růstu. V této práci je zaměřena pozornost na procesy orientace mikrotubulů neuronů, strukturní organizaci složek cytoskeletu, jejich dynamiku a interakce v oblastech buněk zajišťující orientovaný růst. V závěru je věnována pozornost na terminální růst a lumenogenezi kanálové buňky.

Přestože se jedná o dva různé typy buněk, z literatury vyplývá, že mechanismy terminálního růstu jsou podobné, což by mohlo umožnit využití modelu kanálové buňky *Caenorhabditis elegans* k pokročilým mikroskopickým metodám s výhodou větší velikosti.

**Klíčová slova:** *Caenorhabditis elegans*, mikrotubuly, aktin, orientovaný růst, WRC, kanálová buňka, růstový kužel, lumenogeneze

## Abstract

Oriented cell growth is closely linked to cytoskeleton organization and cell polarity.

Polymerization of actin involving WRC and Arp2/3 complexes allows neurons to branch dendrites, cells, thanks to actin bundles, form filopodia exploring their surroundings, different arrangements of microtubules ensure transport to different regions of cells, actin dynamics or fluid pressure is used for oriented growth. In this work, attention is focused on the processes of microtubule orientation of neurons, the structural organization of cytoskeleton components, their dynamics and interactions in cell regions providing oriented growth. Finally, attention is paid to terminal growth and lumenogenesis of the canal cell.

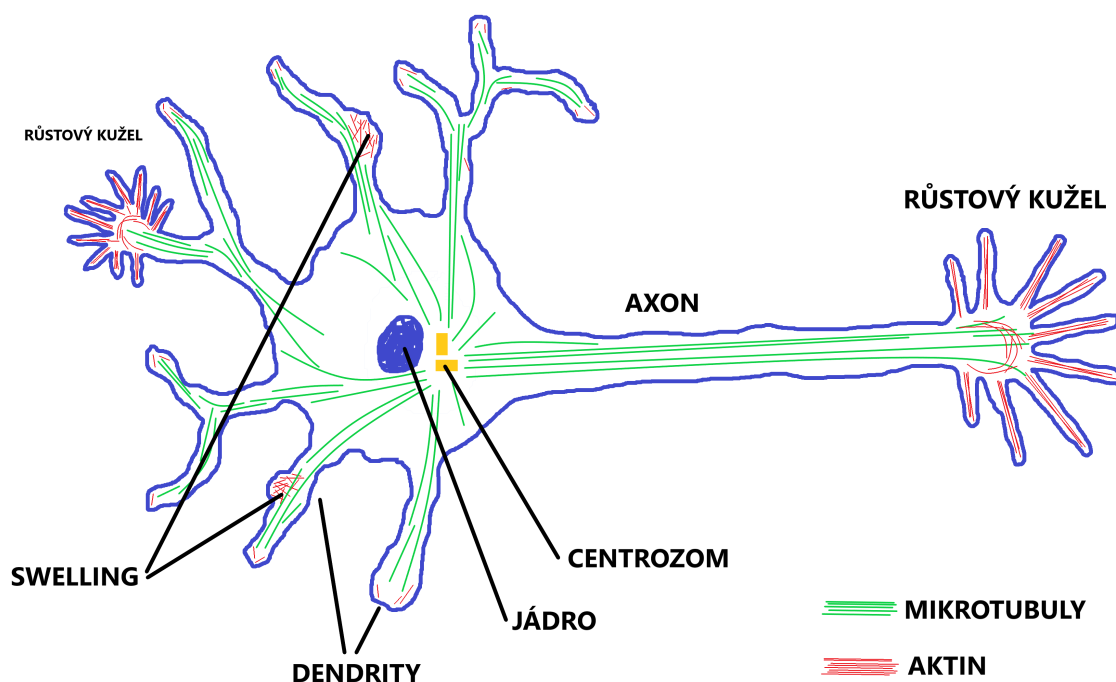
Although these are two different cell types, the literature suggests that the mechanisms of terminal growth are similar, which could allow the use of the canal cell model *Caenorhabditis elegans* for advanced microscopic methods with the advantage of larger size.

**Keywords:** *Caenorhabditis elegans*, microtubulus, actin, oriented growth, WRC, canal cell, growth cone, lumenogenesis

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Neurony</b>	<b>3</b>
2.1	Dendrity aciliálních neuronů . . . . .	4
2.2	Dendrity v ciliálních neuronech . . . . .	5
2.3	Imobilizace mikrotubulů . . . . .	7
2.4	Větvení neuritů . . . . .	8
2.5	Růst axonu . . . . .	11
<b>3</b>	<b>Kanálová buňka</b>	<b>14</b>
3.1	Růst kanálové buňky . . . . .	15
3.2	Cytoskelet a růst lumen kanálu . . . . .	17
<b>4</b>	<b>Závěr</b>	<b>20</b>

# 1 Úvod



Obrázek 1: Schéma neuronu a uspořádání cytoskeletu v něm.

Cytoskelet má podobu vláken uvnitř buněk, vzájemně interagujících pomocí proteinů, a hraje v buňce klíčovou roli při zaujímání jejího tvaru (Priess a Hirsh, 1986; Kolotuev a kol., 2013), jejím orientovaném růstu (Flynn a kol., 2012; Shi a kol., 2021), pohybu (Agarwal a kol., 2024), vnitrobuněčném transportu váčků či proteinů (Yan a kol., 2013) i při buněčném dělení (Lantzsch a kol., 2021; Vieira de Carvalho, 2024).

Specifickým případem je orientovaný růst, kde musí cytoskelet vykonávat mnoho úkolů najednou. Jeho úlohou je zajistit samotný růst ve smyslu rozšiřování prostoru, ve kterém se buňka nachází, udržet kontinuitu buňky a její tvar. Je podstatnou mechanickou oporou, mimo to je jeho prostřednictvím v součinnosti se specifickými proteiny zajišťován transport. Také udržuje polaritu buňky a musí být schopen reagovat na okolní stimuly, například změnou směru růstu.

K takovému orientovanému růstu, který splňuje vše zmíněné výše, dochází napří-

klad v dendritech a axonech neuronů, ve kterých v rámci tohoto procesu někdy dochází i k větvení. Ty tak díky tomu prostupují tělem a umožňují v jeho rámci přenášet informace. Dendrity a axony jsou rozdílné struktury, které se liší i funkcí. Právě růst, větvení i funkce jsou cytoskeletem reflektovány rozličným uspořádáním mikrotubulů, aktinu a mnoha dalších proteinů (viz obr. 1). Dalším velmi dobrým příkladem orientovaného růstu je kanálová exkretorní buňka organismu *Caenorhabditis elegans*, jejíž čtyři výběžky po dokončení růstu prostupují v zásadě celým tělem (Kenneth Nelson a kol., 1983; Sundaram a Buechner, 2016).

Tato práce bude zaměřena na orientovaný růst a organizaci cytoskeletu neuronů obecně a v kanálové buňce v organismu *Caenorhabditis elegans* (hádátka obecné). Důvodem je, že neurony jsou typickým představitelem buněk s orientovaným růstem a kanálová buňka kromě své složitější morfologie a důležité funkce v organismu disponuje dvěma membránovými kompartmenty – bazální membránu a apikálním lumen. To zde umožňuje nahlédnout i do mechanismů tubulogeneze, které se významně uplatňují v jiných organismech.

Procesy zmíněné v této práci se v různé míře uplatňují například při vzniku a fungování lymfatického systému (Kolotuev a kol., 2013), během angiogeneze tenkých cév (Yu a kol., 2015) či při procesech zabraňujících neurodegenerativním chorobám (Arnold a kol., 2023). Přestože se *Caenorhabditis elegans* může zdát příliš jednoduchý, informace i z takto jednoduchého systému jsou informativní.

## 2 Neurony

Neurony organismu *Caenorhabditis elegans* lze rozlišovat do skupin v základu dvěma různými způsoby:

- Dle jejich funkce – na neurony senzorické, motorické, interneurony a případně polymodální neurony (Hall a kol., 2005; Onuchin a kol., 2023)
- Dle jejich morfologie – na neurony multipolární, bipolární, pseudo-unipolární a unipolární (Tang a Jin, 2018)

Neurony lze dále třídit do skupin dle jejich vzájemného propojení (Onuchin a kol., 2023; Emmons, 2024), což je přístup autorů, kteří se snaží o pochopení nervového systému *C. elegans* jako celku, případně je jejich cílem vytvořit jeho model.

Z pohledu cytoskeletální organizace je efektivnější rozlišení dle dendritů na neurony ciliární a neciliární, případně dle přítomnosti větvení dendritů.

Při celkovém pohledu na neuron lze dle autorů Tang a kol., 2019 pozorovat rozdílné rozložení složek cytoskeletu v rámci buňky, F-actin (vláknitý, polymerní aktin) je lokalizován nejvíce na rostoucím okraji dendritů a axonů, mikrotubuly naopak na bázi dendritů a v axonu. Avšak pro neurony nejvýznačnější, z důvodu polarizovanosti neuronů, je orientace mikrotubulů v jeho výběžcích – axonu a dendritech (obecně neurity). Na mikrotubuly bude zaměřena pozornost v následující části této práce.

Neuron je typickým příkladem polarizované<sup>1</sup> buňky. To ostatně vyplývá i z jeho funkce – posílá signály odněkud někam. Základním prvkem polarity v buňkách neuronů jsou mikrotubuly, taktéž polarizovaná proteinová vlákna, která mají dva různé konce, (+) konec a (-) konec. K těmto různým koncům putují molekulární motory schopné pohybu pouze jedním směrem a transportováním proteinů tak vytvářejí funkční polaritu buňky, kdy jeden pól buňky kvůli rozdílnému složení proteinů vykonává jinou činnost, než pól druhý (Goodson a Jonasson, 2018).

Základním zdrojem polarity mikrotubulů v živočišných buňkách je centrozóm – okolí této organely umožňuje nukleaci<sup>2</sup> mikrotubulů od (-) konce. Následně jsou tak v buňkách obecně (-) konce koncentrovány v oblasti centrozómu a mikrotubuly svým (+) koncem

---

<sup>1</sup>Polarita znamená, že se jeden konec buňky či mikrotubulu liší od druhého a chovají se jinak

<sup>2</sup>začít polymeraci



směřují do ostatních částí buňky (Goodson a Jonasson, 2018). V axonu směřuje směrem ven (+) konec, což odpovídá právě představenému uspořádání. V dendritech je ovšem uspořádání odlišné, směrem ven směřuje převážně (-) konec (Maniar a kol., 2011; Yan a kol., 2013; Harterink a kol., 2018; Dey a Ghosh-Roy, 2021). Neurony mohou tuto odlišnou polaritu zajistit dvěma různými mechanismy odlišnými v ciliálních a aciliálních neuronech.

Právě jim budou věnovány následující kapitoly 2.1 a 2.2.

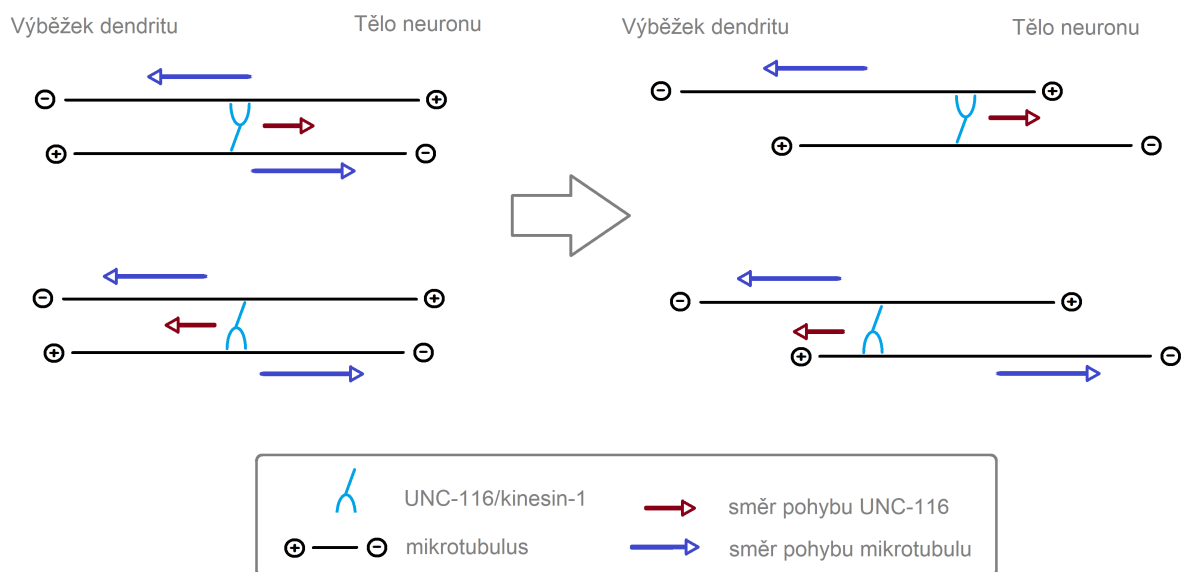
Je však vhodné poznamenat, že zde prezentované mechanismy neplatí jednotně, protože každý neuron může mít svá specifika a ve výsledku tak velmi záleží na zvoleném modelu. Příkladem může být, že přestože se většina autorů shoduje, že mikrotubuly v dendritech neuronů jedinců divokého typu jsou orientovány zcela či téměř zcela (-) koncem směrem ven, autoři Dey a Ghosh-Roy, 2021; Puri a kol., 2021 v dendritu PLM neuronu pozorovali smíšenou organizaci. V neuronu je tato výjimka způsobena dvěma proteiny (KLP-7 a PTRN-1), které zde zvyšují dynamiku mikrotubulů a zajišťují jejich jiné uspořádání. Jejich vlivem má daný dendrit také menší délku, než v případě mutantních jedinců v těchto proteinech (Puri a kol., 2021).

## 2.1 Dendrity aciliálních neuronů

V aciliálních dendritech ustanovuje orientaci mikrotubulů (-) koncem směrem ven UNC-116/kinesin-1 a to tak, že mikrotubuly orientované opačně – (+) koncem ven – selektivně posouvá pryč z dendritu do těla neuronu (Yan a kol., 2013). Protein UNC-116/kinesin-1 je molekulární motor ze skupiny kinesinů (Drozd a Quinn, 2023; Yan a kol., 2013), který se pohybuje směrem k (+) konci mikrotubulů a koncentruje se tak do špičky axonu (Yan a kol., 2013).

