

Buněčná stěna

(a) Ester bonds to hemicellulose for ferulic and p-coumaric acids

Stručný přehled přednášky:

Význam existence BS pro život rostliny

Složení buněčné stěny - především polysacharidy

Růst buněčné stěny - plasticita při udržení pevnosti, mechanismy růstu a jeho regulace

Typy buněčné stěny, specializované buněčné stěny

Modifikace

Plasmodesmy

Význam buněčných stěn pro planetu a lidstvo:

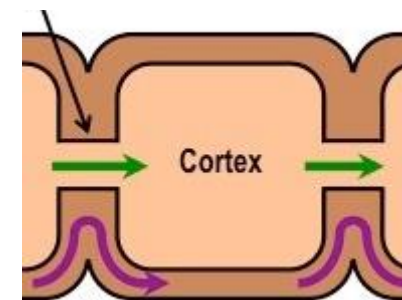
- dřeviny tvoří až 80% totální planetární biomasy (zdroj uhlíku, sink CO₂)
- zdroj potravy
- zdroj materiálů (textilní vlákna bavlny, konopí, juty, lnu a dalších, dřevo, papír)
- zdroj energie pro lidstvo (dřevo, fosilní rostliny)



Funkce buněčné stěny:

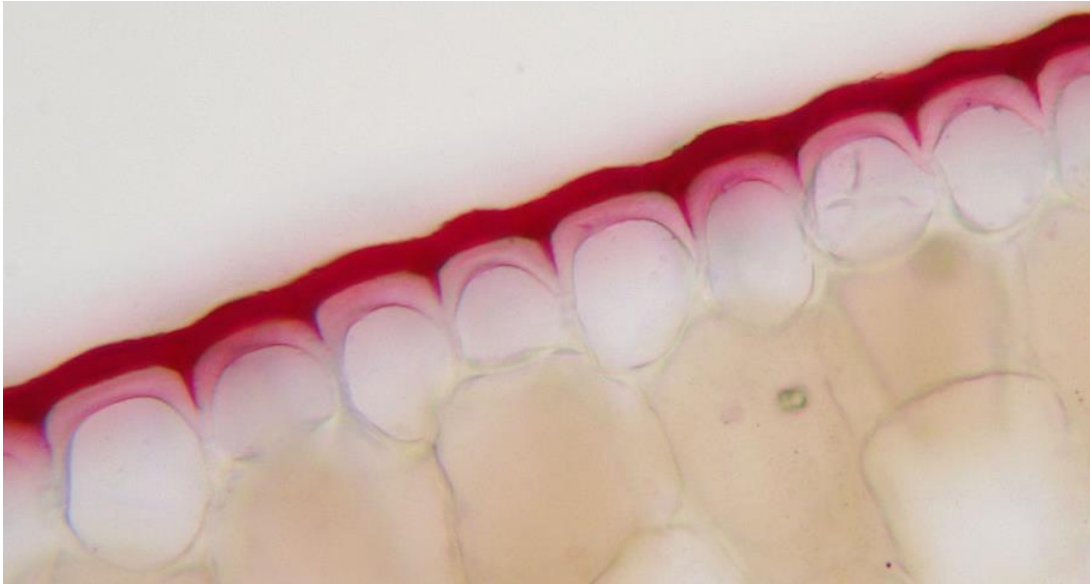
1. Udržení tvaru buněk
2. Zajištění pevnosti buňky (turgor, růst stěny)
3. Ochrana buňky, mechanická pevnost pletiv (modifikace)
4. Spojuje buňky do pletiv (adheze)
5. Transportní funkce (**apoplast** x **symplast**)
6. Regulace růstu a vývoje (regulace směru dělení a směru růstu → tvar)
7. Signální funkce (obránné mechanismy)
8. Zásobní funkce (ukládání polysacharidů)

plasmodesmy



Transport apoplastem
Transport symplastem

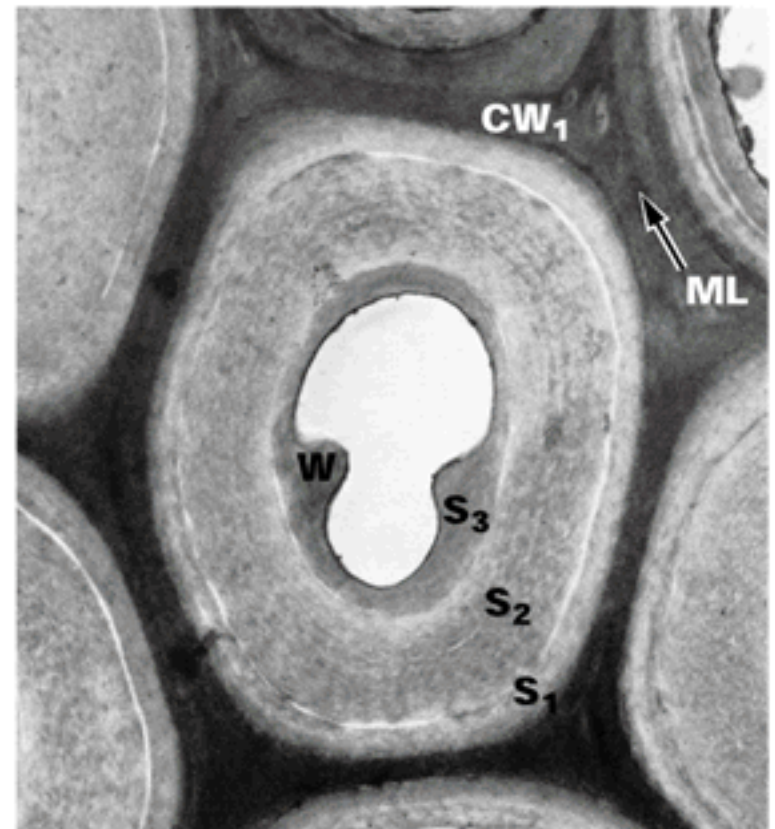
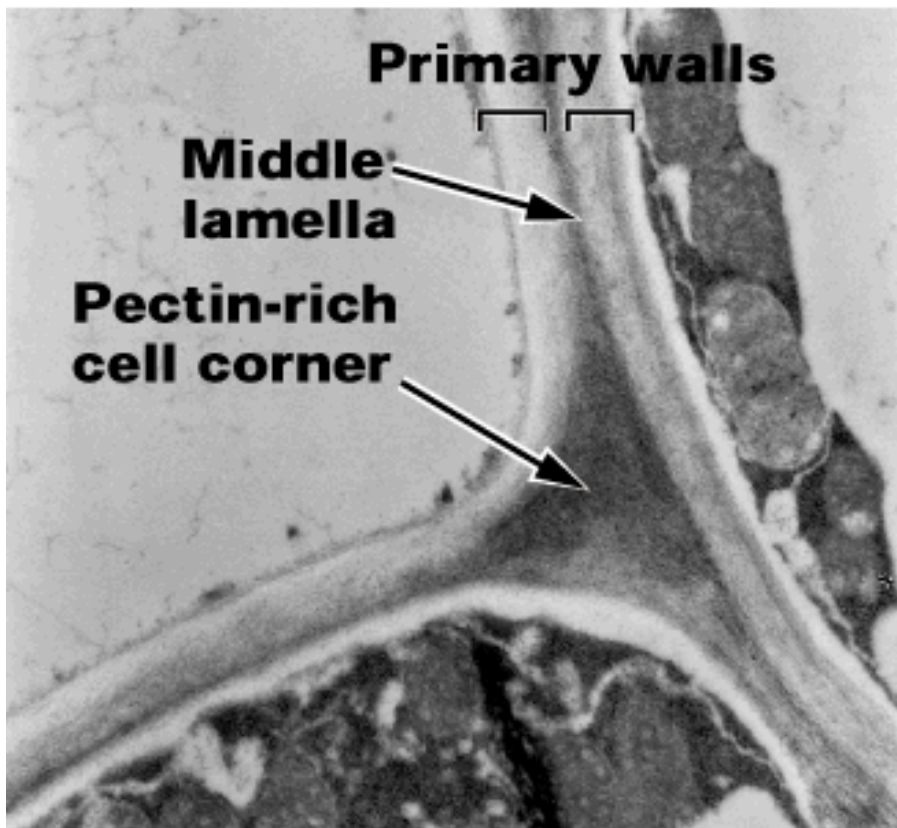
Struktura buněčné stěny



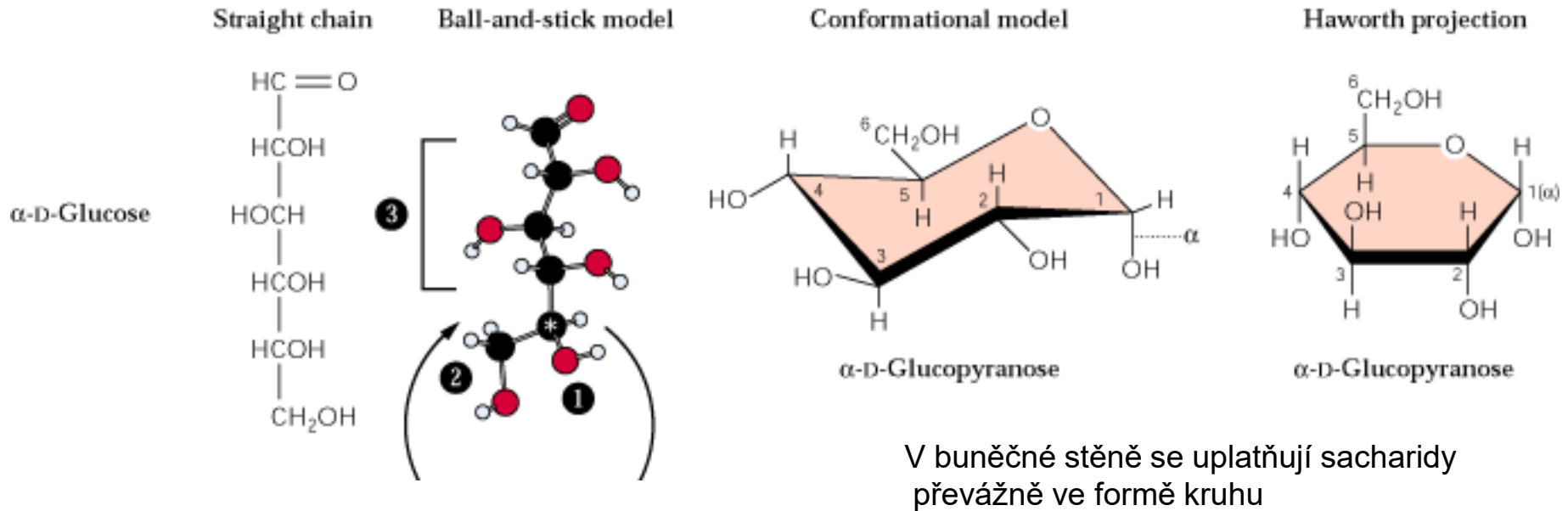
Pokožka listu klívie s kutikulou s vysokým obsahem lipidů (červená barva)
(mikrodomény)

Struktura buněčné stěny

1. Střední lamela (pektiny; adheze buněk v pletivech)
2. Primární buněčná stěna (přítomna vždy)
3. Sekundární buněčná stěna (přítomna u specializovaných buněk)

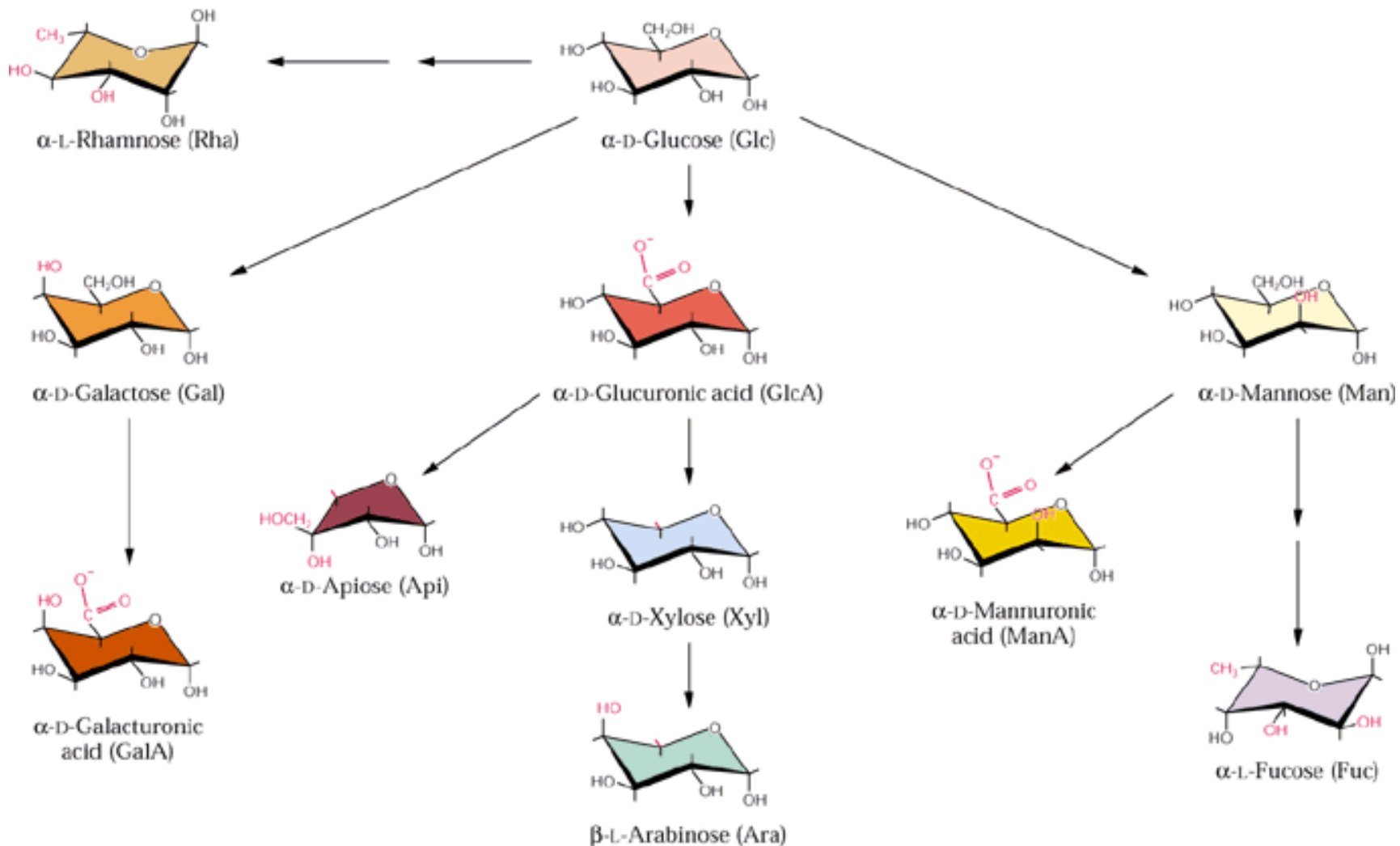


Základní stavební jednotkou buněčných stěn jsou sacharidy



V buněčné stěně se uplatňují sacharidy převážně ve formě kruhu

Základní stavební jednotkou buněčných stěn jsou sacharidy



Chemické složení buněčných stěn

Složení střední lamely:

převážně pektiny

Složení primární buněčné stěny:

Celulóza (až 30% objemu) → pevná vlákna (nejhojnější organická složka biosféry!)

Zesíťující glykany (hemicelulózy)

Pektiny

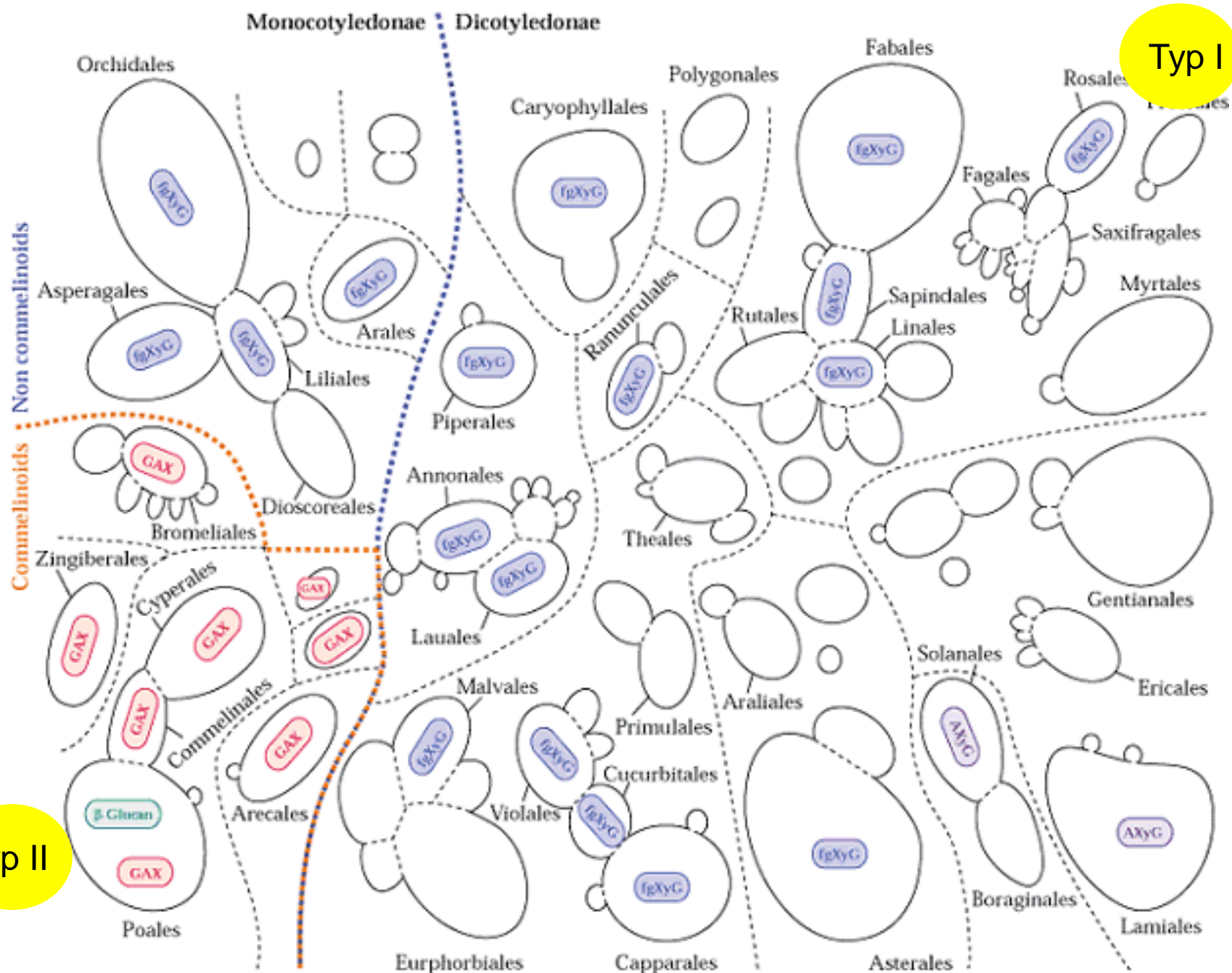
Strukturní proteiny

Enzymy

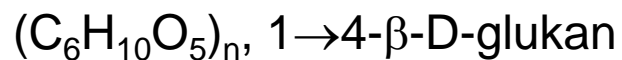
} Amorfní polysacharidová matrix

Typ I a II buněčné stěny u krytosemenných

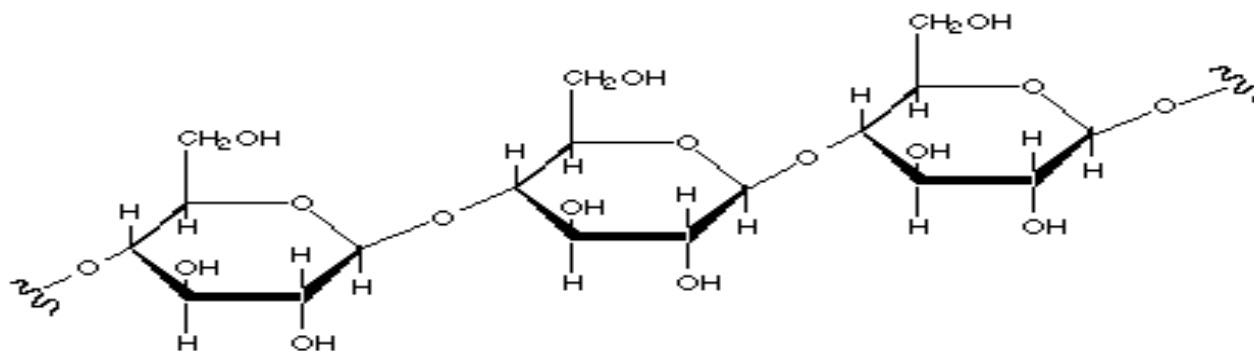
Složení sekundární buněčné stěny – viz dále



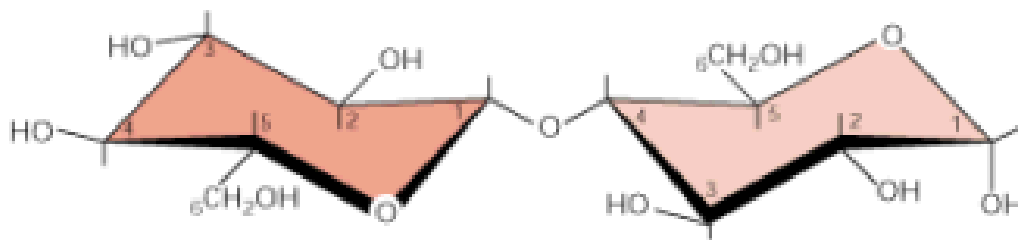
Celulóza



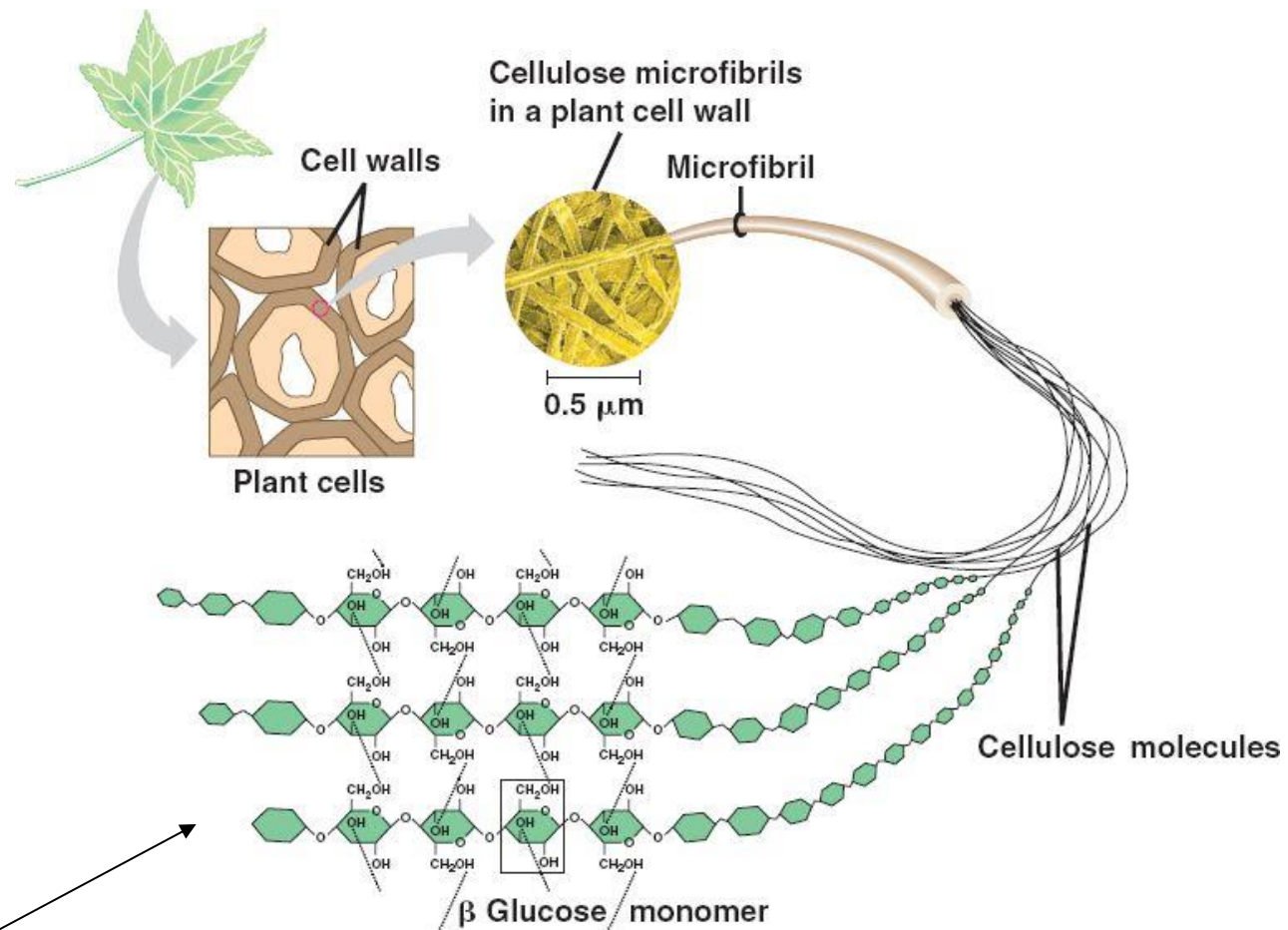
Obsah v buněčné stěně 20-30%



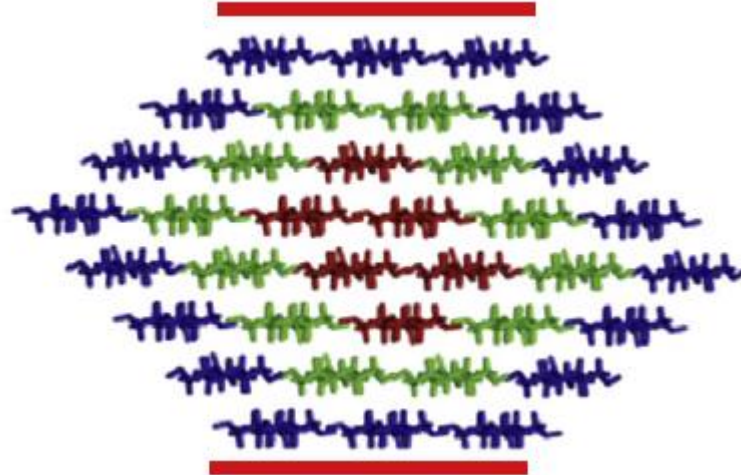
Cellulose
poly (1,4'-O-β-D-glucopyranoside)



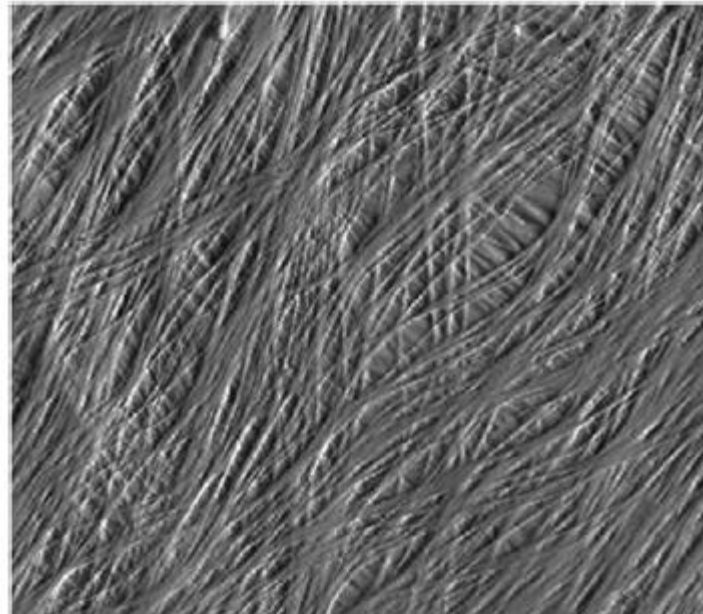
Cellobiose
(β-D-Glucosyl-(1→4)-D-glucose)



Pravidelné uspořádání molekul celulózy v mikrofibrile umožňuje propojení pomocí vodíkových můstků a krystalické uspořádání molekul.

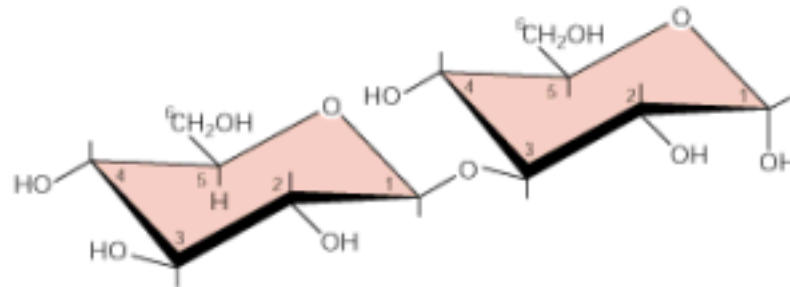


Model uspořádání celulóзовých molekul v mikrofibrile; mikrofibrila obsahuje 36, 24 nebo 18 molekul celulóзы.

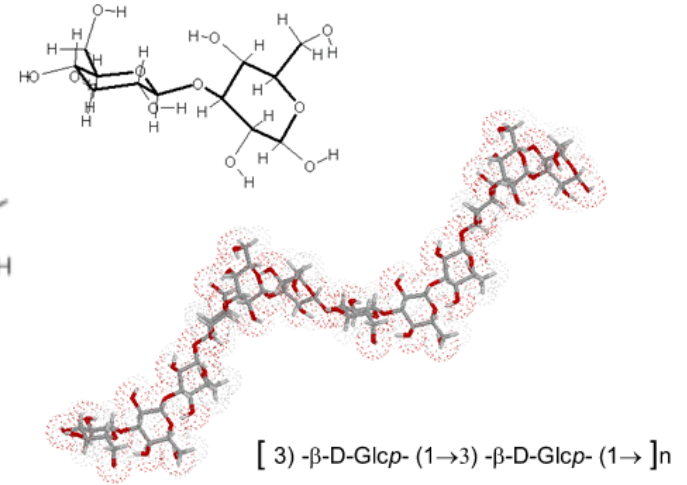


Nativní uspořádání mikrofibril v buněčné stěně buněk cibule (atomic force microscopy under water)

Kalóza 1→3-β-D-glukan



Laminaribiose
(β-D-Glucosyl-(1→3)-D-glucose)

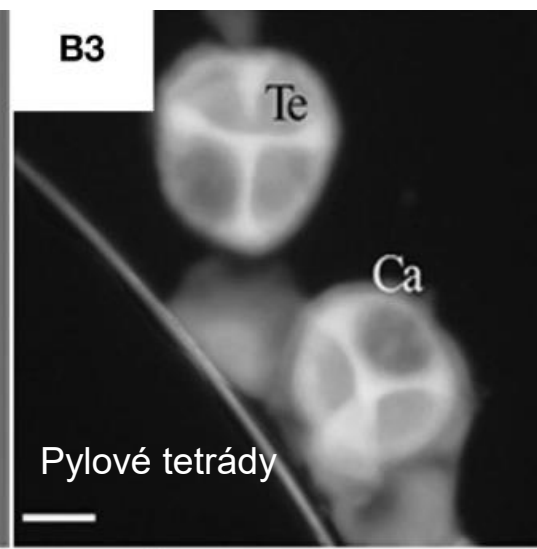
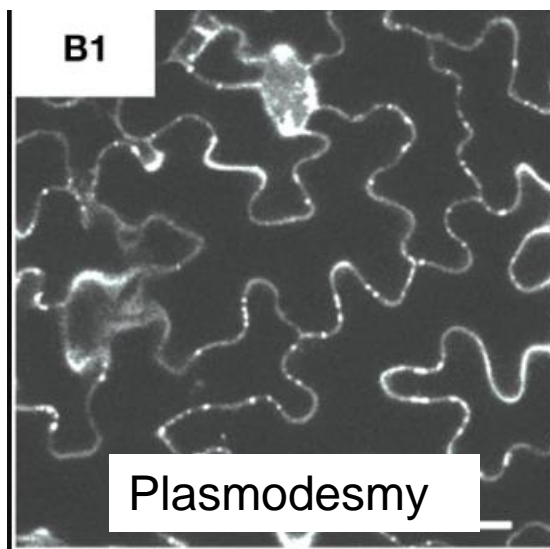
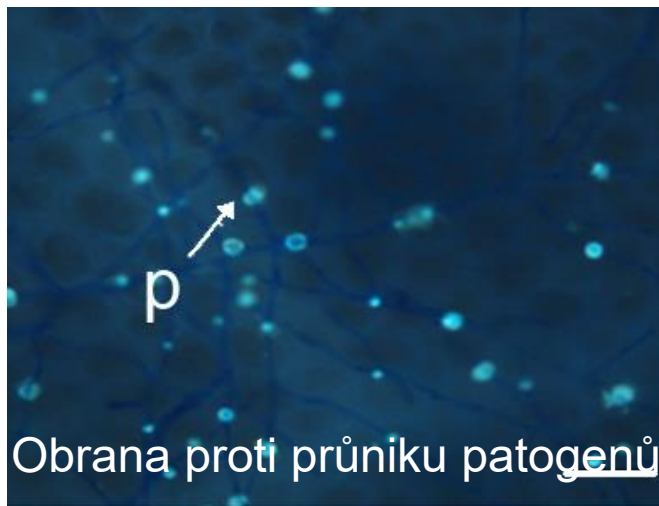
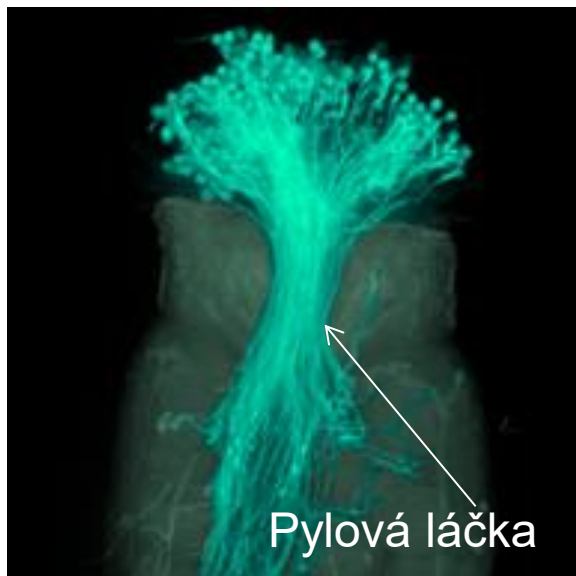


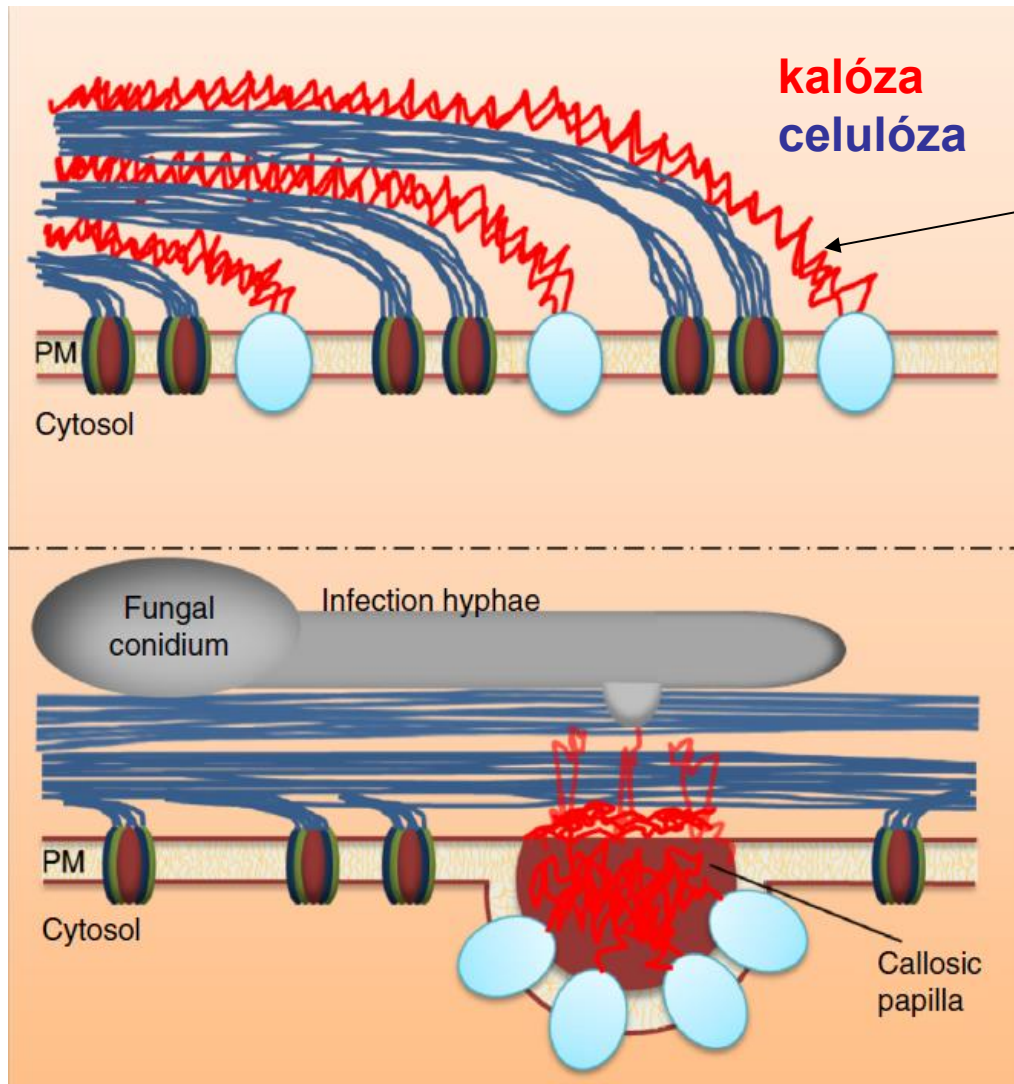
Kalóza tvoří odhadem 0,3-5% celkové biomasy buněčných stěn rostlin