K ustanovení „(-) konec ven“ polaritu v dendritech je UNC-116 nezbytný (Yan a kol., 2013; He a kol., 2020). Důležitost ilustruje fakt, že jeho úplná absence je smrtelná, částečné poškození jeho funkce v mutantovi (alela e2310) způsobuje změnu polaritu mikrotubulů v dendritu na polaritu shodnou s axonem, tedy (+) konec ven, aniž by došlo ke změně polaritu v axonu (Yan a kol., 2013). Tento závěr vychází z pozorování, kdy se po zavedení zmíněné mutace začaly vyskytovat signály typické pro vrchol axonu, zde UNC-104, také na vrcholu dendritu a signály typické pro dendrit na bázi dendritu. Ke stejným výsledkům dospěli i He a kol., 2020 v jiném mutantovi UNC-116 (alela ed3) s tím rozdílem, že ve vzácných případech pozorovali změnu organizace MT i v axonu

Tento kinesin má na svém C-terminálním konci místo schopné vázat mikrotubuly (microtubule binding site), kterým se na mikrotubuly váže a propojuje je (Navone a kol., 1992; Yan a kol., 2013). Této aktivity je ale pravděpodobně, dle autorů Yan a kol., 2013, schopen pouze v součinnosti s proteinem mNUDC. Komplex těchto dvou proteinů následně propojuje přednostně antiparalelní vlákna mikrotubulů. Jde ale o výsledky pokusu



Obrázek 2: Schematické znázornění mechanismu posunu mikrotubulů s orientací (-) koncem ven ve směru do dendritu a (+) koncem ven zpět do těla neuronu proteinem UNC-116/kinesin-1. Obrázek znázorňuje, že k posunu daným směrem a tedy organizaci mikrotubulů tímto proteinem dochází nezávisle na tom, po jak orientovaném mikrotubulu UNC-116/kinesin-1 kráčí.

provedeného *in vitro* s kinesinem a mNUDC z hovězího mozku, nelze tak automaticky předpokládat platnost i pro *C. elegans*. Dále však autoři dokázali, že UNC-116/kinesin-1 v dendritech ustanovuje orientaci mikrotubulů (-) koncem směrem ven vysouváním mikrotubulů s opačnou orientací z dendritu do těla neuronu (obr. 2) (Yan a kol., 2013).

Takto orientovaný cytoskelet následně umožňuje molekulárním motorům pohybujícím se k (-) konci mikrotubulů, jako jsou například DHC-1/dynein nebo kinesin KLP-16, transport do vrcholu dendritu a naopak znemožňuje transport do vrcholu dendritů proteinům pohybujícím se k (+) konci, jako je například UNC-104/Kinesin3, který je zodpovědný za transport synaptických váček do axonu (Yan a kol., 2013).

Motorový protein UNC-116 má v neuronu i další funkce, například transport mitochondrií v axonu (Yan a kol., 2013) nebo ovlivňuje délku neuritů (Drozd a Quinn, 2023). Z výsledků autorů Yan a kol., 2013 mj. také vychází, že UNC-116 je nutný k transportu dendritických proteinů jako například ACR-2, CAM-1 a FBN-1 do dendritu, což ale pouze podporuje výše popsaný mechanismus ustanovování polarity mikrotubulů v dendritech vlivem UNC-116.

## 2.2 Dendrity v ciliátních neuronech

Mírně odlišná situace je v ciliátních neuronech, které mají na vrcholu dendritu, na bázi senzoričké cilie, organizační centrum mikrotubulů (MTOC), které je schopné iniciovat

polymeraci mikrotubulů od (-) konce (Harterink a kol., 2018).

Autoři Harterink a kol., 2018 vycházejí z pozorování  $\gamma$ -tubulinu, což je protein, který je součástí MTOC a až na výjimky je nutný k nukleaci polymerace mikrotubulů (Kollman a kol., 2010; Kollman a kol., 2011; Oakley a kol., 2015). Zatímco v neciliálních neuronech je  $\gamma$ -tubulin lokalizován rozptýleně, pouze s lehce zvýšenou koncentrací ve špičce dendritu, v ciliálních neuronech je možné pozorovat výrazný výskyt  $\gamma$ -tubulinu na bázi cilie (Harterink a kol., 2018). Stejných výsledků bylo dosaženo pozorováním značeného proteinu GIP-2/CeGrip-2, který je součástí  $\gamma$ -tubulinového komplexu schopného nukleace mikrotubulů (Hannak a kol., 2002; Wang a kol., 2015; Harterink a kol., 2018).

Výjimkou je URX neuron, který nemá cilii, ale na vrcholku jeho dendritu se nachází oblast s bohatým výskytem  $\gamma$ -tubulinu a proteinu OSM-6, který se vyskytuje specificky v cilii. To naznačuje, že neuron URX má na vrcholu dendritu MTOC jako ciliální neurony (Harterink a kol., 2018).

Důsledkem přítomnosti MTOC v URX a ciliálních neuronech je snižená potřeba proteinů UNC-116/kinesin-1, UNC-33/CRMP a UNC-44/Ankyrin (viz dále). Správná orientace mikrotubulů je zde zajištěna MTOC ve vrcholu dendritu. Jím vytvořené mikrotubuly směřují (+) koncem k tělu neuronu a (-) koncem směrem ven. Zatímco při poškození funkce těchto proteinů v aciliálních neuronech dochází v dendritech ke změně a tedy poškození organizace mikrotubulů, při poškození funkce těchto proteinů v neuronech s MTOC lze v dendritu pozorovat pouze minimální změny – tyto dendrity tak nejsou na těchto proteinech závislé (Harterink a kol., 2018).

Dalším důsledkem přítomnosti MTOC na vrcholku dendritu je změna dynamiky mikrotubulů. Zatímco v dendritech aciliálních neuronů a axonech je dynamika ve vzdálenějších oblastech od těla neuronu snižená, v dendritech ciliálních neuronů a neuronu URX je obecně frekvence započítání růstu mikrotubulů, a tedy jejich dynamika, vyšší, zejména v blízkosti cilie (Harterink a kol., 2018).

Přítomnost MTOC na vrcholu dendritu také podporuje transport do této oblasti (Harterink a kol., 2018).

V rozporu s výše zmíněnými informacemi je pozorování autorů Liang a kol., 2020, kteří v anteriorním dendritu neuronu PVD, který je aciliální (Harterink a kol., 2018), pozorovali MTOC a podobně zvýšenou dynamiku mikrotubulů jako je tomu u ciliálních dendritů. Tito autoři ve své práci dále rozvádí model, ve kterém jsou komplexy  $\gamma$ -tubulinu transportovány molekulárním motorem UNC-116/kinesin-1 k (+) konci, více do vrcholu rostoucího dendritu, přičemž jsou zároveň vlivem DHC-1/Dynein pohybujícímu se k (-) konci koncentrovány v jednom místě což udržuje jedno MTOC (Liang a kol., 2020). Tyto informace přinášejí ještě více komplexity do uspořádání cytoskeletu v neuronu PVD, který byl již jako výjimka uveden v závěru kapitoly 2.

## 2.3 Imobilizace mikrotubulů

Proteiny UNC-33/CRMP, UNC-44/Ankyrin a UNC-119 hrají klíčovou roli ve vývoji a funkci neuronů. Poškození funkce těchto proteinů má podobné projevy jako poškození funkce molekulárního motoru, již zmíněného UNC-116/kinesin-1 (He a kol., 2020; Hartelink a kol., 2018; Maniar a kol., 2011; Otsuka a kol., 1995).

Mutace v genu *unc-33* obvykle způsobuje výskyt presynaptických proteinů i v dendritu a těle buňky, což naznačuje, že kinesin3/UNC-104, který je zodpovědný za transport těchto proteinů, získal přístup do dendritů neuronu (Maniar a kol., 2011). Stejný fenotyp byl pozorován i při mutaci genu *unc-119* (He a kol., 2020). V mutantech genů *unc-33* a *unc-44* byl v axonech i dendritech pomocí značeného EBP-2 pozorován pohyb (+) konců polymerujících mikrotubulů v obou směrech, což ukazuje, stejně jako předchozí výsledky, na smíšenou orientaci mikrotubulů (Maniar a kol., 2011). V mutantech *unc-33* byl dále v PVD neuronu pozorován úbytek koncentrace mikrotubulů v axonu a zvýšení koncentrace mikrotubulů v dendritech (Maniar a kol., 2011).

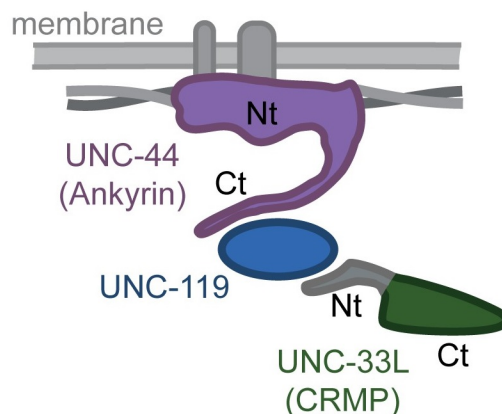
UNC-33 má tři isoformy lišící se N-terminální sekvencí: UNC-33L (long), UNC-33M (medium) a UNC-33S (short) (Li a kol., 1992; Tsuboi a kol., 2005), avšak pouze isoforma UNC-33L má aktivitu zde připisovanou genu *unc-33*, protože pouze UNC-33L umí opravit fenotyp mutantu *unc-33* (Maniar a kol., 2011; He a kol., 2020).

Výskyt proteinů UNC-33, UNC-44 a UNC-119 je velmi podobný. Dle pozorování autorů He a kol., 2020 se UNC-44 i UNC-119 shodně vyskytují zejména v axonech a dendritech, přičemž UNC-44 se nachází v blízkosti vnitřní strany membrány. Dle pozorování autorů Maniar a kol., 2011 se UNC-33L vyskytuje v segmentech axonů v blízkosti těla neuronu, ale ne v dendritech. Tvzení, že se UNC-33L nevyskytuje v dendritech, se může zdát nepravděpodobné, zvláště když se zakládá na pozorování pouze jednoho neuronu, neuronu PVD. Dle novějších výsledků v práci autorů Eichel a kol., 2022 se UNC-44 vyskytuje zejména v proximálním regionu axonu, v dendritu i zbytku axonu v koncentraci podstatně nižší (Dle pozorování UNC-44L v neuronech PVD a DA9). To neodporuje výsledkům autorů He a kol., 2020, kteří pozorovali výskyt značeného UNC-44 v dendritech sensorických neuronů. Z pozorování autorů He a kol., 2020 dále vychází, že UNC-44 je velmi imobilní protein a jeho imobilita je nezávislá na UNC-33 nebo UNC-119.

Tyto tři proteiny spolu mohou interagovat, a to tak, že protein UNC-44 může svou C-terminální doménou vázat UNC-119 a protein UNC-119 může vázat N-terminální doménu UNC-33L. Proteiny UNC-33L, UNC-44 a UNC-119 tak společně mohou tvořit komplex (obr. 3), přičemž UNC-119 váže ostatní dva proteiny, protože bez UNC-119 se UNC-33L a UNC-44 spolu neváží (He a kol., 2020).

Komplex proteinů UNC-44/UNC-119/UNC-33L se v neuritech nachází distribuovaný v plošném periodickém vzoru s periodou přibližně 200 nm (He a kol., 2020).

Mikrotubuly dospělého neuronu jsou z velké míry imobilní a při poškození funkce ně-



Obrázek 3: Schematické znázornění interakce proteinů UNC-44, UNC-119 a UNC-33 tvořících komplex, který ukotvuje mikrotubuly k membráně. Převzato z [He a kol., 2020](#) a upraveno.

kterého z proteinů UNC-44, UNC-119 a UNC-33L se tato imobilita ztrácí ([He a kol., 2020](#)). Komplex UNC-44/119/33 tak funguje jako člen ukotvující mikrotubuly k membráně, čímž mikrotubuly imobilizuje. Zabraňuje tak například pohybu mikrotubulů způsobenému UNC-116/kinesin1 a udržuje orientované uspořádání mikrotubulů v dendritech a axonu ([Maniar a kol., 2011](#); [He a kol., 2020](#)).

Komplex UNC-44/119/33 v proximálním axonu, kde se dle pozorování UNC-44 tento komplex vyskytuje nejvýrazněji, představuje zároveň difuzní bariéru ([Eichel a kol., 2022](#)).

Tyto závěry lze podpořit kontextem z jiného organismu: „Giant“ isoforma proteinu ankyrin Ank2 v *Drosophila melanogaster* je v neuronu koncentrována v proximální části axonu. Proximální axon, dle pozorování ddaE neuronu, má v porovnání s tělem neuronu, dendritem i membránou endoplazmatického retikula v proximálním axonu výrazně sníženou mobilitu membránových proteinů. Tato omezená difuze v povrchové membráně axonu je vlastnost, která se objevuje až později ve vývoji. V raných stádiích je srovnatelná s dendritem, přičemž tento jev je pravděpodobně způsoben právě giant ankyrinem Ank2 ([Jegla a kol., 2016](#)).

## 2.4 Větvení neuritů

Při procesu větvení neuritů hraje významnou roli aktin ([Zou a kol., 2018](#); [Shi a kol., 2021](#)), přičemž proces větvení lze rozdělit do dvou fází. Nejprve dochází k otékání (swelling) a následně k rychlé tvorbě výběžků-filopodií, střídané s pauzami. Pojem swelling představuje zvětšování průměru vlákna 1-2 minuty před vytvořením výběžku neuritu ([Shi a kol., 2021](#)).

Řízení růstu neuritů a jejich větvení je indukováno prostřednictvím extracelulárních

signálů. Po rozpoznání signálu ligand-receptorový komplex aktivuje TIAM-1 a WRC (WAVE Regulatory Complex) (obr. 4) (Zou a kol., 2018). Proteinový komplex WRC se skládá z pěti podjednotek WAVE/Scar, SRA1/Cyfp1, NAP1/Hem-2, ABI a HSCP300 (Eden a kol., 2002; Chen a kol., 2010; Rotty a kol., 2012; Han a Ko, 2023). Nomenklatura proteinů komplexu WRC je ovšem obsáhlá a není zcela jednotná, to částečně může být dáno faktem, že ke každému z proteinů komplexu existují jemu homologní proteiny, které jsou v jiných organismech exprimovány specificky dle tkáně či buněčného typu (Han a Ko, 2023).

Protein WAVE (verprolin homologní protein, též SCAR) patří do skupiny proteinů rodiny WASP. Tato skupina proteinů, do které kromě WASP patří také proteiny typu NWASP a WASH obsahují doménu VCA<sup>3</sup> (Rotty a kol., 2012), která přímo interaguje a aktivuje Arp2/3 (obr. 4) (Beltzner a Pollard, 2008; Padrick a kol., 2011; Smith a kol., 2013). Komplex Arp2/3 zapříčiňuje polymeraci aktinu (Welch a kol., 1997; Padrick a kol., 2011) a to tak, že komplex Arp2/3 a aktinové vlákno, jehož vznik katalyzoval, jsou ukotveny na straně již existujícího „mateřského“ aktinového vlákna (Beltzner a Pollard, 2008; Smith a kol., 2013) v charakteristickém úhlu 70° (Ding a kol., 2022). Právě vznik větveného F-aktinu v daném místě je příčinou rozšíření neuritu označované jako swelling (Shi a kol., 2021).

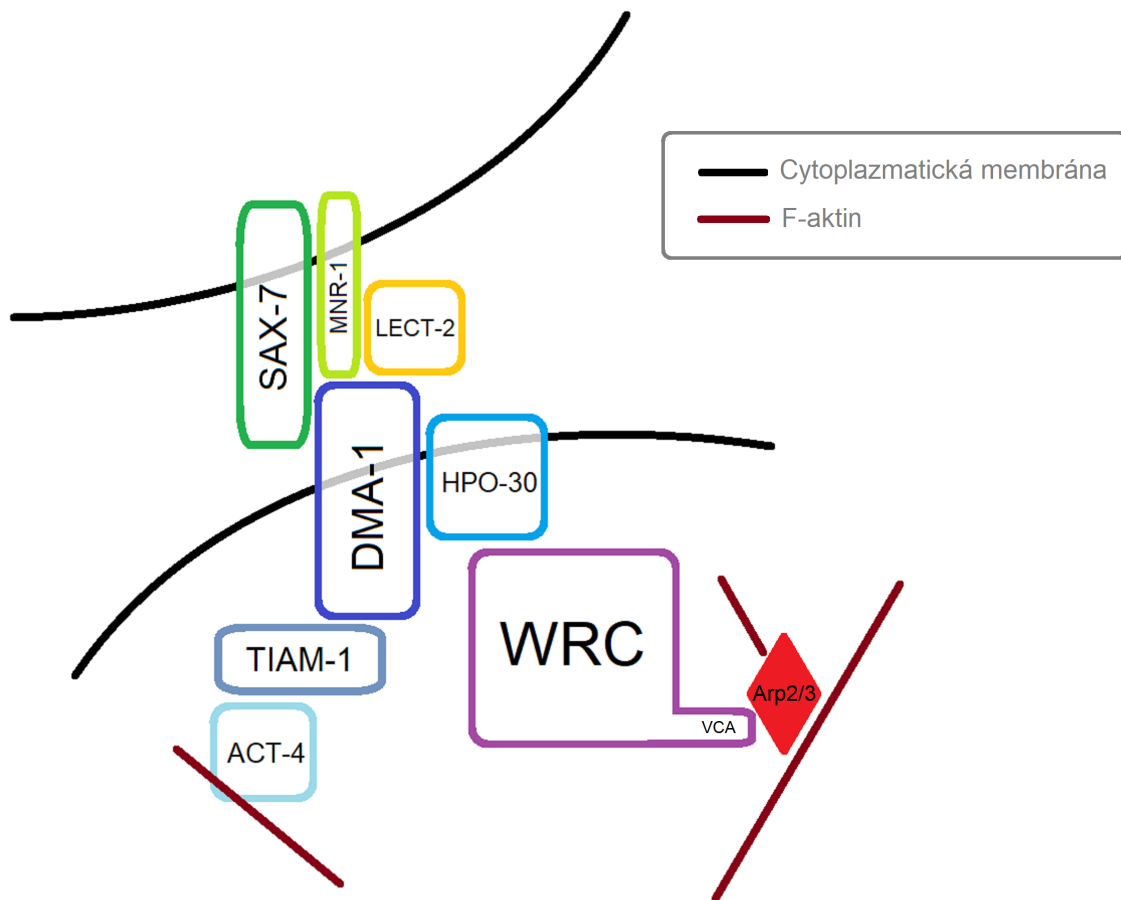
V místech, kde došlo ke swellingu, pokračuje proces tvorby nového výběžku neuritu tvorbou filopodií vlivem proteinů UNC-34/VASP a UNC-115/abLIM (Lundquist a kol., 1998; Shi a kol., 2021). Protein UNC-34 je v místě swellingu rekrutován přímo komplexem WRC (Shi a kol., 2021), přičemž protein UNC-34 podporuje elongaci aktinových vláken a omezuje vázání capping proteinů na pichlavý konec (barbed end) aktinového vlákna (Barzik a kol., 2005).

Extracelulární signály řídící růst a větvení neuritů jsou rozmanité pro různé neurony (Godini a kol., 2022). Pro dendrit neuronu PVD jde o ligandy SAX-7, MNR-1, LECT-2 a receptory DMA-1 a HPO-30. Z výzkumu vychází, že SAX-7, MNR-1, LECT-2 se váží v komplex s receptorem DMA-1 (obr. 4) (Zou a kol., 2016), a dále, že DMA-1 fyzicky interaguje a váže receptor HPO-30, který na sebe váže komplex WRC. Receptor DMA-1 na váže kromě HPO-30 také TIAM-1 (Zou a kol., 2018).

Existuje obecný konsenzus, že WRC musí být aktivován, typicky interakcí s Rac1-GFP, fosforylací či fosfatidyl inositoly (Chen a kol., 2010; Eden a kol., 2002; Ismail a kol., 2009). Historická teorie aktivace WRC byla založena na rozpadu komplexu a jeho disociaci (Eden a kol., 2002), to ovšem nepodporují novější zjištění, že Rac1-GTP aktivuje komplex WRC, aniž by došlo k jeho disociaci (Ismail a kol., 2009). Dle teorie mechanismu účinku založené na novějších datech fosforylace či aktivita Rac1 destabilizuje tzv. „meander region“ (oblast na rozhraní proteinu WAVE a Sra1 s vysoce konzervovanou sekvencí (Chen a kol., 2010)), díky čemuž je uvolněna C-terminální VCA doména (Chen a kol., 2010).

---

<sup>3</sup>VCA se skládá z domén verprolin homologní, cofilin homologní a kyselé (Rotty a kol., 2012)



Obrázek 4: Schematické znázornění interakce proteinů účastnící se signální dráhy aktivující Arp2/3 aktivací WRC. Vlivem aktivity Arp2/3 následně dochází k větvení aktinového cytoskeletu, „swellingu“ dendritů a následnému větvení.

Již zmíněný TIAM-1 je guanin exchange factor (GEF), který je dle [Zou a kol., 2018](#) společně s WRC nutný pro větvení neuritů. V případě neuronů, konkrétně v neuronu PVD, pravděpodobně funguje nezávisle na své guanin exchange aktivitě ([Tang a kol., 2019](#)), což však odporuje předchozímu odstavci. Autoři [Tang a kol., 2019](#) vycházejí z pozorování, že po poškození a ztrátě GEF aktivity TIAM-1 nedošlo k poškození a změně fenotypu v porovnání s wild type PVD neuronem.

Tito autoři ovšem navrhují teorii, kde funkce TIAM-1 spočívá ve vazbě k aktinu prostřednictvím proteinu ACT-4/Actin, se kterým TIAM-1 interaguje. Prostřednictvím TIAM-1 a ACT-4 by tak byl celý ligand-receptorový komplex ukotvený k cytoskeletu. Autoři ale ztrátu guanin exchange aktivity testovali pouze in vitro vůči Rac1 a nemohou proto vyloučit zachování aktivity vůči jiným malým GTPázám.

Jak již bylo nastíněno výše, po proběhnutí popsaných mechanismů dochází k tvorbě filopodií ([Shi a kol., 2021](#)), což vytváří strukturu zvanou růstový kužel (growth cone), která vytváří výběžek neuritu. Během procesu je pouze část filopodií stabilizována. Z pozorování

Shi a kol., 2021 jsou filopodia tvořena nárazově – střídají se krátké intervaly intenzivní tvorby filopodií s intervaly pauzy. Autoři si toto chování vysvětlují „povoláním“, navázáním a aktivací WRC komplexu receptory DMA-1 a HPO-30. Mutanti v genech UNC-34 a UNC-115 filopodia nevytvářejí, jejich výběžky neuritů rostou pomalu, kontinuálně a jen občasně se větví. Lze pozorovat místa, kde došlo ke swellingu, ale dále v růstu stagnují (Shi a kol., 2021).

Výrazná část obsahu této kapitoly byla zjištěna při zkoumání PVD neuronu, právě ten je modelovým neuronem pro studium větvení dendritů.

## 2.5 Růst axonu

Růstový kužel axonů organismu *C. elegans* není v dnešní době dostatečně prozkoumán, přestože je *C. elegans* modelovým organismem. Růstový kužel obecně je poměrně podrobně prozkoumanou strukturou, byla a je však zkoumána na jiných organismech, převážně savcích. Protože je ale růst axonu a jeho růstový kužel pravděpodobně nejemblematičtějším příkladem orientovaného růstu, a protože jde o vysoce konzervovanou strukturu, bude v této kapitole charakterizován.

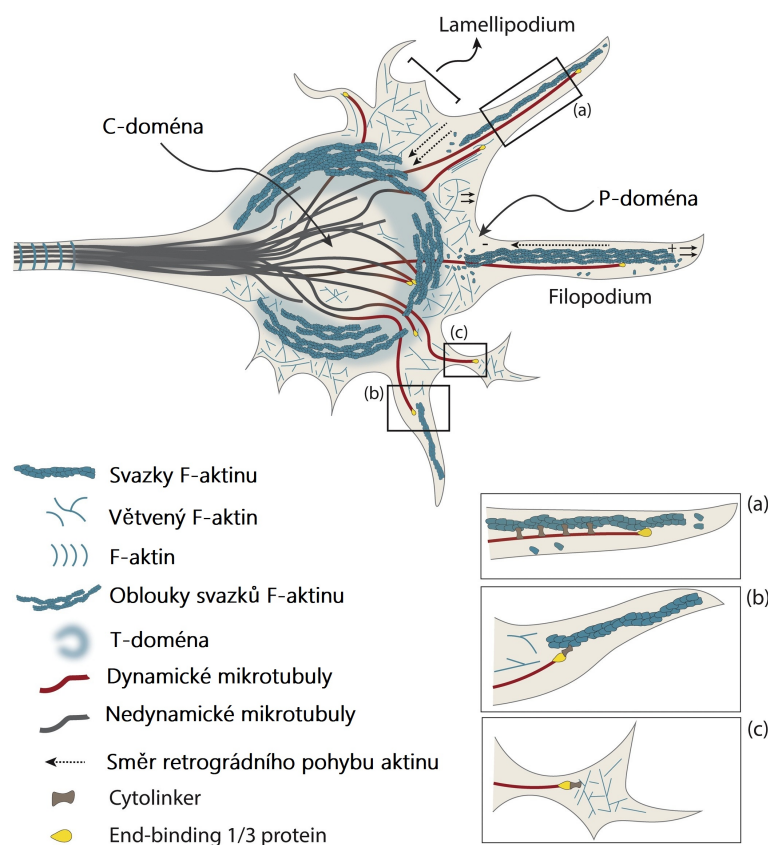
Růst axonu probíhá na jeho vrcholu, ve struktuře zvané růstový kužel („growth cone“). Právě tato struktura je zodpovědná za prodlužování axonu, prozkoumávání svého okolí a za navádění, ve smyslu řízení směru růstu (Bray a Chapman, 1985; Schaefer a kol., 2002; Schwarz a kol., 2009).

Růstový kužel se skládá z několika oblastí/domén (obr. 5). Na povrchu, po obvodu, se nachází P-doména, ve které se nacházejí filopodia a lamellipodia, která vlivem dynamiky aktinu, myosinu či vlivu plazmatické membrány vytváří sílu působící na růstový kužel a podporují jeho pohyb vpřed (Bray a Chapman, 1985; Lin a kol., 1996; Cojoc a kol., 2007; Craig a kol., 2012; Bornschlöggl, 2013). Pod P-doménou se nachází T-doména a C-doména (Schaefer a kol., 2002; Lowery a Vactor, 2009).

Při svém růstu se axon nachází v nitru tkání a svým růstem se musí vmezeřovat mezi buňky svého okolí. K tomu slouží filopodia a lamellipodia P domény. Filopodia vystupují z povrchu růstového kužele a kontinuálně se vytvářejí a následně zkracují. Filopodia se pohybují vůči směru růstu růstového kužele dozadu, dle pozorování *in-vitro* se mohou pohybovat do stran. Mezi filopodii vznikají lamellipodia a obě tyto struktury následně tahají růstový kužel vpřed (Bray a Chapman, 1985; Cojoc a kol., 2007; Lowery a Vactor, 2009; Bornschlöggl, 2013).

Výběžky růstového kužele, filopodia a lamellipodia, svým povrchem prozkoumávají okolí. Na povrchu své membrány mají receptory, které rozeznávají tzv. „cell adhesion molecules“ na povrchu okolních buněk, což jsou molekuly, které umožňují rostoucímu růstovému kuželu se přichytit na okolní buňky. Typickým příkladem takovéto adhezi umožňující molekuly a jejího receptoru jsou UNC-6/Netrin a UNC-40. Díky tomuto uchycení povrchu





Obrázek 5: Schematické znázornění růstového kuželu neuronu a organizace cytoskeletu v něm. Růstový kužel se skládá ze tří domén P (povrchové), T (tranzitní-přechodné) a C (centrální). V C-doméně se nachází stabilní mikrotubuly vycházející z axonu. V P-doméně se nacházejí lamellipodia tvořené zejména větveným F-aktinem a dlouhé výběžky filopodia tvořeny zejména svazky aktinu. V rámečcích jsou zvýrazněna možná uspořádání cytoskeletu. Převzato z [Pinto-Costa a Mendes Sousa, 2021](#) a upraveno.

růstového kuželu na okolní buňky je filopodium či lamellipodium schopné vyvolat tah, přičemž lamellipodium je schopné v porovnání s filopodiem vyvolat přibližně desetinásobnou sílu ([Chan a kol., 1996](#); [Cojoc a kol., 2007](#); [Maness a Schachner, 2006](#); [Lowery a Vactor, 2009](#); [Schwarz a kol., 2009](#); [Bornschrögl, 2013](#)).

Růst axonu je výrazně ovlivňován dynamikou aktinu, který je nejvíce dynamický v P-doméně. Zvýšení dynamiky aktinu, tedy jeho nestability, má za následek rychlejší formování neuritů a jejich rychlejší růst. Stabilizace aktinu vede k zastavení formování neuritů a změně uspořádání mikrotubulů ([Flynn a kol., 2012](#)). V růstovém kuželu lze pozorovat retrográdní pohyb aktinu a threadmilling<sup>4</sup>. Retrográdní flow si lze představit jako pohyb F-aktinu od vzdálenějších oblastí růstového kuželu k jeho středu, který je nezbytný pro správnou morfogenezi a růst axonu. Za tento retrográdní flow jsou zodpovědné myosiny a nestabilita aktinu společně s jeho polymerací ([Lin a kol., 1996](#); [Schaefer a kol., 2002](#); [Flynn a kol., 2012](#)). Zvýšenou dynamiku aktinu způsobují proteiny ADF a Cofilin, které

<sup>4</sup>threadmilling je děj, kdy dochází k pohybu filamentu cytoskeletu v důsledku polymerace na jednom konci a depolymerace na konci druhém.

se na aktin váží, destabilizují ho, ale také ovlivňují jeho orientaci (Flynn a kol., 2012).

V P-doméně se nenachází pouze aktinový cytoskelet, ale i mikrotubuly. Ty obvykle vstupují do filopodií asociované se svazky F-aktinu, vlivem toho je ale většina mikrotubulů pod vlivem retrográdního flow, což je z P-domény odstraňuje (Schaefer a kol., 2002).