Syntetizována kalóza syntézami (transmembránové proteiny)

Vyskytuje se v nově syntetizovaných buněčných deskách a ve specializovaných buněčných stěnách

Kalóza se ukládá ve specializovaných buněčných stěnách:





Ukládání celulózy a kalózy v buněčné stěně epidermis

Kalóza syntáza lokalizuje v místech penetrace patogena buněčnou stěnou, aby depozicí kalózy zesílila buněčnou stěnu



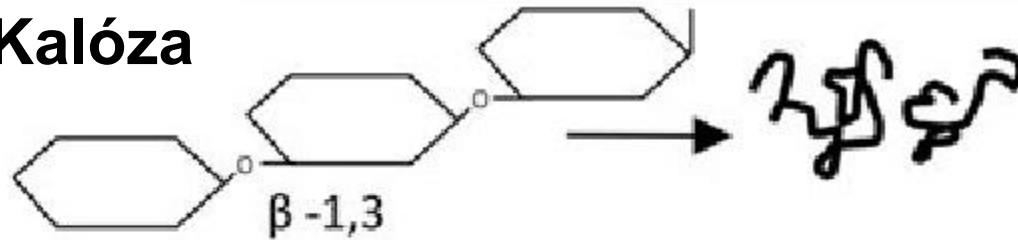
Cellulose Synthase



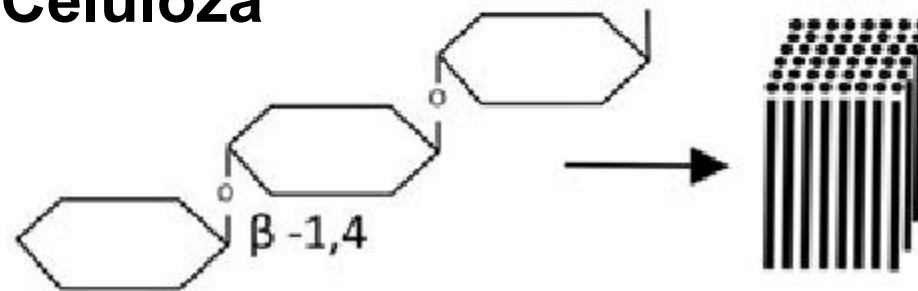
GSL5 Callose Synthase

PM: Plasma membrane

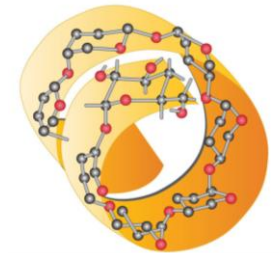
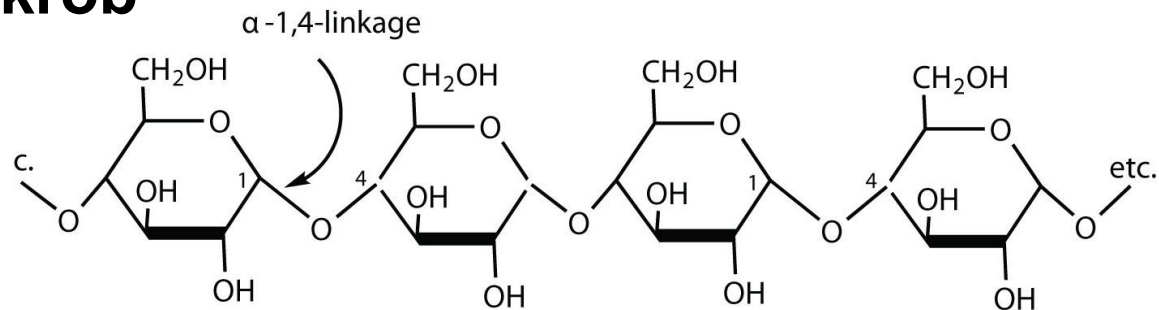
Kalóza



Celulóza



Škrob



Zesíťující glykany - hemicelulózy

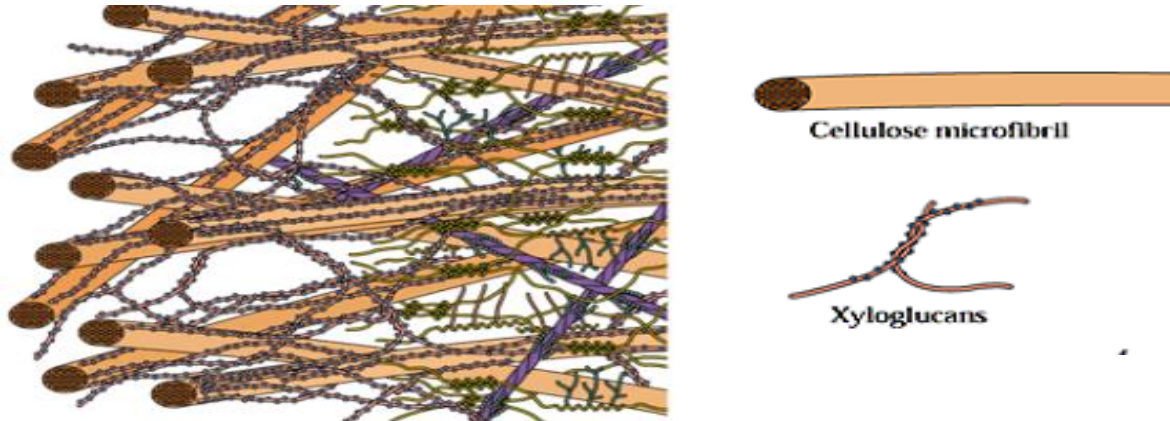
Tvoří společnou síť s celulózou, **provazují** mezi sebou mikrofibrily a udržují je v prostorové konfiguraci.

Molekuly jsou **elastické** a umožňují změny v stěně při změnách turgoru.

Ve stěnách typu I a II se vyskytují různé typy hemicelulóz:

- Xyloglukany** (XG) – stěna typu I
- Glukuronoarabinoxylany** (GAX) – stěna typu II
- Specifické typy hemicelulóz v **buněčných stěnách trav a obilnin**

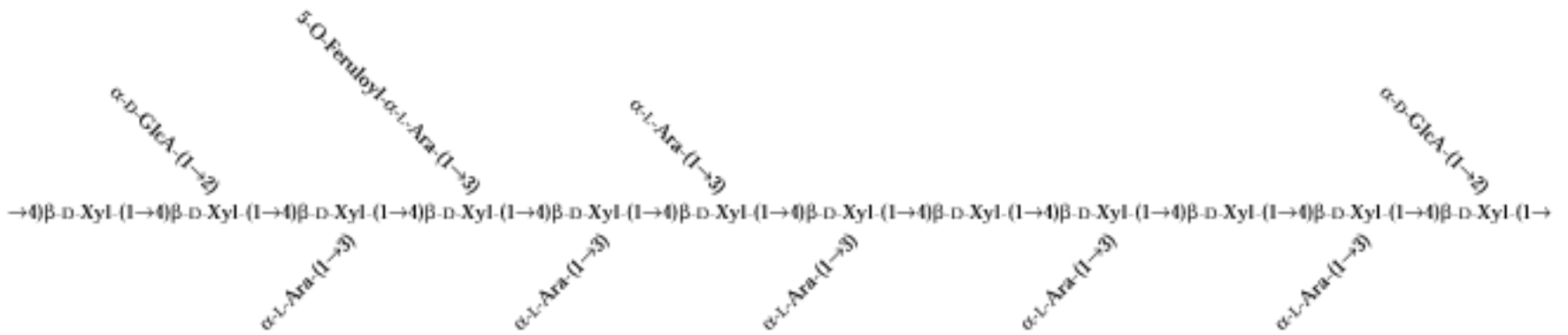
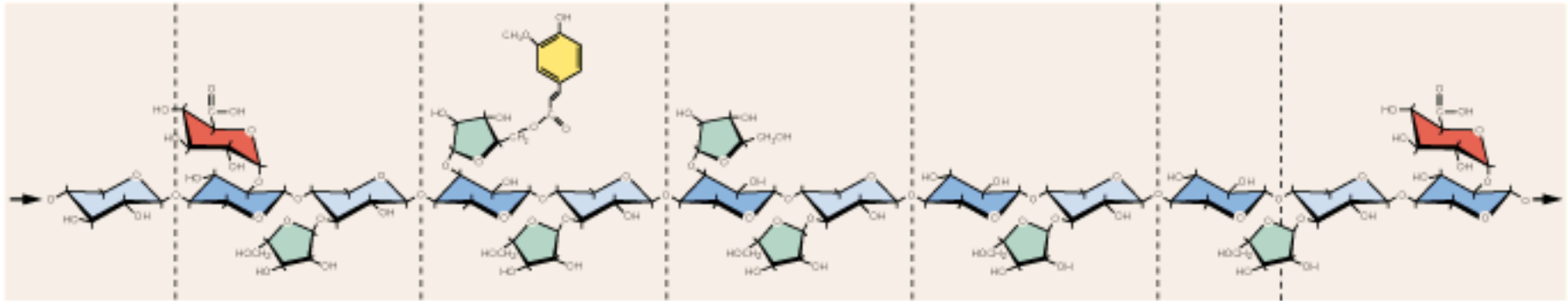
Obsah ve stěně je kolem 20-25%.



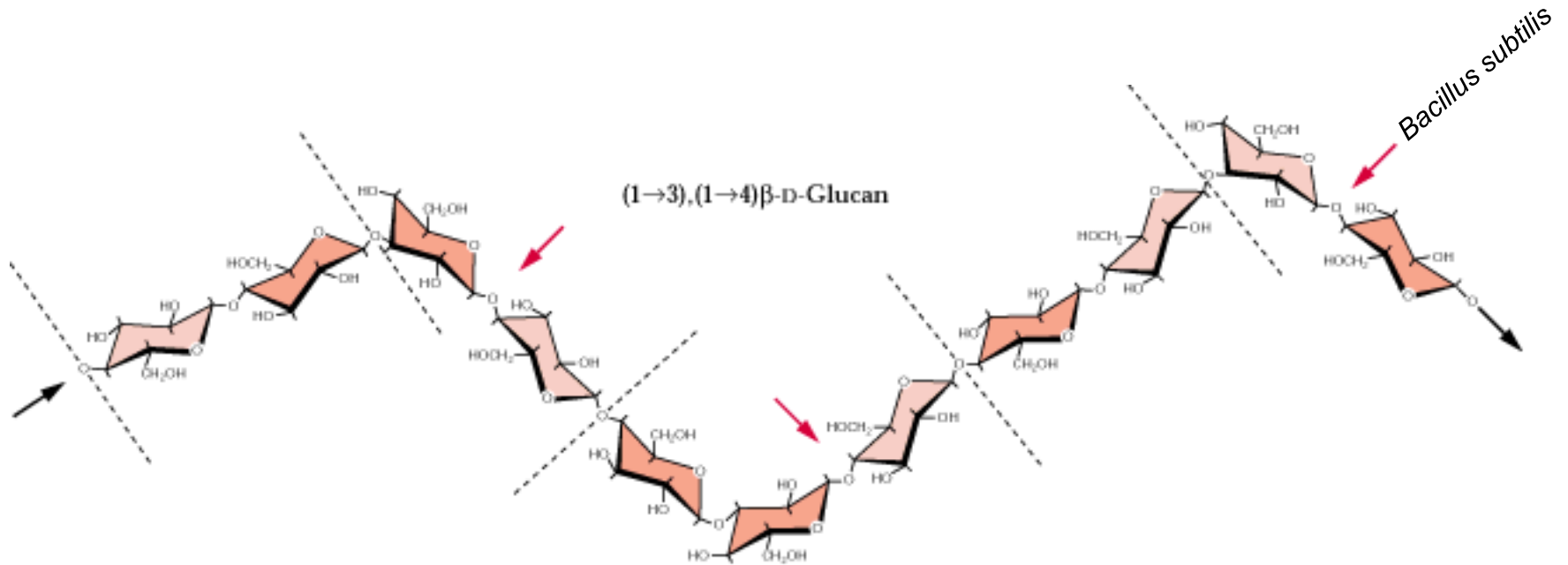
Glukuronoarabinoxylany

(C)

Commelinoid glukuronoarabinoxylans



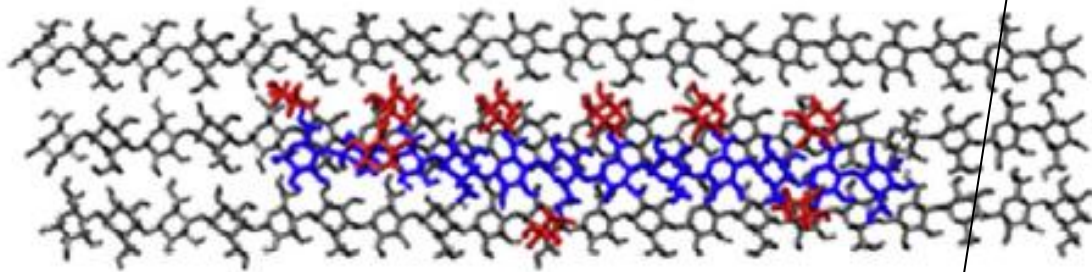
Zesíťující glykany obilnin a trav



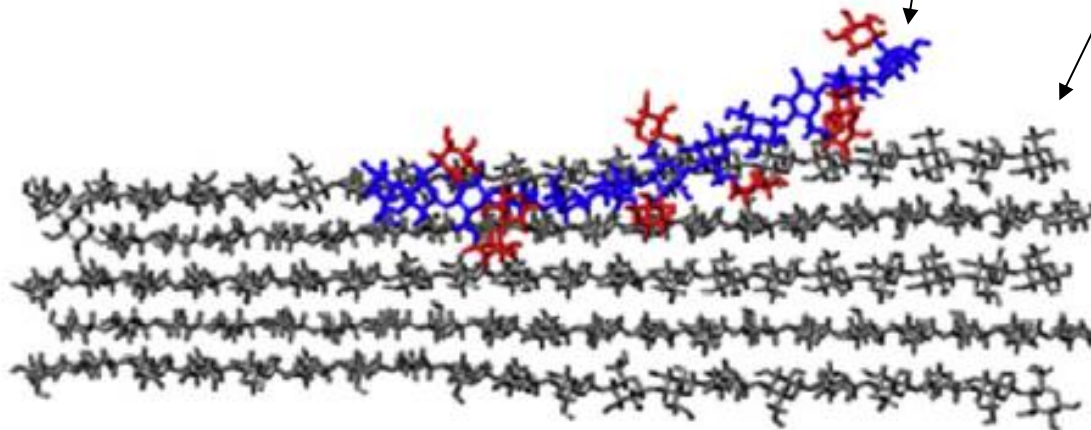
$\rightarrow 4) \beta$ -D-Glc-(1 \rightarrow 4) β -D-Glc-(1 \rightarrow 3) β -D-Glc-(1 \rightarrow 4) β -D-Glc-(1 \rightarrow 4) β -D-Glc-(1 \rightarrow 3) β -D-Glc-(1 \rightarrow 4) β -D-Glc-(1 \rightarrow 4) β -D-Glc-(1 \rightarrow 4) β -D-Glc-(1 \rightarrow 3) β -D-Glc-(1 \rightarrow 4) β -D-Glc-(1 \rightarrow

Interakce molekuly xyloglukanu s mikrofibrilou

(i)



(j)



Pektiny

Větvené silně hydratované složité polysacharidy (až 17 různých monosacharidů, až 20 různých vazeb!)

Bohaté na galakturonovou kyselinu a další cukry

Tvoří druhou trojrozměrnou síť ve stěně; v primární stěně může tvořit 30-35%, ale i 50% objemu.

Rozlišujeme 4 pektinové polysacharidové domény:

- Homogalakturonan (HGA)
- Xylogalakturonan (XGA).
- Rhamnogalakturonan I (RGI)
- Rhamnogalakturonan II (RGII)

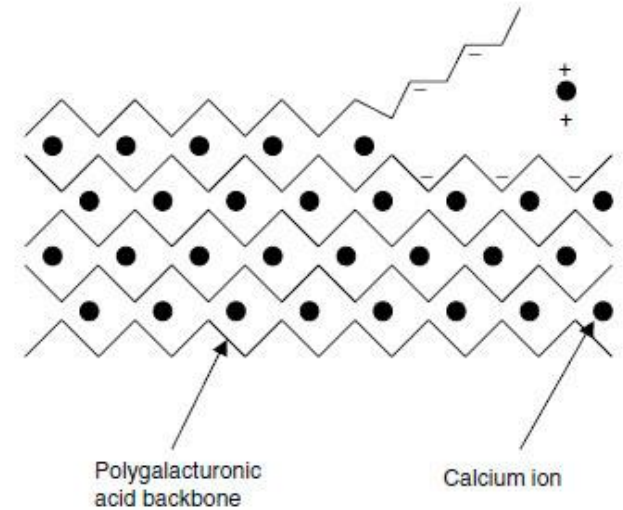
Homogalakturonan (HGA)

Řetězce galakturonových kyselin (1→4)- α -D-GalA

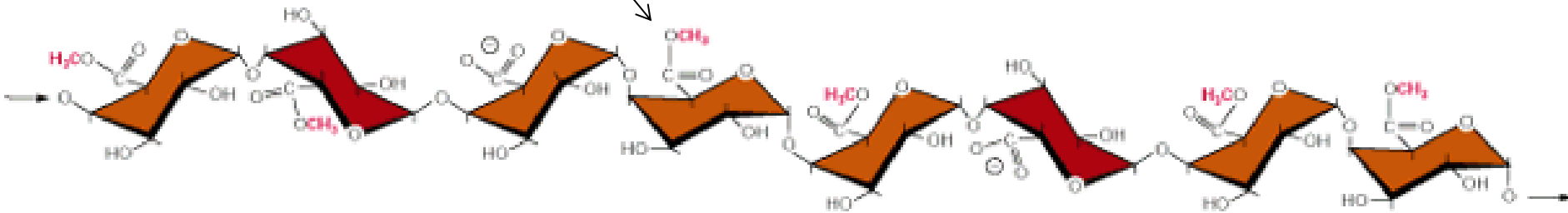
Kyselý charakter, náboj v molekulách - silná hydratanost, vazba s kationy

Ca²⁺ můstky (karboxylové skupiny)

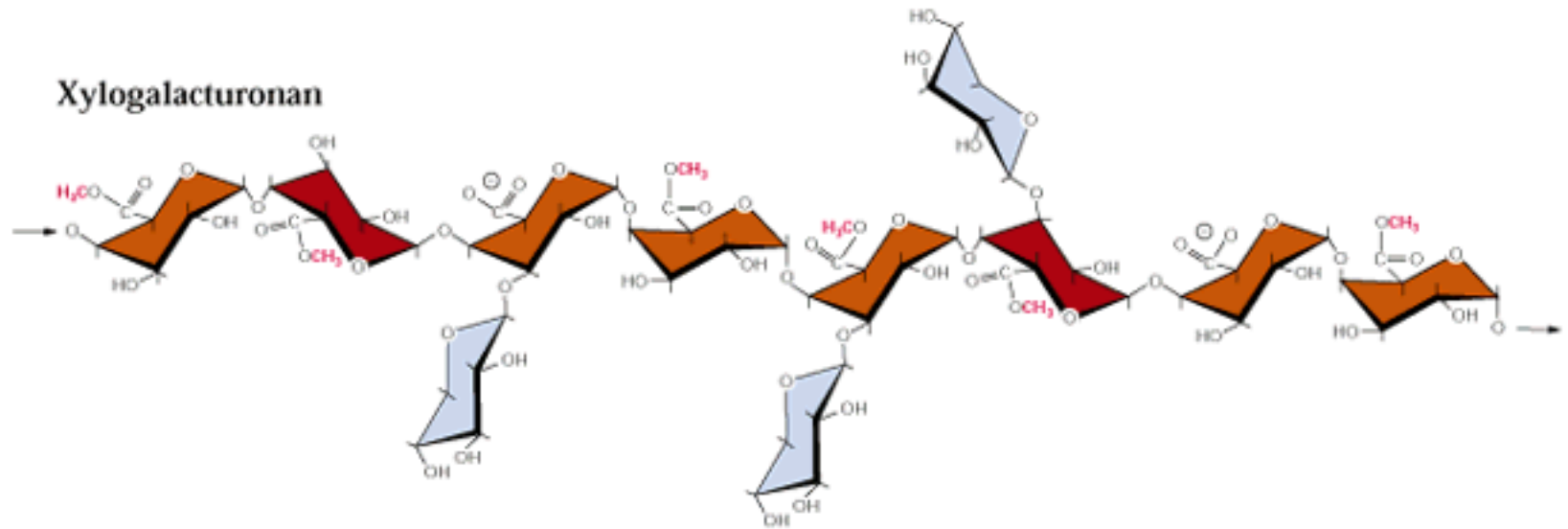
Metylace (acetylace) karboxylových skupin –
zabránění tvorby Ca²⁺ můstků



Homogalacturonan (HGA)

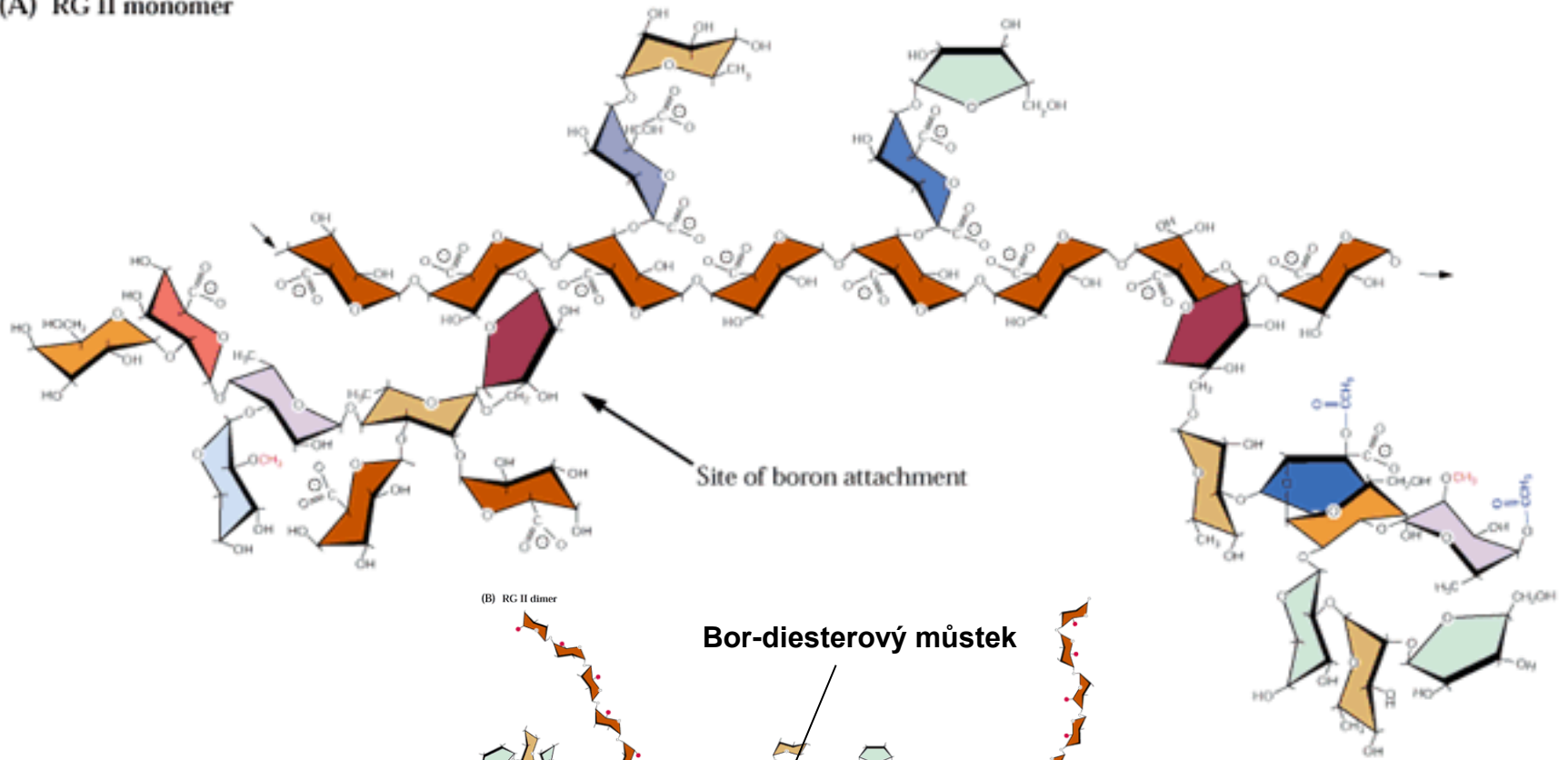


Xylogalakturonan (XGA)

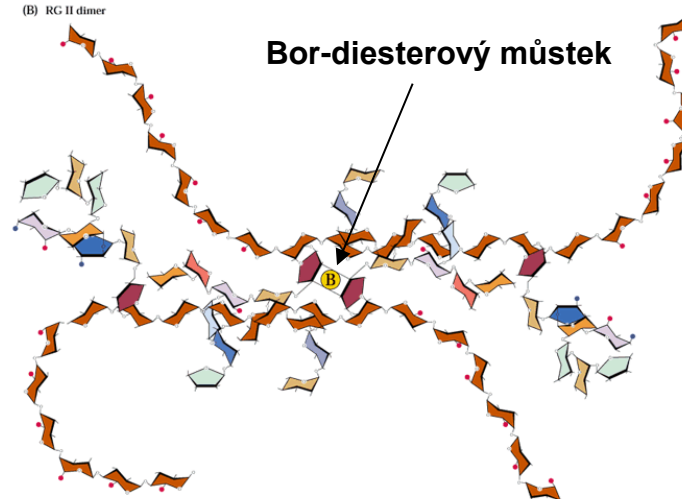


Rhamnogalakturonan II (RG II)

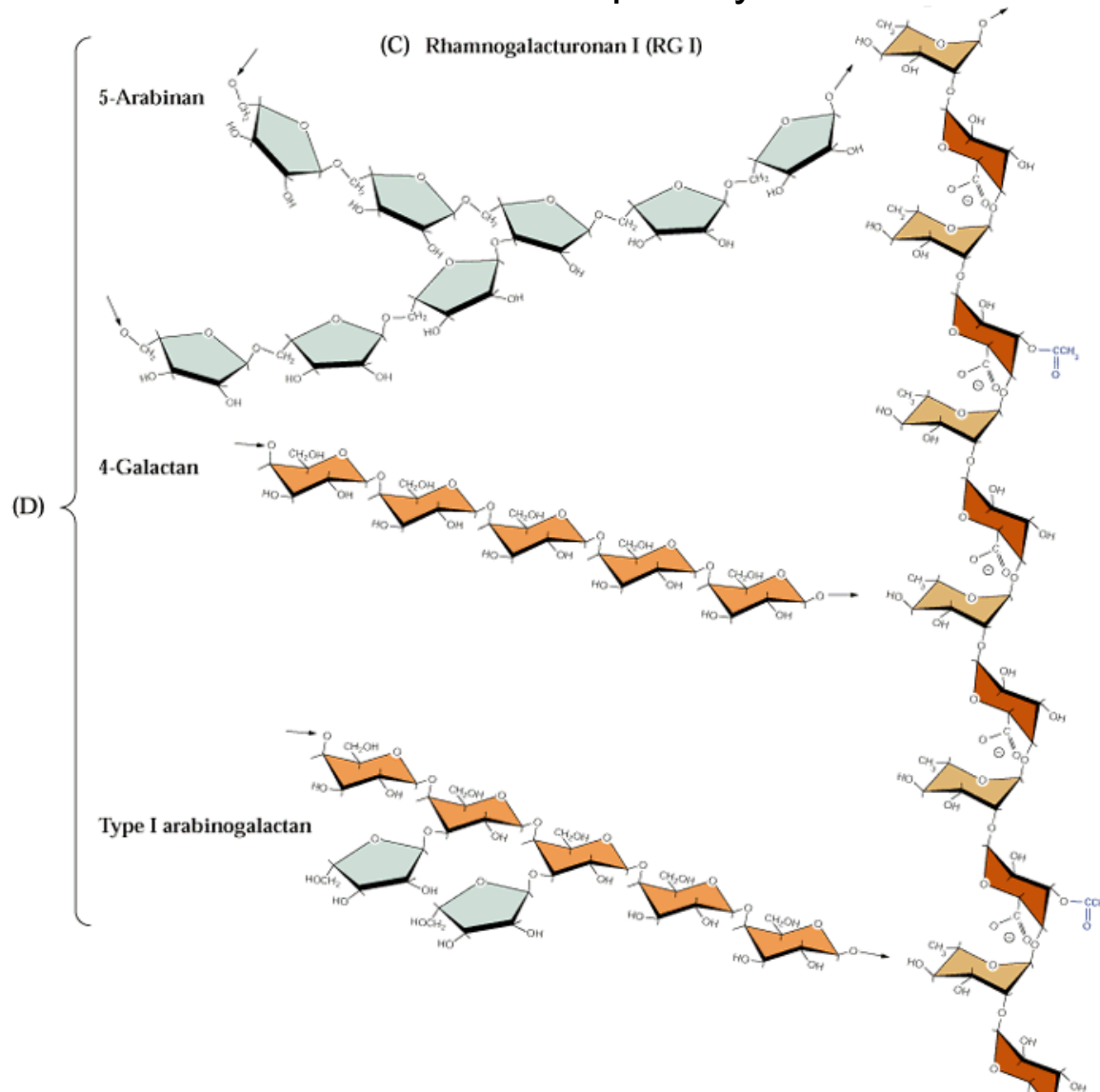
(A) RG II monomer



(B) RG II dimer



Rhamnogalakturonan I (RG I), neutrální pektiny



Funkce pektinů

Ovlivnění **porosity buněčné stěny**

(Ca^{2+} můstky, bor diesterové můstky, postranní řetězce a elektrostatické síly)

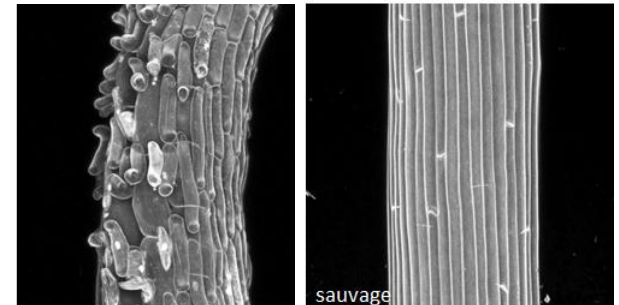
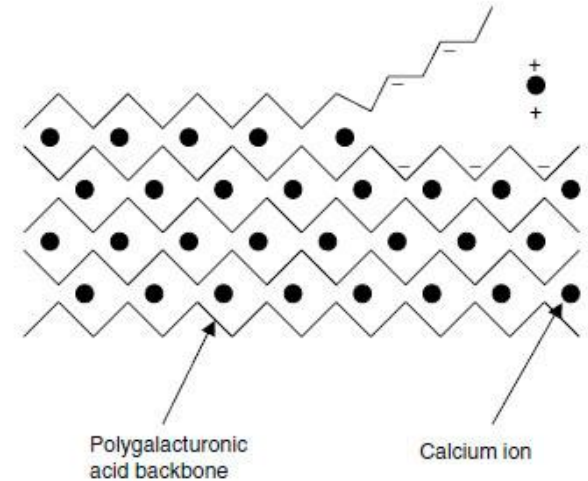
Náboj v buněčné stěně – ovlivnění pohybu iontů

Kontrola **pH** stěny, kontrola expanze stěny

Vazba dalších molekul na pektiny, např. **enzymů**, lokalizace aktivity do určitých oblastí stěny

Adheze buněk v pletivu

Signální funkce



Funkce pektinů

Pektiny syntetizovány v GA pomocí alespoň 53 různých známých **glykosyltransferáz**.

Pektiny jsou dále sekretovány do prostoru buněčné stěny exocytózou
V prostoru buněčné stěny tvoří nejrůznější vazby a jsou dále modifikovány.

HGA metylesterifikována v GA na C6 karboxylu pomocí **pektinových metyltransferáz**. Do stěny transportovány ve vysoce metylesterifikovaném stavu (70-80%).

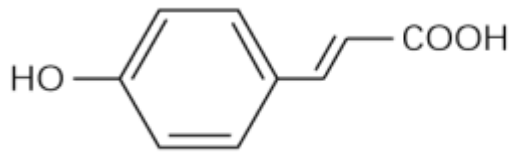
Metylesterázy v buněčné stěně: katalyzují demetylesterifikaci

Pektinové metylesterázy: kódovány velikými rodinami genů, specifická exprese. Mnoho rolí, např:

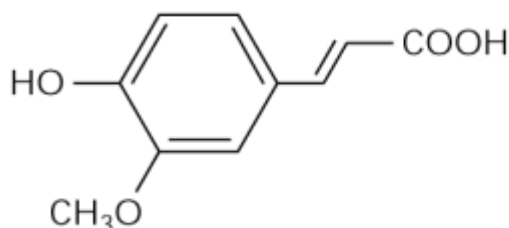
- zpevnování a expanze buněčné stěny
- oddělování buněk (např. pylu v pylových tetradách)
- klíčení semen
- elongace kořenové špičky
- zrání plodů (měknutí)
- obrana rostlin

Fenolické látky

- Vyskytují se u všech typů stěn, hlavně v primárních stěnách jednoděložných typu II (trávy) a u Chenopodiaceae
- Hydroxyskořicové kyseliny** (kyselina ferulová a p-kumarová), u typu II spojují GAX pomocí **diferulových můstků**
- Syntetizovány většinou z fenylalaninu

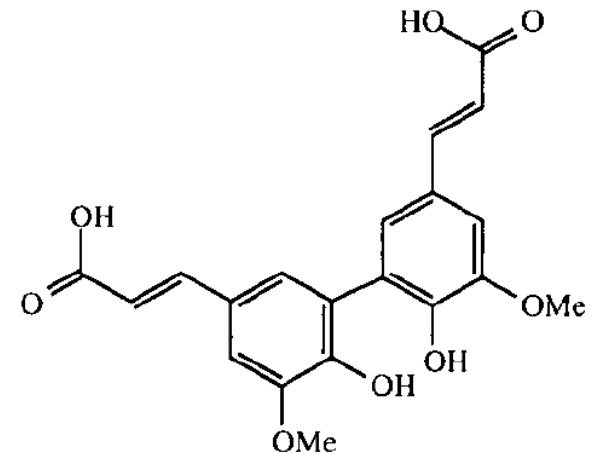
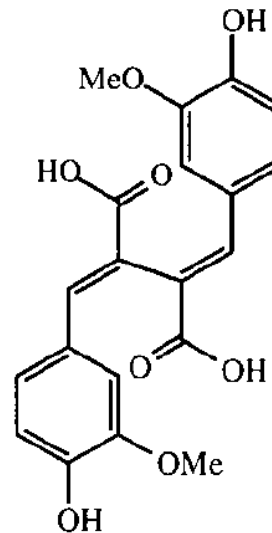


Kyselina p-kumarová



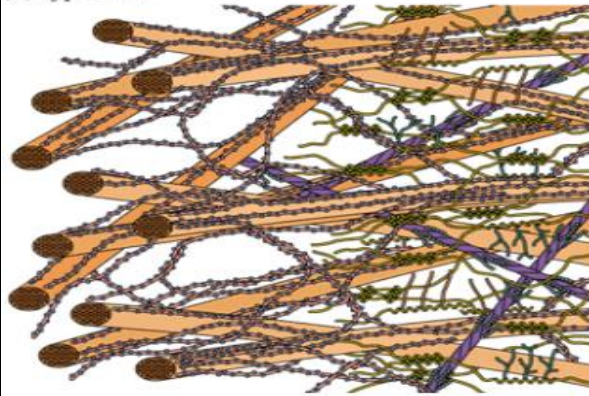
Kyselina ferulová

Příklady diferulových kyselin

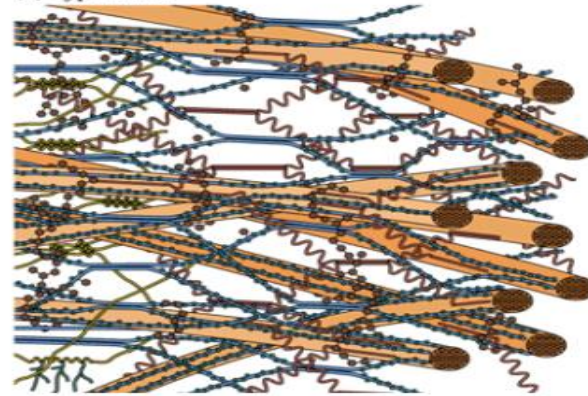


Buněčná stěna typu I a II

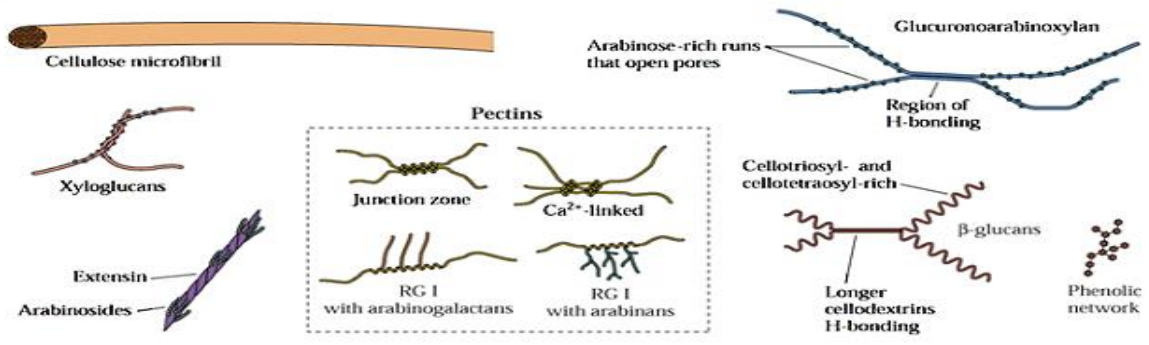
(A) Type I wall



(B) Type II wall



Key:



Typ I:
Převažují XG
Obsah pektinů až 50%
-všechny dvouděložné
-část jednoděložných

Typ II:
Převažují GAX
Obsah pektinů 2-3%
-část jednoděložných,
např. trávy

Strukturní proteiny

Rozsáhlá **glykosylace** stěnových proteinů

Obsah velkého množství specifických AK jako prolin, hydroxyprolin, glycin.

Hydroxyprolin-rich proteins (HPRP)

Proline-rich proteins (PRP)

Glycine-rich proteins (GRP)

Arabinogalactan proteins (AGP;
až 95% obsahu cukerné složky)

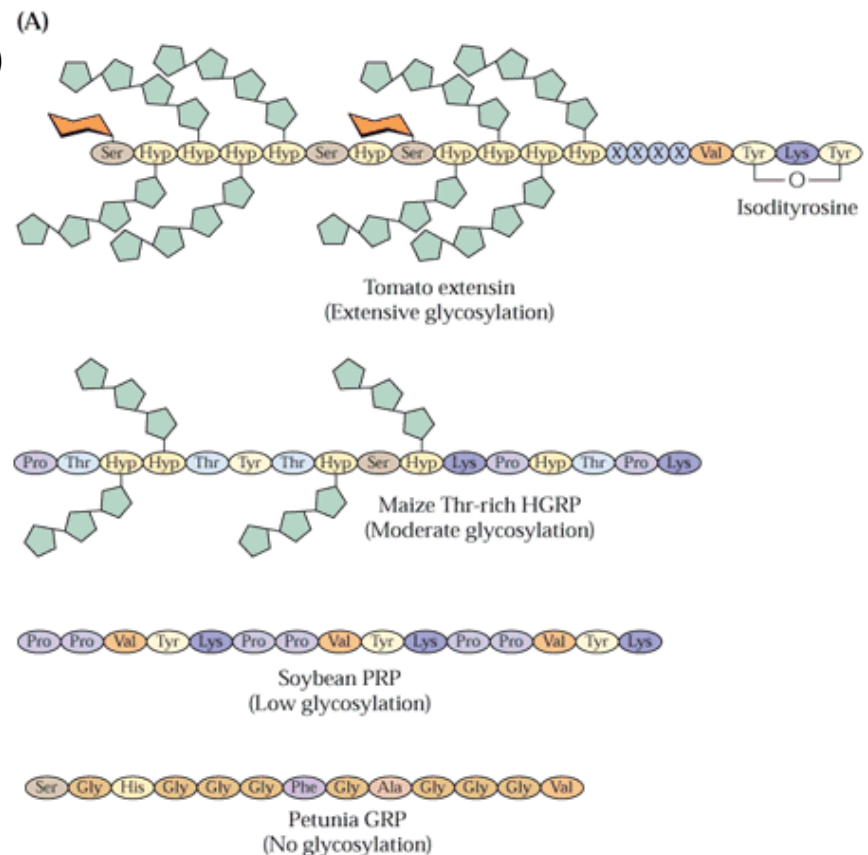
Syntéza v ER



Sekretorická dráha



Sekrece do buněčné stěny



Proteiny s enzymatickou funkcí:

Esterázy

Peroxidázy

Hydrolázy

Endoglukanázy

...

Syntéza složek buněčné stěny

Prostorové síť:

- celulóza a zesíťující glykany
- pektinová síť

Rozpustnost *versus* zesíťování molekul

(doprava molekul do buněčné stěny v „rozpustné“ formě (esterifikace, acetylace, arabinosylace složek), ve stěně syntéza polymerů nebo zesíťování)

Typy vazeb molekul buněčné stěny:

Kovalentní vazby (např. bor-diseterové můstky RGII)

Ca²⁺ -můstky (např. pektiny)

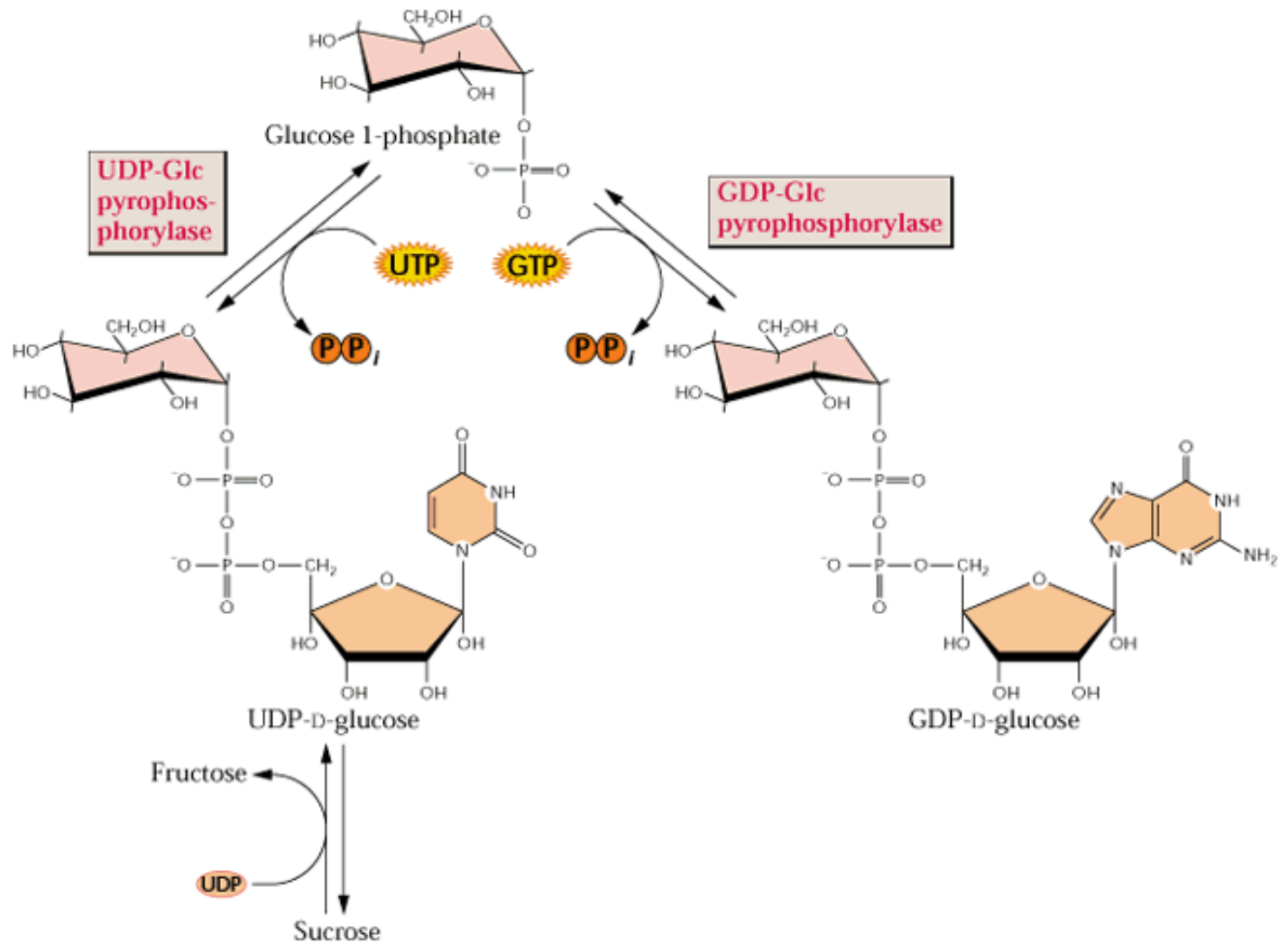
H-můstky (např. celulóza, hemicelulózy)

Van der Waalsovy síly

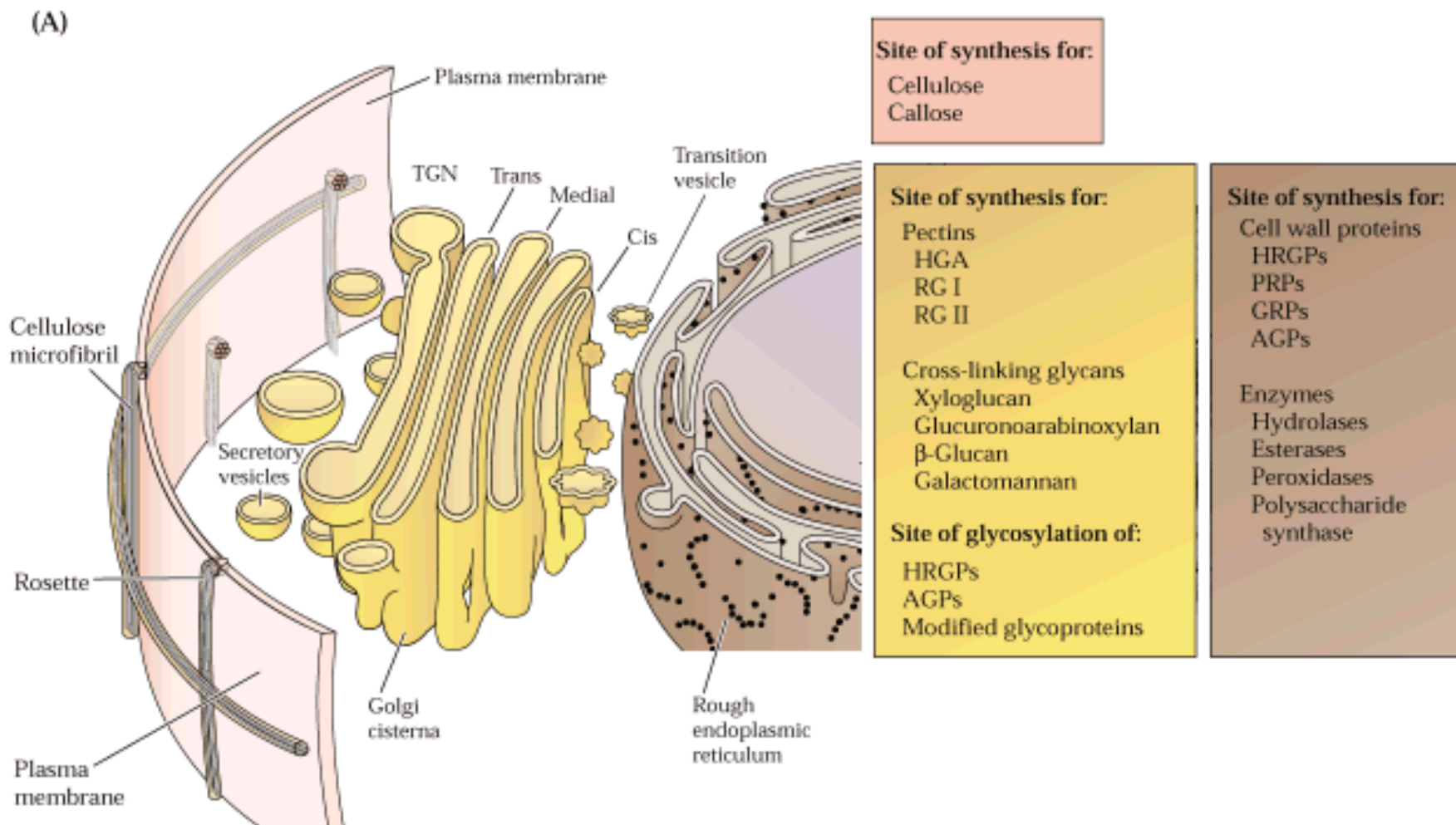
Diferulové můstky

Etherové můstky (lignin a polysacharidové složky)

Syntéza sacharidových složek buněčné stěny:
zdrojem je **UDP-glukóza** a GDP-glukóza

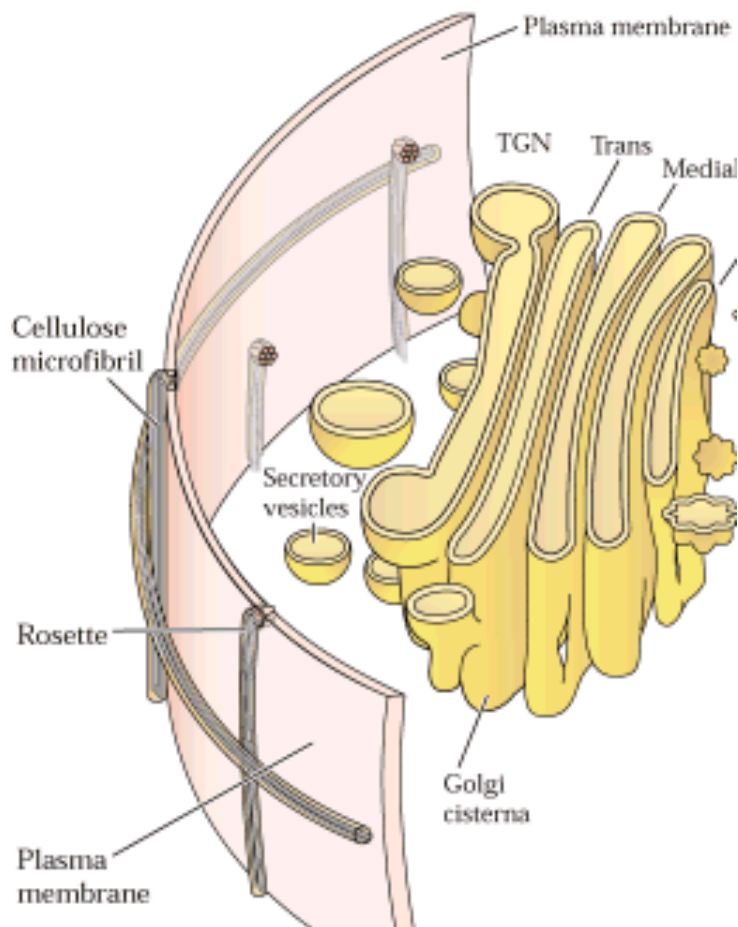


Syntéza necelulózních složek buněčné stěny začíná v GA



Syntéza **celulózy** a **kalózy** na vnější straně PM

(A)



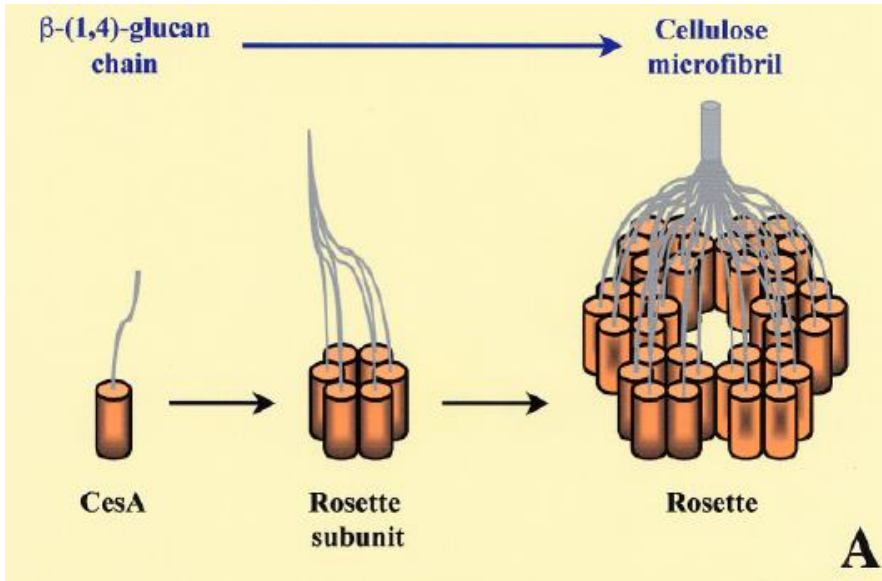
Jediné polymery, které jsou syntetizovány na vnější straně plazmatické membrány.

UDP-glukóza jako zdroj monosacharidových podjednotek

Celulóza je syntetizována multimerními komplexy enzymů celulóza syntáz (**CESA**) – terminálními komplexy.

10 genů pro „pravé“ CESA a cca 30 pro CESA-like genes v genomu *Arabidopsis*

Syntéza celulózy

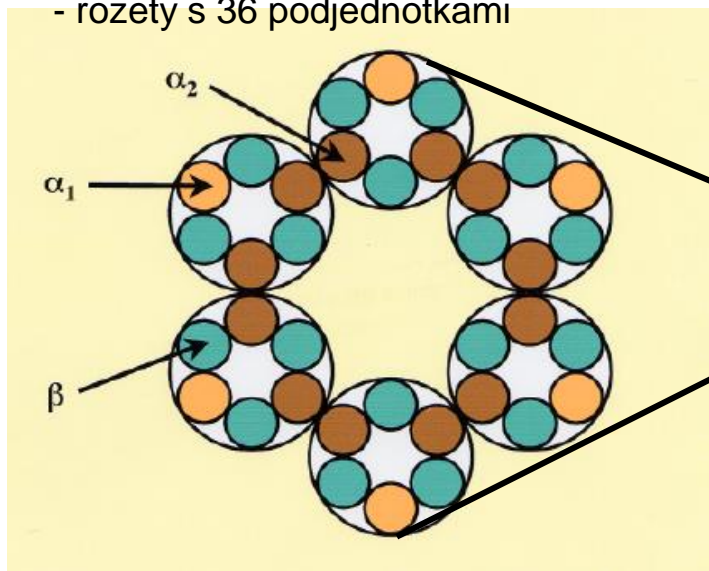


CESA 4, 7 a 8 – sekundární BS
 CESA 1, 3 a 6 – primární BS

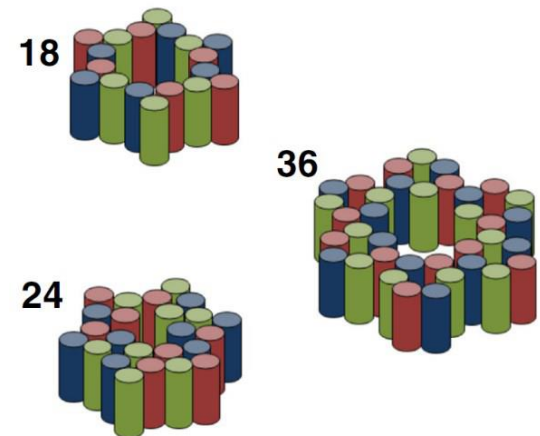
CESA 1,2,3,5 a 6 jsou exprimovány ve všech pletivech.

(CESA/CesA = CELLULOSE SYNTHASE)

Model uspořádání terminálního komplexu
 - rozety s 36 podjednotkami



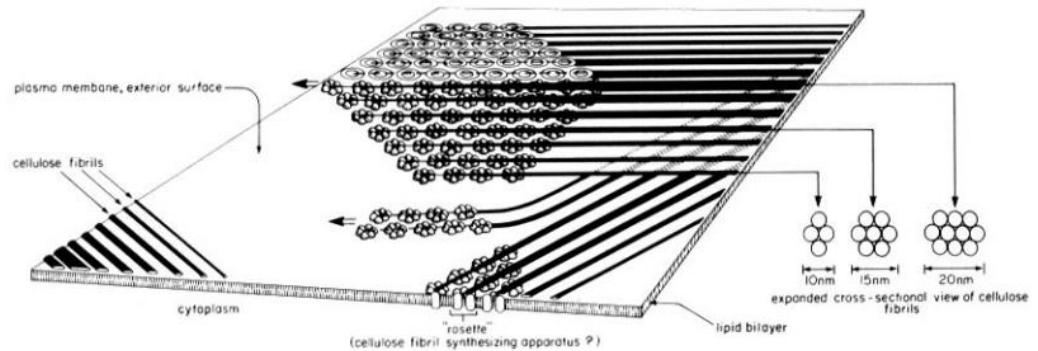
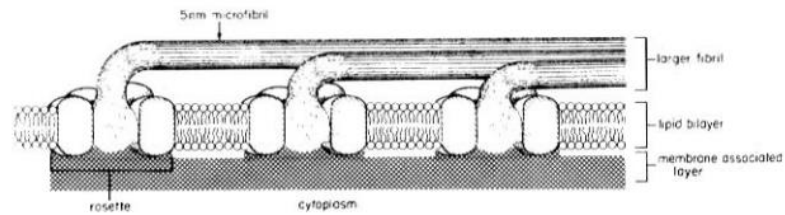
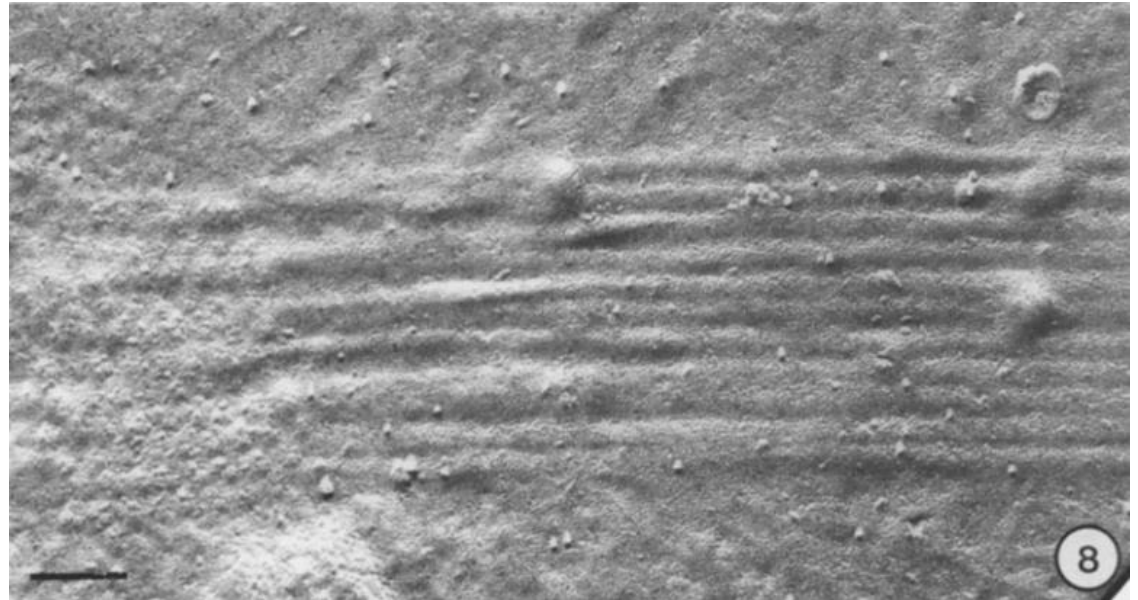
Model uspořádání terminálního komplexu
 - rozety s 18, 24 či 36 podjednotkami



Current Opinion in Plant Biology, 34. C. pp. 9-16. ISSN 1369-5266

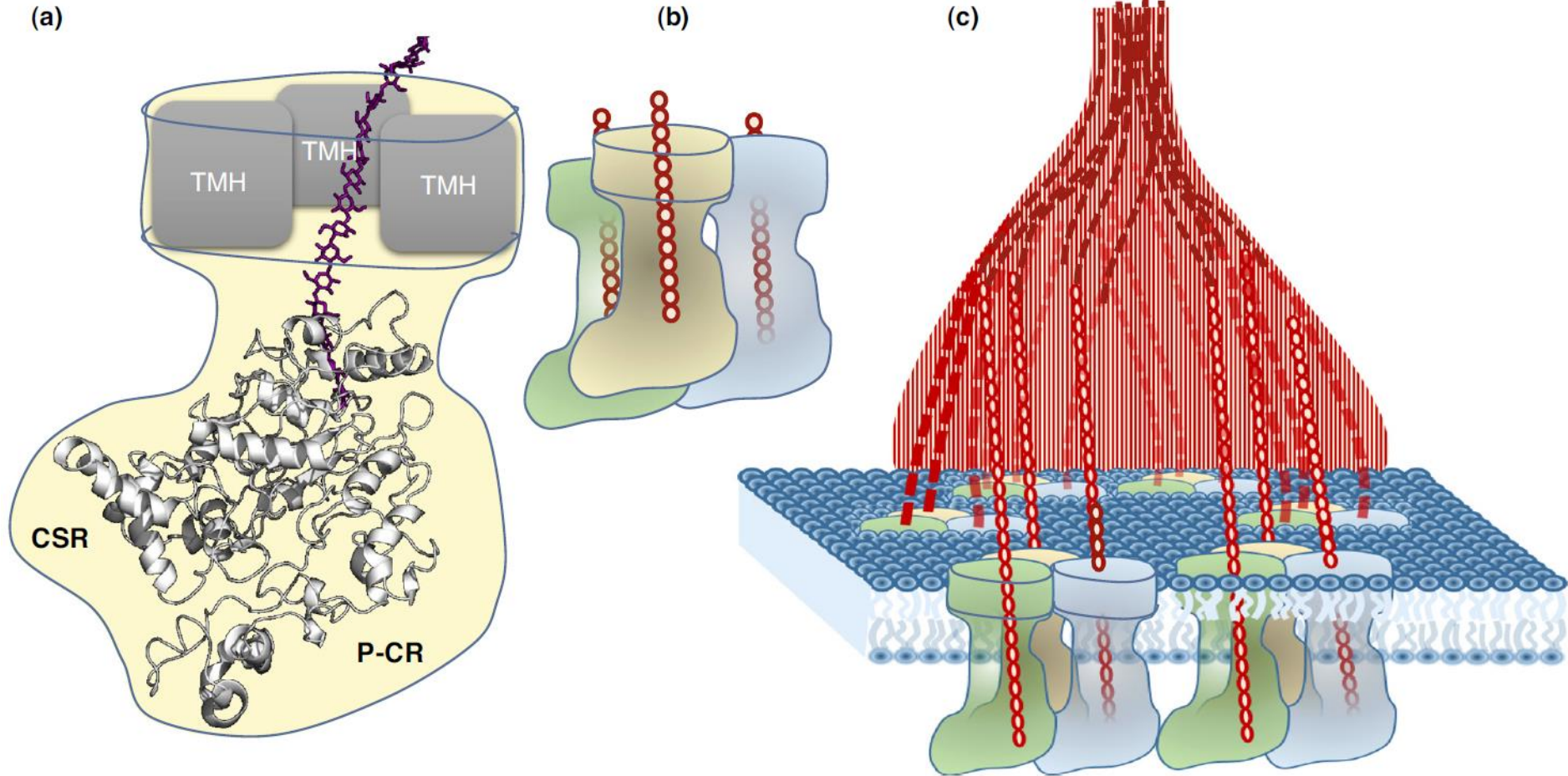
Syntéza celulózy

První detekce komplexů celulóza syntáz na konci celulózních mikrofibril (= terminální komplexy). Freeze-fracture EM, Giddings et al. 1980 (J. Cell. Biology 84:327-339, 1980)

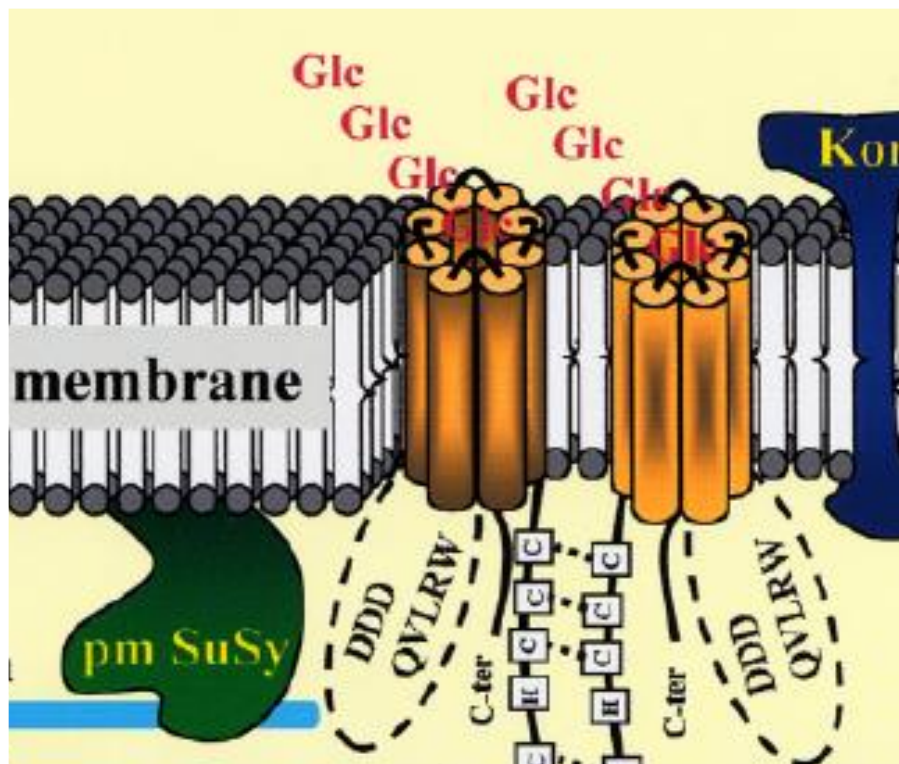


Syntéza celulózy

Enzymy CESA a uspořádání do komplexů



SuSy, enzym sacharóza syntáza, je zřejmě asociován s komplexy CESA v PM (zdroj UDP-glukózy)



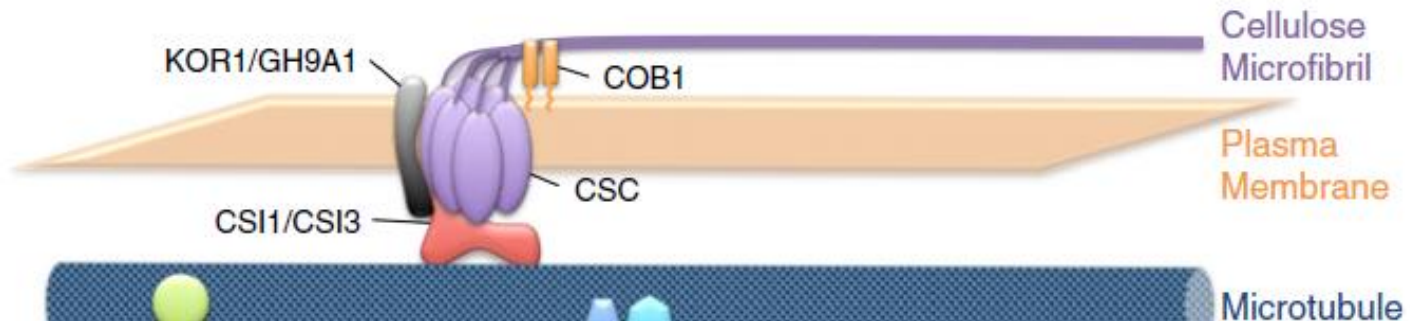
Terminální komplexy obsahují další enzymy nutné pro syntézu buněčné stěny (mobilní továrny na buněčnou stěnu)

CSI: (cellulose synthase interacting protein 1): zprostředkovává interakci s mikrotubuly

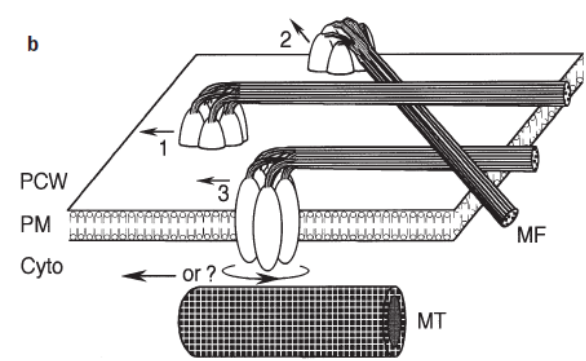
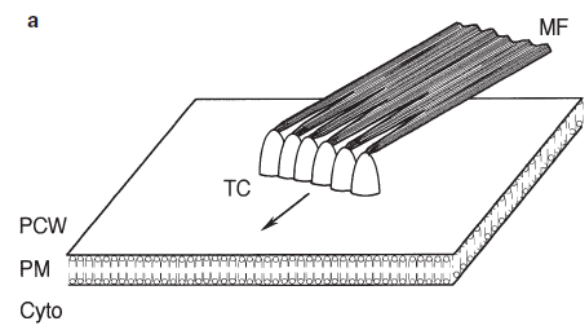
COBRA: glycosylphosphatidyl inositol (GPI)–linked protein; lokalizuje na vnější stranu PM; váže polysacharidová vlákna. Funkce: snad zprostředkovávání agregace celulóznic vláken, nebo napomáhání vedení CSC podél mikrotubulů.

KORRIGAN1: interaguje s CSC; pohybuje se společně s CSC v PM; protein má endoglukanázovou aktivitu a je nutný pro syntézu celulózy.

COMPANIONS OF CELLULOSE SYNTHASE (CC) 1 a 3: udržování syntetické aktivity CSC ve stresových podmínkách.

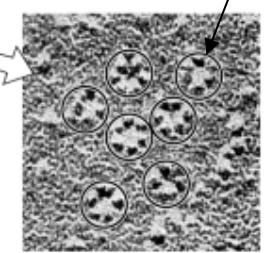
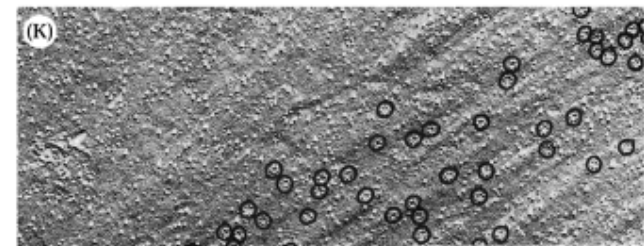
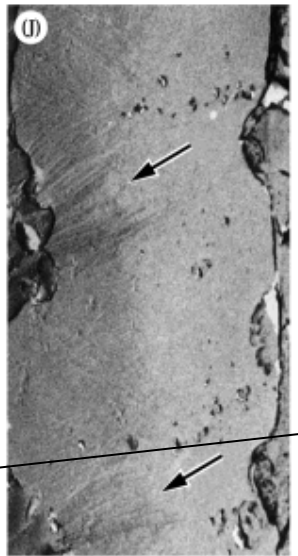
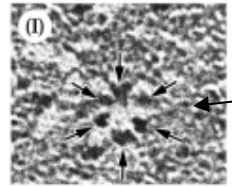
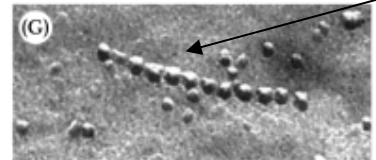
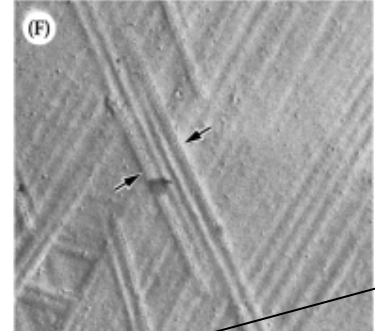
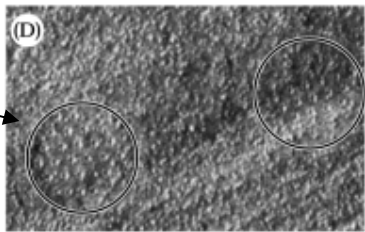
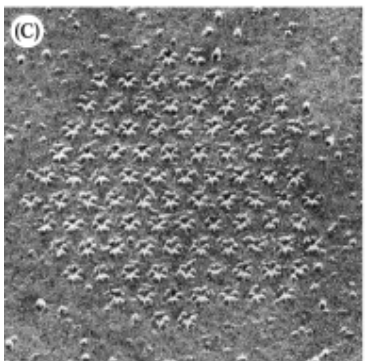
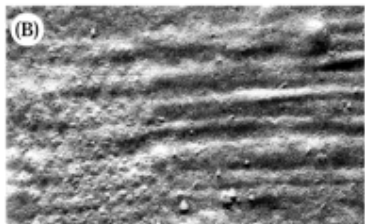
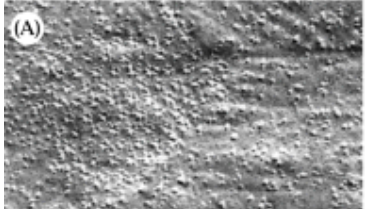


New players involved in the process of cellulose synthesis along the cortical MTs. CSC: cellulose synthase complexes; COB1: COBRA1; CSI1/CSI3: cellulose synthase interacting protein 1/3; KOR1/GH9A1: KORRIGAN1/Glycosyl Hydrolase Family 9 Class A 1; SPR2: SPIRAL2; KTN1: KATANIN1; SmaCC/MASC: small CESA-containing compartments/microtubule-associated CESA compartments.