Pod P-doménou se nachází T-doména obsahující obloukovitě uspořádané svazky F-aktinu. Tento aktin má výrazně nižší dynamiku než aktin v P-doméně, je výrazněji větvený. T-doména má také retrográdní flow směřující do C-domény, je ale přibližně čtvrtinový v porovnání s tímto procesem v P-doméně. V T-doméně se vyskytují také mikrotubuly, které jsou také méně dynamické než v P-doméně (Schaefer a kol., 2002).

V C-doméně se nachází velké množství mikrotubulů, které navazují na souběžné mikrotubuly výběžku neuronu a zlomek z nich vstupuje do domén P a T (Williamson a kol., 1996; Schaefer a kol., 2002).

Zmíněné adhezivní molekuly na povrchu okolních buněk ale nejsou jediné extracelulární signály, které růst axonu a jeho směr řídí. Dalšími molekulami jsou adhezivní molekuly ve formě extracelulární matrix – lamininy a fibronektiny (Evans a kol., 2007), a následně mnoho dalších rozmanitých molekul včetně morfogenů nebo vápenatých iontů (Jessell, 2000; Henley a Poo, 2004).

Zajímavým příkladem je navádění růstu axonu dvojice neuronů M2 a M3. V tomto příkladě neuron M3 poskytuje naváděcí signál ve formě proteinu MNM-2 neuronu M2 a ten tak roste podél neuritu neuronu M3 (Rauthan a kol., 2007).

Vliv intermediálních filament v růstovém kuželu neuronů organismu *Caenorhabditis elegans* v současné době není dostatečně prozkoumán, lze jej dát ale do souvislosti s jinými informacemi. Dle výzkumu autorů (Jiu a kol., 2015) na buňkách lidského osteosarkomu, které obsahují strukturu podobnou růstovému kuželu se intermediální filamenta vimentinu účastní retrográdního pohybu společně s aktinem. Vimentin má zároveň velký vliv na rozmístění aktinu a to interakcí přes Plectin.

Intermediální filamenta, která se ale v *C. elegans* vyskytují, jsou například IFD-1 a IFD-2 (Arnold a kol., 2023). Homologii těchto proteinů s vimentinem na základě současných informací nelze prokázat, proteiny IFD-1 a IFD-2 se ale dle autorů Arnold a kol., 2023 podílejí na tvorbě struktur podobným aggresomům, jejichž cílem je vyloučit agregované proteiny v případě proteostresu<sup>5</sup>. Právě prvně zmíněný vimentin hraje podstatnou roli v produkci aggresomů v návaznosti na mechanismy indukované proteostresem (Morrow a kol., 2020). Díky této podobnosti lze uvažovat o podobné funkci IFD-1/2 v růstovém kuželu *C. elegans* jako má vimentin.

---

<sup>5</sup>proteostres – výskyt proteinových agregátů v buňce

### 3 Kanálová buňka

Canal cell, dále kanálová buňka, tvoří společně s „duct cell“ a „pore cell“ hlavní část vylučovacího systému organismu *Caenorhabditis elegans*. Kromě těchto tří buněk, které na sebe nasedají a tvoří spojitě lumen, tvoří vylučovací systém také „gland cell“, která je dvoujaderná a je ve styku s exkretorní buňkou (Kenneth Nelson a kol., 1983; Nelson a Riddle, 1984), a dva CAN neurony, které vylučovací systém také ovlivňují (Forrester a Garriga, 1995).

Kanálová buňka je výrazně velkou buňkou s charakteristickým tvarem písmene „H“, které vytváří svými výběžky (dále „kanály“). Tělo kanálové buňky je lokalizované pod hltanem a její růst probíhá postupně. Ve vajíčku, ve stádiu „čárky“ (comma stage) jsou hlavní tři buňky vylučovací soustavy pouze seřazeny na sobě, při líhnutí již posteriorní kanály kanálové buňky sahají přibližně do poloviny živočicha, do oblasti gonád, v závěru následující fáze L1 již kanály kanálové buňky sahají téměř ke konci těla – k řitnímu otvoru – a apikální růst je tak u konce (Kenneth Nelson a kol., 1983; Buechner a kol., 1999; Suzuki a kol., 2001; Berry a kol., 2003; Kolotuev a kol., 2013; Arena a kol., 2022; Santella a kol., 2022). Kromě apikálního růstu se však kanálová buňka také prodlužuje roztahováním, společně s růstem embrya (Suzuki a kol., 2001; Stone a kol., 2009).

V oblastech kanálu lze uprostřed na průřezu pozorovat lumen, v jeho okolí se nachází „terminal web“ tvořená cytoskeletem (viz dále) a cytoplasma, která ve výbězcích kanálové buňky obsahuje velké množství váčků „canaliculi“, dále lumenální váčky. Ty mohou být buď k lumen připojené, u lumen kotvené či nepřipojené. Kotveným lumenálním váčkem je myšlen stav, kdy se váček nachází v těsné blízkosti membrány lumen, ale propojení s lumen není rozeznatelné (Khan a kol., 2013; Kolotuev a kol., 2013; Khan a kol., 2019). Tyto váčky se v případě osmotického stresu ve větší míře připojují k membráně lumen a zvětšují tak její povrch (Kolotuev a kol., 2013).

Celková organizace kanálů se v rámci těla téměř nemění, během vývoje pouze dochází ke zvětšování průměru kanálu. Jako další fyziologická reakce na osmotický stres, kromě napojení více lumenálních váčků, se u výrazné části všech stádií na kanálové buňce do několika minut vytvořily „perličky na provázku“ (pearls on the string). Tyto rozšířené oblasti byly tvořeny převážně cytoplazmou (Kolotuev a kol., 2013). Autoři Khan a kol., 2019 ve své práci rozlišují endozomální váčky a lumenální váčky, tyto dva typy váčků se pravděpodobně liší přítomností V-ATPáz a aquaporinů AQP-8 na povrchu lumenálních

váček a tím, že se tyto váčky vyskytují blízko lumen či jsou mnohdy propojené s lumen nebo navzájem (Kolotuev a kol., 2013).

### 3.1 Růst kanálové buňky

Při apikálním růstu výběžku kanálové buňky vyrůstá nejprve bazolaterální část buňky bez lumen a lumenálních váček a lumen dorůstá až v závěsu. Vrchol kanálové buňky svou morfologií a rozšířením připomíná růstový kužel neuritů – špička nemá lumen ani váčky (Kolotuev a kol., 2013). Lze tak s určitou mírou pravděpodobnosti předpokládat, že kanálová buňka roste růstovým kuželem s podobným uspořádáním, jaký byl představen v kapitole 2.5 Růst axonu.

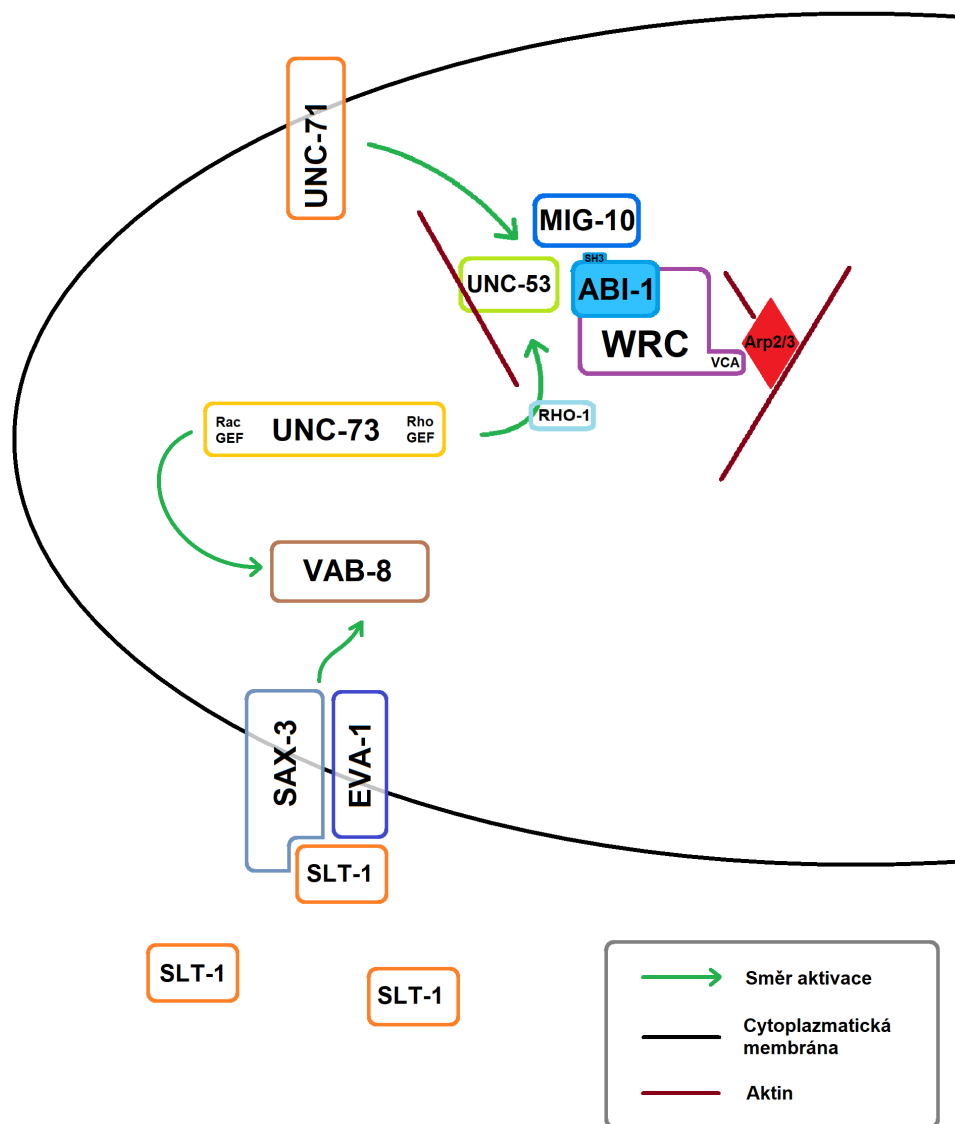
Růst špičky kanálu kanálové buňky, její morfologie, struktura cytoskeletu v oblasti bez lumen a její podobnost s růstovým kuželem neuronů v dnešní době není dostatečně probádána. Dostupná literatura zabývající se kanálovou buňkou *C. elegans* se převážně zaměřuje na lumenogenezi, neboť tato buňka slouží jako modelový systém pro studium tubulogeneze - procesu, kterým je lumen formováno. Protože je o roli cytoskeletu při lumenogenezi známo více, je mu věnována samostatná kapitola (viz kap. 3.2). Molekuly důležité pro růst kanálové buňky lze však identifikovat geneticky, proto je tato kapitola věnována popisu takto objasněných signálních drah.

Jedna z tímto způsobem popsanych drah je signální dráha obsahující proteiny ABI-1, MIG-10/Lamellipodin/RIAM, UNC-53/NAV, UNC-71/ADAM a UNC-73/TRIO (viz obr. 6) (Manser a kol., 1997 dle Krause a kol., 2004; Maes a kol., 2002; Krause a kol., 2004; Schmidt a kol., 2009; Marcus-Gueret a kol., 2012; McShea a kol., 2013).

Protein ABI-1 je významnou podjednotkou dříve zmíněného heteropentamerního komplexu WRC (WAVE regulatory complex) (viz kap. 2.4) (Eden a kol., 2002; Chen a kol., 2010; Rotty a kol., 2012; Han a Ko, 2023), který přímo aktivuje komplex Arp-2/3 způsobující větvení a polymeraci F-aktinu (Welch a kol., 1997; Beltzner a Pollard, 2008; Padrick a kol., 2011; Smith a kol., 2013; Ding a kol., 2022). Protein ABI-1 je tak molekula, která pravděpodobně zajišťuje fyzické propojení signálu na cytoskelet.

S proteinem ABI-1 fyzicky interaguje MIG-10 prostřednictvím domény SH3 (McShea a kol., 2013). S ABI-1 taktéž interaguje UNC-53/NAV, avšak nezávisle na doméně SH3 proteinu ABI-1. Schopnost fyzické interakce s ABI-1 byla prokázána pouze u jeho dlouhých isoform UNC-53L, jež se běžně vyskytují v cytoplazmě kanálové buňky (Maes a kol., 2002; Schmidt a kol., 2009).

Dle výsledků autorů McShea a kol., 2013 se však ABI-1 a MIG-10 nevyskytují v jedné přímé signální dráze, která by řídila růst kanálové buňky, ale buď v oddělených drahách, v překrývajících se drahách či částečně redundantních drahách. Dvojice proteinů MIG-10 s UNC-53 jsou ve stejné signální dráze (McShea a kol., 2013). Stejně je tomu tak i u dvojice UNC-53 s ABI-1 (Schmidt a kol., 2009).



Obrázek 6: Schematické znázornění interakce proteinů účastnících se signální dráhy jež podporuje růst výběžků kanálové buňky.

Lze přepokládat, že UNC-53 fyzicky váže F-aktin, neboť protein UNC-53 obsahuje několik domén typických pro aktin vazebné proteiny (Van Troys a kol., 1999; Stringham a kol., 2002) a protože UNC-53 lokalizuje s F-aktinem in vitro (Eve G. Stringham, nepublikováno; dle Stringham a Schmidt, 2009). Homologní savčí proteiny se také můžou lokalizovat na (+) konec mikrotubulů (Haren a kol., 2009; Sánchez-Huertas a kol., 2020). Protein UNC-53 tak může mít funkci lokalizovat své interakční partnery na aktinový či mikrotubulární cytoskelet, případně aktinový a mikrotubulární cytoskelet propojovat (Stringham a Schmidt, 2009; Sánchez-Huertas a kol., 2020).

Zajímavým členem této signalizační kaskády, která umožňuje růst kanálů kanálové buňky, je transmembránový protein UNC-71/ADAM, který v některých neuronech *C. elegans* navádí růst axonu. (Huang a kol., 2003; Marcus-Gueret a kol., 2012).

Posledním členem této signalizační kaskády je UNC-73/TRIO, který má dvě enzymatické aktivity a působí ve dvou drahách. První je RhoGEF aktivita, která prostřednictvím RHO-1 aktivuje UNC-53, druhá je RacGEF, která aktivuje protein VAB-8 následující signální kaskády (Marcus-Gueret a kol., 2012).

Signální kaskády, které je součástí VAB-8 se účastní také SAX-3/Robo, EVA-1 a SLT-1/Slit (viz obr. 6). Při poškození funkce kteréhokoliv s těchto proteinů dochází ke zkrácení kanálu (Marcus-Gueret a kol., 2012).

Protein VAB-8 sdílí sekvenční podobnost s kinesiny, zeměna na motorové doméně na N konci, přesto je od kinesinů velmi odvozený. Jedná se o významnou navigační molekulu organismu *C. elegans*, která usměrňuje růst posteriorně (Wolf a kol., 1998). V kanálové buňce způsobuje ztráta funkce VAB-8 zkrácení posteriorních kanálů kanálové buňky a změnu pozice těla této buňky (Marcus-Gueret a kol., 2012).