BioScience, 54(9):831-841. 2004

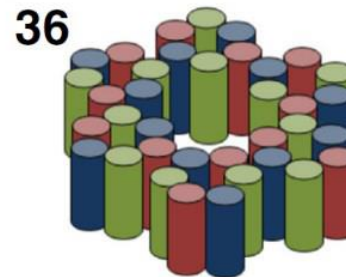
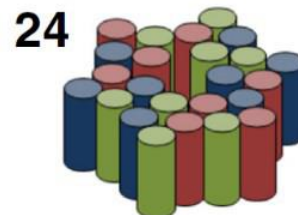
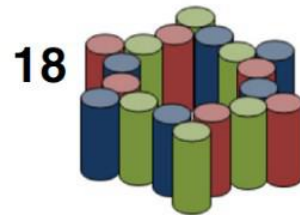
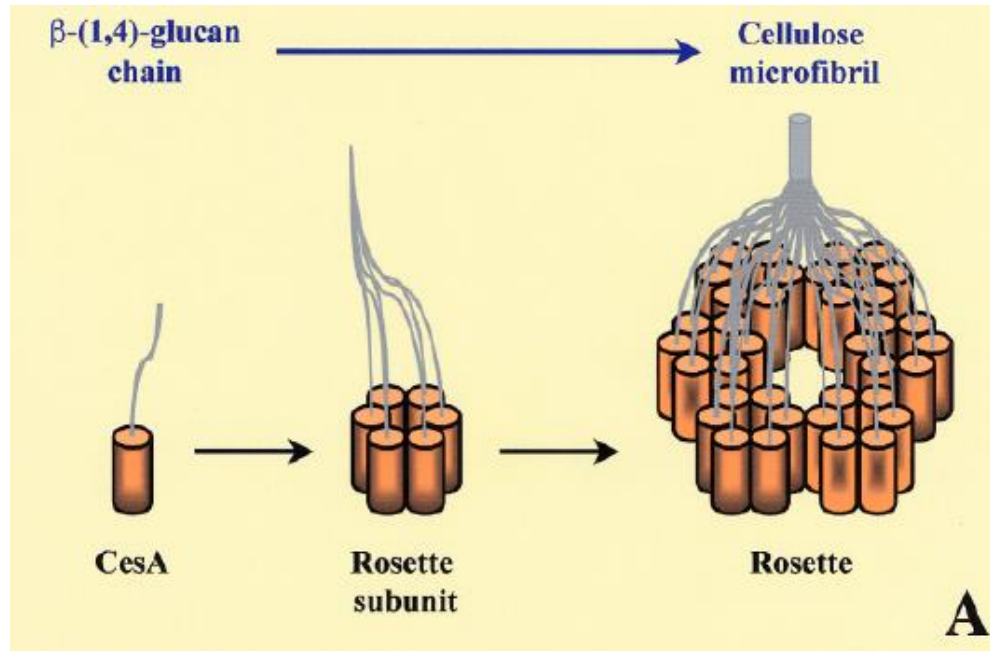
Terminální komplexy (TC) v PM v hexagonálním uspořádání (řasa *Spirogyra*)



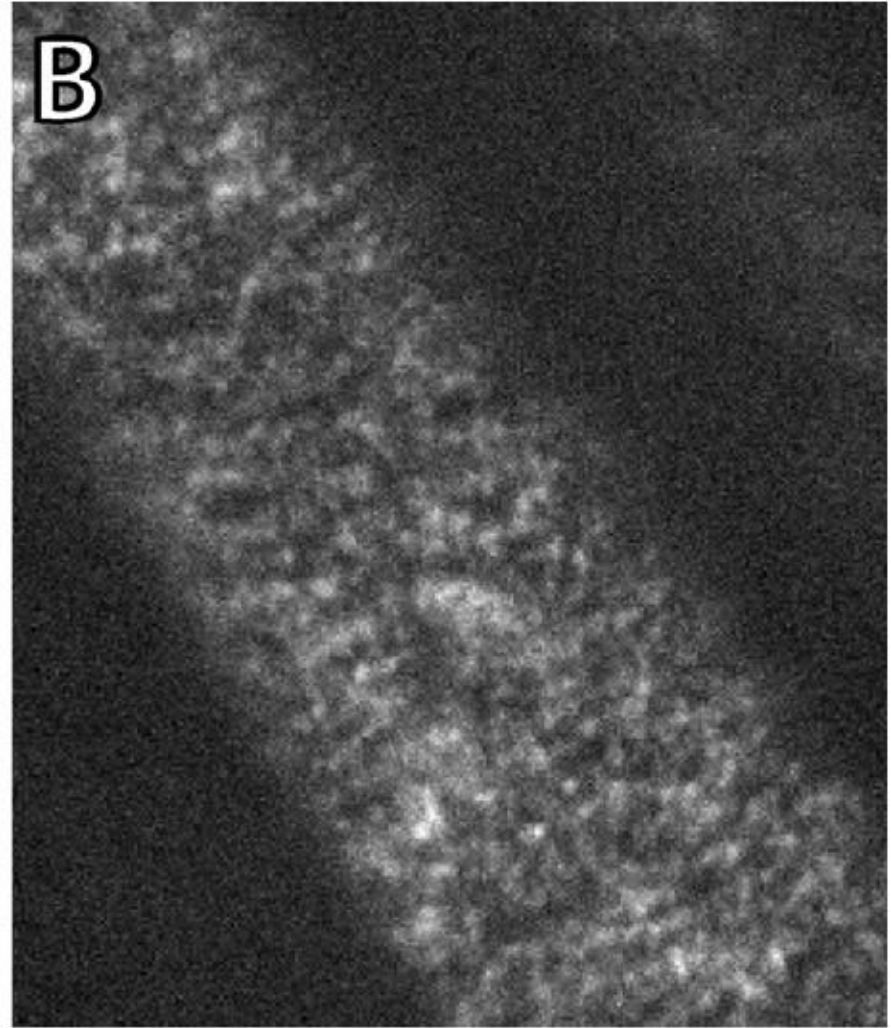
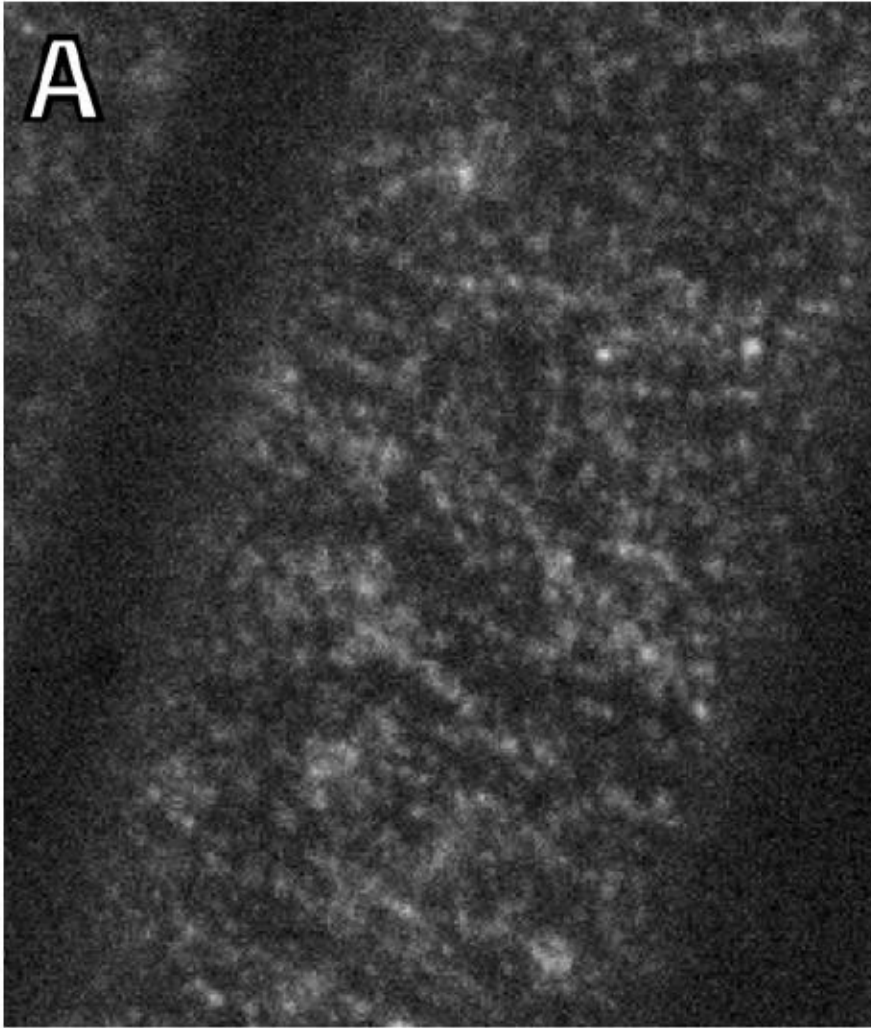
Lineární uspořádání terminálních komplexů (řasa *Oocystis*)

Rozeta (vyšší rostliny)

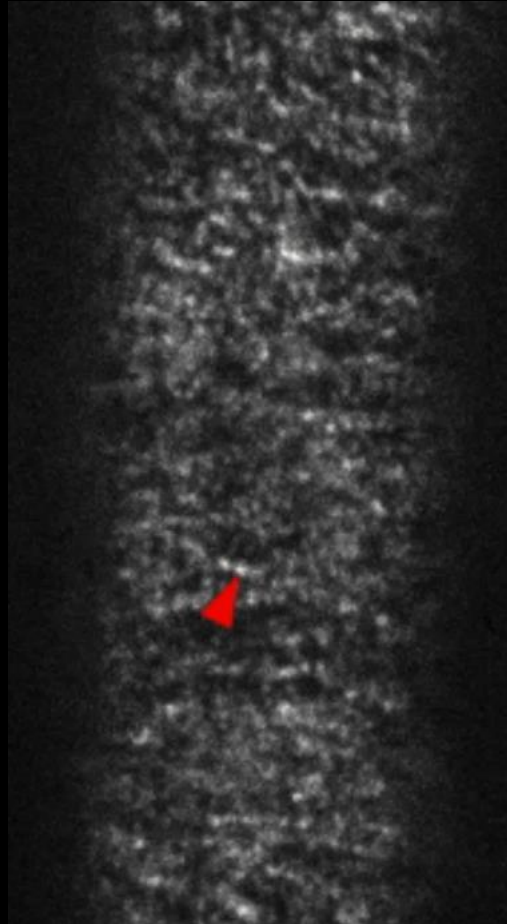
CESA v PM u embryofyt jsou uspořádané do rozet (18, 24 nebo 36 podjednotek CESA)



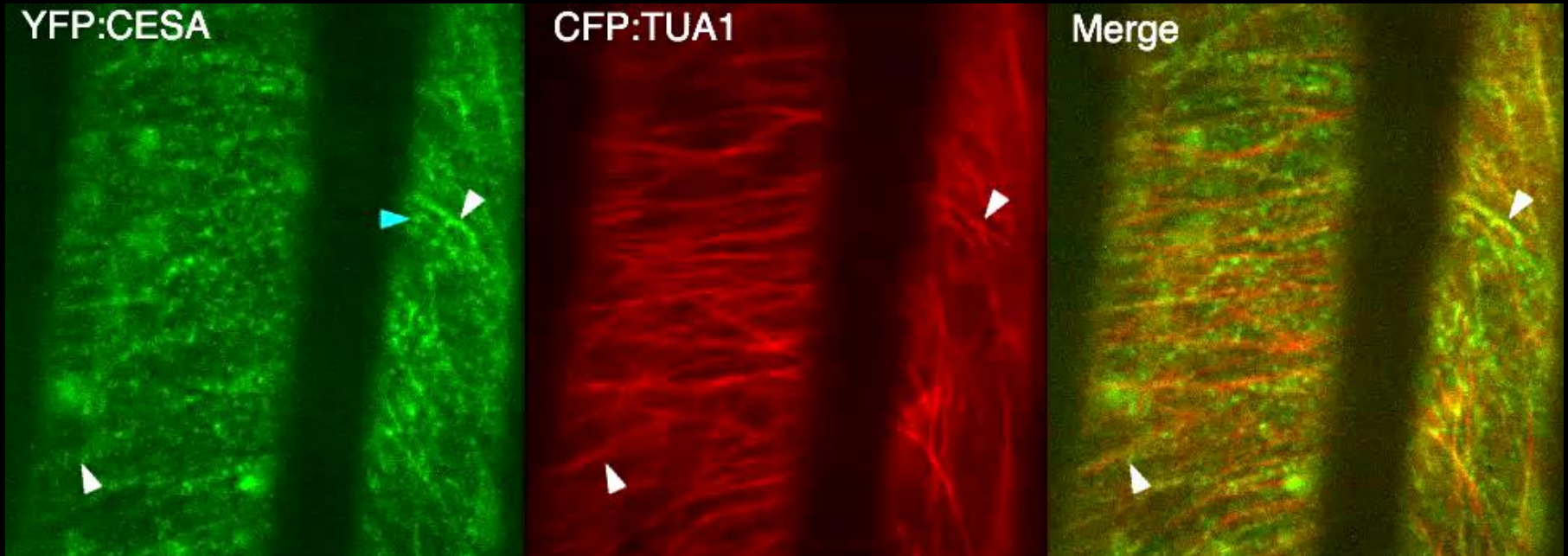
Lokalizace CESA v PM (CESA-YFP)
S1



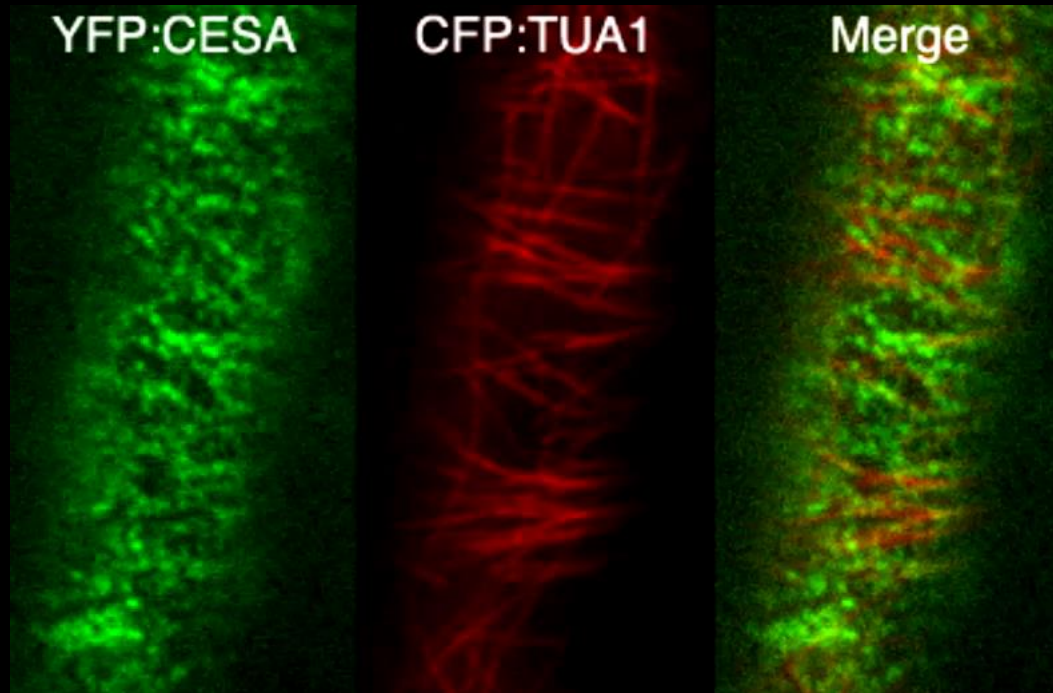
Pohyb CESA podél cMTs S3, S4



Pohyb CESA podél cMTs



Reorientace CESA podél cMTs



Vznik a zánik aktivních terminálních komplexů

Rozety sestavovány v GA

Transportovány do PM exocytózou, teprve v PM jsou aktivní.

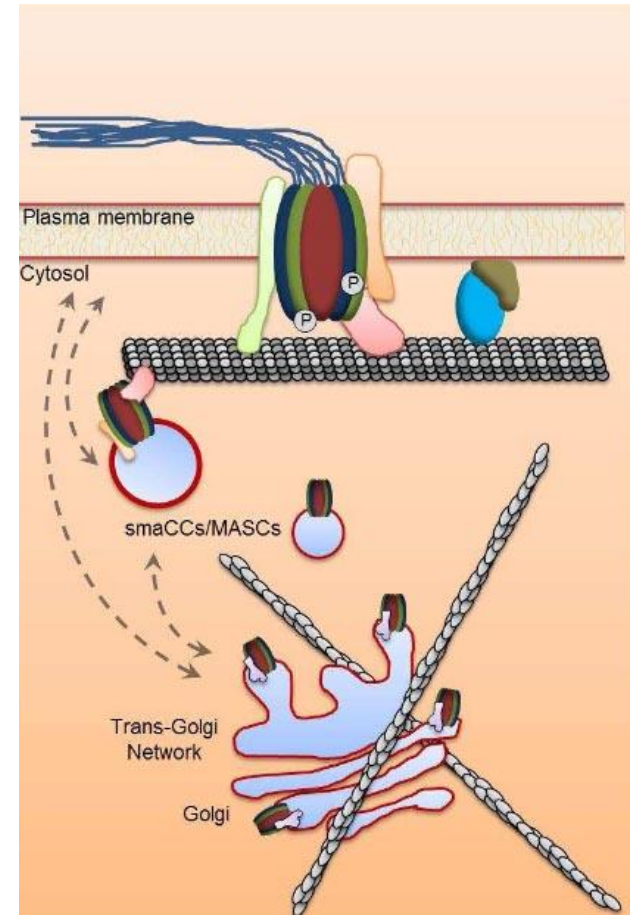
Životnost (aktivita): 20 min u mechu, okolo 7 min u *Arabidopsis* (hypokotyl)

Inaktivace CESA endocytózou.

Rychlost pohybu CESA membráně je cca 250-300 nm.min⁻¹.

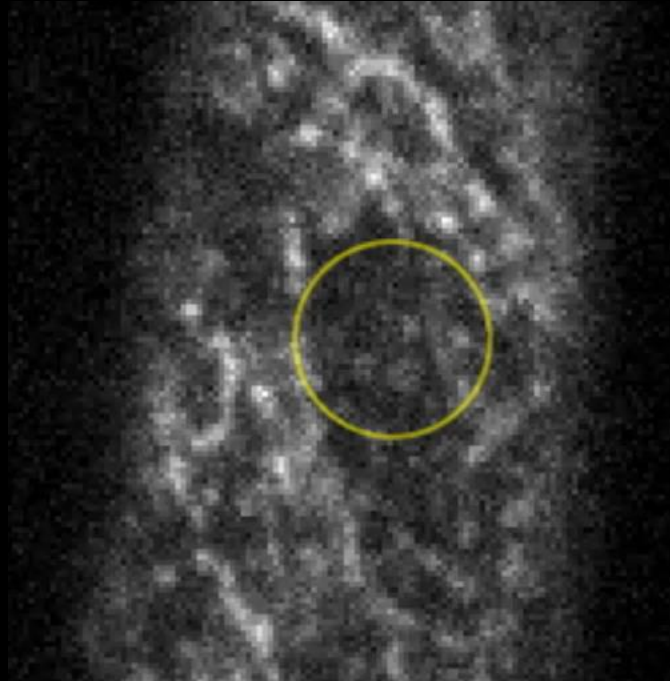
Mechanismus pohybu rozet: krystalizace celulózy v BS „odtláčuje“ rozetu.

Mechanismus regulace aktivity CESA: fosforylace, další neznámé regulace.



Current Opinion in Plant Biology, 34. C. pp. 9-16. ISSN 1369-5266

„Nová“ CESA se ihned po vložení do membrány pohybuje



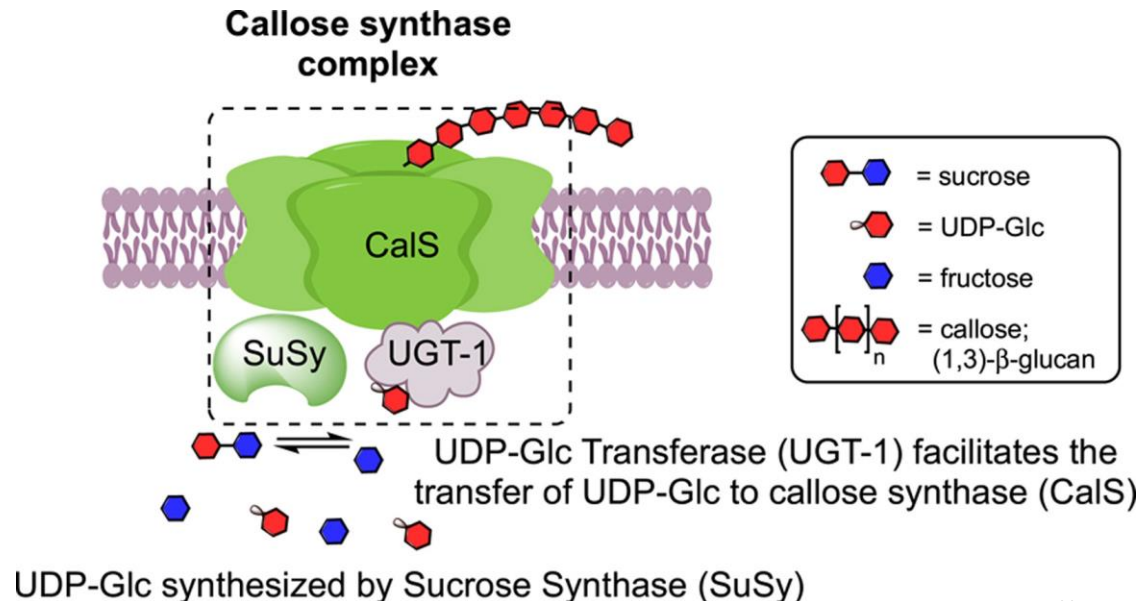
Syntéza kalózy

Kalóza syntázy (callose synthase – CalS nebo Glucan synthase-like – GLS)

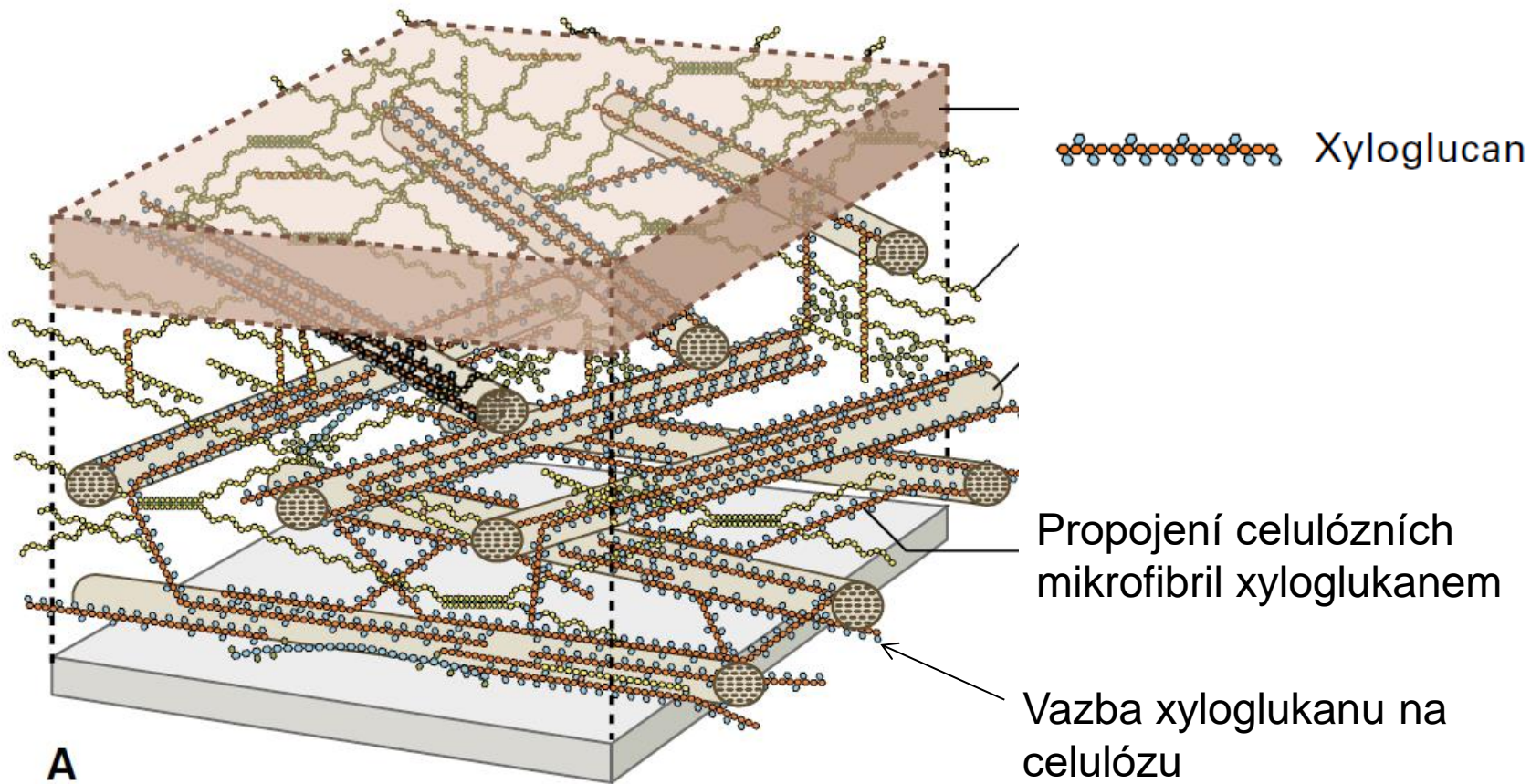
12 genů v genomu Arabidopsis; genové rodiny; jednotlivé enzymy mívají redundantní role.

Transmembránové proteiny, pravděpodobně vytvářejí komplexy lokalizované v plazmatické membráně. Zdrojem pro syntézu kalózy je UDP-glukóza.

Degradace kalózy (např. v plasmodesmech) enzymy β -1,3-glukanázami

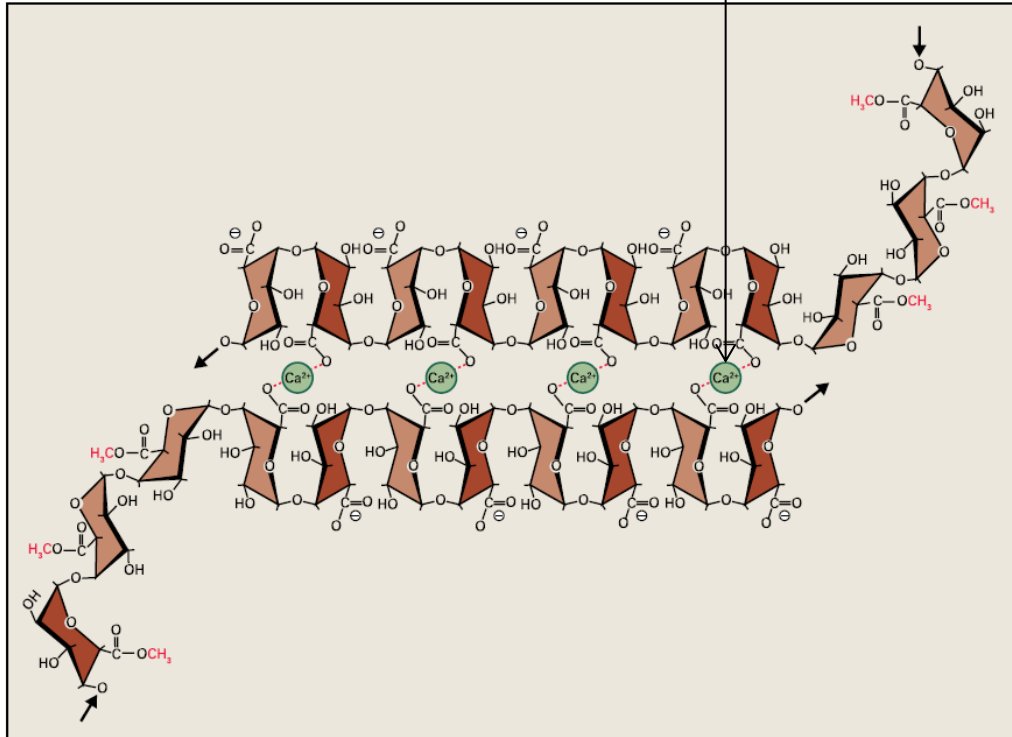


Xyloglukany propojují celulózní mikrofibrily



Pektiny vytvářejí v buněčné stěně prostorové sítě

Demethylace karboxylových skupin umožňuje tvorbu Ca^{2+} můstků, a tvorbu „junction zones“ v buněčné stěně.



Míra tvorby propojení mezi pektiny určuje velikost pórů v buněčné stěně.

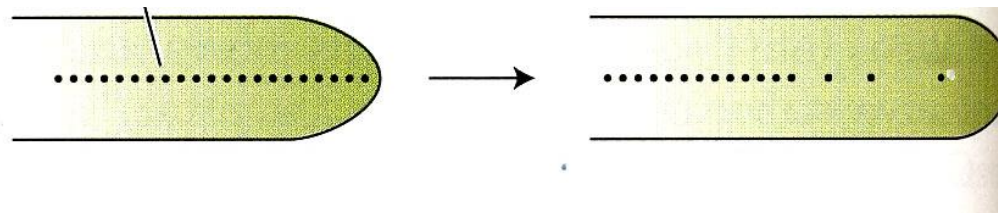
Růst buněčné stěny

Nutnost růstu buněčné stěny s růstem celé buňky

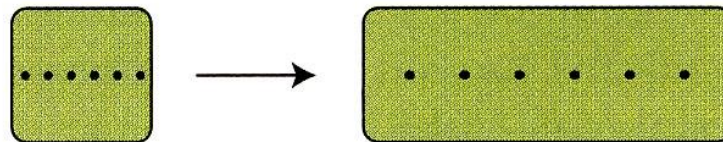
Růst buněčné stěny spojen se syntézou složek stěny a existencí turgoru.

Difúzní růst nejčastěji, vrcholový růst u specializovaných buněk

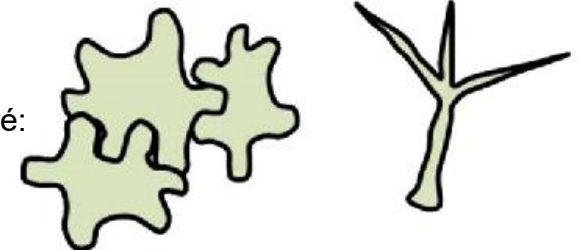
Apikální/vrcholový růst



Difúzní růst



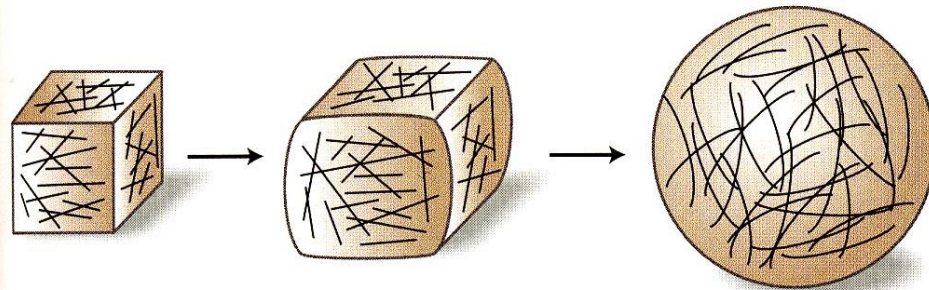
nebo také:



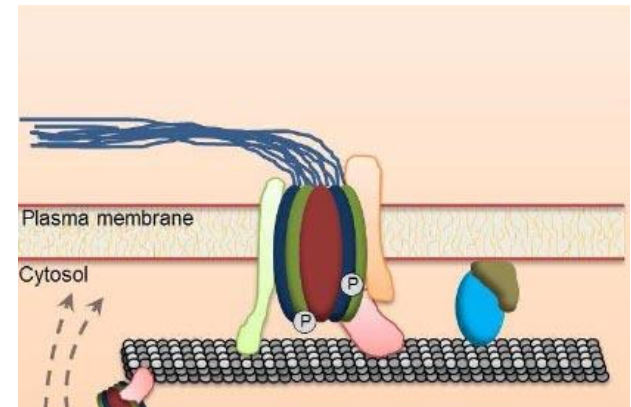
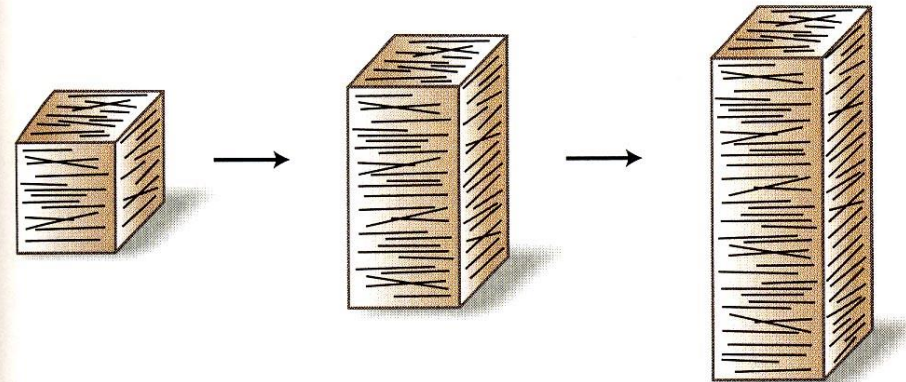
Difúzní růst

Směr expanze difúzním růstem rostlinných buněk je dán strukturou buněčné stěny, především polohou celulózních mikrofibril, které jsou pevnými a neroztažnými polymery a základní mechanickou strukturou stěn

Náhodně orientované celulózní mikrofibrily:



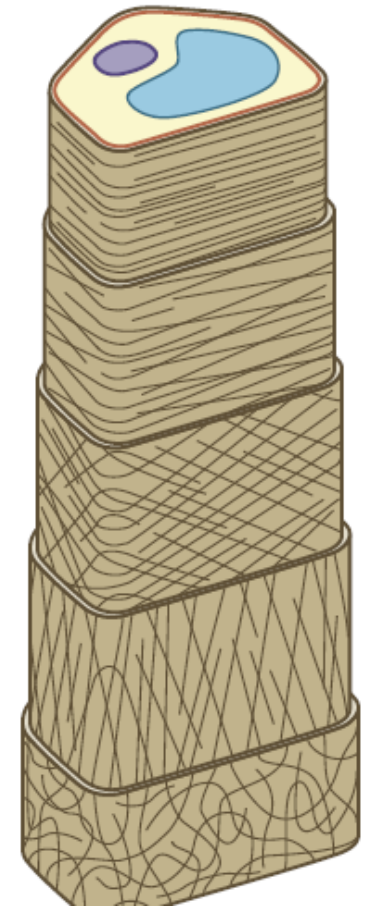
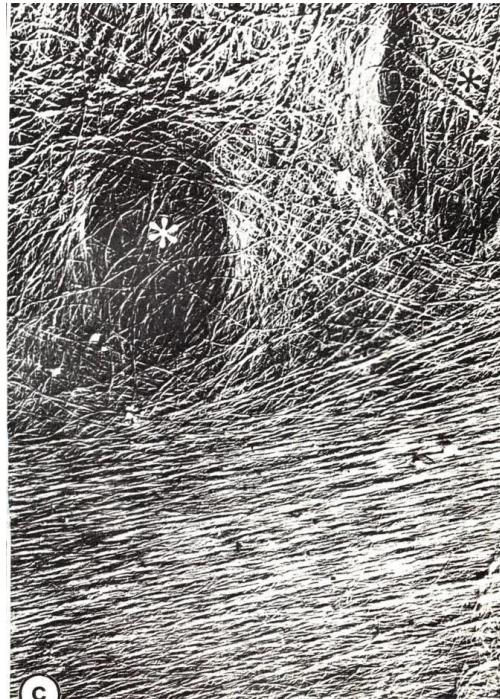
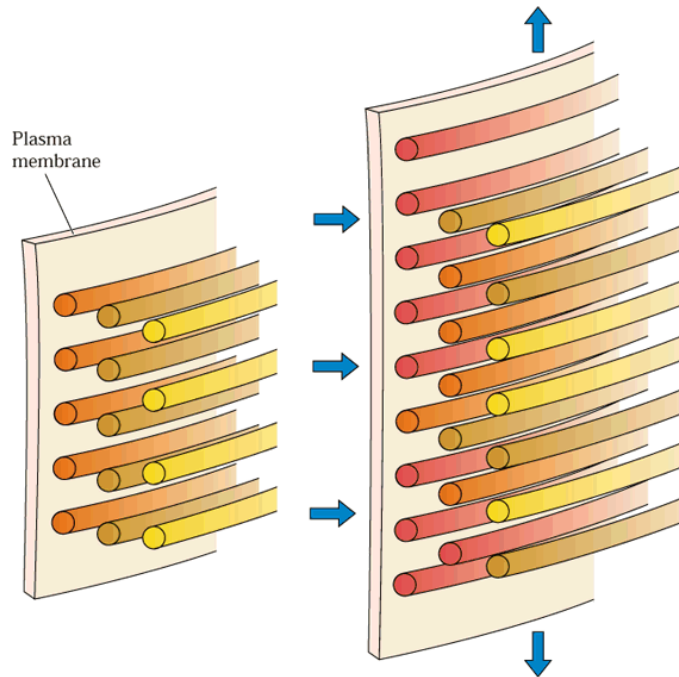
Transverzálně orientované celulózní mikrofibrily:

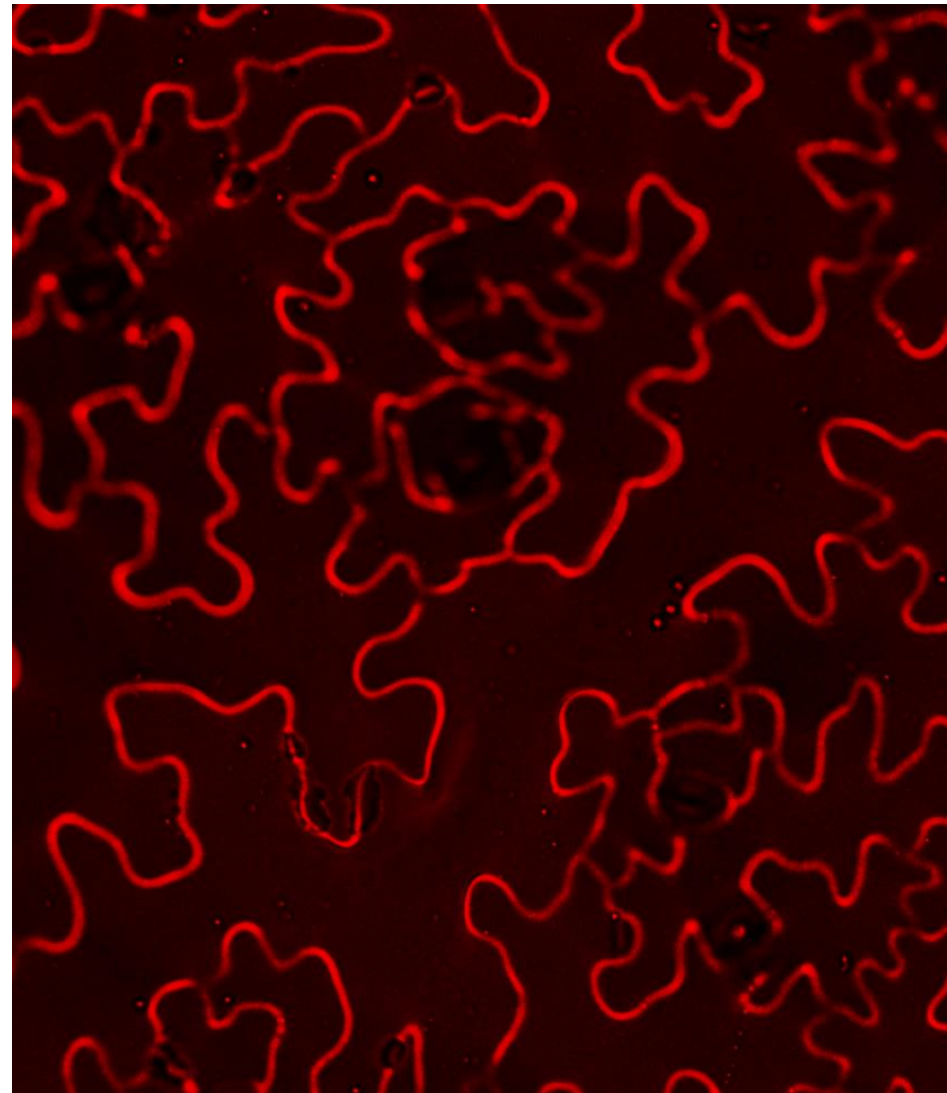
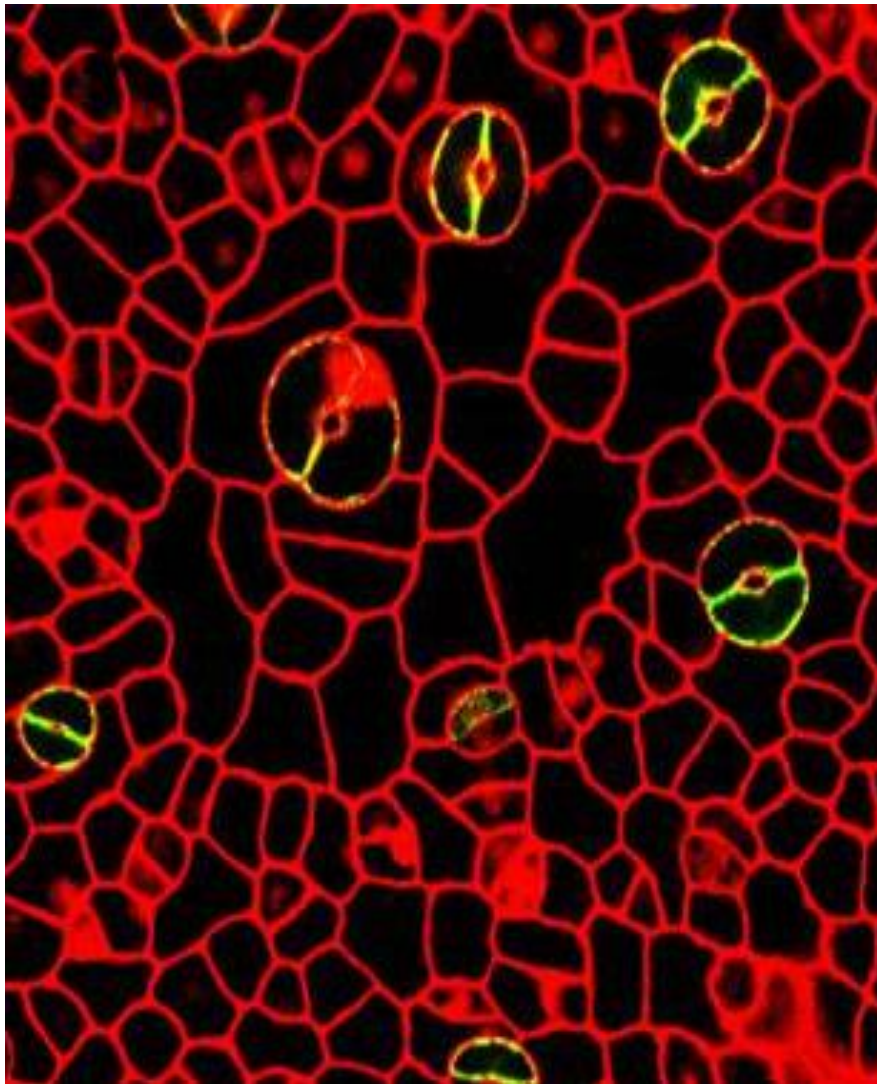


Current Opinion in Plant Biology, 34. C. pp. 9-16.
ISSN 1369-5266

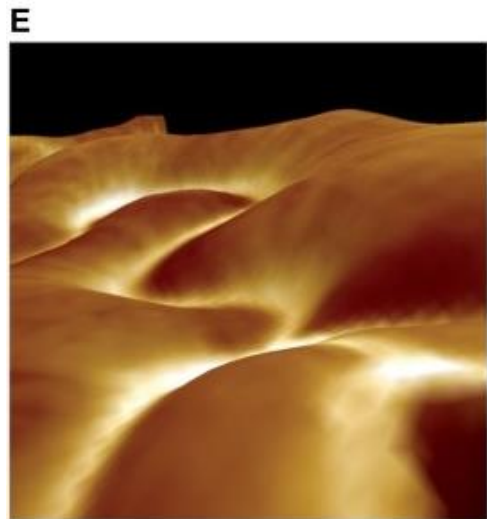
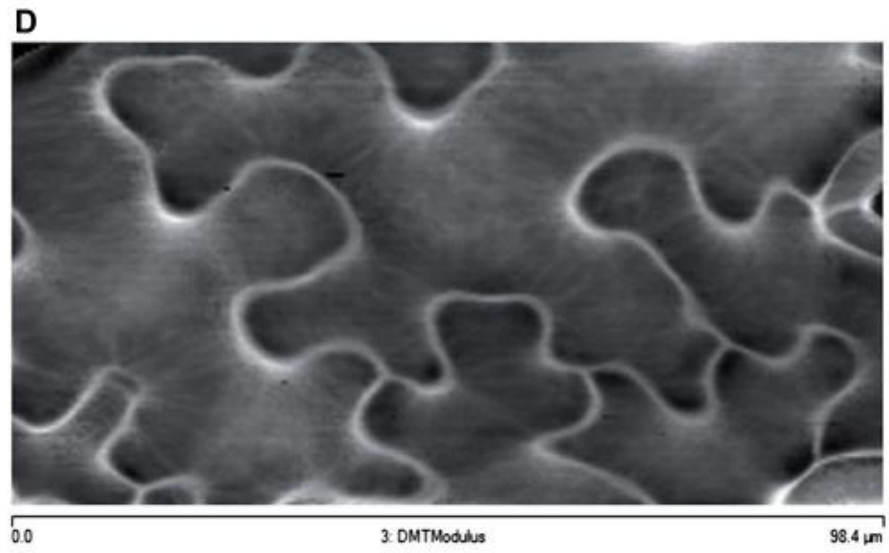
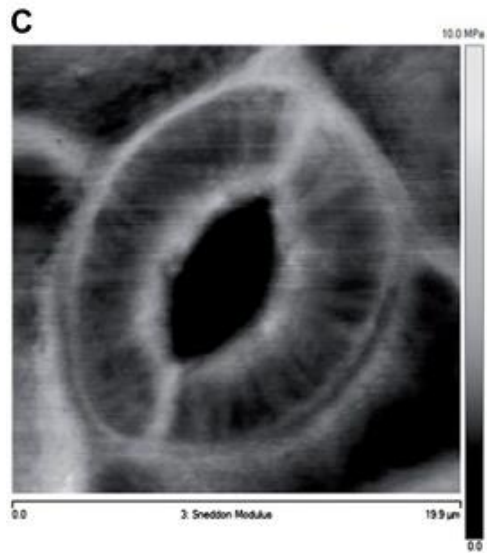
Mechanismus růstu:

- Ukládání nových mikrofibril těsně k plazmatické membráně
- Rozvolnění matrix a celulózních mikrofibril ve starších částech stěny, reorientace mikrofibril





Růstová heterogenita – epidermis rostoucího listu *Arabidopsis thaliana*



Kyselý růst

pH buněčných stěn: cca 5,5

pH rostoucích buněčných stěn: až 4,5

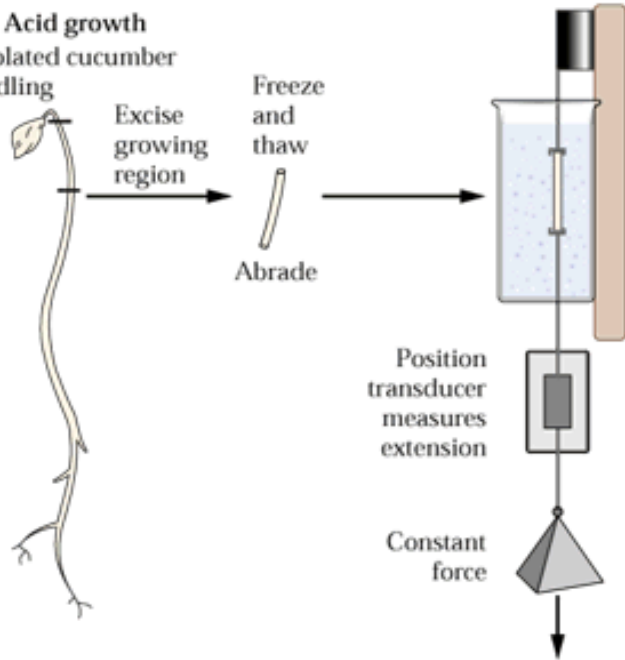
Okyselení buněčné stěny nutné pro zahájení její expanze.

Mechanismus okyselení: aktivace H^+ pump v plazmatické membráně

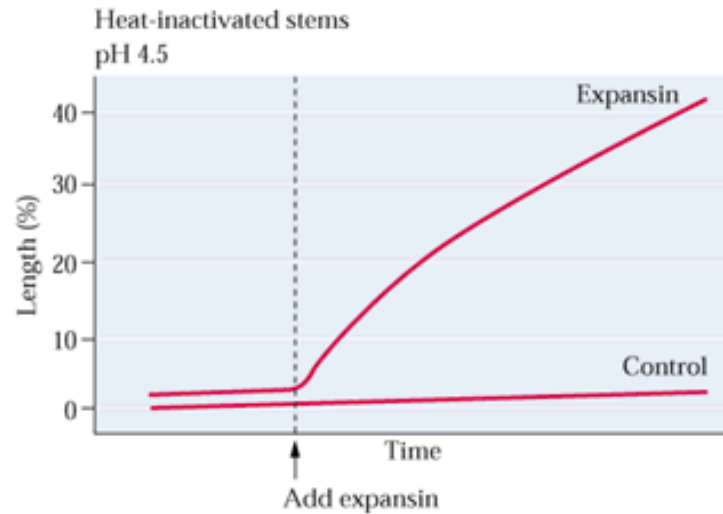
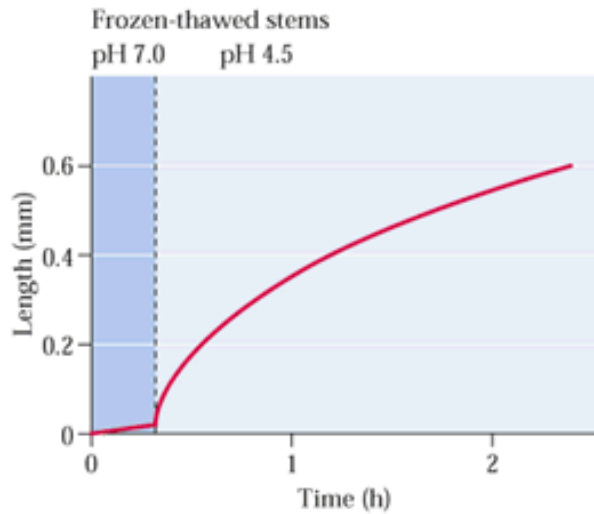
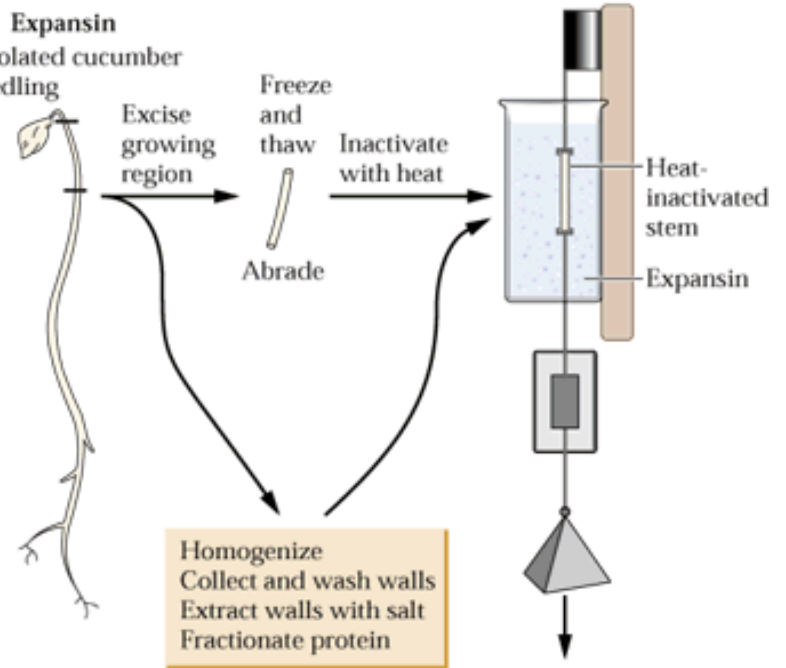
Kyselý růst prokázán pro buněčné stěny všech suchozemských rostlin včetně mechorostů, též u řasy parožnatky

Kyselý růst

(A) Acid growth
Etiolated cucumber seedling



(B) Expansin
Etiolated cucumber seedling



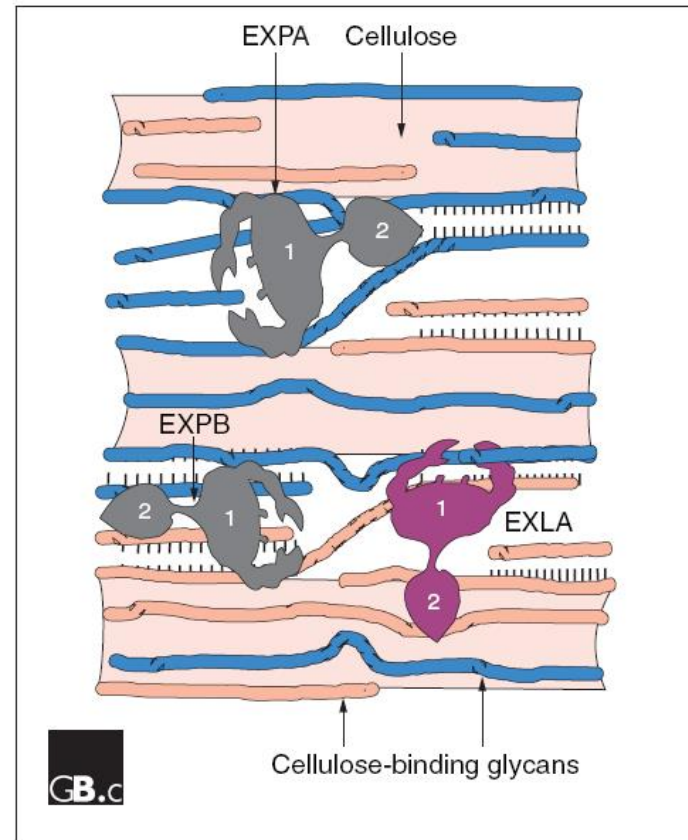
Expansiny

Proteiny buněčných stěn

Rodina proteinů, aktivita některých zvýšena při nízkém pH

Neprokázána konkrétní enzymatická činnost

Mechanismus působení: přerušení nekovalentních vazeb mezi celulózą a glykany – „odzipování“ polysacharidových složek.



Xyloglukan endotransglykosylázy/hydrolázy (XTH)

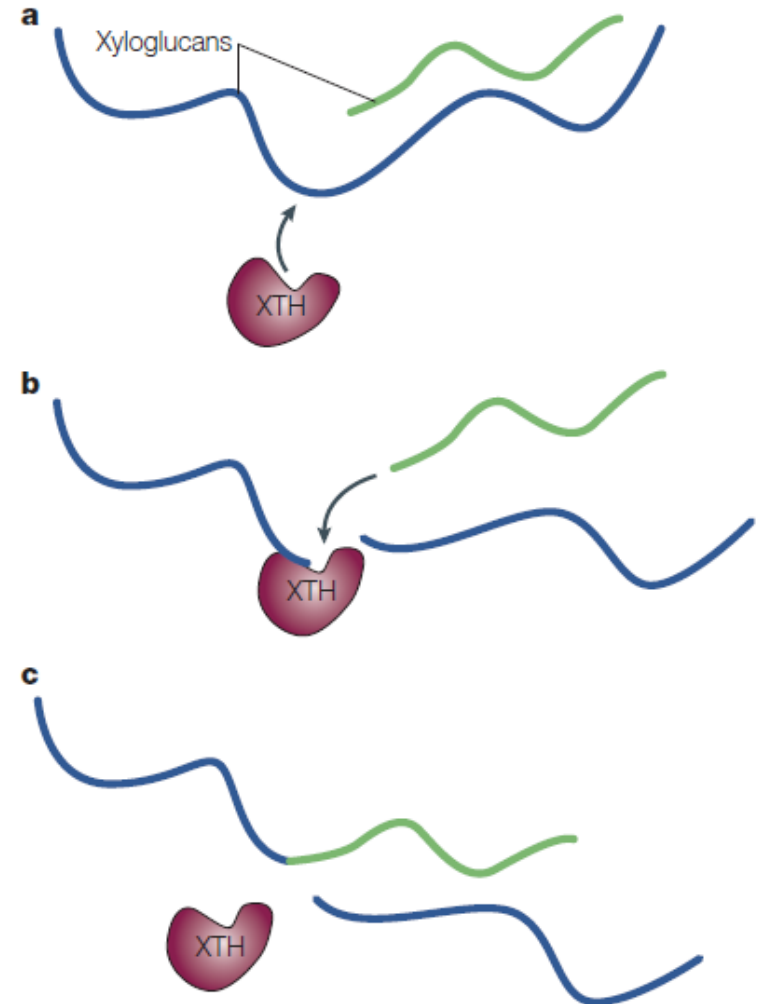
Xyloglukan endotransglykosyláza (XET):

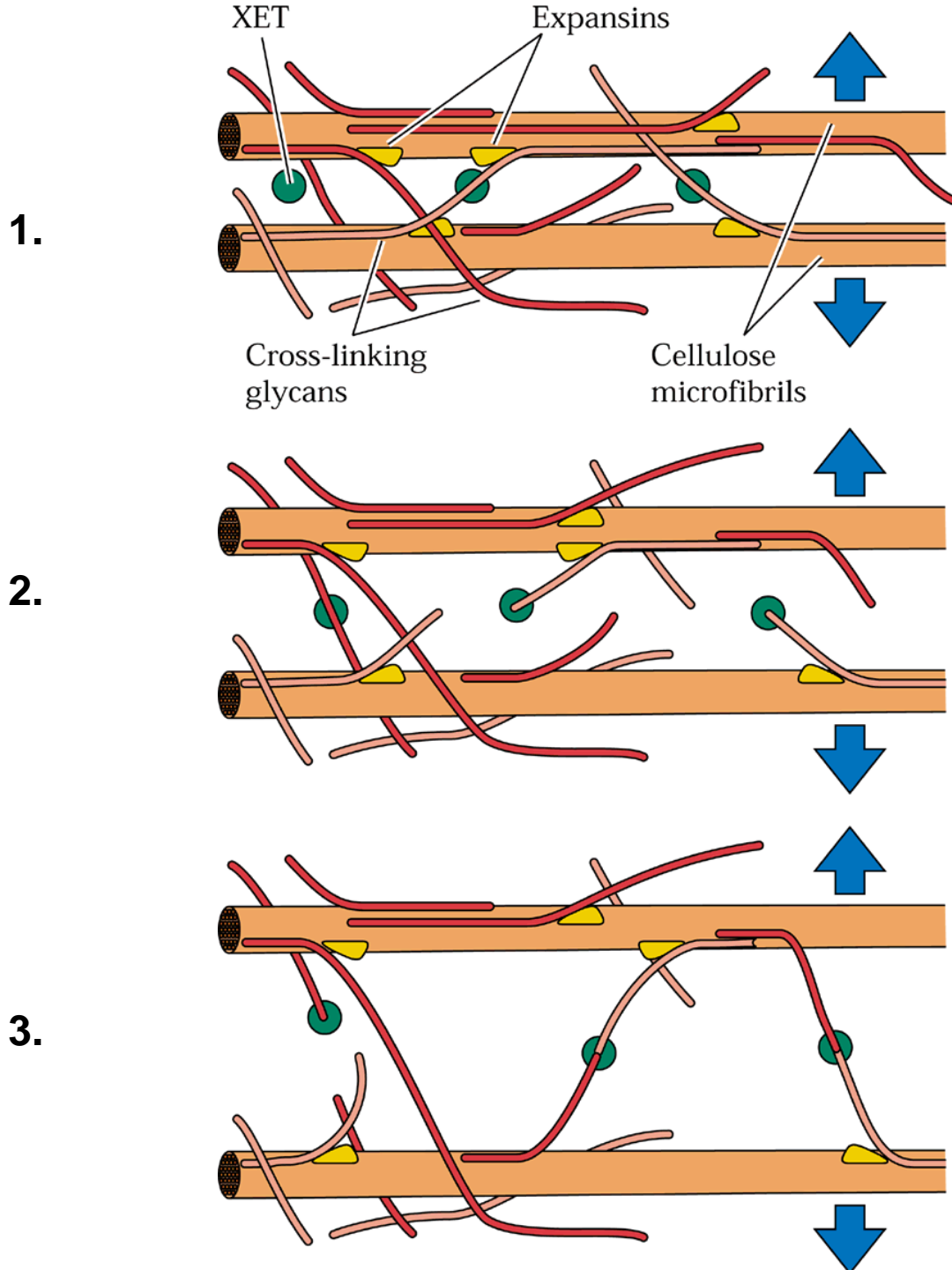
štěpí hemicelulózy xyloglukany; části glukonových molekul odštěpuje a přenáší na jiné molekuly – rozvolnění stěny

Xyloglukan hydrolázy:

Hydrolyticky štěpí xyloglukany

Nejvyšší aktivita při pH 5-6 (typické apoplastické enzymy)





Zastavení růstu buněčné stěny

Extensin, hydroxyproline-rich protein, se stává nerozpustným – molekuly se váží mezi sebou.

De-esterifikace **pektinů** → tvorba můstků a dalších vazeb → vazba složek mezi sebou → zastavení růstu

Typ II buněčných stěn (málo pektinů): provázání složek prostřednictvím **proteinů bohatých na threonin a pomocí fenolických látek** → zastavení růstu.

Modifikace buněčných stěn (lignifikace, suberinizace)

Degradace buněčné stěny jako součást vývoje rostlin

Degradace BS jako součást vývojového programu rostliny:

Zrání a změkčování plodů (biotechnologie)

Klíčení

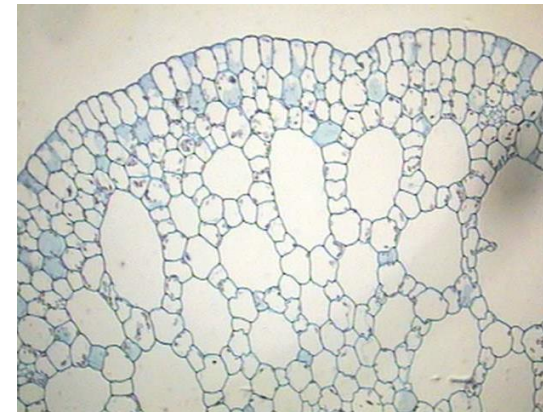
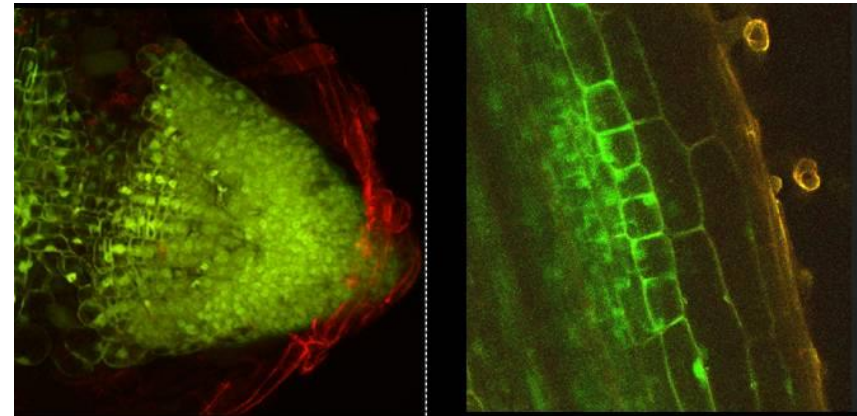
Růst postranních kořenů

Tvorba intercelulár lyzigenním způsobem

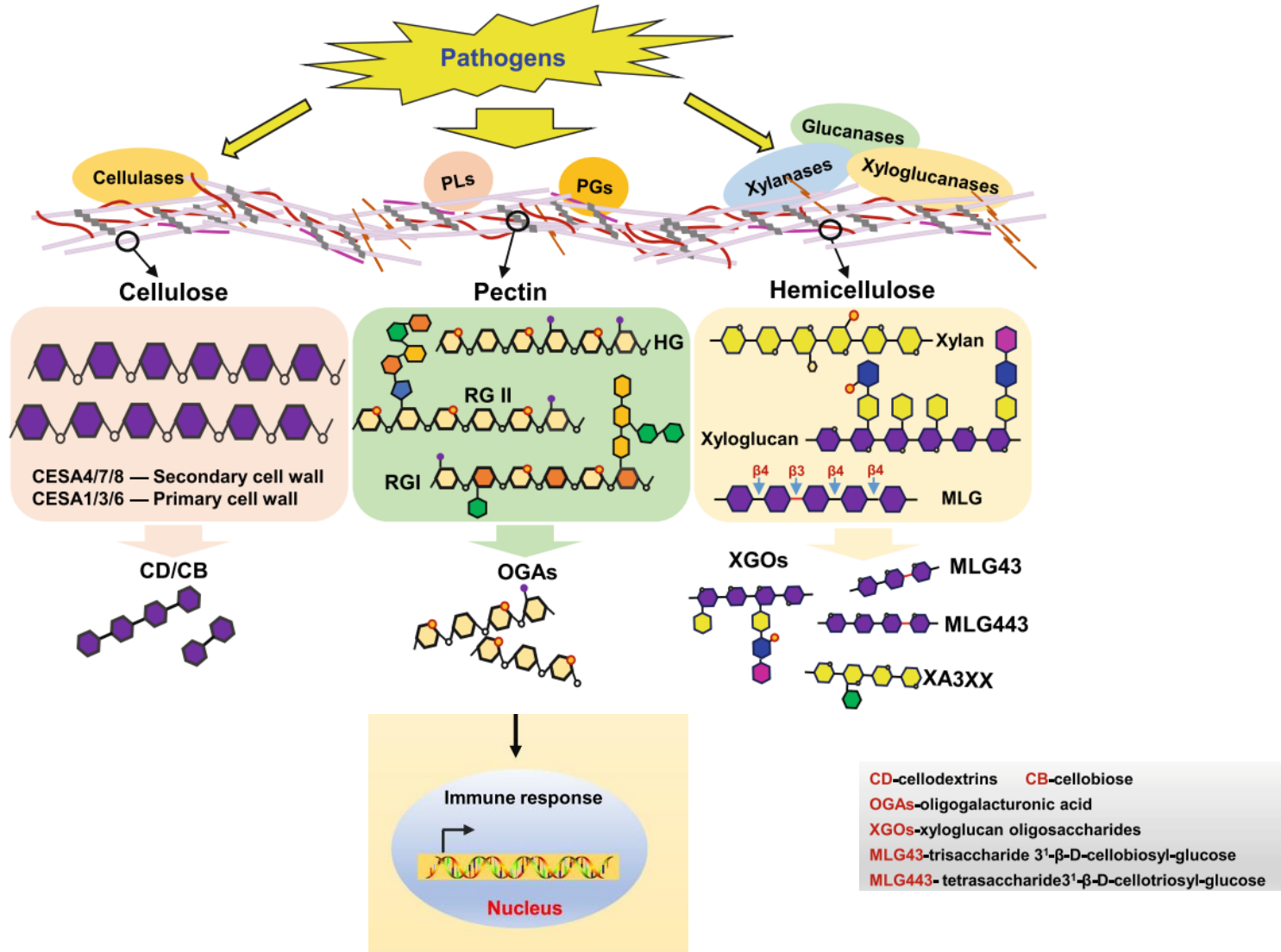
Vznik cév

Pronikání pylové láčky do semeníku

Opad listů

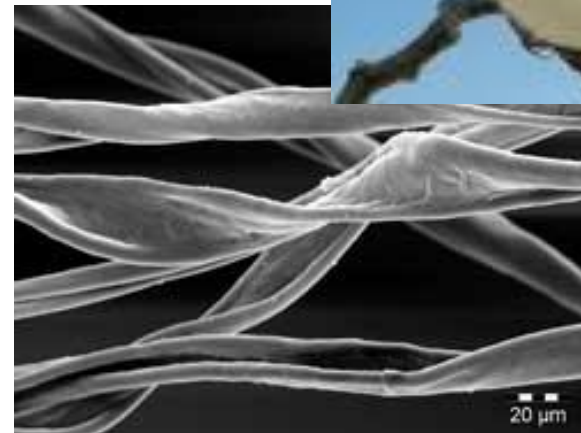


Degradace buněčné stěny jako signál napadení patogeny



Sekundární buněčná stěna

- U specializovaných buněk (mechanická funkce, transport vody, apoplastická bariéra)
- Vždy je ukládána po ukončení růstu, dostředivě do buňky
- Složení je jiné než u primární stěny:
 - Celulóza** - až 40% (98% bavlník)
 - Glukuronoxylany** (krytosemenné),
glukomannany (nahosemenné)
 - Pektiny** – velmi málo
 - Proteiny** – specifické funkce
- Častá lignifikace

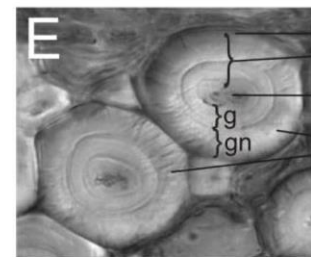
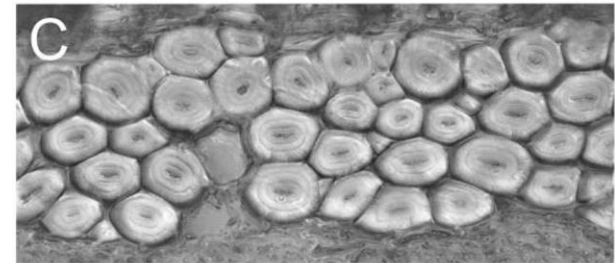
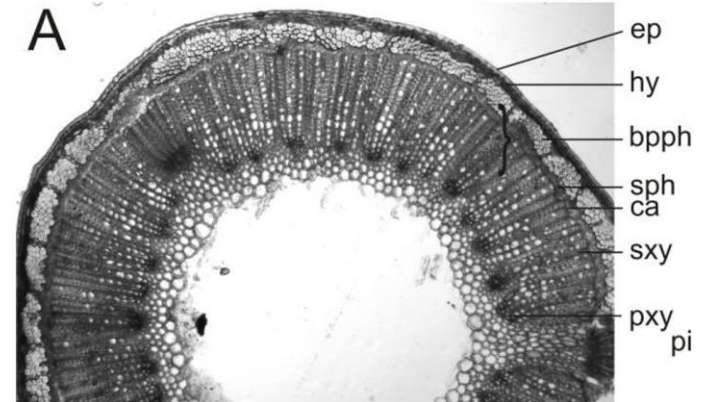


Sklerenchym

Tvořen **sklerenchymatickými buňkami** nebo **vlákný** (přadné rostliny – např. len).

Hlavní podpůrné pletivo

Sekundárně ztlustlá buněčná stěna **stejně deponovaná**, často fungují již jako mrtvé



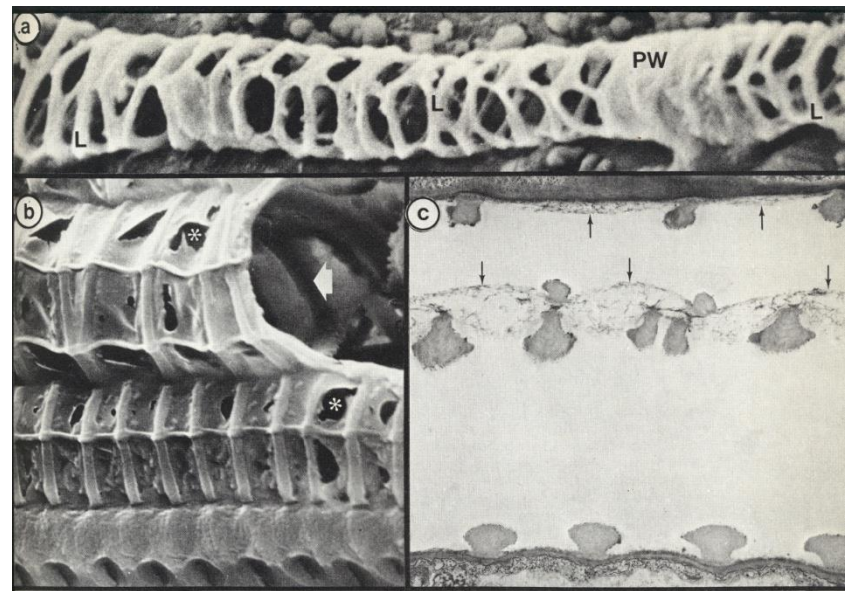
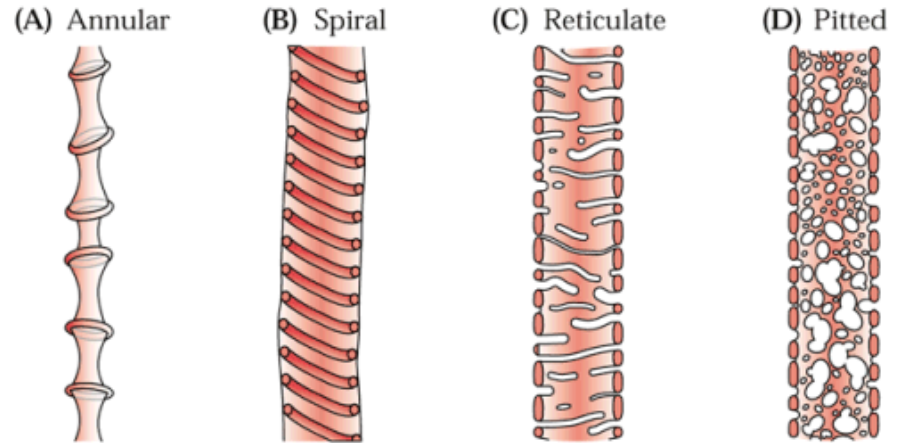
Lněná vlákna:
douhá
sklerenchymatická
vlákna ve stonku

A: cross section of flax stem, C: Phloem fibres, E: pcw, scw: primary and secondary cell wall, ef: elementary fibres
Front. Plant Sci., 24 June 2016 | <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00894>

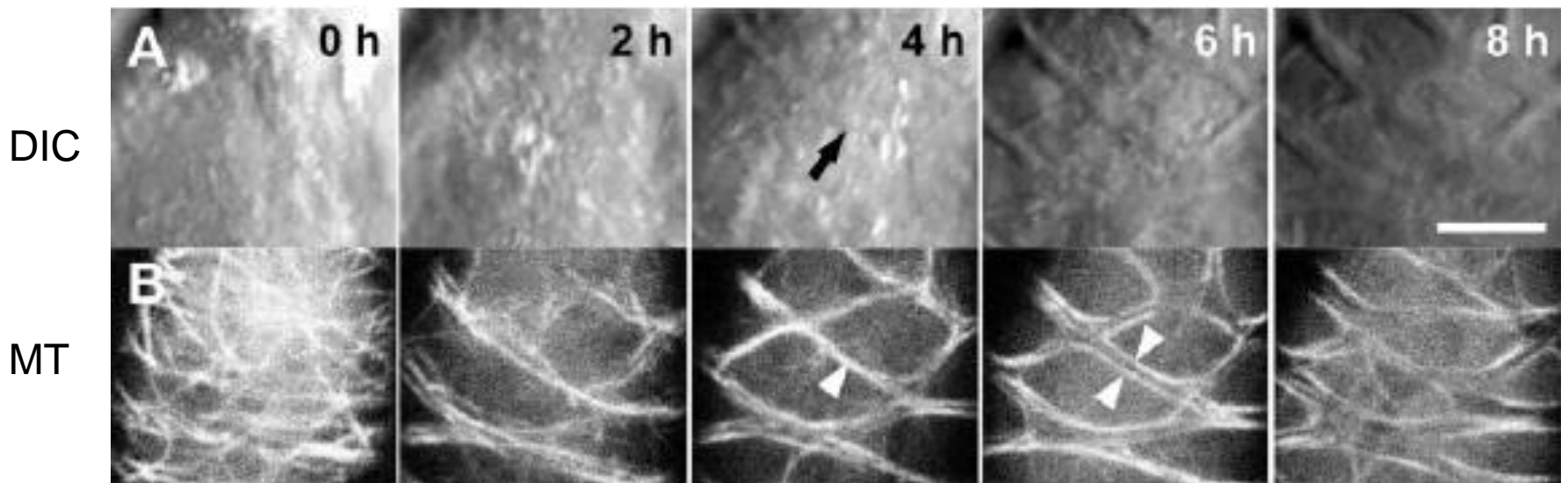
Sklerenchym stopky hrušky - brachysklereidy
Slovník rostlinné anatomie on-line

Tracheální elementy

Nestejněměrná depozice
sekundární buněčné stěny:
tracheální elementy



Role kortikálních MT v syntéze sekundární buněčné stěny -model tracheálních elementů



Mezofylové buňky, indukce diferenciacie v tracheální elementy u in vitro kultivovaných buněk.