Protein SLT-1/Slit je ligandem receptoru SAX-3/Robo (Brose a kol., 1999; Hao a kol., 2001). Receptor SAX-3 je významnou molekulou navádějící růst neuronů ventrálně a směrem přes osu těla, pokud má dojít k růstu do druhé poloviny. Dle výzkumu na neuronech *C. elegans* má však SAX-3 i funkce nezávislé na SLT-1, protože fenotyp mutantu *slt-1* nebyl tak výrazný jako mutantu *sax-3* (Hao a kol., 2001). Protein EVA-1 je receptorem SLT-1 a jedná se pravděpodobně o koreceptor receptoru SAX-3 (Fujisawa a kol., 2007).

Výše zmíněné signální dráhy řídící růst výběžků kanálové buňky jsou v podstatné míře shodné se signalizací řídící růst neuronů. Toto dokazují výsledky autorů Schmidt a kol., 2009, dle kterých jsou UNC-53 a ABI-1 také nezbytné pro růst axonu neuronu PLML/R. Podobné závěry publikovali Hedgecock a kol., 1987, kteří toto demonstrovali na molekulách UNC-53 a UNC-73. Stejný závěr podporují i výsledky autorů McShea a kol., 2013, dle kterých je MIG-10 důležitý pro migraci a růst neuronu ALM.

## 3.2 Cytoskelet a růst lumen kanálu

Aby mohla exkretorní buňka v hádčátku, organismu bez cévní soustavy, efektivně plnit svou funkci zajišťování osmoregulace a vylučování tekutin ven z těla, musí splňovat dvě podmínky. Zaprvé se musí nacházet v blízkosti velkého objemu tkání živočicha, to zajišťuje tvar buňky, a zadruhé musí mít způsob, jak tekutinu k vyloučení přesunout a vyloučit ven z těla. K tomuto slouží lumen kanálové buňky, sahající od vrcholků výběžků kanálové buňky a ústící prostřednictvím na ni napojených buněk do vnějšího prostředí.

Lumen kanálové buňky je obalené třemi vrstvami cytoskeletu, viz obr. 7. Nejnižší, zcela u membrány se nachází aktin ACT-5. Ten je k připojen k membráně proteinem ERM-1, který má kromě vazby aktinu i další funkce (Khan a kol., 2013; Khan a kol., 2019). Další vrstvou obklopující lumen jsou intermediální filamenta IFA-4, IFB-1 a IFC-2/EXC-2. Ty se nacházejí stále ve velké blízkosti lumen, ovšem dál od lumen než ERM-1 (viz dále) (Al-Hashimi a kol., 2018; Khan a kol., 2019). Třetí vrstvou cytoskeletu jsou mikrotubuly,



Obrázek 7: Schematické znázornění uspořádání cytoskeletu v okolí lumen kanálové buňky (převzato z Khan a kol., 2019).

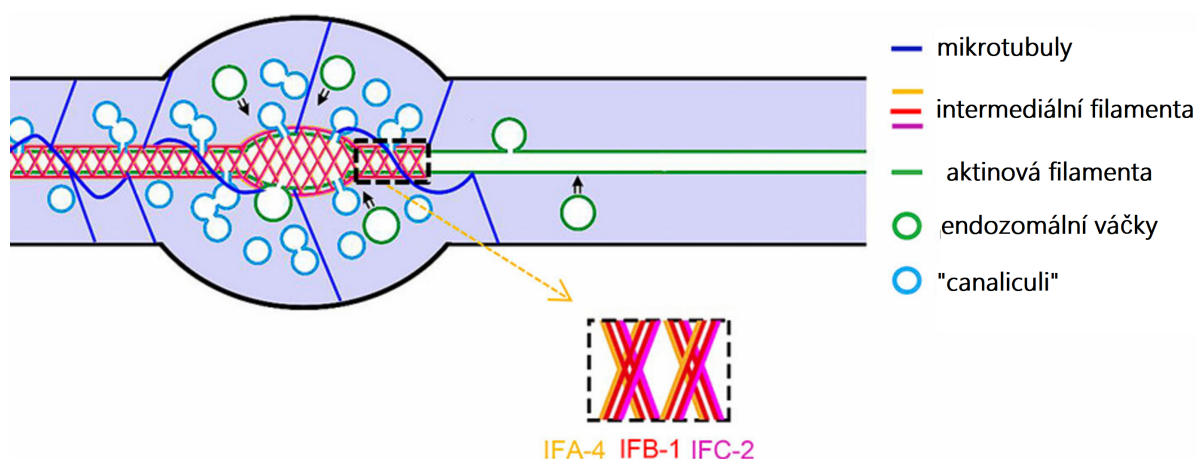
kteří se nacházejí kolem lumen ve spirálách, na povrchu lumen-obalující vrstvy aktinu a vrstvy intermediálních filament (Khan a kol., 2019). Právě tyto složky pravděpodobně tvoří „terminal web“.

Tyto tři vrstvy mají rozdílné funkce. Intermediální filamenta zabraňují expanzi kanálu v obvodu do stran a tedy udržují jeho správný průměr. Mimo to také omezují vázání lumenálních váčků a jejich napojování na lumen. Mikrotubuly působí podobně, také udržují správný průměr lumen, omezováním jeho rozpínání do stran, v případě váčků ale naopak podporují kontakt s lumen. Aktinová vrstva společně s ERM-1 podporuje váčky ke kontaktu s lumen, aktin navíc působí i při vzniku lumen. Mikrotubuly a intermediální filamenta pouze následně usměrňují jeho prodlužování a růst. (Khan a kol., 2013; Kolotuev a kol., 2013).

Protein ERM-1 interaguje s proteinem AQP-8 a povolává jej. Jde o aquaporin, protein schopný transportu vody skrz membránu, který je lokalizován zejména na lumenálních váčcích. Zlomek těchto váčků je částečně napojený na lumen. Právě tok vody do lumen, který AQP-8 zajišťuje, je nutný pro růst a rozšiřování lumen kanálu. Mimo spirálovitě uspořádané mikrotubuly lze také pozorovat jejich krátká vlákna, trčící od lumen k bazální membráně. Toto uspořádání pravděpodobně slouží k transportu váčků a jiných struktur molekulárními motory (Khan a kol., 2013).

Výsledný mechanismus růstu či prodlužování lumen je pravděpodobně do velké míry závislý na proudění vody do lumen a tlaku působícím zevnitř. Během růstu dochází k napojování váčků na lumen a k jejich splývání – tím je zvětšována plocha membrány lumen. Zároveň dochází k proudění vody do lumen pomocí aquaporinů, pravděpodobně vlivem V-ATPáz, které se vyskytují v membráně lumenálních váčků a které jsou schopné přečerpávat H<sup>+</sup> ionty na druhou stranu membrány. To ve výsledku v lumen vytváří osmotický tlak působící zevnitř lumen směrem ven. Proti této síle však působí intermediální filamenta, která zabraňují lumen v expanzi do stran a lumen se tak prodlužuje jedním směrem (Khan a kol., 2013; Kolotuev a kol., 2013; Khan a kol., 2019).

Je zajímavé, že intermediální filamenta IFA-4, IFB-1 a IFC-2 si nejsou rovnocenná a IFB-1 je významnější než ostatní. Proteiny IFA+IFB a IFC+IFB spolu pravděpodobně tvoří dimery, ze kterých se následně skládá síť, která pokrývá povrch kanálu (Khan a kol., 2019) (viz obr. 8). Autoři Khan a kol., 2019 argumentují tím, že všechna tři intermediální



Obrázek 8: Schéma uspořádání cytoskeletu ve výběžku kanálové buňky. Převzato z (Khan a kol., 2019), upraveno.

filamenta se nacházejí ve všech vláknech a že pozice výskytu IFB s IFA a IFB s IFC se překrývají kdežto IFA s IFC jsou proti sobě na mikroskopickém snímku mírně posunutě (Khan a kol., 2019).

Výsledky autorů Al-Hashimi a kol., 2018 v této oblasti se liší a tvrdí, že se IFC-2/EXC-2 váže na IFA-4, lze tak pravděpodobně očekávat vyšší komplexitu systému v porovnání s představeným modelem či chybu metodiky.

Významnou regulační molekulou růstu lumen, která v jiných organismech reguluje růst lymfatického systému, je protein PROS-1/Prospero/CEH-26. Tento gen je exprimován v kanálové buňce a v několika dalších neuronech v oblastech hlavy a ocasu. Protein PROS-1 reguluje nejméně 5 jiných molekul, mezi které patří významné proteiny IFB-1 a AQP-8. Při poškození funkce PROS-1 mutací dojde u těchto dvou proteinů ke snížení exprese (Kolotuev a kol., 2013).

Nejedná se ale o jedinou funkci PROS-1. Proteiny PROS-1 společně s CEH-6 aktivují transkripci mikroRNA miR-232, která potlačuje expresi genu *nhr-25/Ftz-F1* (Xu a kol., 2024). Gen *nhr-25/Ftz-F1* je transkripční faktor typický zejména pro buňky hypodermis či gonád, který v kanálové buňce není výrazně exprimován. K expresi naopak dochází v "duct" a "G1/G2 pore" buňkách. Pokud je NHR-25 exprimován v kanálové buňce, dochází ke zkrácení kanálů. V souhrnu tak proteiny PROS-1 a CEH-6 aktivují expresi miR-232, která inhibuje expresi *nhr-25*, jehož exprese by inhibovala růst kanálů (Gissendanner a Sluder, 2000; Zhe Chen a Han, 2004; Xu a kol., 2024).



## 4 Závěr

Organizace cytoskeletu umožňuje buňkám mnoho důležitých významných procesů. Významnou vlastností je orientace mikrotubulů, která buňkám, jako jsou například neurony, umožňuje vykonávat jejich funkci. Takovéto správné polarity lze docílit různými mechanismy, v aciliálních neuronech pohybem molekulárních motorů UNC-116, které selektivně vysouvají mikrotubuly se špatnou orientací zpět do těla neuronu, nebo přesunem a využitím organizačních center mikrotubulů v distální špičce dendritů ciliálních neuronů či v rostoucím vrcholu kanálové buňky. Další možností je prosté využití centrozómu a jeho MTOC v případě axonů. Orientace mikrotubulů ale závisí na typu neuronu, a to nejvíce v dendritech.

Pro udržení správného uspořádání mikrotubulů je v aciliálních dendritech nutné imobilizovat cytoskelet ukotvením k membráně, tuto funkci zajišťuje komplex proteinů UNC-33/119/44, zároveň také působí jako difuzní bariéra v proximální části axonu. Imobilizace mikrotubulů v neuritech po ukončení jejich diferenciaci je významná pro funkci neuronu, různé typy neuronů jsou ale na její absenci odlišně citlivé. Pokud v průběhu růstu neuritů dochází k větvení, probíhá to ve dvou časově odlišených fázích. Nejprve, v důsledku rozpoznání správných extracelulárních signálů receptorem, je aktivován WRC, který následně aktivuje Arp2/3 komplex větvicí aktin. Větvená aktinová vlákna zapříčiňují vznik filopodií, rozvětvení dendritu a následného růstu. Růst axonu, podobně jako dendritů probíhá v růstovém kuželu. Jedná se o vysoce dynamickou strukturu vytvářející filopodia a skládající se z P-povrchové domény s obsahem převážně větveného aktinu, T-domény tvořené oblouky aktinových svazků a C-centrální domény tvořené převážně mikrotubuly.

Růst výběžků kanálové buňky probíhá nejprve pouze růstem bazální membrány, strukturou připomínající růstový kužel, až následně prorůstá lumen kanálové buňky. To je obalené několika vrstvami cytoskeletu, zajišťující jeho tvar i nasedání váček obsahujících V-ATPázy a aquaporin AQP-8. Tím je následně dosaženo proudění vody do lumen vlivem osmózy, které zevnitř působí tlakem a podporuje orientovaný růst lumen kanálové buňky.

Podobnost v růstu výběžků neuronů a výběžků kanálové buňky lze pozorovat nejen v základní morfologické podobnosti rostoucí špičky výběžku – růstového kužele, ale také v molekulárních mechanismech řízení růstu výběžků těchto buněk. Jak neurity neuronů tak kanály kanálové buňky jsou ve svém růstu prokazatelně řízeny proteiny UNC-53, ABI-1, UNC-73 a MIG-10 (Hedgecock a kol., 1987; Schmidt a kol., 2009; McShea a kol., 2013).

Mechanismy regulující růst lumen kanálové buňky s neuronem nelze srovnávat, protože neurony tento buněčný kompartment nemají.

Na základě zjištěných mezer v literatuře se nabízí výzkum struktury cytoskeletu v růstovém kuželu výběžků kanálové buňky za využití pokročilých mikroskopických technik, které se v recentní době rychle rozvíjejí. Kromě výzkumu jedinců divokého typu, kde tyto výsledky v zásadě chybí, by byl tento výzkum velmi přínosný v případě mutantních jedinců, u kterých dochází ke zkrácení kanálů. Tento přístup by mohl poskytnout cenné informace o morfologických změnách a funkčních aspektech cytoskeletu a prokázat funkční a strukturní podobnost s růstovým kuželem neuronů.

V současné době jsou nedostatečně objeveny, a v kanálové buňce prokázány, dráhy řídící růst výběžků této buňky. Podobně nedostatečně prozkoumané jsou procesy organizující strukturu růstového kuželu v axonech *C. elegans* a to zejména z pohledu morfologie a mechanismů uspořádání struktur cytoskeletu. Kompletní výzkum tohoto tématu v axonech ale pravděpodobně není nutný, z důvodu dobře popsanych příkladů z jiných modelů.

Limitujícím faktorem je v dnešní době zejména velikost buněk a případně okolní tkáň, které rozptylují viditelné záření. Nicméně v případě *C. elegans* je růstová špička kanálové buňky větší než růstový kužel neuronů, a výše popsané podobnosti v růstu neuronu a kanálové buňky tak nabízejí možnost využít tuto buňku právě k pokročilým mikroskopickým analýzám. Poznatky by pak mohly být aplikovatelné i na neurony.

Budoucí výzkum těchto témat by měl zahrnovat výzkumné metody, které více reprezentují fyziologické podmínky, jako je například využití endogenně tagovaných proteinů v kombinaci s pokročilými mikroskopickými technikami. Výzkum pomocí mutantních jedinců či overexprese genů se v zásadě od fyziologických podmínek vzdalují.

V budoucnu lze očekávat snahu o pochopení či vytvoření kompletního modelu nervového systému organismu *C. elegans*, podobně jako [Emmons, 2024](#). Pravděpodobně i v této oblasti výzkumu lze očekávat výraznější využití kryoelektronové mikroskopie a výzkumu za použití pokročilých 3D zobrazovacích technik s vysokým rozlišením, lze také očekávat snahu o pochopení „neurite guidance“ ne na genetické, ale na buněčné úrovni.