Specializované buněčné stěny

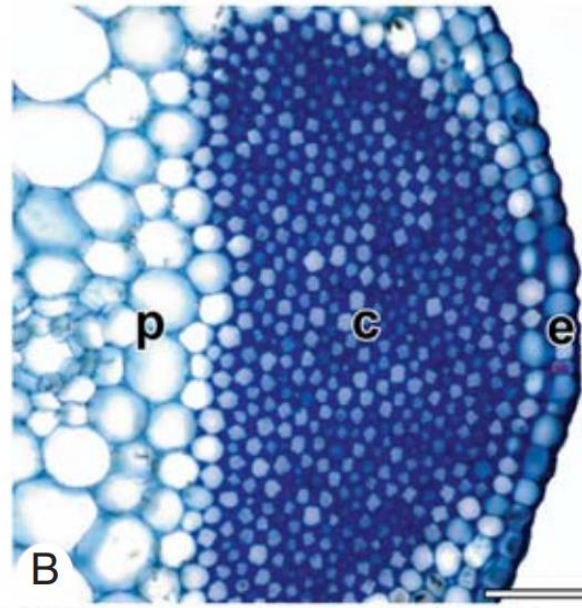
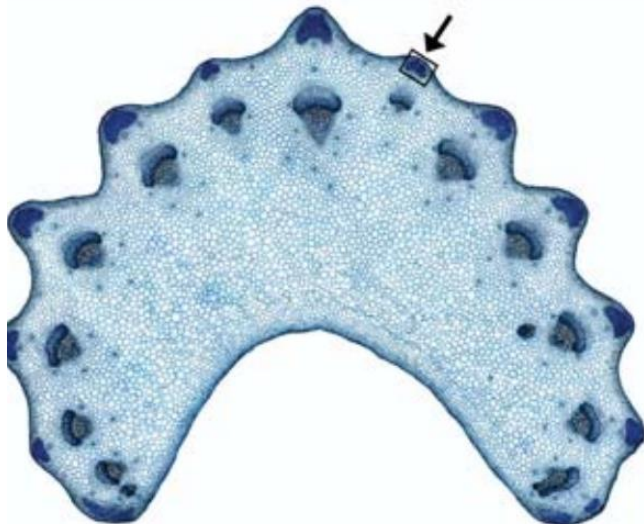
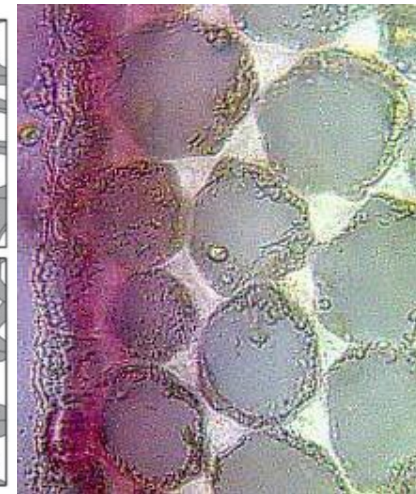
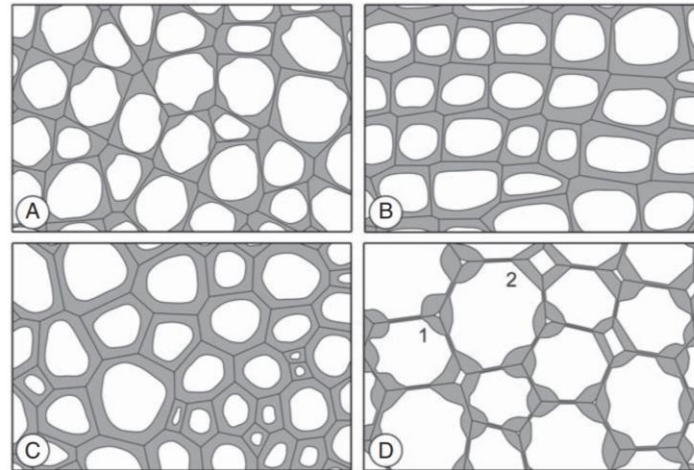
Kolenchym

Nestejně ztlustlé BS

Charakter primární BS (málo celulózy, hodně pektinů)

Mohou dále růst – zůstávají živé

Mechanická funkce



Kolenchym stonku
celeru (*Apium
graveolens*)

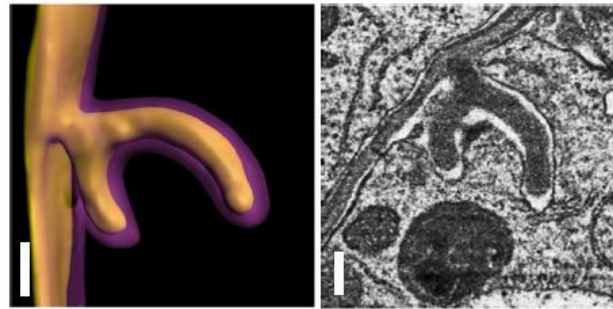
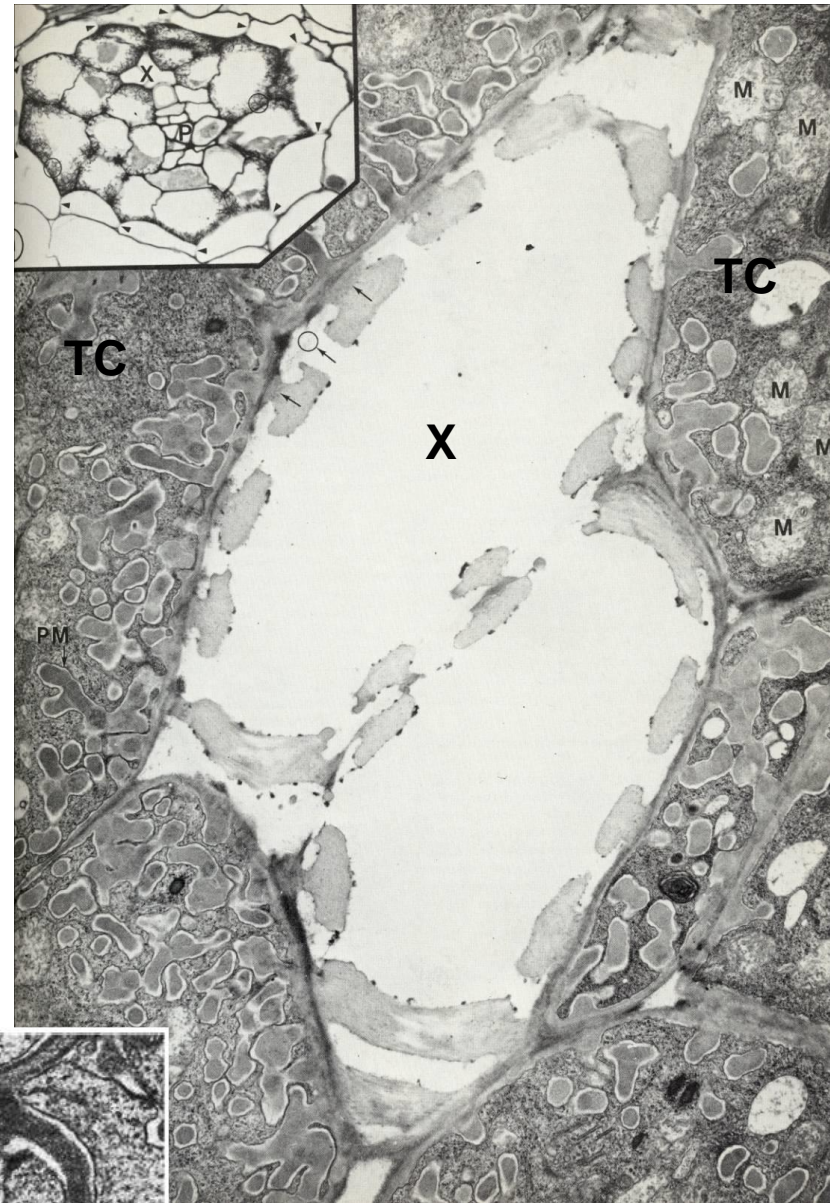
doi:10.1093/aob/mcs186

Transferové buňky

Specializovaný typ parenchymatických buněk v místech intenzivního transportu apoplast-symplast

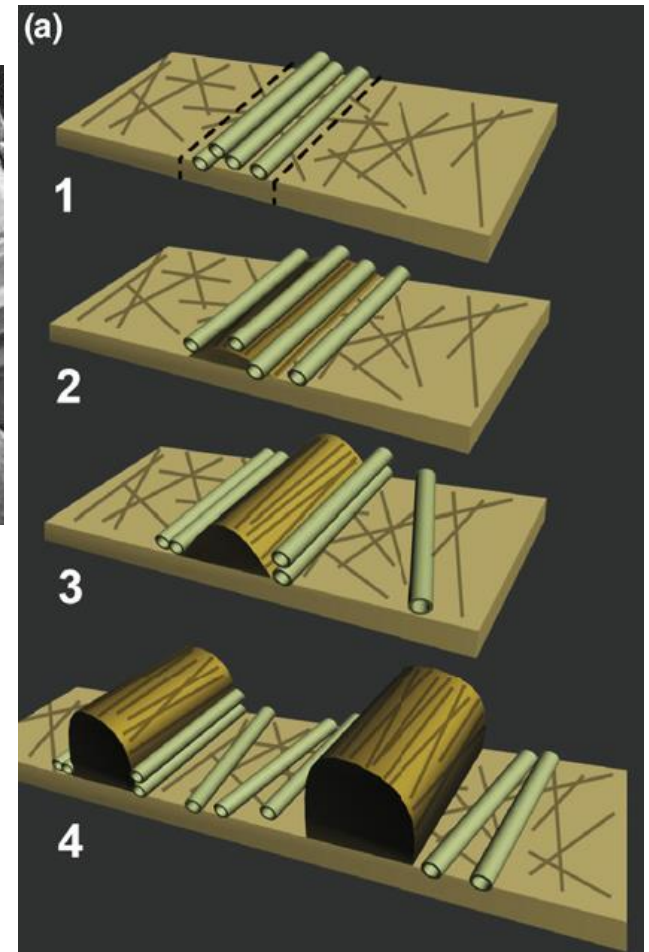
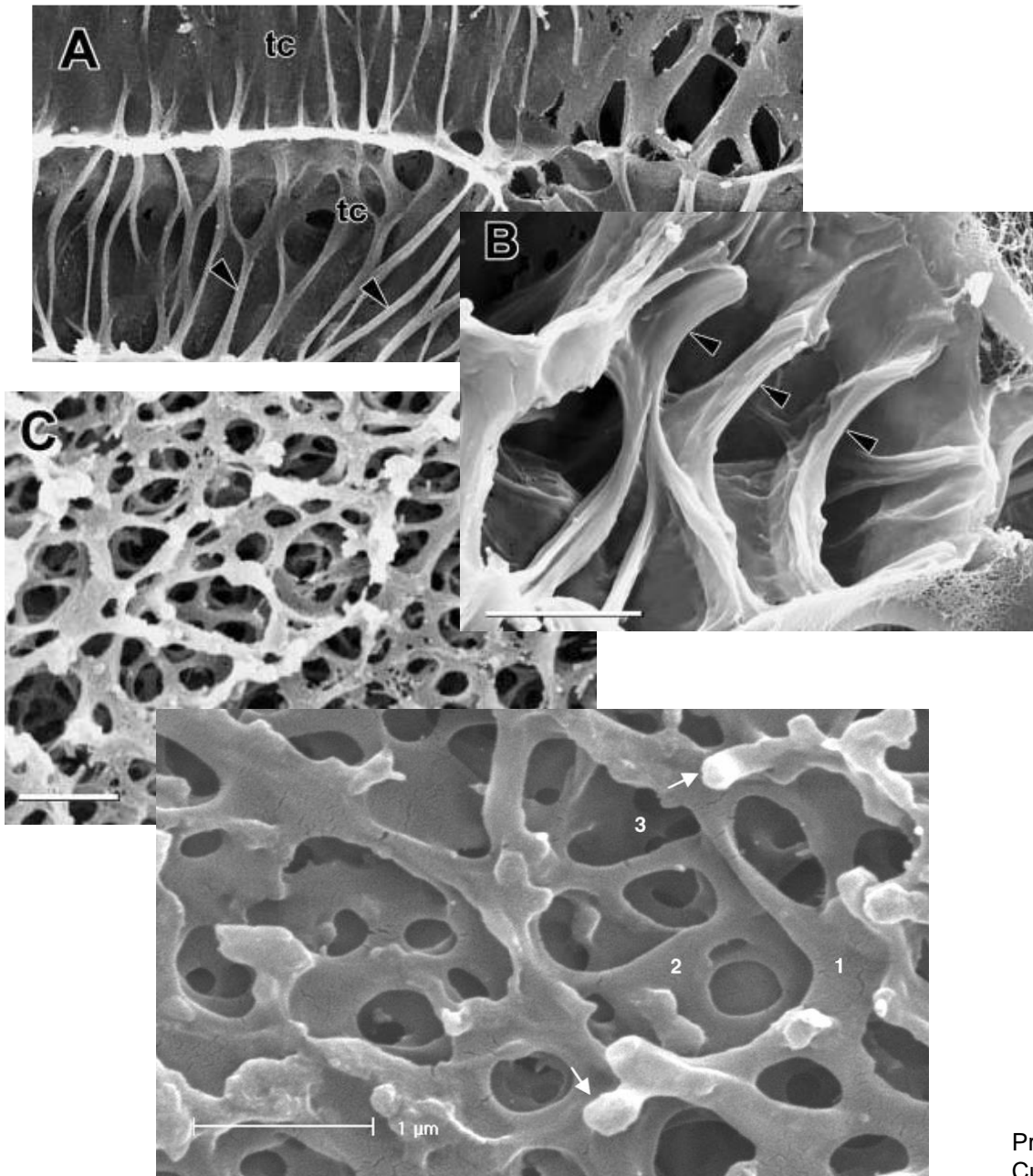
Složité labyrint výrůstků buněčné stěny na straně cytoplazmy zvyšují plochu membrány.

Výrůstky mají charakter primární buněčné stěny



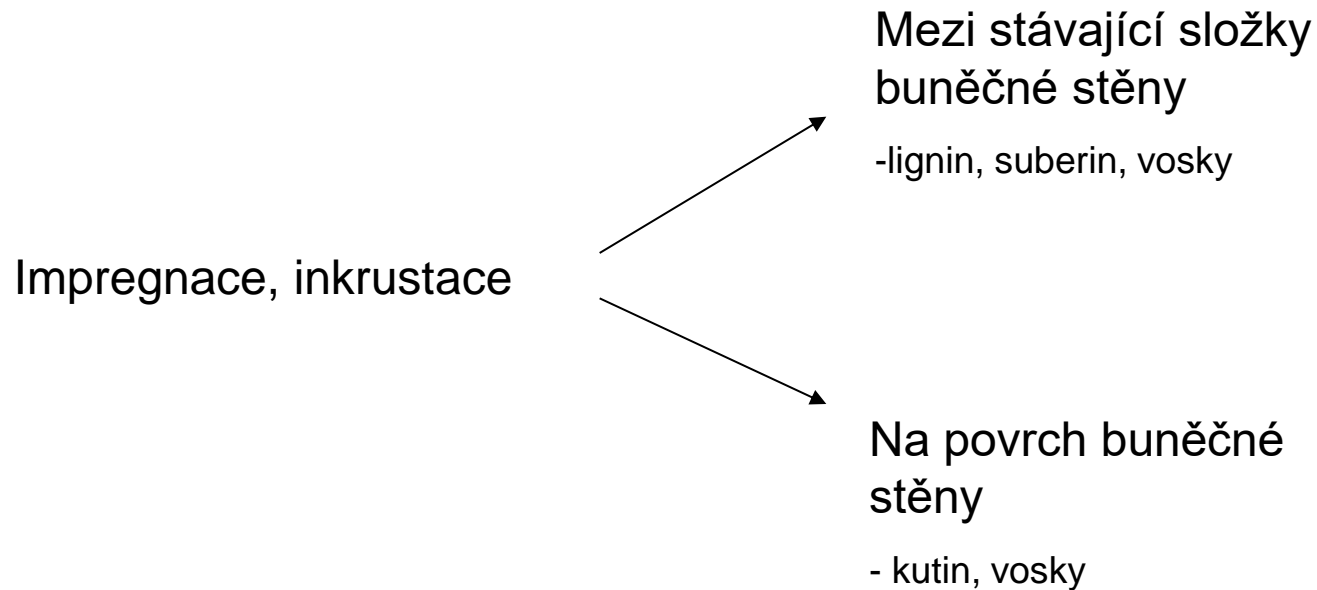
Stěna parenchymatické transferové buňky v cévním svazku kořenové hlízky vojtěšky – rekonstrukce výběžku bs

<https://doi.org/10.1038/s41477-020-0683-6>



Protoplasma (2002) 219: 197–209
 Current Opinion in Plant Biology 2008, 11:653–661

Modifikace buněčné stěny



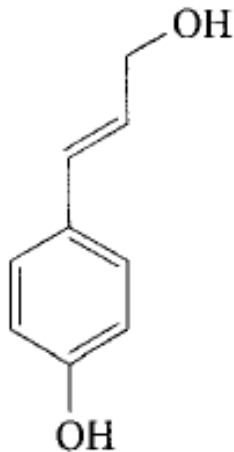
Lignifikace

Lignifikace, suberinizace a depozice kutinu jsou spojeny s přechodem rostlin na souš před cca 460 mil lety

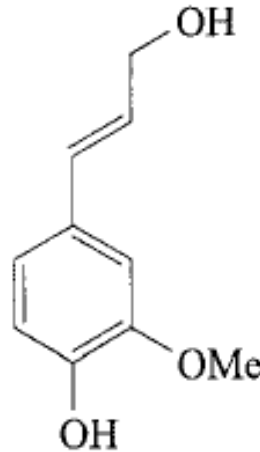
Lignin:

Druhý nejrozšířenější biopolymer na zemi, tvoří 20-30% hmoty rostlin

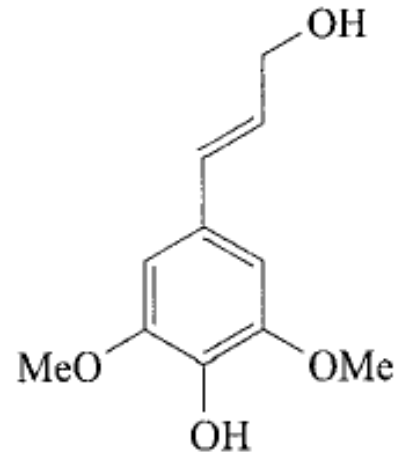
Složitý heteropolymer navzájem spojených molekul aromatických látek – **monolignolů** (deriváty fenypropanu - fenypropanoidů)



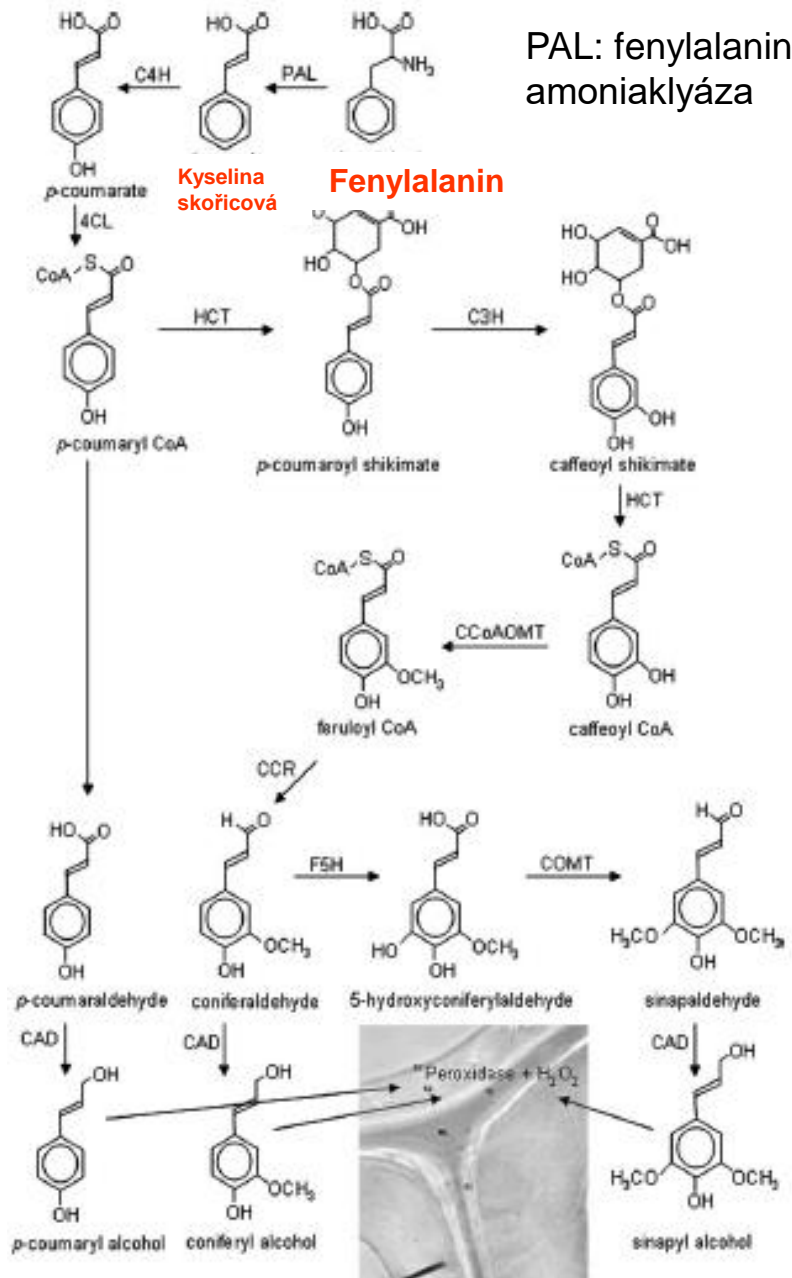
p-kumarylalkohol



koniferylalkohol



sinapylalkohol

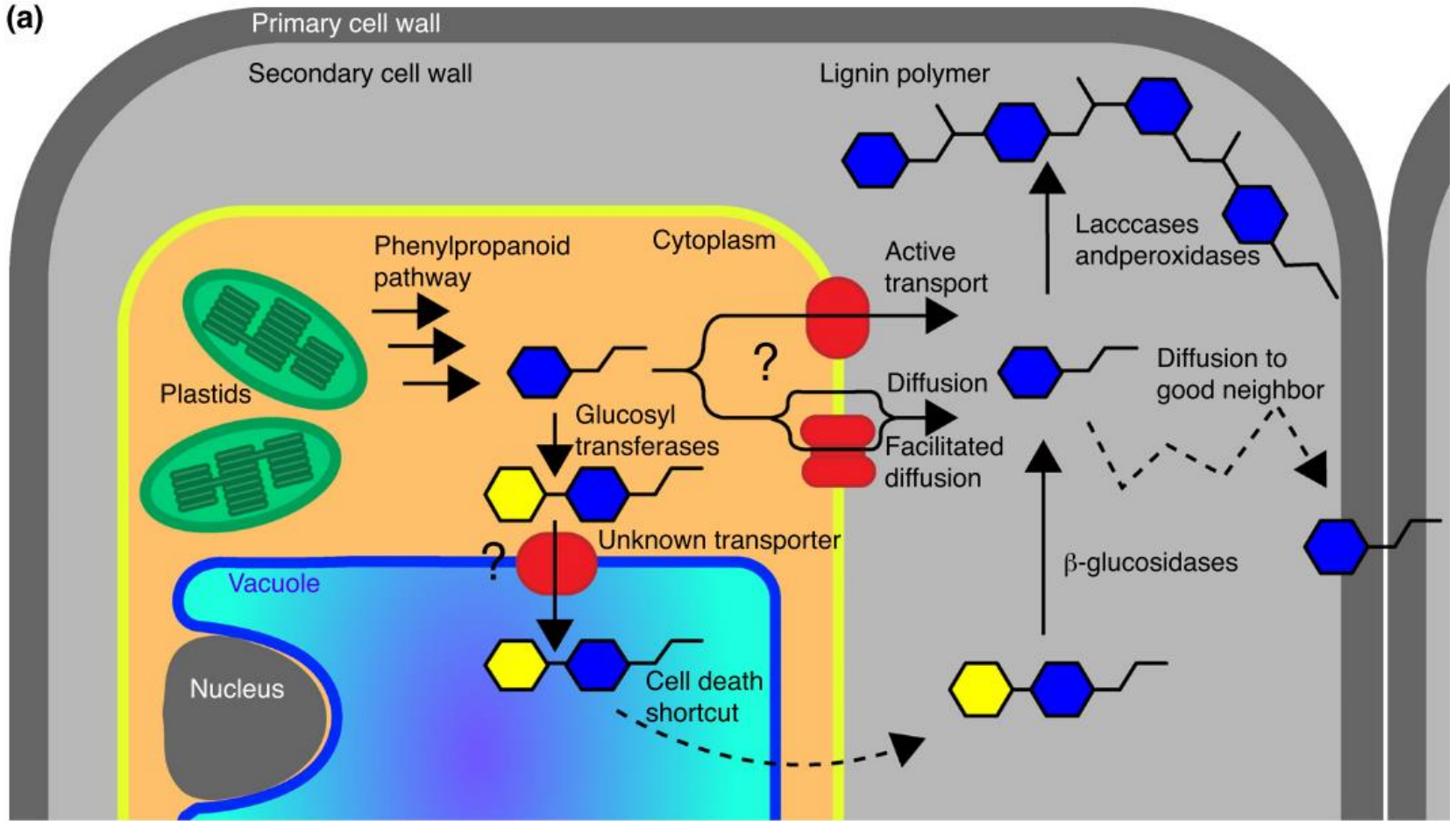


Fenylalanin syntetizován
šikimátovou drahou v **plastidu**

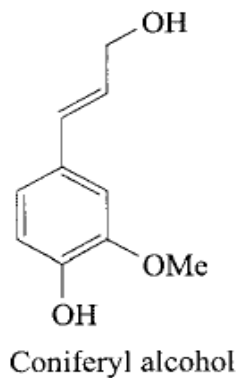
Monolignoly syntetizovány v
cytoplasmě tzv.
fenylpropanoidovou drahou

Monolignoly transportovány
do buněčné stěny, kde
polymerují

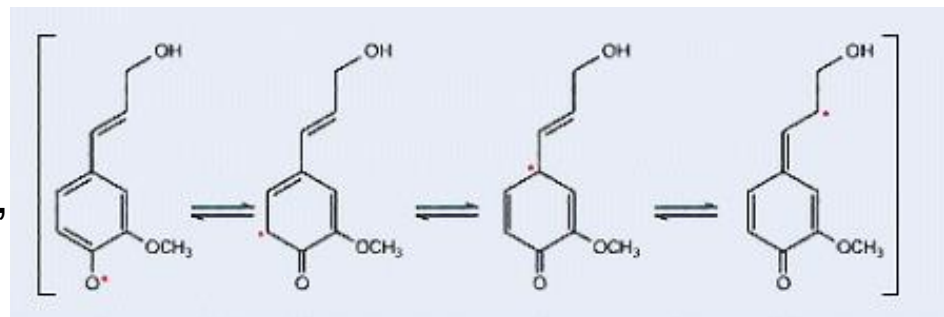
(a)



Syntéza ligninu v prostoru buněčné stěny



Peroxidázy (H_2O_2),
Lakázy (O_2)



radikály



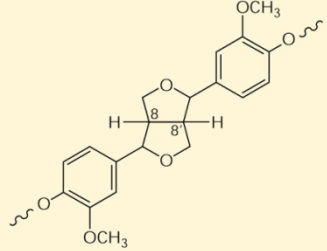
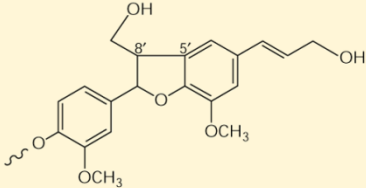
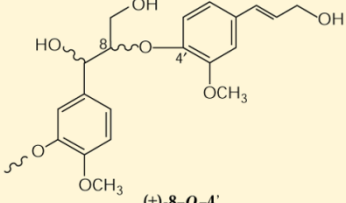
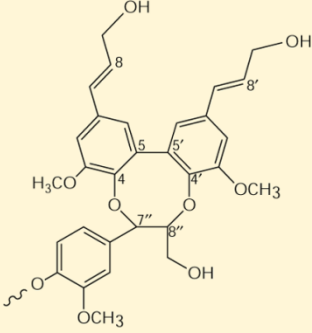
polymerace

Syntéza ligninu -dirigent proteiny

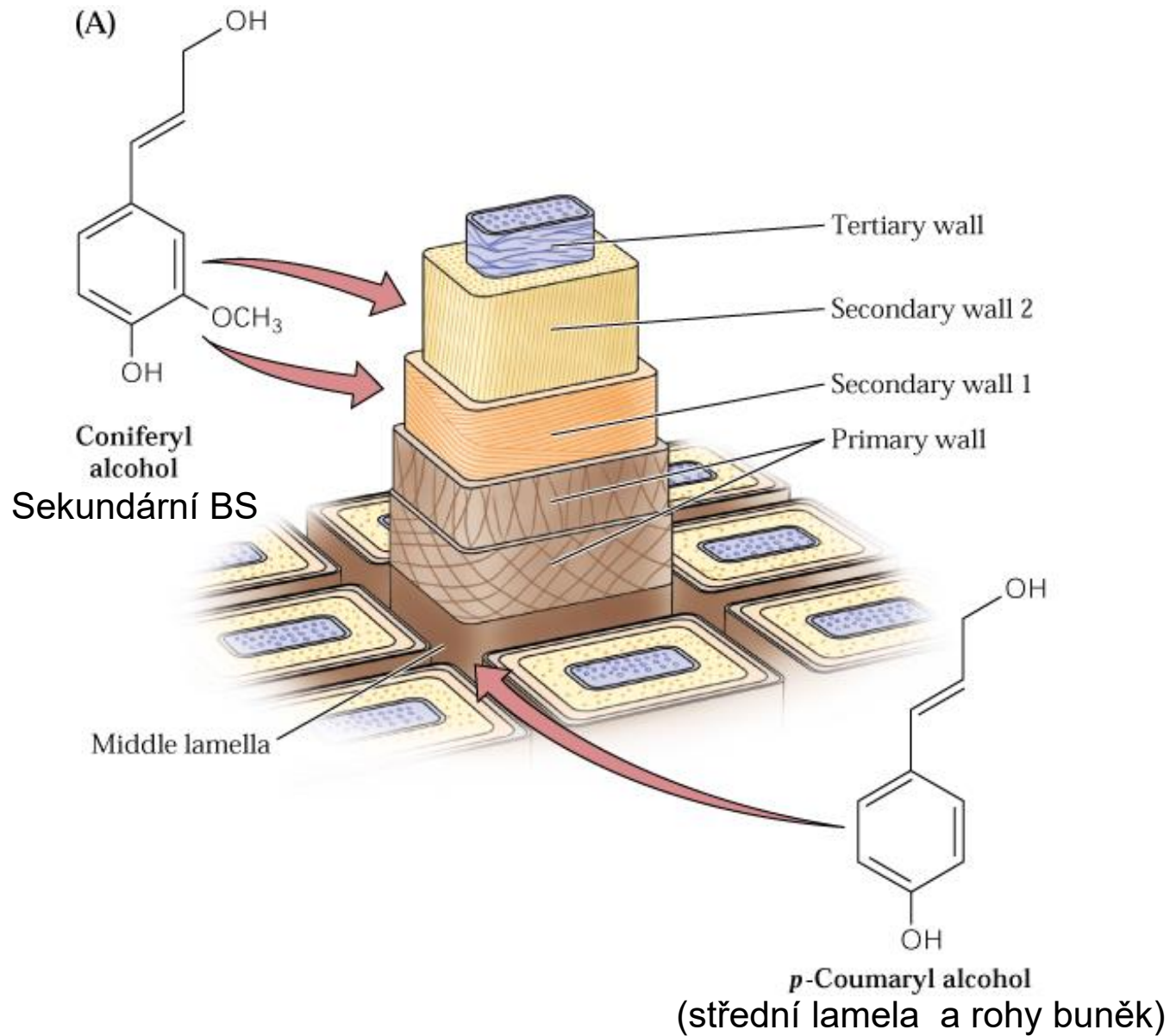
Polymerace monolignolů \longrightarrow

Dirigent proteiny: zajišťují prostorovou orientaci dvou molekul radikálů monolignolů při jejich spojování během polymerace \rightarrow preference typů vazeb při polymeraci ligninu

Odhadované zastoupení vazeb mezi monolignoly ve smrku a preferované vazby mezi monolignoly

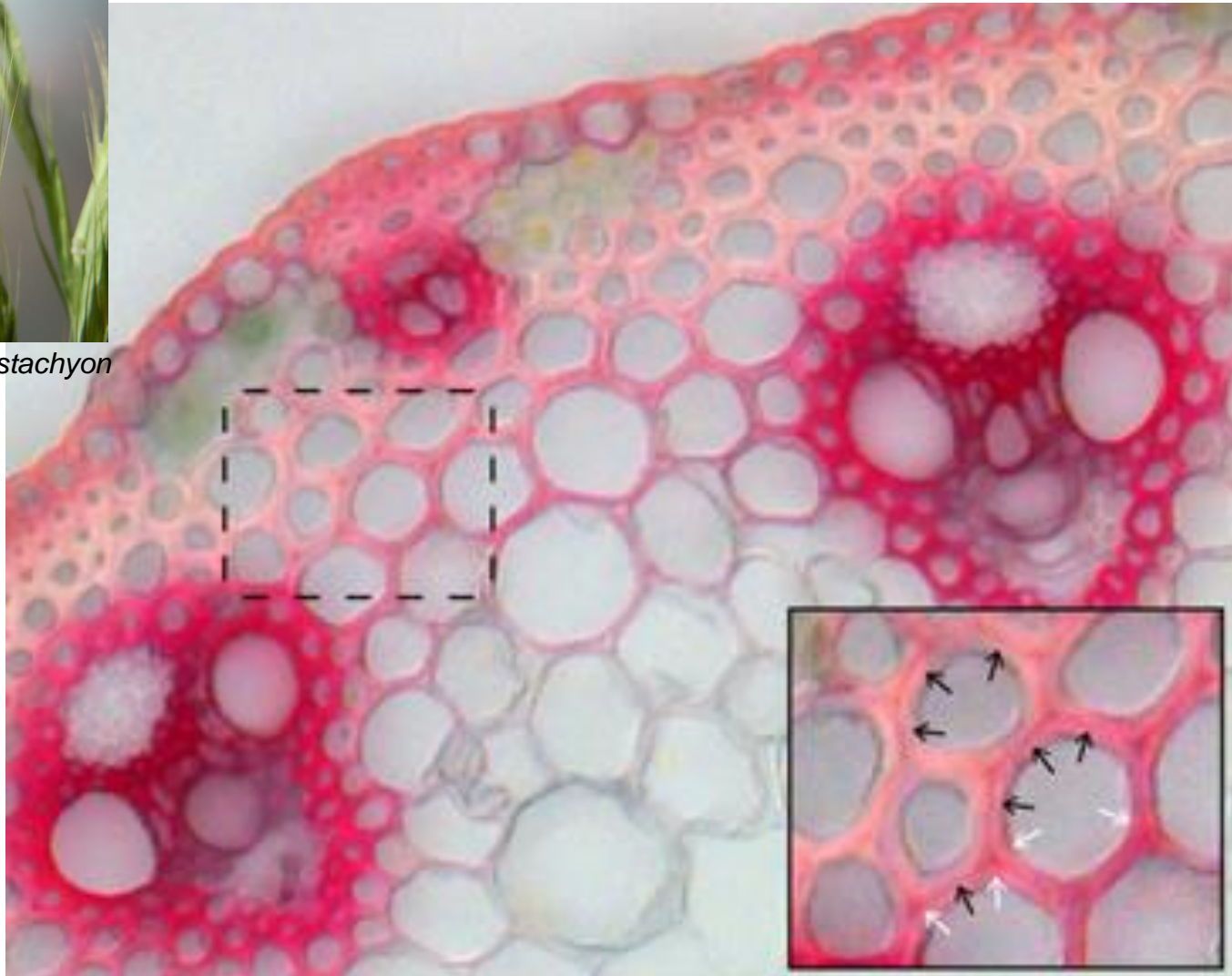
Traces	 <p>(±)-8-8' Pinoresinol</p>
9-12%	 <p>(±)-8-5' Dehydroconiferyl alcohol</p>
>50%	 <p>(±)-8-O-4' (erythro/threo) Guaiacylglycerol 8-O-4'-coniferyl alcohol ethers</p>
18-20%	 <p>(±)-5-5'-O-4' Dibenzodioxocin</p>