## Bibliografie

- AGARWAL, Priti; BERGER, Simon; SHEMESH, Tom; ZAIDEL-BAR, Ronen, 2024. Active nuclear positioning and actomyosin contractility maintain leader cell integrity during gonadogenesis. *Current Biology*. Roč. 34, č. 11, 2373–2386.e5. ISSN 0960-9822. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2024.03.049>.
- ARENA, Anthony F.; ESCUDERO, Julianna; SHAYE, Daniel D., 2022. A metazoan-specific C-terminal motif in EXC-4 and G $\alpha$ -Rho/Rac signaling regulate cell outgrowth during tubulogenesis in *C. elegans*. *Development*. Roč. 149, č. 24. ISSN 1477-9129. Dostupné z DOI: [10.1242/dev.200748](https://doi.org/10.1242/dev.200748).
- ARNOLD, Meghan Lee; COOPER, Jason; ANDROWSKI, Rebecca; ARDESHNA, Sohil; MELENTIJEVIC, Ilija; SMART, Joelle; GUASP, Ryan J.; NGUYEN, Ken C.Q.; BAI, Ge; HALL, David H.; GRANT, Barth D.; DRISCOLL, Monica, 2023. Intermediate Filaments Associate with Aggresome-like Structures in Proteostressed *C. elegans* Neurons and Influence the Rate of Large Vesicle Extrusions as Exophers. *bioRxiv*. Dostupné z DOI: [10.1101/2022.08.03.501714](https://doi.org/10.1101/2022.08.03.501714).
- BARZIK, Melanie; KOTOVA, Tatyana I.; HIGGS, Henry N.; HAZELWOOD, Larnele; HANEIN, Dorit; GERTLER, Frank B.; SCHAFER, Dorothy A., 2005. Ena/VASP Proteins Enhance Actin Polymerization in the Presence of Barbed End Capping Proteins. *Journal of Biological Chemistry*. Roč. 280, č. 31, s. 28653–28662. ISSN 0021-9258. Dostupné z DOI: [10.1074/jbc.M503957200](https://doi.org/10.1074/jbc.M503957200).
- BELTZNER, Christopher C.; POLLARD, Thomas D., 2008. Pathway of Actin Filament Branch Formation by Arp2/3 Complex\*. *Journal of Biological Chemistry*. Roč. 283, č. 11, s. 7135–7144. ISSN 0021-9258. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M705894200>.
- BERRY, Katherine L.; BÜLOW, Hannes E.; HALL, David H.; HOBERT, Oliver, 2003. A *C. elegans* CLIC-like Protein Required for Intracellular Tube Formation and Maintenance. *Science*. Roč. 302, č. 5653, s. 2134–2137. Dostupné z DOI: [10.1126/science.1087667](https://doi.org/10.1126/science.1087667).
- \* BORNESCHLÖGL, Thomas, 2013. How filopodia pull: What we know about the mechanics and dynamics of filopodia. *Cytoskeleton*. Roč. 70, č. 10, s. 590–603. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1002/cm.21130>.

- BRAY, D; CHAPMAN, K, 1985. Analysis of microspike movements on the neuronal growth cone. *Journal of Neuroscience*. Roč. 5, č. 12, s. 3204–3213. ISSN 0270-6474. Dostupné z DOI: [10.1523/JNEUROSCI.05-12-03204.1985](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.05-12-03204.1985).
- BROSE, Katja; BLAND, Kimberly S; WANG, Kuan Hong; ARNOTT, David; HENZEL, William; GOODMAN, Corey S; TESSIER-LAVIGNE, Marc; KIDD, Thomas, 1999. Slit Proteins Bind Robo Receptors and Have an Evolutionarily Conserved Role in Repulsive Axon Guidance. *Cell*. Roč. 96, č. 6, s. 795–806. ISSN 0092-8674. Dostupné z DOI: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80590-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80590-5).
- BUECHNER, Matthew; HALL, David H.; BHATT, Harshida; HEDGECOCK, Edward M., 1999. Cystic canal mutants in *Caenorhabditis elegans* are defective in the apical membrane domain of the renal (excretory) cell. *Developmental biology*. Roč. 214 1, s. 227–41. Dostupné také z: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:40002067>.
- COJOC, Dan; DIFATO, Francesco; FERRARI, Enrico; SHAHAPURE, Rajesh B.; LAISHRAM, Jummi; RIGHI, Massimo; DI FABRIZIO, Enzo M.; TORRE, Vincent, 2007. Properties of the Force Exerted by Filopodia and Lamellipodia and the Involvement of Cytoskeletal Components. *PLOS ONE*. Roč. 2, č. 10, s. 1–8. Dostupné z DOI: [10.1371/journal.pone.0001072](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001072).
- CRAIG, Erin M.; VAN GOOR, David; FORSCHER, Paul; MOGILNER, Alex, 2012. Membrane Tension, Myosin Force, and Actin Turnover Maintain Actin Treadmill in the Nerve Growth Cone. *Biophysical Journal*. Roč. 102, č. 7, s. 1503–1513. ISSN 0006-3495. Dostupné z DOI: [10.1016/j.bpj.2012.03.003](https://doi.org/10.1016/j.bpj.2012.03.003).
- DEY, Swagata; GHOSH-ROY, Anindya, 2021. In vivo Assessment of Microtubule Dynamics and Orientation in *Caenorhabditis elegans* Neurons. *Journal of Visualized Experiments*. Č. 177. ISSN 1940-087X. Dostupné z DOI: [10.3791/62744](https://doi.org/10.3791/62744).
- DING, Bojian; NARVAEZ-ORTIZ, Heidy Y.; SINGH, Yuvraj; HOCKY, Glen M.; CHOWDHURY, Saikat; NOLEN, Brad J., 2022. Structure of Arp2/3 complex at a branched actin filament junction resolved by single-particle cryo-electron microscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 119, č. 22. ISSN 1091-6490. Dostupné z DOI: [10.1073/pnas.2202723119](https://doi.org/10.1073/pnas.2202723119).
- DROZD, Cody J.; QUINN, Christopher C., 2023. UNC-116 and UNC-16 function with the NEKL-3 kinase to promote axon targeting. *Development*. Roč. 150, č. 18, dev201654. ISSN 0950-1991. Dostupné z DOI: [10.1242/dev.201654](https://doi.org/10.1242/dev.201654).
- EDEN, Sharon; ROHATGI, Rajat; PODTELEJNIKOV, Alexandre; MANN, Matthias; KIRSCHNER, Marc, 2002. Mechanism of regulation of WAVE1-induced actin nucleation by Rac1 and Nck. *Nature*. Roč. 418, s. 790–3. Dostupné z DOI: [10.1038/nature00859](https://doi.org/10.1038/nature00859).

- EICHEL, Kelsie; UENAKA, Takeshi; BELAPURKAR, Vivek; LU, Rui; CHENG, Shouqiang; PAK, Joseph S.; TAYLOR, Caitlin A.; SÜDHOF, Thomas C.; MALENKA, Robert; WERNIG, Marius; ÖZKAN, Engin; PERRAIS, David; SHEN, Kang, 2022. Endocytosis in the axon initial segment maintains neuronal polarity. *Nature*. Roč. 609, č. 7925, s. 128–135. ISSN 1476-4687. Dostupné z DOI: [10.1038/s41586-022-05074-5](https://doi.org/10.1038/s41586-022-05074-5).
- EMMONS, Scott W., 2024. Functions of *C. elegans* neurons from synaptic connectivity. *bioRxiv*. Dostupné z DOI: [10.1101/2024.03.08.584145](https://doi.org/10.1101/2024.03.08.584145).
- EVANS, Amaretta R.; EUTENEUER, Sara; CHAVEZ, Eduardo; MULLEN, Lina M.; HUI, Elliot E.; BHATIA, Sangeeta N.; RYAN, Allen F., 2007. Laminin and fibronectin modulate inner ear spiral ganglion neurite outgrowth in an in vitro alternate choice assay. *Developmental Neurobiology*. Roč. 67, č. 13, s. 1721–1730. ISSN 1932-846X. Dostupné z DOI: [10.1002/dneu.20540](https://doi.org/10.1002/dneu.20540).
- FLYNN, Kevin C.; HELLAL, Farida; NEUKIRCHEN, Dorothee; JACOB, Sonja; TAHIROVIC, Sabina; DUPRAZ, Sebastian; STERN, Sina; GARVALOV, Boyan K.; GURNIAK, Christine; SHAW, Alisa E.; MEYN, Liane; WEDLICH-SÖLDNER, Roland; BAMBURG, James R.; SMALL, J. Victor; WITKE, Walter; BRADKE, Frank, 2012. ADF/Cofilin-Mediated Actin Retrograde Flow Directs Neurite Formation in the Developing Brain. *Neuron*. Roč. 76, č. 6, s. 1091–1107. ISSN 0896-6273. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.09.038>.
- FORRESTER, Wayne C.; GARRIGA, Gian, 1995. Genes necessary for *C. elegans* cell and growth cone migrations. *Development*. Roč. 124, č. 9, s. 1831–1843. ISSN 0950-1991. Dostupné z DOI: [10.1242/dev.124.9.1831](https://doi.org/10.1242/dev.124.9.1831).
- FUJISAWA, Kazuko; WRANA, Jeffrey L.; CULOTTI, Joseph G., 2007. The Slit Receptor EVA-1 Coactivates a SAX-3/Robo-Mediated Guidance Signal in *C. elegans*. *Science*. Roč. 317, č. 5846, s. 1934–1938. Dostupné z DOI: [10.1126/science.1144874](https://doi.org/10.1126/science.1144874).
- GISSENDANNER, Christopher R; SLUDER, Ann E, 2000. nhr-25, the *Caenorhabditis elegans* Ortholog of ftz-f1, Is Required for Epidermal and Somatic Gonad Development. *Developmental Biology*. Roč. 221, č. 1, s. 259–272. ISSN 0012-1606. Dostupné z DOI: [10.1006/dbio.2000.9679](https://doi.org/10.1006/dbio.2000.9679).
- \* GODINI, Rasoul; FALLAHI, Hossein; POCOCK, Roger, 2022. The regulatory landscape of neurite development in *Caenorhabditis elegans*. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. Roč. 15. ISSN 1662-5099. Dostupné z DOI: [10.3389/fnmol.2022.974208](https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.974208).
- \* GOODSON, Holly V.; JONASSON, Erin M., 2018. Microtubules and Microtubule-Associated Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. Roč. 10, č. 6. ISSN 1943-0264. Dostupné z DOI: [10.1101/cshperspect.a022608](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022608).

- \* HALL, David H.; LINTS, Robyn; ALTUN, Zeynep, 2005. Nematode Neurons: Anatomy and Anatomical Methods in *Caenorhabditis elegans*. In: *The Neurobiology of C. elegans*. Academic Press. Sv. 69, s. 1–35. International Review of Neurobiology. ISSN 0074-7742. Dostupné z DOI: [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(05\)69001-0](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(05)69001-0).
- \* HAN, Kyung; KO, Jaewon, 2023. Orchestration of synaptic functions by WAVE regulatory complex-mediated actin reorganization. *Experimental and molecular medicine*. Roč. 55. Dostupné z DOI: [10.1038/s12276-023-01004-1](https://doi.org/10.1038/s12276-023-01004-1).
- HANNAK, Eva; OEGEMA, Karen; KIRKHAM, Matthew; GÖNCZY, Pierre; HABERMANN, Bianca; HYMAN, Anthony A., 2002. The kinetically dominant assembly pathway for centrosomal asters in *Caenorhabditis elegans* is  $\gamma$ -tubulin dependent. *Journal of Cell Biology*. Roč. 157, č. 4, s. 591–602. ISSN 0021-9525. Dostupné z DOI: [10.1083/jcb.200202047](https://doi.org/10.1083/jcb.200202047).
- HAO, Joe C; YU, Timothy W; FUJISAWA, Kazuko; CULOTTI, Joseph G; GENGYO-ANDO, Keiko; MITANI, Shohei; MOULDER, Gary; BARSTEAD, Robert; TESSIER-LAVIGNE, Marc; BARGMANN, Cornelia I, 2001. *C. elegans* Slit Acts in Midline, Dorsal-Ventral, and Anterior-Posterior Guidance via the SAX-3/Robo Receptor. *Neuron*. Roč. 32, č. 1, s. 25–38. ISSN 0896-6273. Dostupné z DOI: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00448-2](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00448-2).
- HAREN, Jeffrey van; DRAEGESTEIN, Katharina; KEIJZER, Nanda; ABRAHAMS, Jan Pieter; GROSVELD, Frank; PEETERS, Pieter Johan; MOECHARS, Dieder; GALJART, Niels, 2009. Mammalian Navigators are microtubule plus-end tracking proteins that can reorganize the cytoskeleton to induce neurite-like extensions. *Cell Motility*. Roč. 66, č. 10, s. 824–838. ISSN 0886-1544. Dostupné z DOI: [10.1002/cm.20370](https://doi.org/10.1002/cm.20370).
- HARTERINK, Martin; EDWARDS, Stacey L.; HAAN, Bart de; YAU, Kah Wai; HEUVEL, Sander van den; KAPITEIN, Lukas C.; MILLER, Kenneth G.; HOOGENRAAD, Casper C., 2018. Local microtubule organization promotes cargo transport in *C. elegans* dendrites. *Journal of Cell Science*. Roč. 131, č. 20, jcs223107. ISSN 0021-9533. Dostupné z DOI: [10.1242/jcs.223107](https://doi.org/10.1242/jcs.223107).
- AL-HASHIMI, Hikmat; HALL, David H; ACKLEY, Brian D; LUNDQUIST, Erik A; BUECHNER, Matthew, 2018. Tubular Excretory Canal Structure Depends on Intermediate Filaments EXC-2 and IFA-4 in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. Roč. 210, č. 2, s. 637–652. ISSN 1943-2631. Dostupné z DOI: [10.1534/genetics.118.301078](https://doi.org/10.1534/genetics.118.301078).
- HE, Liu; KOOISTRA, Robbelien; DAS, Ravi; OUDEJANS, Ellen; LEEN, Eric van; ZIEGLER, Johannes; PORTEGIES, Sybren; HAAN, Bart de; REGTEREN ALTENA, Anna van; STUCCHI, Riccardo; ALTELAAR, A. F. M.; WIESER, Stefan; KRIEG, Michael; HOOGENRAAD, Casper C; HARTERINK, Martin, 2020. Cortical anchoring