Specifická depozice monolignolů





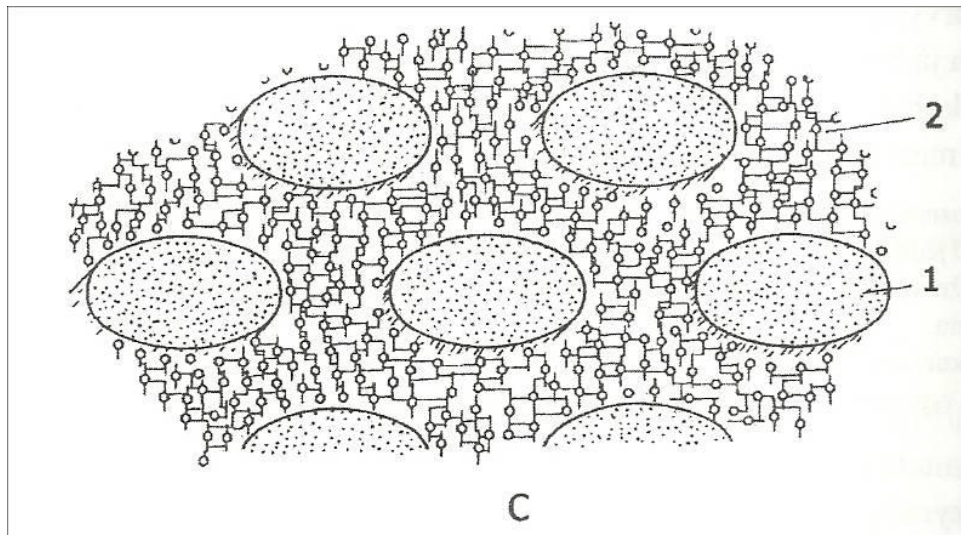
Brachypodium distachyon



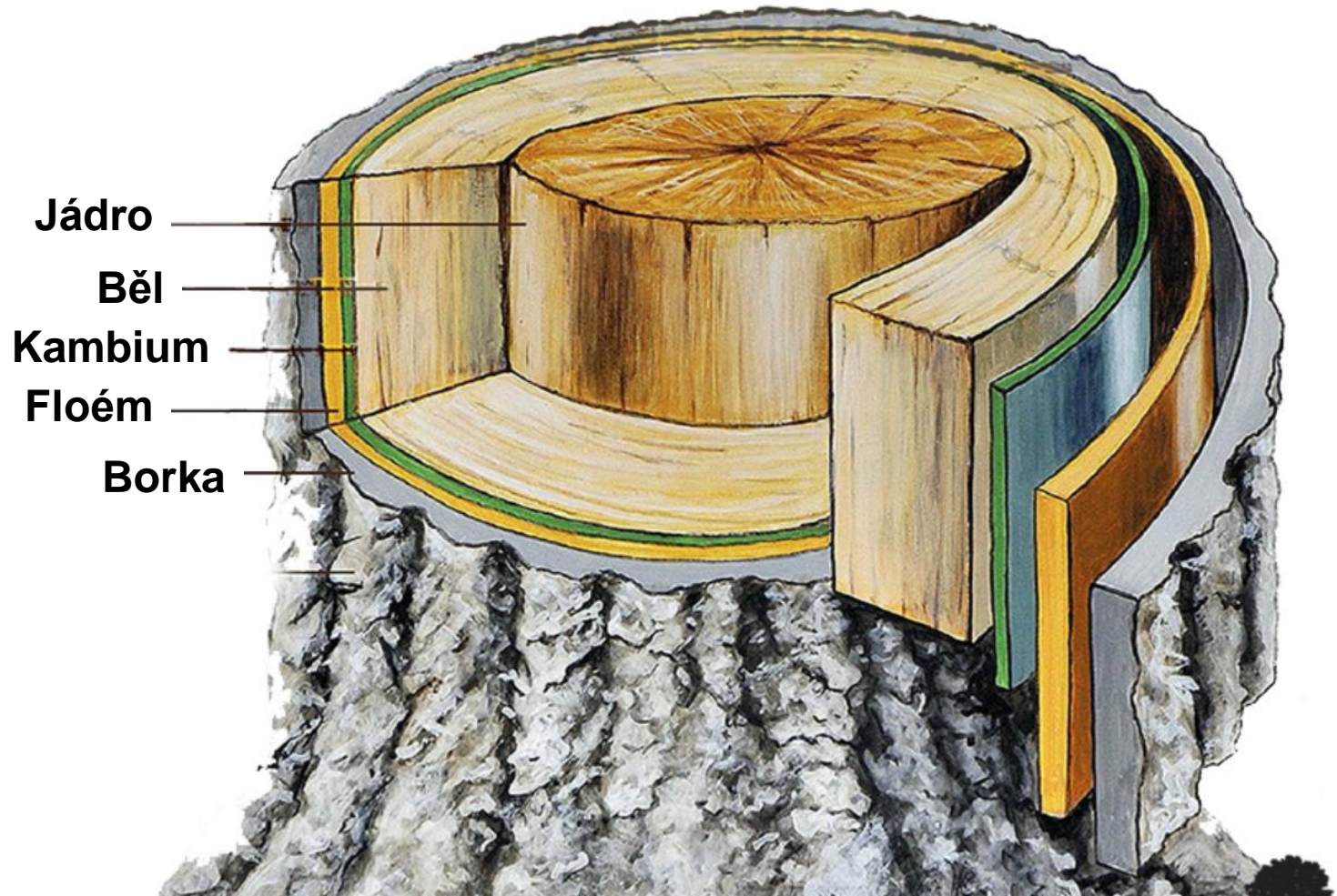
Funkce lignifikace

- Vyplňuje prostor stěny a kovalentně váže polysacharidy
- Snižuje propustnost pro vodu (hydrofóbní charakter)
- Zabraňuje průniku patogenů
- Zpevňuje stěnu
- Zvyšuje odolnost stěny k degradaci
- Konstitutivní lignifikace, lignifikace jako reakce na poranění

Lignifikace u nedřevnatých rostlin a trav!



Funkce lignifikace



Běl: vnější část dřeva, která obsahuje živé buňky a průchodné vodivé cesty.

Jádro: Vnitřní část kmene tmavší barvy, než má běl. Vodivé cesty nejsou průchodné pro vodu. Jedná se tedy o fyziologicky mrtvé pletivo, které zvyšuje stabilitu kmene.

(<https://www.mezistromy.cz>; <https://www.trees-sa.co.za/anatomy-of-a-tree/>)

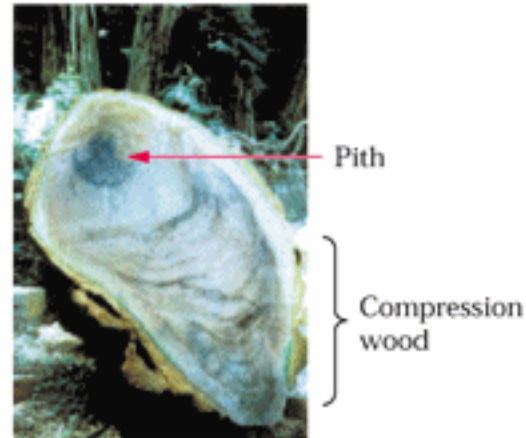
Reakční dřevo – modifikace buněčných stěn v místě mechanického namáhání

(A)

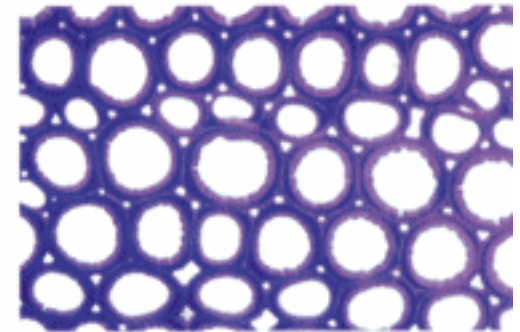


Compression wood
(tlakové dřevo)

(B) *Sequoia sempervirens*
stem



(C) Compression wood xylem



(D) Compression (reaction)
wood tracheid

Nahosemenné rostliny: tlakové dřevo.
Krytosemenné rostliny: tahové dřevo.
(Vesmír 101(152): 705-707, 2022)

Reakční dřevo – modifikace buněčných stěn v místě mechanického namáhání

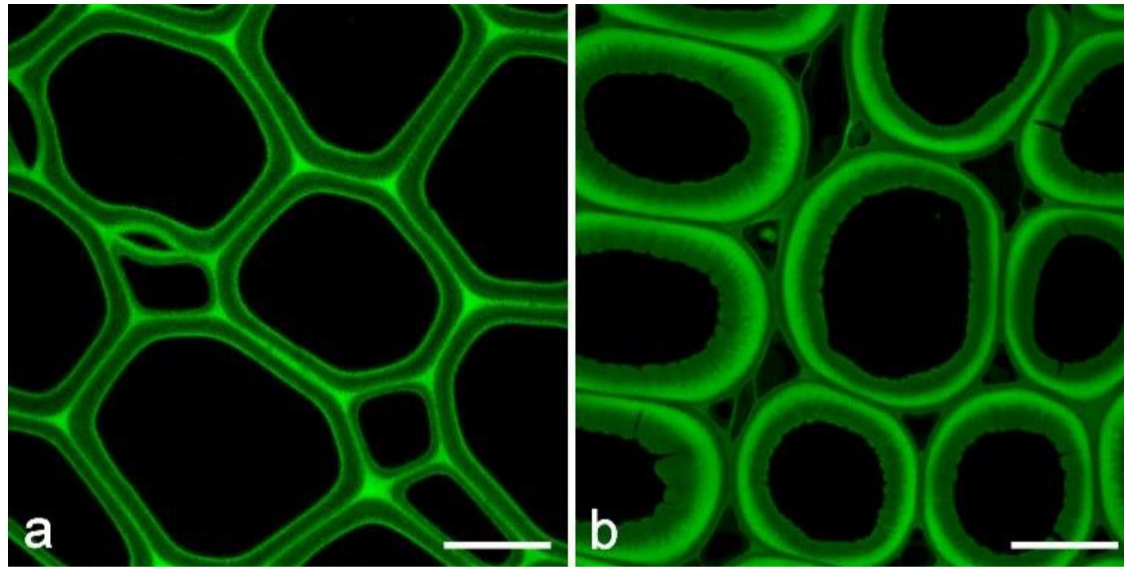


Figure 5. Autofluorescence of lignin in pine wood. (a) TS of normal pine wood (excitation at 458 nm, emission at 465–700 nm). Scale bar = 15 μm . (b) TS of pine reaction wood showing the altered distribution of lignin (excitation at 458 nm, emission at 465–700 nm). Scale bar = 15 μm .

Suberinizace

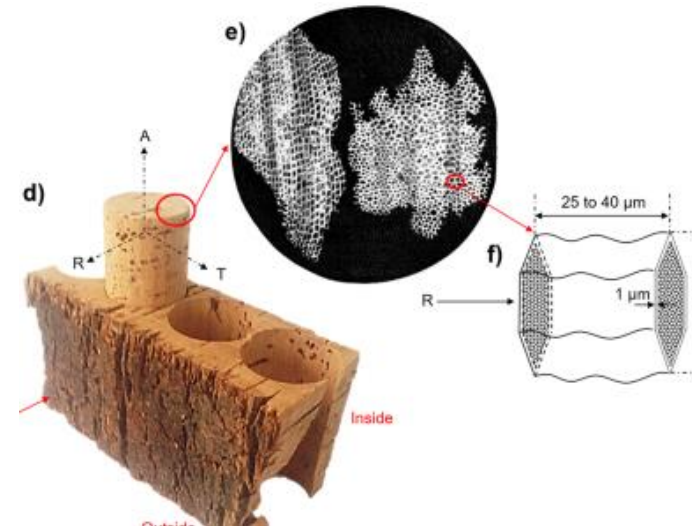
Suberin:

Ochranná funkce (ztráta vody, průnik patogenů)

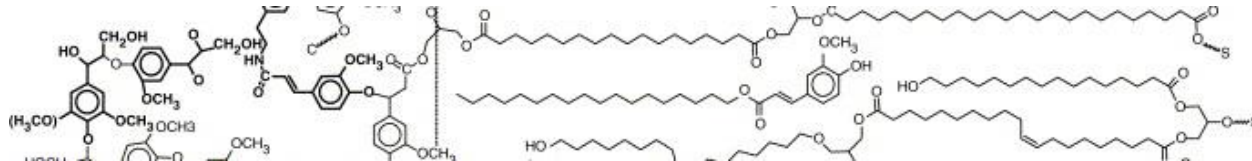
Hydrofobní polymer

Polyaromatické a polyalifatické molekuly

- alifatické složky: dlouhé mastné kyseliny
- polyaromatické složky: podobné ligninovým aromatickým složkám (deriváty hydroxyskořicové kyseliny)



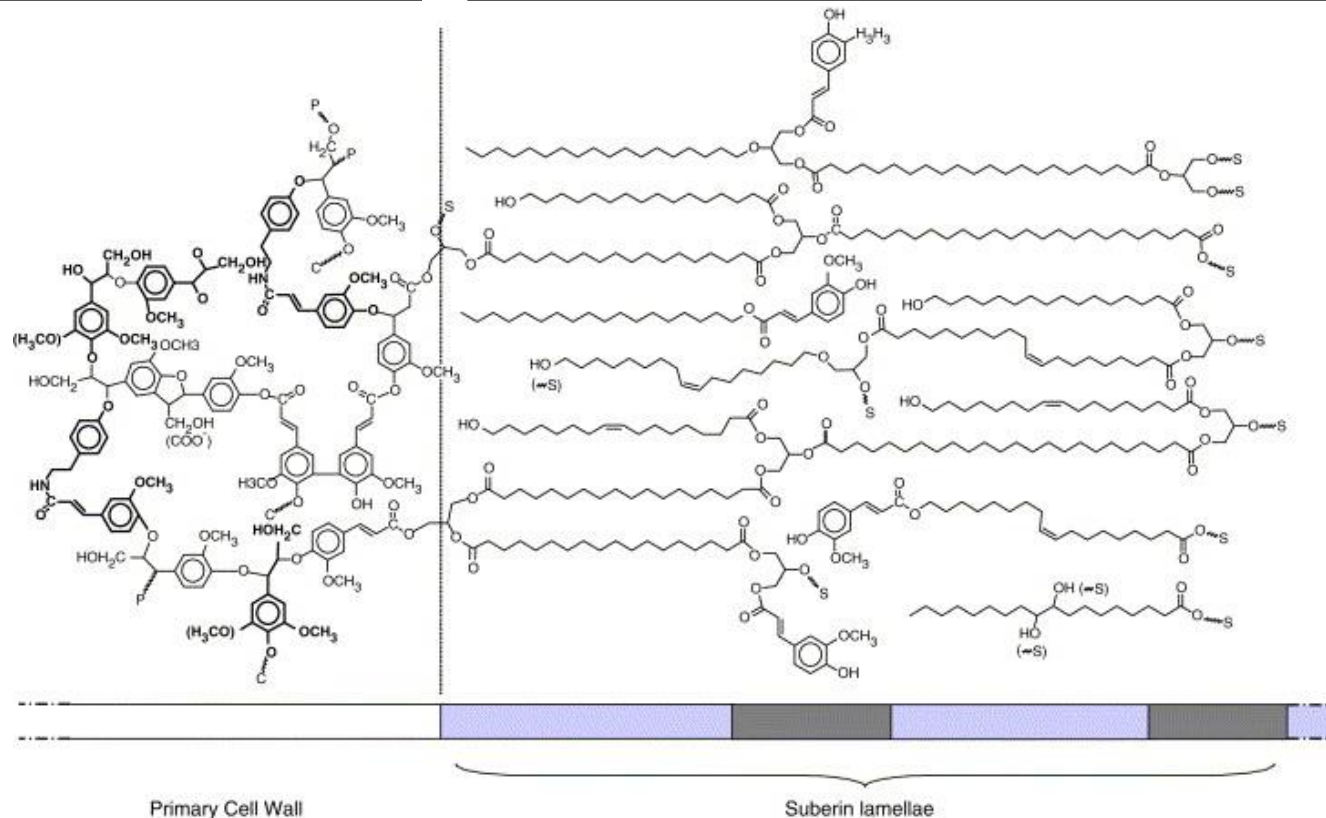
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-55193-9>



Suberin

Buněčná stěna

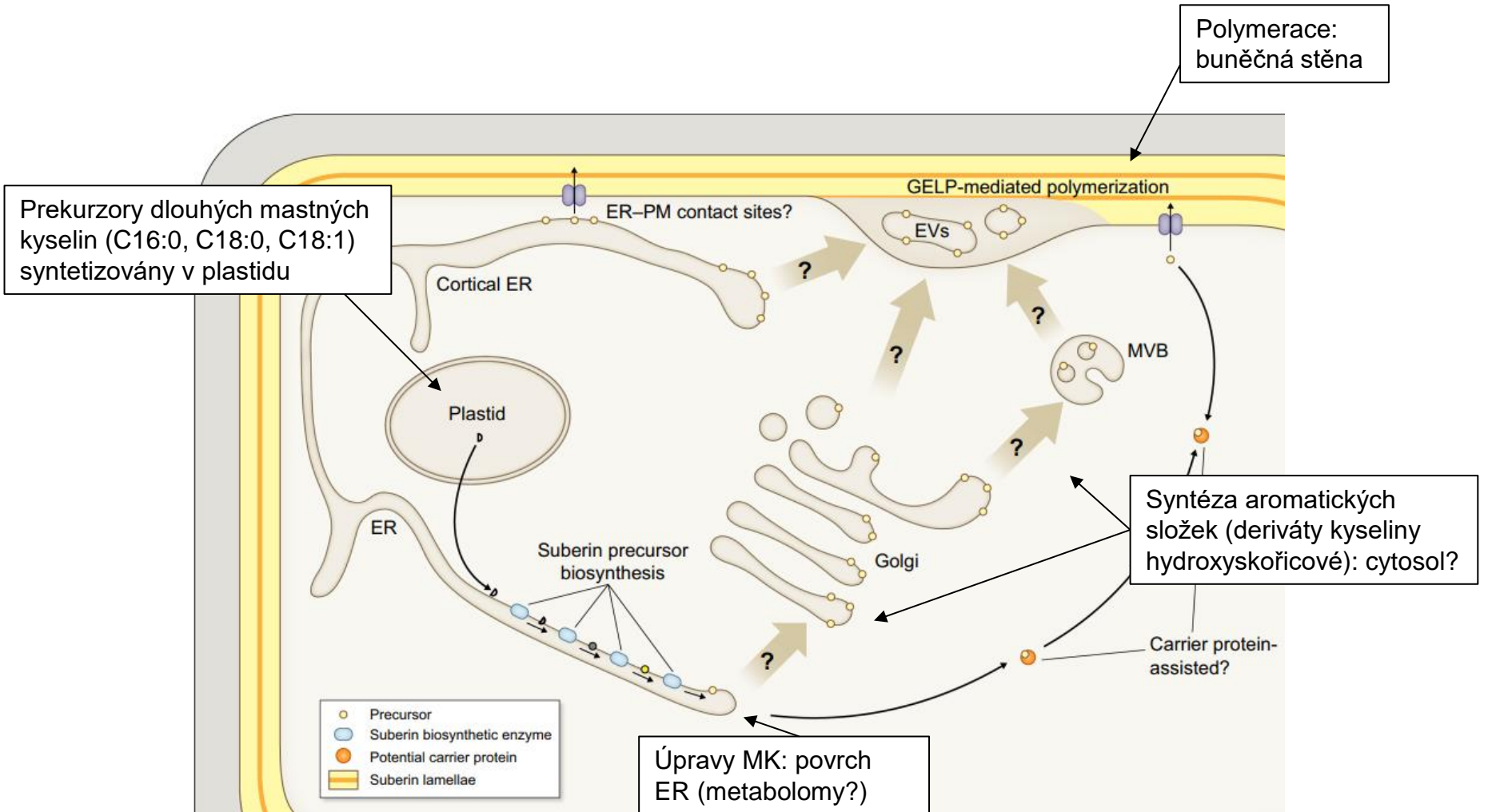
prostor mezi primární BS a membránou



Tentative model of potato suberin. The poly(phenolic) domain, shown at left, is thought to be associated with the primary cell wall, while the poly(aliphatic) domain is thought to reside between the cell wall and plasma membrane. The poly(phenolic) domain resembles a lignin-like macromolecule, albeit with a unique chemical composition. The poly(aliphatic) domain is depicted as a glycerol-bridged linear polymer, with associated waxes. The two domains are thought to be linked via glycerol. Adapted from Bernards, 2002, *Can.J.Bot.* 80:227-240.

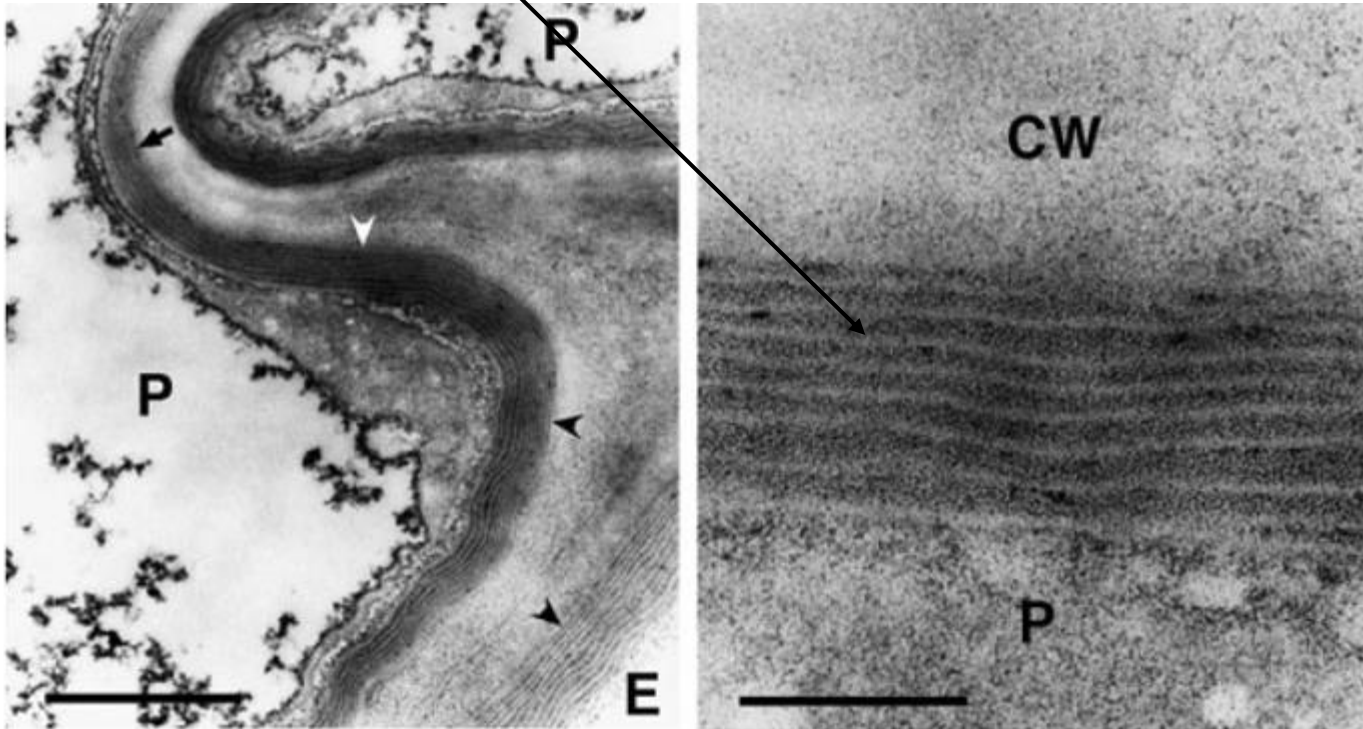
Suberin

- syntéza a doprava do BS



Suberin

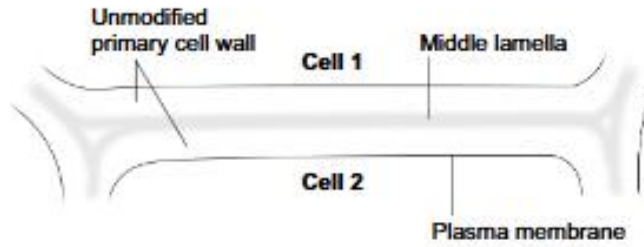
Suberin vytváří lamelovité struktury mezi buněčnou stěnou a plazmatickou membránou.



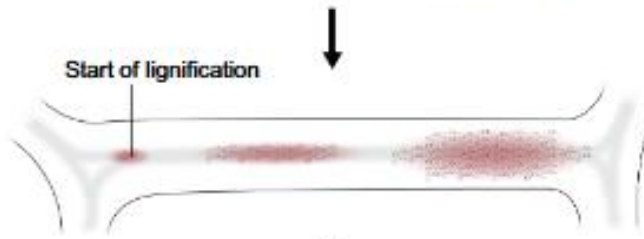
Ultrastruktura suberinizované buněčné stěny buněk kořene *Arabidopsis*. E: endodermální buňka, P: peridermální buňka, CW: buněčná stěna.

Suberin:
model
ukládání
suberinu a
ligninu v
buněčných
stěnách

(a) Unmodified cell wall



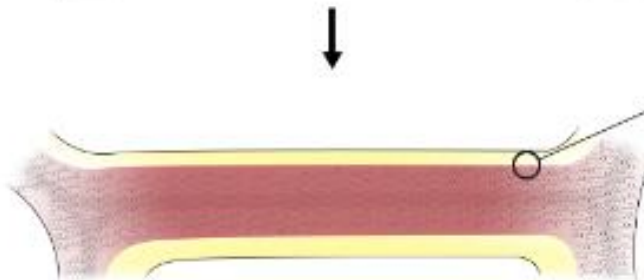
(b) Beginning of lignification



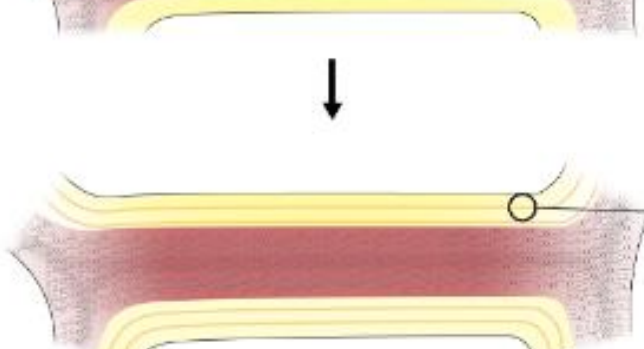
(c) Completed primary wall lignification



(d) Initiation of suberin deposition



(e) Suberin lamellae growth



Suberin

Výskyt:

Deponován na vnitřní stranu buněčné stěny směrem k plazmatické membráně.

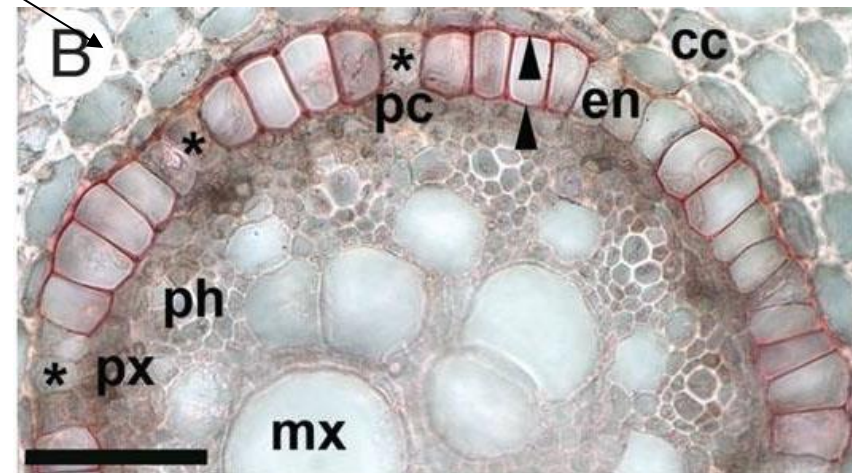
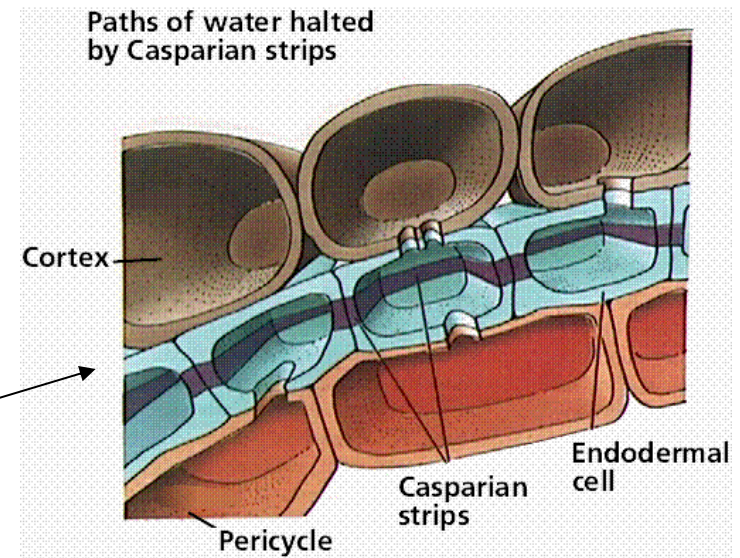
Krycí pletiva – korek (kmeny dřevin), periderm.

V endodermis tvoří Caspariho proužky (apoplastická bariéra).

Obal buněk pochev cévních svazků C4 rostlin (obrana proti difúzi CO₂).

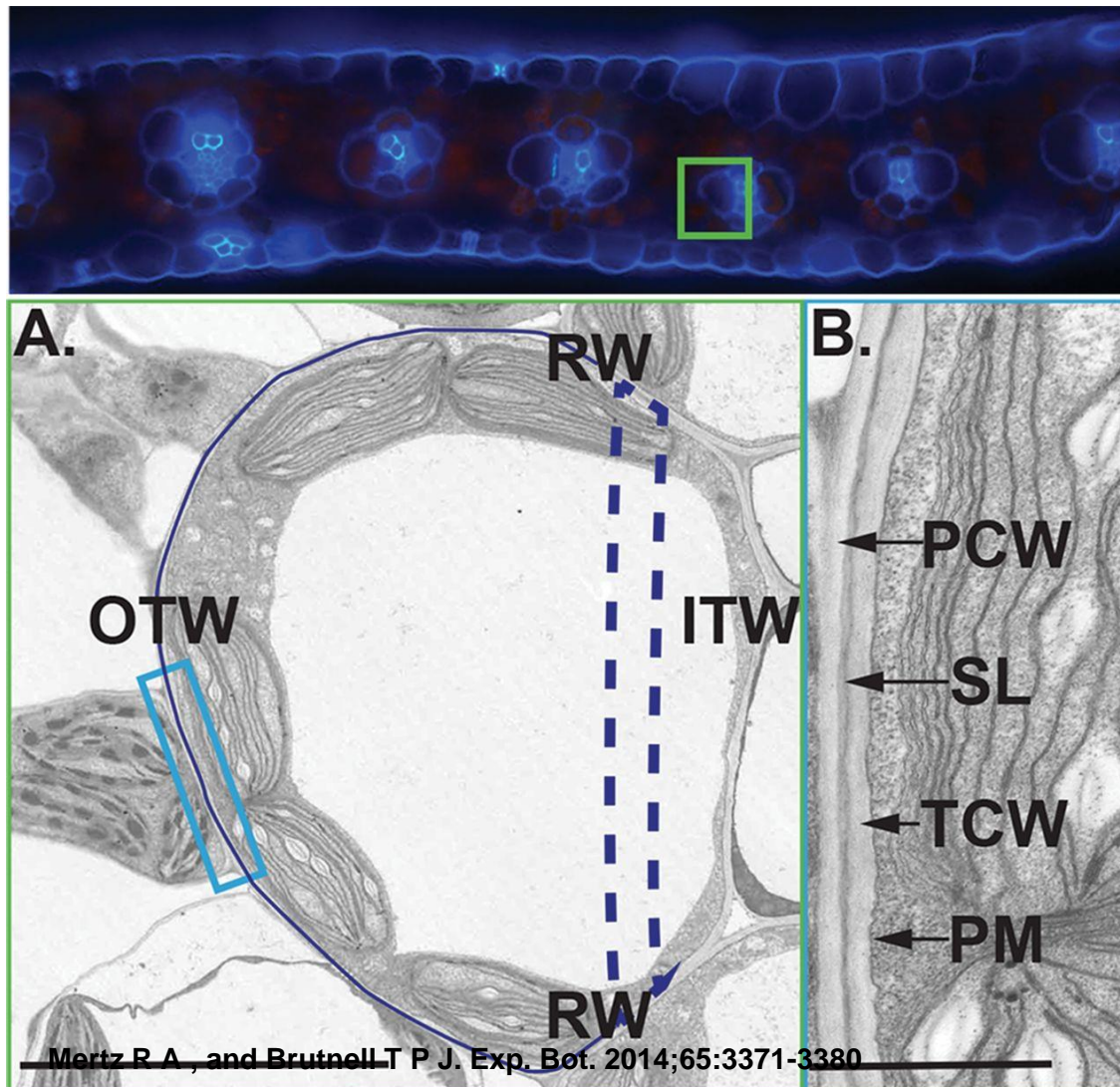
Listová jizva: v buňkách v místě opadu listu se vytváří suberinová vrstva jako ochranná jizva.

Syntéza v odpovědi na poranění (brambora).

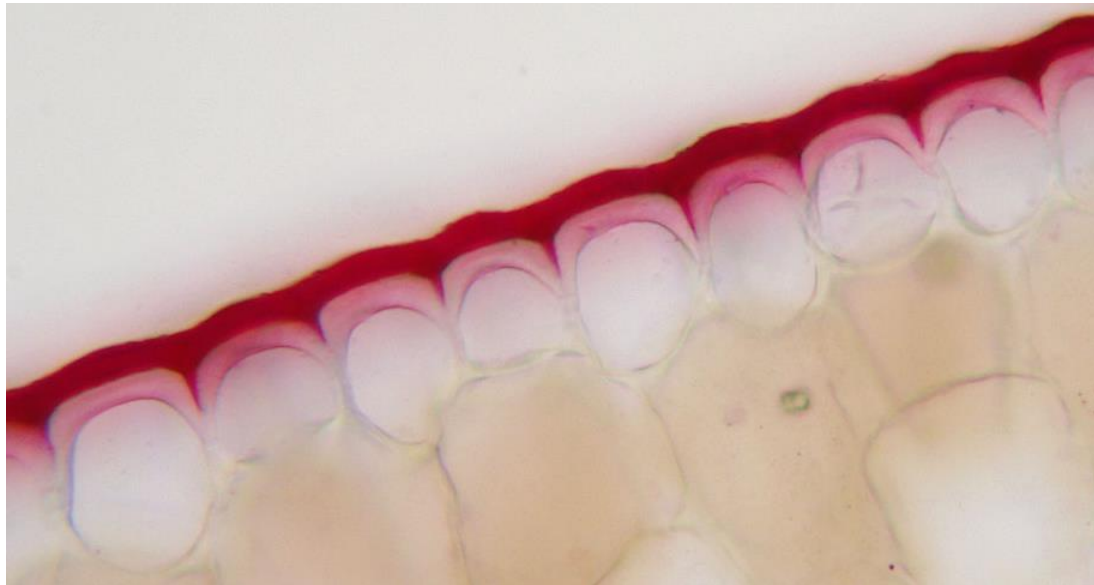


Struktura buňky pochev cévních svazků

Modifikovaný, **suberinu** podobný polymer je ukládán do vnějších buněčných stěn buněk pochev cévních svazků u C4 trav jako bariéra pro difúzi CO_2 z buněk a průniku O_2 do buněk.