- of the microtubule cytoskeleton is essential for neuron polarity. *eLife*. Roč. 9, e55111. ISSN 2050-084X. Dostupné z DOI: [10.7554/eLife.55111](https://doi.org/10.7554/eLife.55111).
- HEDGECOCK, Edward M.; CULOTTI, Joseph G.; HALL, David H.; STERN, Brian D., 1987. Genetics of cell and axon migrations in *Caenorhabditis elegans*. *Development*. Roč. 100, č. 3, s. 365–382. ISSN 0950-1991. Dostupné z DOI: [10.1242/dev.100.3.365](https://doi.org/10.1242/dev.100.3.365).
- \* HENLEY, John; POO, Mu-ming, 2004. Guiding neuronal growth cones using Ca<sup>2+</sup> signals. *Trends in Cell Biology*. Roč. 14, č. 6, s. 320–330. ISSN 0962-8924. Dostupné z DOI: [10.1016/j.tcb.2004.04.006](https://doi.org/10.1016/j.tcb.2004.04.006).
- HUANG, Xun; HUANG, Peng; ROBINSON, Matthew K.; STERN, Michael J.; JIN, Yishi, 2003. UNC-71, a disintegrin and metalloprotease (ADAM) protein, regulates motor axon guidance and sex myoblast migration in *C. elegans*. *Development*. Roč. 130, č. 14, s. 3147–3161. ISSN 0950-1991. Dostupné z DOI: [10.1242/dev.00518](https://doi.org/10.1242/dev.00518).
- CHAN, S.S.-Y.; ZHENG, H.; SU, M.-W.; WILK, R.; KILLEEN, M.T.; HEDGECOCK, E.M.; CULOTTI, J.G., 1996. UNC-40, a *C. elegans* Homolog of DCC (Deleted in Colorectal Cancer), Is Required in Motile Cells Responding to UNC-6 Netrin Cues. *Cell*. Roč. 87, č. 2, s. 187–195. ISSN 0092-8674. Dostupné z DOI: [10.1016/s0092-8674\(00\)81337-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81337-9).
- CHEN, Zhucheng; BOREK, Dominika; PADRICK, Shae; GOMEZ, Timothy; METLAGEL, Zoltan; ISMAIL, Ayman; UMETANI, Junko; BILLADEAU, Daniel; OTWINOWSKI, Zbyszek; ROSEN, Michael, 2010. Structure and Control of the Actin Regulatory WAVE Complex. *Nature*. Roč. 468, s. 533–8. Dostupné z DOI: [10.1038/nature09623](https://doi.org/10.1038/nature09623).
- \* ISMAIL, Ayman M; PADRICK, Shae B; CHEN, Baoyu; UMETANI, Junko; ROSEN, Michael K, 2009. The WAVE regulatory complex is inhibited. *Nature structural and amp; molecular biology*. Roč. 16, č. 5, s. 561–563. ISSN 1545-9993. Dostupné z DOI: [10.1038/nsmb.1587](https://doi.org/10.1038/nsmb.1587).
- JEGLA, Timothy; NGUYEN, Michelle M.; FENG, Chengye; GOETSCHIUS, Daniel J.; LUNA, Esteban; ROSSUM, Damian B. van; KAMEL, Bishoy; PISUPATI, Aditya; MILNER, Elliott S.; ROLLS, Melissa M., 2016. Bilaterian Giant Ankyrins Have a Common Evolutionary Origin and Play a Conserved Role in Patterning the Axon Initial Segment. *PLoS Genetics*. Roč. 12, č. 12, s. 1–31. Dostupné z DOI: [10.1371/journal.pgen.1006457](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006457).
- JESSELL, Thomas M., 2000. Neuronal specification in the spinal cord: inductive signals and transcriptional codes. *Nature Reviews Genetics*. Roč. 1, č. 1, s. 20–29. ISSN 1471-0064. Dostupné z DOI: [10.1038/35049541](https://doi.org/10.1038/35049541).

- JIU, Yaming; LEHTIMÄKI, Jaakko; TOJKANDER, Sari; CHENG, Fang; JÄÄLINOJA, Harri; LIU, Xiaonan; VARJOSALO, Markku; ERIKSSON, John E.; LAPPALAINEN, Pekka, 2015. Bidirectional Interplay between Vimentin Intermediate Filaments and Contractile Actin Stress Fibers. *Cell Reports*. Roč. 11, č. 10, s. 1511–1518. ISSN 2211-1247. Dostupné z DOI: [10.1016/j.celrep.2015.05.008](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.05.008).
- KENNETH NELSON, F.; ALBERT, Patrice S.; RIDDLE, Donald L., 1983. Fine structure of the *Caenorhabditis elegans* secretory—excretory system. *Journal of Ultrastructure Research*. Roč. 82, č. 2, s. 156–171. ISSN 0022-5320. Dostupné z DOI: [10.1016/s0022-5320\(83\)90050-3](https://doi.org/10.1016/s0022-5320(83)90050-3).
- KHAN, Liakot A.; JAFARI, Gholamali; ZHANG, Nan; MEMBRENO, Edward; YAN, Siyang; ZHANG, Hongjie; GOBEL, Verena, 2019. A tensile trilayered cytoskeletal endotube drives capillary-like lumenogenesis. *Journal of Cell Biology*. Roč. 218, č. 7, s. 2403–2424. ISSN 1540-8140. Dostupné z DOI: [10.1083/jcb.201811175](https://doi.org/10.1083/jcb.201811175).
- KHAN, Liakot A.; ZHANG, Hongjie; ABRAHAM, Nesity; SUN, Lei; FLEMING, John T.; BUECHNER, Matthew; HALL, David H.; GOBEL, Verena, 2013. Intracellular lumen extension requires ERM-1-dependent apical membrane expansion and AQP-8-mediated flux. *Nature Cell Biology*. Roč. 15, č. 2, s. 143–156. ISSN 1476-4679. Dostupné z DOI: [10.1038/ncb2656](https://doi.org/10.1038/ncb2656).
- \* KOLLMAN, Justin M.; MERDES, Andreas; MOUREY, Lionel; AGARD, David A., 2011. Microtubule nucleation by  $\gamma$ -tubulin complexes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Roč. 12, č. 11, s. 709–721. ISSN 1471-0080. Dostupné z DOI: [10.1038/nrm3209](https://doi.org/10.1038/nrm3209).
- KOLLMAN, Justin M.; POLKA, Jessica K.; ZELTER, Alex; DAVIS, Trisha N.; AGARD, David A., 2010. Microtubule nucleating  $\gamma$ -TuSC assembles structures with 13-fold microtubule-like symmetry. *Nature*. Roč. 466, č. 7308, s. 879–882. ISSN 1476-4687. Dostupné z DOI: [10.1038/nature09207](https://doi.org/10.1038/nature09207).
- KOLOTUEV, Irina; HYENNE, Vincent; SCHWAB, Yannick; RODRIGUEZ, David; LABOUESSE, Michel, 2013. A pathway for unicellular tube extension depending on the lymphatic vessel determinant Prox1 and on osmoregulation. *Nature cell biology*. Roč. 15. Dostupné z DOI: [10.1038/ncb2662](https://doi.org/10.1038/ncb2662).
- KRAUSE, Matthias; LESLIE, Jonathan D.; STEWART, Mary; LAFUENTE, Esther M.; VALDERRAMA, Ferran; JAGANNATHAN, Radhika; STRASSER, Geraldine A.; RUBINSON, Douglas A.; LIU, Hui; WAY, Michael; YAFFE, Michael B.; BOUSSIO-TIS, Vassiliki A.; GERTLER, Frank B., 2004. Lamellipodin, an Ena/VASP Ligand, Is Implicated in the Regulation of Lamellipodial Dynamics. *Developmental Cell*. Roč. 7, č. 4, s. 571–583. ISSN 1534-5807. Dostupné z DOI: [10.1016/j.devcel.2004.07.024](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2004.07.024).



- LANTZSCH, Ina; YU, Che-Hang; CHEN, Yu-Zen; ZIMYANIN, Vitaly; YAZDKHASTI, Hossein; LINDOW, Norbert; SZENTGYOERGYI, Erik; PANI, Ariel M; PROHASKA, Steffen; SRAYKO, Martin; FÜRTHAUER, Sebastian; REDEMANN, Stefanie, 2021. Microtubule reorganization during female meiosis in *C. elegans*. *eLife*. Roč. 10, e58903. ISSN 2050-084X. Dostupné z DOI: [10.7554/eLife.58903](https://doi.org/10.7554/eLife.58903).
- LI, W; HERMAN, R K; SHAW, J E, 1992. Analysis of the *Caenorhabditis elegans* axonal guidance and outgrowth gene *unc-33*. *Genetics*. Roč. 132, č. 3, s. 675–689. ISSN 1943-2631. Dostupné z DOI: [10.1093/genetics/132.3.675](https://doi.org/10.1093/genetics/132.3.675).
- LIANG, Xing; KOKES, Marcela; FETTER, Richard D; SALLEE, Maria Danielle; MOORE, Adrian W; FELDMAN, Jessica L; SHEN, Kang, 2020. Growth cone-localized microtubule organizing center establishes microtubule orientation in dendrites. *eLife*. Roč. 9, e56547. ISSN 2050-084X. Dostupné z DOI: [10.7554/eLife.56547](https://doi.org/10.7554/eLife.56547).
- \* LIN, C.H; ESPREAFIGO, E.M; MOOSEKER, M.S; FORSCHER, P, 1996. Myosin Drives Retrograde F-Actin Flow in Neuronal Growth Cones. *Neuron*. Roč. 16, č. 4, s. 769–782. ISSN 0896-6273. Dostupné z DOI: [10.1016/s0896-6273\(00\)80097-5](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80097-5).
- \* LOWERY, Laura Anne; VACTOR, David Van, 2009. The trip of the tip: understanding the growth cone machinery. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Roč. 10, č. 5, s. 332–343. ISSN 1471-0080. Dostupné z DOI: [10.1038/nrm2679](https://doi.org/10.1038/nrm2679).
- LUNDQUIST, E A; HERMAN, R K; SHAW, J E; BARGMANN, C I, 1998. UNC-115, a conserved protein with predicted LIM and actin-binding domains, mediates axon guidance in *C. elegans*. *Neuron*. Roč. 21, č. 2, s. 385–392. ISSN 0896-6273. Dostupné z DOI: [10.1016/s0896-6273\(00\)80547-4](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80547-4).
- MAES, Tamara; BARCELÓ, Anna; BUESA, Carlos, 2002. Neuron Navigator: A Human Gene Family with Homology to *unc-53*, a Cell Guidance Gene from *Caenorhabditis elegans*. *Genomics*. Roč. 80, č. 1, s. 21–30. ISSN 0888-7543. Dostupné z DOI: [10.1006/geno.2002.6799](https://doi.org/10.1006/geno.2002.6799).
- \* MANESS, Patricia F; SCHACHNER, Melitta, 2006. Neural recognition molecules of the immunoglobulin superfamily: signaling transducers of axon guidance and neuronal migration. *Nature Neuroscience*. Roč. 10, č. 1, s. 19–26. ISSN 1546-1726. Dostupné z DOI: [10.1038/nn1827](https://doi.org/10.1038/nn1827).
- MANIAR, Tapan A; KAPLAN, Miriam; WANG, George J; SHEN, Kang; WEI, Li; SHAW, Jocelyn E; KOUSHIKA, Sandhya P; BARGMANN, Cornelia I, 2011. UNC-33 (CRMP) and ankyrin organize microtubules and localize kinesin to polarize axon-dendrite sorting. *Nature Neuroscience*. Roč. 15, č. 1, s. 48–56. ISSN 1546-1726. Dostupné z DOI: [10.1038/nn.2970](https://doi.org/10.1038/nn.2970).

- MANSER, James; ROONPRAPUNT, Chan; MARGOLIS, Ben, 1997. C. elegans Cell Migration Genemig-10 Shares Similarities with a Family of SH2 Domain Proteins and Acts Cell Nonautonomously in Excretory Canal Development. *Developmental Biology*. Roč. 184, č. 1, s. 150–164. ISSN 0012-1606. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1006/dbio.1997.8516>.
- MARCUS-GUERET, Nancy; SCHMIDT, Kristopher L; STRINGHAM, Eve G, 2012. Distinct Cell Guidance Pathways Controlled by the Rac and Rho GEF Domains of UNC-73/TRIO in Caenorhabditis elegans. *Genetics*. Roč. 190, č. 1, s. 129–142. ISSN 1943-2631. Dostupné z DOI: [10.1534/genetics.111.134429](https://doi.org/10.1534/genetics.111.134429).
- MCSHEA, Molly A.; SCHMIDT, Kristopher L.; DUBUKE, Michelle L.; BALDIGA, Christina E.; SULLENDER, Meagan E.; REIS, Andrea L.; ZHANG, Subaiou; O'TOOLE, Sean M.; JEFFERS, Mary C.; WARDEN, Rachel M.; KENNEY, Allison H.; GOSSELLIN, Jennifer; KUHLEWEIN, Mark; HASHMI, Sana K.; STRINGHAM, Eve G.; RYDER, Elizabeth F., 2013. Abelson interactor-1 (ABI-1) interacts with MRL adaptor protein MIG-10 and is required in guided cell migrations and process outgrowth in C. elegans. *Developmental Biology*. Roč. 373, č. 1, s. 1–13. ISSN 0012-1606. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2012.09.017>.
- MORROW, Christopher S.; PORTER, Tiaira J.; XU, Nan; ARNDT, Zachary P.; AKOASARE, Kayla; HEO, Helen J.; THOMPSON, Elizabeth A.N.; MOORE, Darcie L., 2020. Vimentin Coordinates Protein Turnover at the Aggresome during Neural Stem Cell Quiescence Exit. *Cell Stem Cell*. Roč. 26, č. 4, 558–568.e9. ISSN 1934-5909. Dostupné z DOI: [10.1016/j.stem.2020.01.018](https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.01.018).
- NAVONE, F; NICLAS, J; HOM-BOOHER, N; SPARKS, L; BERNSTEIN, HD; MCCAFFREY, G; VALE, RD, 1992. Cloning and expression of a human kinesin heavy chain gene: interaction of the COOH-terminal domain with cytoplasmic microtubules in transfected CV-1 cells. *Journal of Cell Biology*. Roč. 117, č. 6, s. 1263–1275. ISSN 0021-9525. Dostupné z DOI: [10.1083/jcb.117.6.1263](https://doi.org/10.1083/jcb.117.6.1263).
- NELSON, F. Kenneth; RIDDLE, Donald L., 1984. Functional study of the Caenorhabditis elegans secretory-excretory system using laser microsurgery. *Journal of Experimental Zoology*. Roč. 231, č. 1, s. 45–56. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1002/jez.1402310107>.
- \* OAKLEY, Berl R.; PAOLILLO, Vitoria; ZHENG, Yixian, 2015.  $\gamma$ -Tubulin complexes in microtubule nucleation and beyond. *Molecular Biology of the Cell*. Roč. 26, č. 17, s. 2957–2962. Dostupné z DOI: [10.1091/mbc.E14-11-1514](https://doi.org/10.1091/mbc.E14-11-1514). PMID: 26316498.
- ONUCHIN, Arsenii A.; CHERNIZOVA, Alina V.; LEBEDEV, Mikhail A.; POLOVNIKOV, Kirill E., 2023. Communities in C. elegans connectome through the prism of

- non-backtracking walks. *Scientific Reports*. Roč. 13, č. 1. ISSN 2045-2322. Dostupné z DOI: [10.1038/s41598-023-49503-5](https://doi.org/10.1038/s41598-023-49503-5).
- OTSUKA, A J; FRANCO, R; YANG, B; SHIM, K H; TANG, L Z; ZHANG, Y Y; BOON-TRAKULPOONTAWEE, P; JEYAPRAKASH, A; HEDGECOCK, E; WHEATON, V I, 1995. An ankyrin-related gene (*unc-44*) is necessary for proper axonal guidance in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Cell Biology*. Roč. 129, č. 4, s. 1081–1092. ISSN 0021-9525. Dostupné z DOI: [10.1083/jcb.129.4.1081](https://doi.org/10.1083/jcb.129.4.1081).
- PADRICK, Shae B.; DOOLITTLE, Lynda K.; BRAUTIGAM, Chad A.; KING, David S.; ROSEN, Michael K., 2011. Arp2/3 complex is bound and activated by two WASP proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 108, č. 33. Dostupné z DOI: [10.1073/pnas.1100236108](https://doi.org/10.1073/pnas.1100236108).
- PINTO-COSTA, Rita; MENDES SOUSA, Monica, 2021. Microtubules, actin and cytolinkers: how to connect cytoskeletons in the neuronal growth cone. *Neuroscience Letters*. Roč. 747, s. 135693. ISSN 0304-3940. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135693>.
- PRIESS, James R.; HIRSH, David I., 1986. *Caenorhabditis elegans* morphogenesis: The role of the cytoskeleton in elongation of the embryo. *Developmental Biology*. Roč. 117, č. 1, s. 156–173. ISSN 0012-1606. Dostupné z DOI: [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(86\)90358-1](https://doi.org/10.1016/0012-1606(86)90358-1).
- PURI, Dharmendra; PONNIAH, Keerthana; BISWAS, Kasturi; BASU, Atrayee; DEY, Swagata; LUNDQUIST, Erik A.; GHOSH-ROY, Anindya, 2021. Wnt signaling establishes the microtubule polarity in neurons through regulation of Kinesin-13. *Journal of Cell Biology*. Roč. 220, č. 9, e202005080. ISSN 0021-9525. Dostupné z DOI: [10.1083/jcb.202005080](https://doi.org/10.1083/jcb.202005080).
- RAUTHAN, Manish; MÖRCK, Catarina; PILON, Marc, 2007. The *C. elegans* M3 neuron guides the growth cone of its sister cell M2 via the Krüppel-like zinc finger protein MNM-2. *Developmental Biology*. Roč. 311, č. 1, s. 185–199. ISSN 0012-1606. Dostupné z DOI: [10.1016/j.ydbio.2007.08.037](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.08.037).
- ROTTY, Jeremy; WU, Congying; BEAR, James, 2012. New insights into the regulation and cellular functions of the ARP2/3 complex. *Nature reviews. Molecular cell biology*. Roč. 14. Dostupné z DOI: [10.1038/nrm3492](https://doi.org/10.1038/nrm3492).
- SÁNCHEZ-HUERTAS, Carlos; BONHOMME, Marion; FALCO, Amandine; FAGOTTO-KAUFMANN, Christine; HAREN, Jeffrey van; JEANNETEAU, Freddy; GALJART, Niels; DEBANT, Anne; BOUDEAU, Jérôme, 2020. The +TIP Navigator-1 is an actin–microtubule crosslinker that regulates axonal growth cone motility. *Journal of Cell Biology*. Roč. 219, č. 9, e201905199. ISSN 0021-9525. Dostupné z DOI: [10.1083/jcb.201905199](https://doi.org/10.1083/jcb.201905199).

- SANTELLA, Anthony; KOLOTUEV, Irina; KIZILYAPRAK, Caroline; BAO, Zhirong, 2022. Cross-modality synthesis of EM time series and live fluorescence imaging. *eLife*. Roč. 11, e77918. ISSN 2050-084X. Dostupné z DOI: [10.7554/eLife.77918](https://doi.org/10.7554/eLife.77918).
- SHI, R.; KRAMER, D. A.; CHEN, B.; SHEN, K., 2021. A two-step actin polymerization mechanism drives dendrite branching. *Neural Dev.* Roč. 16, č. 1, s. 3. Dostupné z DOI: [10.1186/s13064-021-00154-0](https://doi.org/10.1186/s13064-021-00154-0).
- SCHAEFER, Andrew W.; KABIR, Nurul; FORSCHER, Paul, 2002. Filopodia and actin arcs guide the assembly and transport of two populations of microtubules with unique dynamic parameters in neuronal growth cones. *The Journal of Cell Biology*. Roč. 158, č. 1, s. 139–152. ISSN 0021-9525. Dostupné z DOI: [10.1083/jcb.200203038](https://doi.org/10.1083/jcb.200203038).
- SCHMIDT, Kristopher L.; MARCUS-GUERET, Nancy; ADELEYE, Adetayo; WEBBER, Jordan; BAILLIE, David; STRINGHAM, Eve G., 2009. The cell migration molecule UNC-53/NAV2 is linked to the ARP2/3 complex by ABI-1. *Development*. Roč. 136, č. 4, s. 563–574. ISSN 0950-1991. Dostupné z DOI: [10.1242/dev.016816](https://doi.org/10.1242/dev.016816).
- SCHWARZ, Valentin; PAN, Jie; VOLTMER-IRSCH, Susanne; HUTTER, Harald, 2009. IgCAMs redundantly control axon navigation in *Caenorhabditis elegans*. *Neural Development*. Roč. 4, č. 1. ISSN 1749-8104. Dostupné z DOI: [10.1186/1749-8104-4-13](https://doi.org/10.1186/1749-8104-4-13).
- SMITH, Benjamin A.; DAUGHERTY-CLARKE, Karen; GOODE, Bruce L.; GELLES, Jeff, 2013. Pathway of actin filament branch formation by Arp2/3 complex revealed by single-molecule imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 110, č. 4, s. 1285–1290. ISSN 1091-6490. Dostupné z DOI: [10.1073/pnas.1211164110](https://doi.org/10.1073/pnas.1211164110).
- STONE, Craig E.; HALL, David H.; SUNDARAM, Meera V., 2009. Lipocalin signaling controls unicellular tube development in the *Caenorhabditis elegans* excretory system. *Developmental Biology*. Roč. 329, č. 2, s. 201–211. ISSN 0012-1606. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.02.030>.
- STRINGHAM, Eve; PUJOL, Nathalie; VANDEKERCKHOVE, Joel; BOGAERT, Thierry, 2002. unc-53 controls longitudinal migration in *C. elegans*. *Development*. Roč. 129, č. 14, s. 3367–3379. ISSN 0950-1991. Dostupné z DOI: [10.1242/dev.129.14.3367](https://doi.org/10.1242/dev.129.14.3367).
- STRINGHAM, Eve G.; SCHMIDT, Kristopher L., 2009. Navigating the cell. *Cell Adhesion & Migration*. Roč. 3, č. 4, s. 342–346. Dostupné z DOI: [10.4161/cam.3.4.9451](https://doi.org/10.4161/cam.3.4.9451). PMID: 19684480.
- \* SUNDARAM, Meera V.; BUECHNER, Matthew, 2016. The *Caenorhabditis elegans* Excretory System: A Model for Tubulogenesis, Cell Fate Specification, and Plasticity. *Genetics*. Roč. 203, s. 35–63. Dostupné také z: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:27335450>.

- SUZUKI, Norio; BUECHNER, Matthew; NISHIWAKI, Kiyoji; HALL, David H; NAKANISHI, Hiroyuki; TAKAI, Yoshimi; HISAMOTO, Naoki; MATSUMOTO, Kunihiko, 2001. A putative GDP–GTP exchange factor is required for development of the excretory cell in *Caenorhabditis elegans*. *EMBO reports*. Roč. 2, č. 6, s. 530–535. ISSN 1469-3178. Dostupné z DOI: [10.1093/embo-reports/kve110](https://doi.org/10.1093/embo-reports/kve110).
- TANG, Leo TH; DIAZ-BALZAC, Carlos A; RAHMAN, Maisha; RAMIREZ-SUAREZ, Nelson J; SALZBERG, Yehuda; LÁZARO-PENÑA, Maria I; BÜLOW, Hannes E, 2019. TIAM-1/GEF can shape somatosensory dendrites independently of its GEF activity by regulating F-actin localization. *eLife*. Roč. 8, e38949. ISSN 2050-084X. Dostupné z DOI: [10.7554/eLife.38949](https://doi.org/10.7554/eLife.38949).
- \* TANG, Ngang Heek; JIN, Yishi, 2018. Shaping neurodevelopment: distinct contributions of cytoskeletal proteins. *Current Opinion in Neurobiology*. Roč. 51, s. 111–118. ISSN 0959-4388. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.02.022>. Cellular Neuroscience.
- TSUBOI, Daisuke; HIKITA, Takao; QADOTA, Hiroshi; AMANO, Mutsuki; KAIBUCHI, Kozo, 2005. Regulatory machinery of UNC-33 Ce-CRMP localization in neurites during neuronal development in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Neurochemistry*. Roč. 95, č. 6, s. 1629–1641. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03490.x>.
- VAN TROYS, Marleen; VANDEKERCKHOVE, Joël; AMPE, Christophe, 1999. Structural modules in actin-binding proteins: towards a new classification. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. Roč. 1448, č. 3, s. 323–348. ISSN 0167-4889. Dostupné z DOI: [https://doi.org/10.1016/S0167-4889\(98\)00152-9](https://doi.org/10.1016/S0167-4889(98)00152-9).
- VIEIRA DE CARVALHO, Cátia Filipa, 2024. *Functional characterization of the microtubule motor dynein in the C. elegans epidermis*. PhD thesis. University Porto. URL <https://hdl.handle.net/10216/158413>.
- WANG, Shaoh; WU, Di; QUINTIN, Sophie; GREEN, Rebecca A; CHEERAMBATHUR, Dhanya K; OCHOA, Stacy D; DESAI, Arshad; OEGEMA, Karen, 2015. NOCA-1 functions with  $\gamma$ -tubulin and in parallel to Patronin to assemble non-centrosomal microtubule arrays in *C. elegans*. *eLife*. Roč. 4, e08649. ISSN 2050-084X. Dostupné z DOI: [10.7554/eLife.08649](https://doi.org/10.7554/eLife.08649).
- WELCH, Matthew; IWAMATSU, Akihiro; MITCHISON, Timothy, 1997. Actin polymerization is induced by Arp2/3 protein complex at the surface of *Listeria monocytogenes*. *Nature*. Roč. 385, s. 265–9. Dostupné z DOI: [10.1038/385265a0](https://doi.org/10.1038/385265a0).

- WILLIAMSON, Toni; GORDON-WEEKS, Phillip R.; SCHACHNER, Melitta; TAYLOR, Joanne, 1996. Microtubule reorganization is obligatory for growth cone turning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 93, č. 26, s. 15221–15226. ISSN 1091-6490. Dostupné z DOI: [10.1073/pnas.93.26.15221](https://doi.org/10.1073/pnas.93.26.15221).
- WOLF, Fred W; HUNG, Ming-Shiu; WIGHTMAN, Bruce; WAY, Jeff; GARRIGA, Gian, 1998. vab-8 Is a Key Regulator of Posteriorly Directed Migrations in *C. elegans* and Encodes a Novel Protein with Kinesin Motor Similarity. *Neuron*. Roč. 20, č. 4, s. 655–666. ISSN 0896-6273. Dostupné z DOI: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)81006-5](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)81006-5).
- XU, Weina; LIU, Jinyi; QI, Huan; SI, Ruolin; ZHAO, Zhiguang; TAO, Zhiju; BAI, Yuchuan; HU, Shipeng; SUN, Xiaohan; CONG, Yulin; ZHANG, Haoye; FAN, Duchangjiang; XIAO, Long; WANG, Yangyang; LI, Yongbin; DU, Zhuo, 2024. A lineage-resolved cartography of microRNA promoter activity in *C. elegans* empowers multidimensional developmental analysis. *Nature Communications*. Roč. 15, č. 1. ISSN 2041-1723. Dostupné z DOI: [10.1038/s41467-024-47055-4](https://doi.org/10.1038/s41467-024-47055-4).
- YAN, Jing; CHAO, Dan L; TOBA, Shiori; KOYASAKO, Kotaro; YASUNAGA, Takuo; HIROTSUNE, Shinji; SHEN, Kang, 2013. Kinesin-1 regulates dendrite microtubule polarity in *Caenorhabditis elegans*. *eLife*. Roč. 2, e00133. ISSN 2050-084X. Dostupné z DOI: [10.7554/eLife.00133](https://doi.org/10.7554/eLife.00133).
- YU, Jianxin A.; CASTRANOVA, Daniel; PHAM, Van N.; WEINSTEIN, Brant M., 2015. Single-cell analysis of endothelial morphogenesis in vivo. *Development*. Roč. 142, s. 2951–2961. Dostupné také z: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:13343235>.
- ZHE CHEN, Dennis J. Eastburn; HAN, Min, 2004. The *Caenorhabditis elegans* Nuclear Receptor Gene *nhr-25* Regulates Epidermal Cell Development. *Molecular and Cellular Biology*. Roč. 24, č. 17, s. 7345–7358. Dostupné z DOI: [10.1128/MCB.24.17.7345-7358.2004](https://doi.org/10.1128/MCB.24.17.7345-7358.2004). PMID: 15314147.
- ZOU, Wei; DONG, Xintong; BROEDERDORF, Timothy R.; SHEN, Ao; KRAMER, Daniel A.; SHI, Rebecca; LIANG, Xing; MILLER, David M.; XIANG, Yang K.; YASUDA, Ryohei; CHEN, Baoyu; SHEN, Kang, 2018. A Dendritic Guidance Receptor Complex Brings Together Distinct Actin Regulators to Drive Efficient F-Actin Assembly and Branching. *Developmental Cell*. Roč. 45, č. 3, 362–375.e3. ISSN 1534-5807. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.04.008>.
- ZOU, Wei; SHEN, Ao; DONG, Xintong; TUGIZOVA, Madina; XIANG, Yang K; SHEN, Kang, 2016. A multi-protein receptor-ligand complex underlies combinatorial dendrite guidance choices in *C. elegans*. *eLife*. Roč. 5, e18345. ISSN 2050-084X. Dostupné z DOI: [10.7554/eLife.18345](https://doi.org/10.7554/eLife.18345).

## Seznam obrázků

1	Schéma neuronu a uspořádání cytoskeletu v něm. . . . .	1
2	Schematické znázornění mechanismu posunu mikrotubulů s orientací (-) koncem ven ve směru do dendritu a (+) koncem ven zpět do těla neuronu proteinem UNC-116/kinesin-1. . . . .	5
3	Schematické znázornění interakce proteinů UNC-44, UNC-119 a UNC-33 tvořících komplex, který ukotvuje mikrotubuly k membráně. . . . .	8
4	Schematické znázornění interakce proteinů účastnících se signální dráhy aktivující Arp2/3 aktivací WRC. . . . .	10
5	Schematické znázornění růstového kuželu a cytoskeletu neuronu . . . . .	12
6	Schematické znázornění interakce proteinů účastnících se signální dráhy jež podporuje růst výběžků kanálové buňky. . . . .	16
7	Schematické znázornění uspořádání cytoskeletu v okolí lumen kanálové buňky	18
8	Schéma uspořádání cytoskeletu ve výběžku kanálové buňky . . . . .	19