Kutikula: kutin + vosky



Pokožka listu klívie s kutikulou s vysokým obsahom lipidů (červená barva)

Kutin

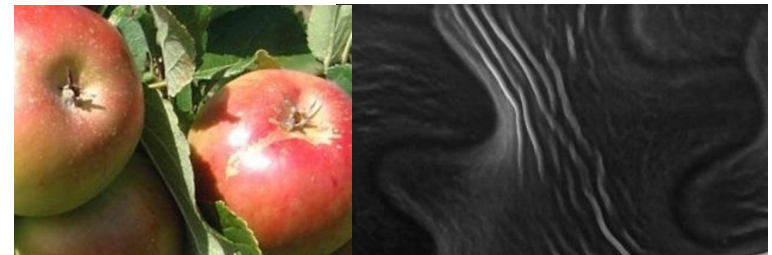
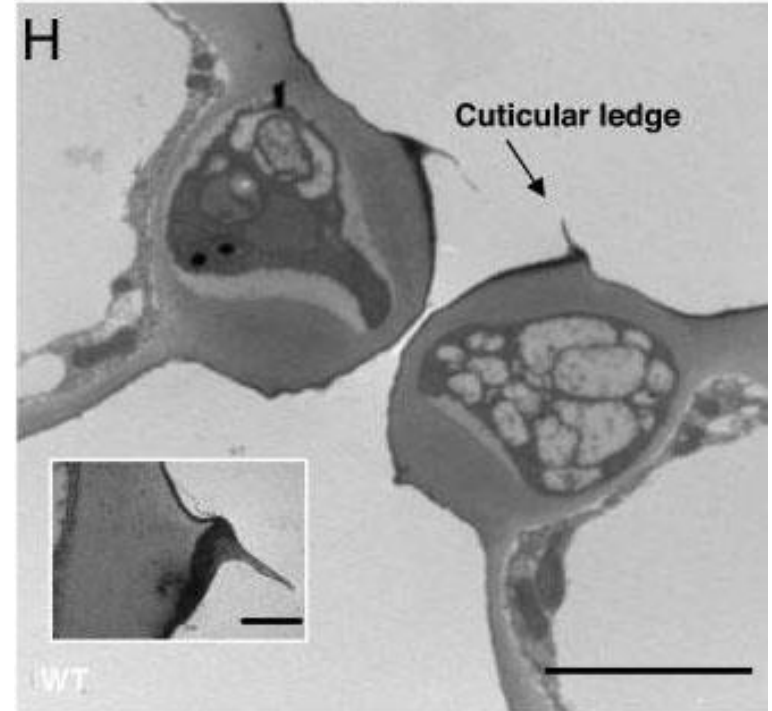
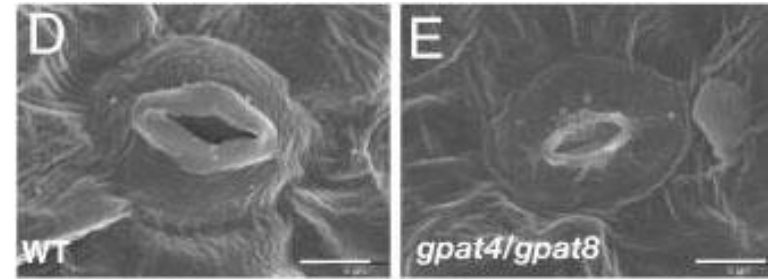
Kutin se ukládá v pokožkových buňkách nadzemní části rostliny:

- na povrch buněčných stěn (kutikula, též typická přítomnost vosků)
- do vnějších vrstev stěny.

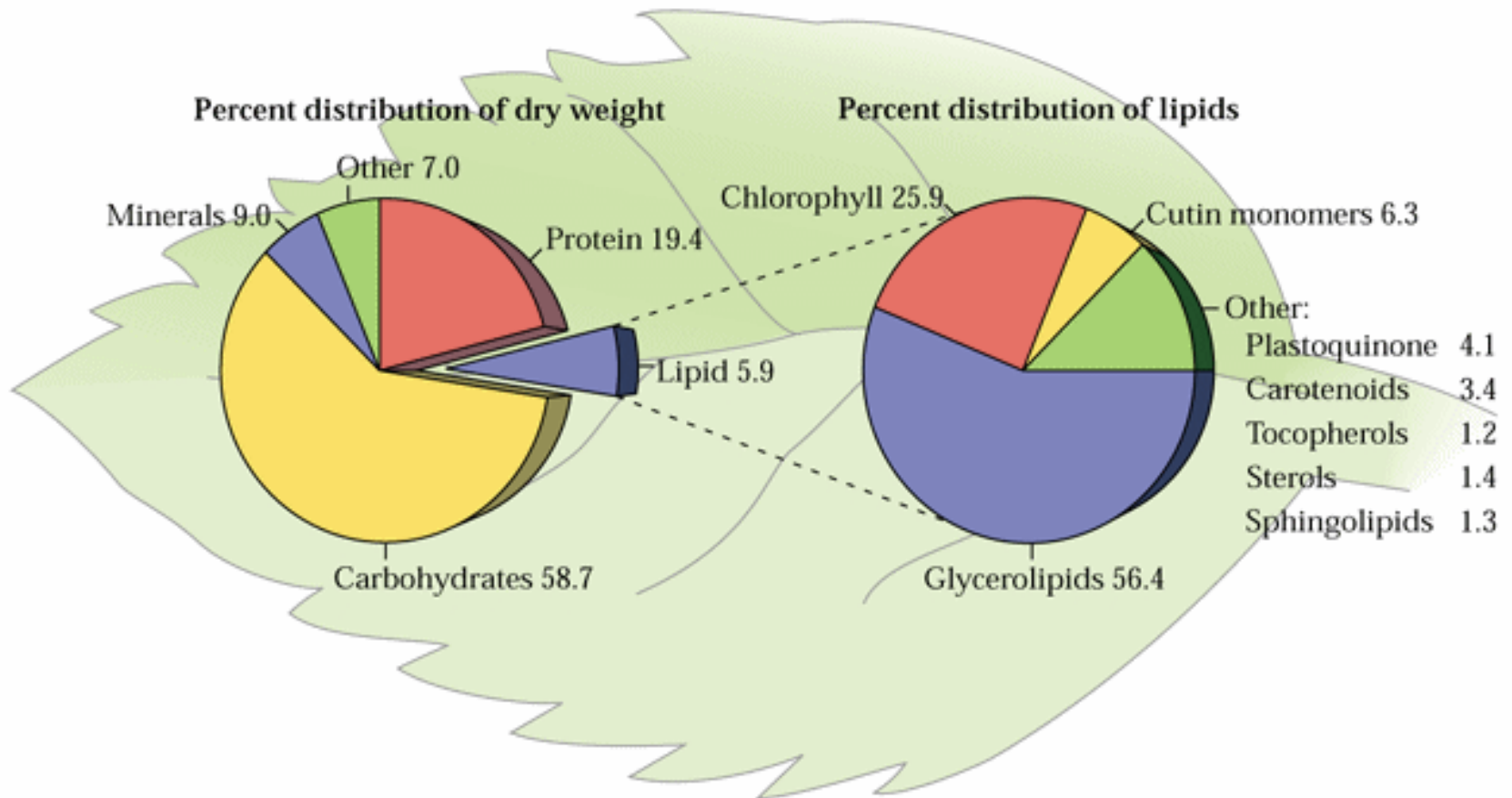
Kombinován s **wosky**.

Tvoří tuhou hydrofobní vrstvu na povrchu krycích pletiv

Elasticita povrchu



Kutin

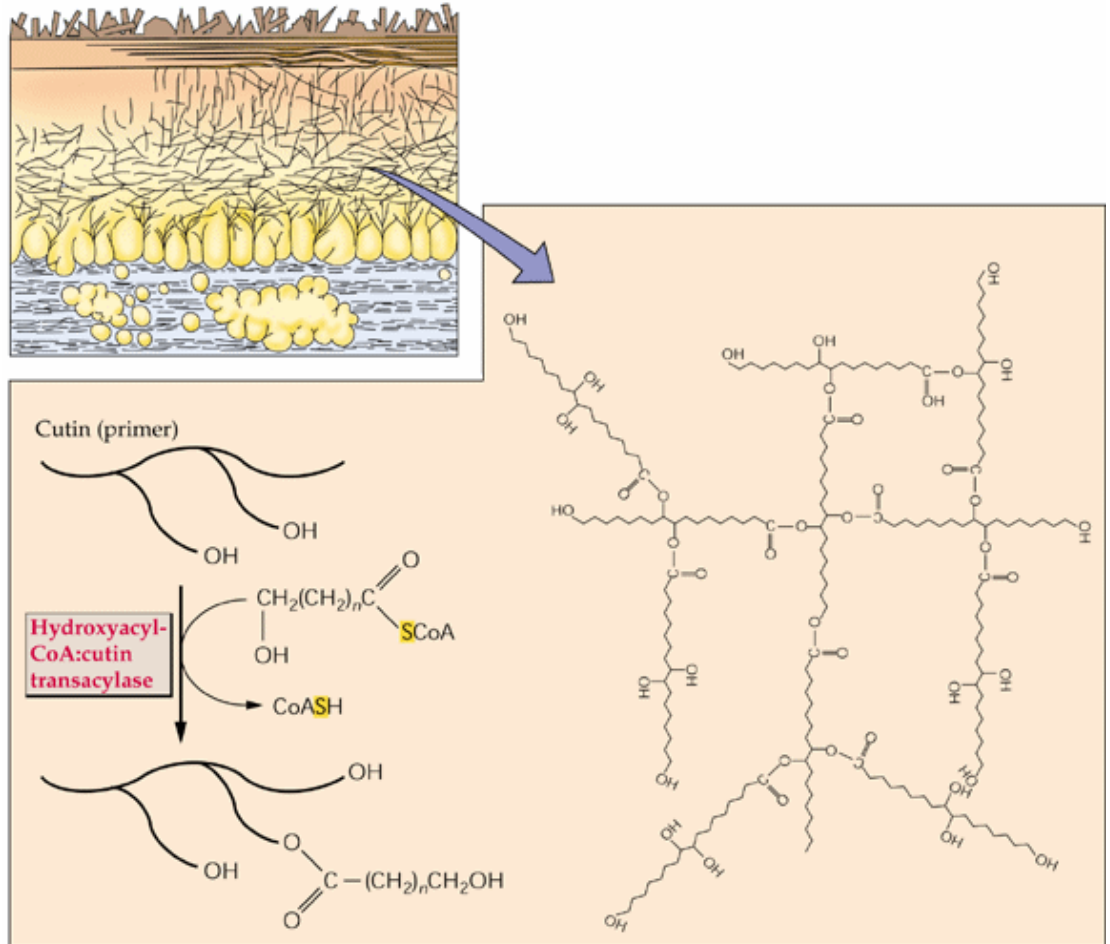


Kutin - syntéza

Monomery kutinu syntetizovány v ER z mastných kyselin

Jsou transportovány do BS, kde acyl transferázy katalyzují syntézu esterů.

Výsledný kutin je polymer tvořený hydroxylovanými mastnými kyselinami C16 a C18, které jsou propojené esterifikací (**lipidový polyester**)



Mechanismus dopravy kutinu a suberinu do buněčné stěny není zcela objasněn

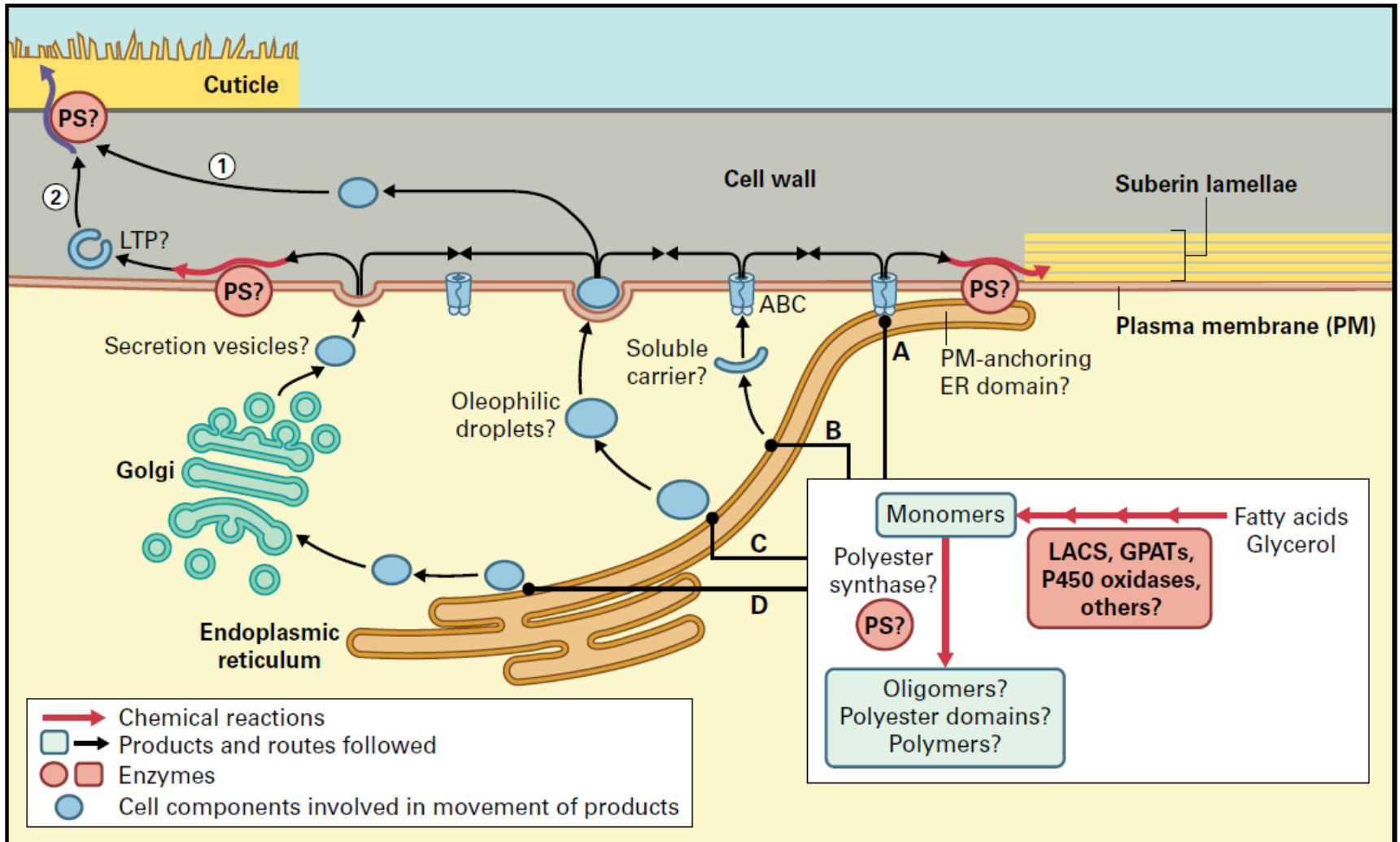


FIGURE 8.54 *Mechanisms and cellular locations of cutin and suberin assembly and deposition. The enzymes of monomer synthesis, including acylglycerol synthesis, are thought to be localized to the ER. Polyester synthases (PS) are broadly defined as enzymes catalyzing the formation of ester bonds between monomers, and also between putative polyester oligomers or domains. Additional enzymes may also anchor the polymers to the cell wall (CW). Four possible mechanisms and associated routes leading from the ER to the external face of the plasma membrane are shown (A–D). In addition, two possible mechanisms of passage of lipophilic precursors from the plasma membrane (PM) through the apoplast to the final site of assembly and deposition are depicted for the case of cutin synthesis (i and ii). Similar mechanisms may be operating for suberin assembly and deposition, but are not shown. The mechanisms are not necessarily mutually exclusive, and not every possibility is shown. (A) PM-anchoring ER domain. This could involve a spatial coupling of monomer synthesis and transport across PM. Transport may be accomplished via an ABC transporter (ABC). (B) Cytoplasmic carrier protein. (C) Oleophilic droplets. Osmophilic particles have been observed in the outer CW of rapidly expanding epidermis and could constitute oleophilic droplets on their way to the cuticle. These droplets could originate from ER, in a way similar to the budding process proposed for the ontogeny of seed oil-bodies. (D) Golgi-mediated secretion vesicle mechanism. This would be a likely possibility if polyester domains or polymers were formed in the ER or if polyesters were attached to polysaccharides inside the cell. It is also possible that a polyester attachment site is added intracellularly to CW polysaccharides. Mechanisms (A) and (B) would most likely accommodate transport of monomers or oligomers. By contrast, mechanisms (C) and (D) could also accommodate polymer domains. (1) Unchaperoned movement of lipidic precursors or oleophilic droplets across the apoplast. (2) Movement of monomers, oligomers or polymers bound to a protein carrier (e.g., lipid transfer proteins) or after attachment to a carrier such as a CW polysaccharide.*

Vosky

Vyskytují se velmi často společně se suberinem a kutinem:

Epikutikulární a Intrakutikulární vosky

Hlavní látky zajišťující ochranu před **ztrátou vody**

Směsi dlouhých řetězců karbohydrátů, aldehydů, alkoholů, kyselin a esterů, odvozených téměř vždy od MK – látky lipidického charakteru



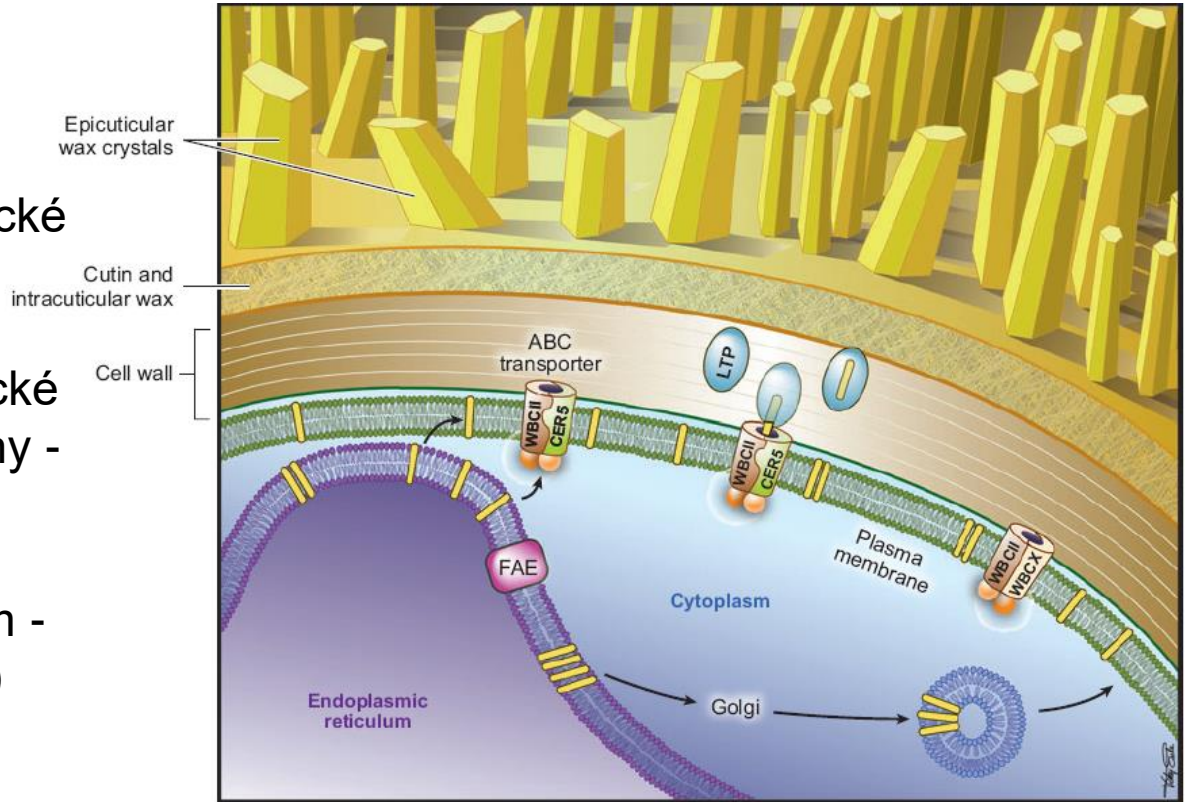
Vosky - syntéza

Syntéza v ER z C16 a C18
mastných kyselin.

Transport z ER do plazmatické
membrány - ?

Transport vosků z plazmatické
membrány do buněčné stěny -
ABC transportéry

Transport vosků apoplastem -
Lipid transfer proteiny (LTP)

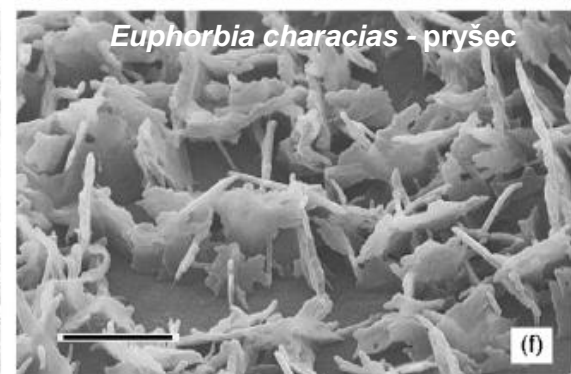
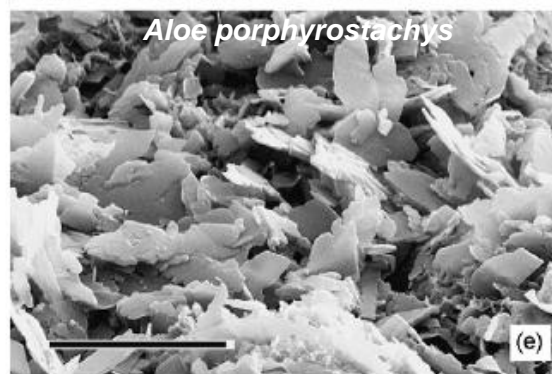
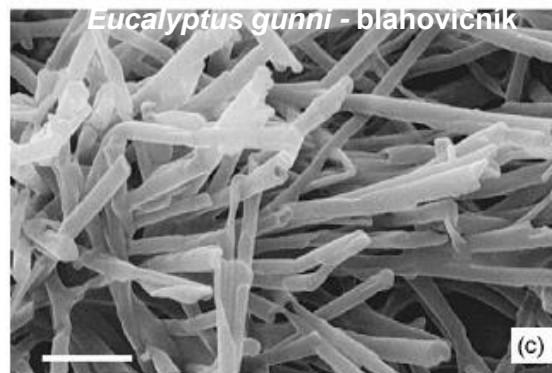
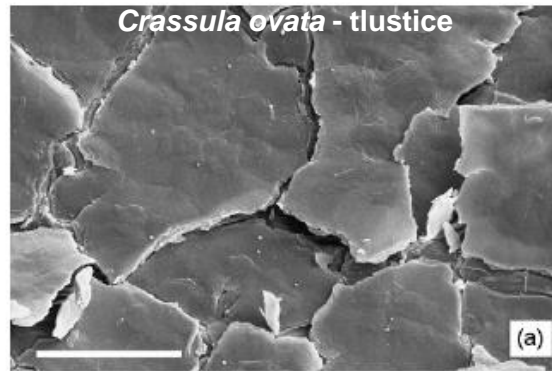


Vosky - funkce

Intrakutikulární
vosky: zamezení
ztrátám vody

Epikutikulární vosky:
hydrofobicita povrchů
a odrazivost

Tvoří často na povrchu
krystaly a složité
struktury (3D krystaly)



Micron 39 (2008) 759–772

Role kutikuly (kutin + vosky):

Zamezení ztrátám vody

Zamezení průniku patogenů

Odrazivost

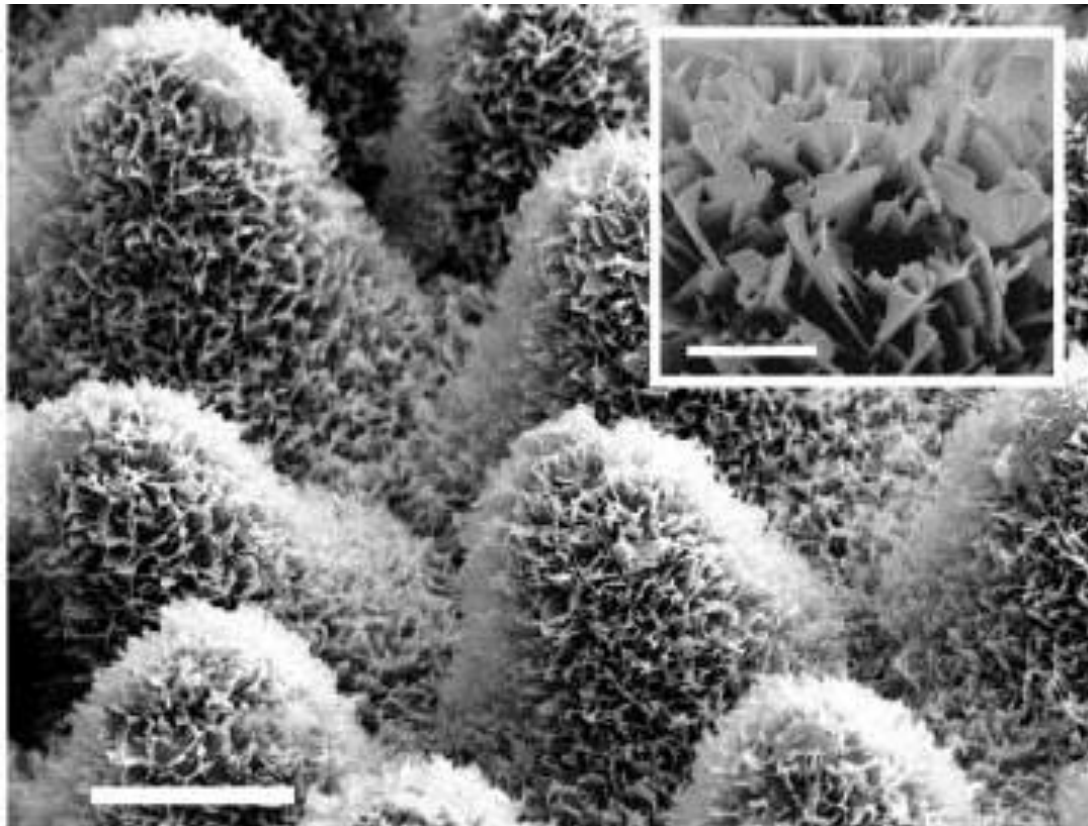
Mechanická pevnost krycích pletiv

Zamezení smáčení povrchů

Samočistící povrchy (superhydrofobicita)

Superhydrofóbní povrchy rostlin

- Povrchy rostlin, které jsou strukturovány tak, aby byly dokonale nesmáčivé (lotosový efekt).
- Často dosahováno „hierarchickým“ uspořádáním povrchů: např. kónický tvar buněk, depozice kutikuly, nanostruktury epikutikulárních vosků.

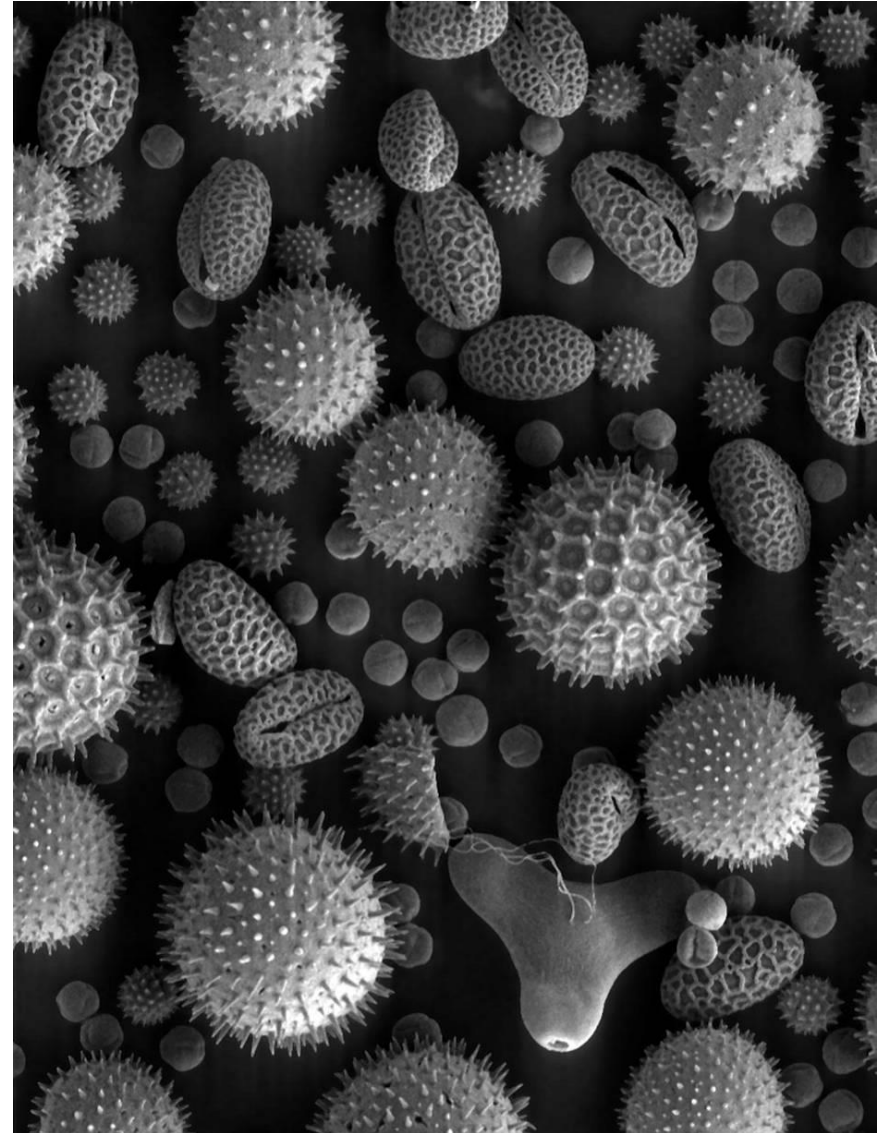


Sporopoleniny – obal pylových zrn

Exina: buněčná stěna zralého pylu složená ze sporopoleninů

Sporopoleniny: polymery mastných kyselin a fenylpropanových derivátů

Výjimečná odolnost vůči degradaci (pylová analýza sedimentů), role v opylení.



Inkrustace buněčných stěn

Depozice anorganických složek do buněčné stěny

Nejčastěji jsou to křemičitany (trávy, přesličky, ostřice) a uhličitan vápenatý



Jerome Prohaska, 2007,

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Urtica_dioica_stinging_hair.jpg

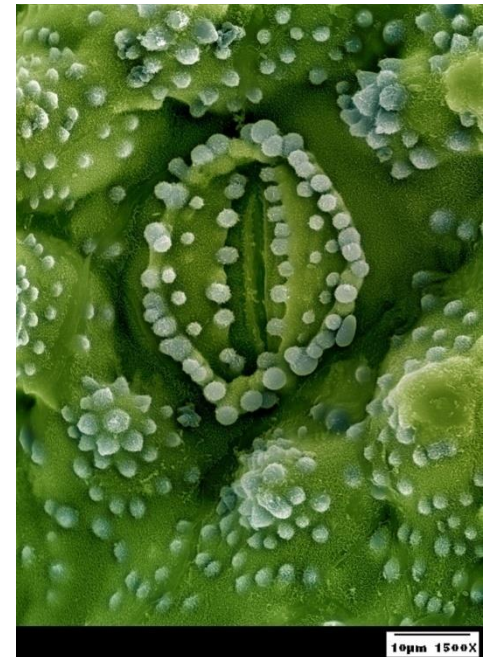


Image Credit: Ryan McMillen,
Southern Illinois University,
Date Created: 2/6/2006

Plasmodesmy

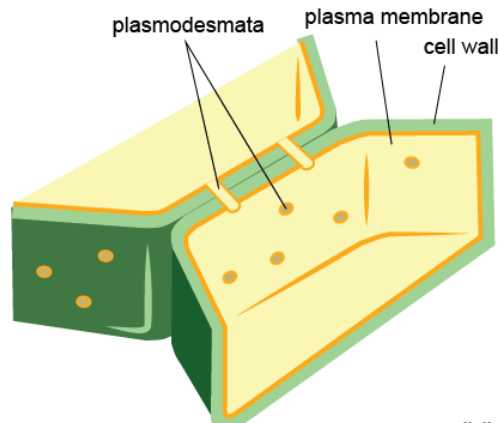
(j.č. plasmodesmus, m.r., skloňujeme jako *hrad*)

Symplastické spojení mezi protoplasty rostlinných buněk

Plasmodesmy jsou tvořeny kanálky skrze buněčnou stěnu o průměru 40-50 nm.

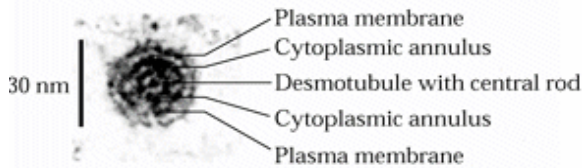
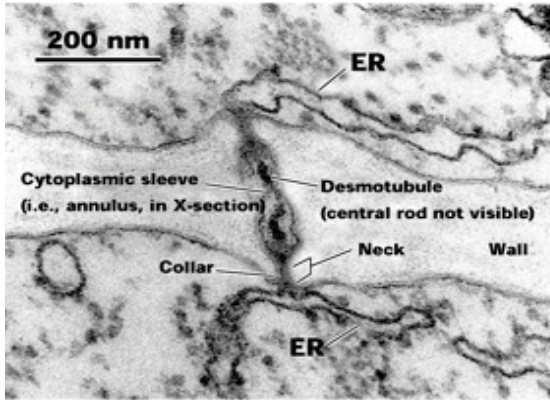
Plasmodesmy propojují téměř všechny buňky v rostlině s výjimkou:

- spojení mezi sporofytem a gametofytem,
- mezi mateřskými pletivy a embryem,
- mezi svěracími buňkami a epidermálními b
- mezi komplexem sítkovic/doprovodných buněk sítkovic a ostatními buňkami na cestě od zdroje k sinku

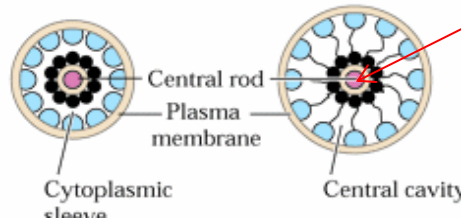
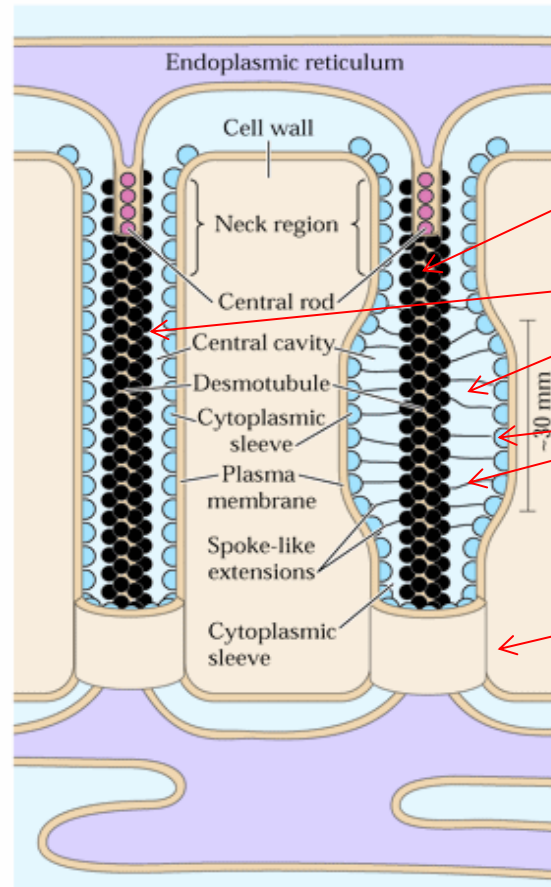


Plasmodesmy - struktura

(A)



(B)



Desmotubulus (těsně sbalené membrány ER)

Cytoplazmatický rukáv

Globulární proteiny a příčné spojky

Krček a centrální kavita

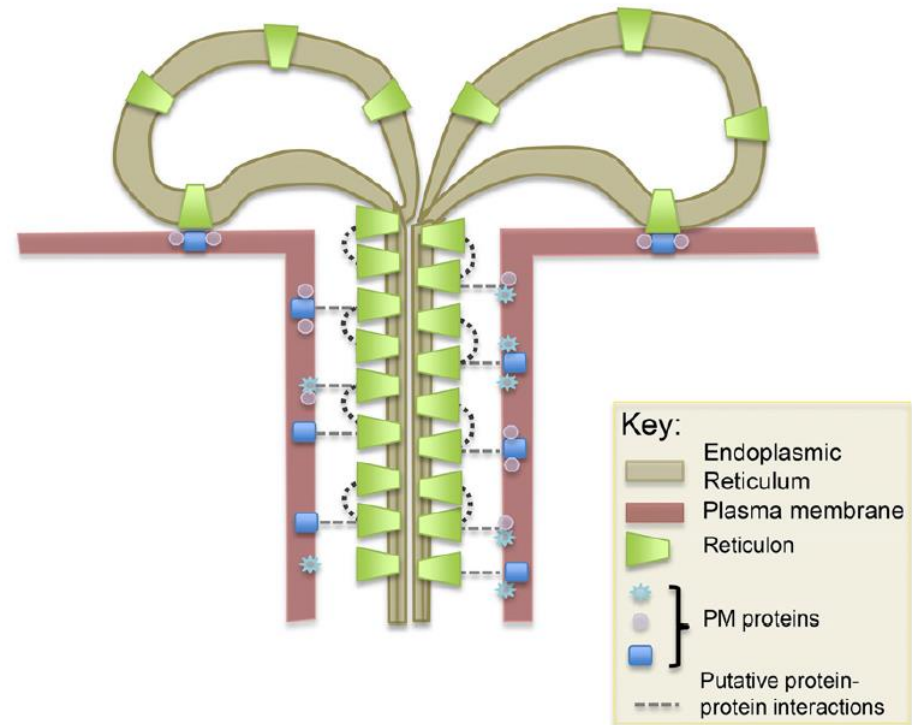
Límeček

Centrální tyčinka

Plasmodesmy - struktura

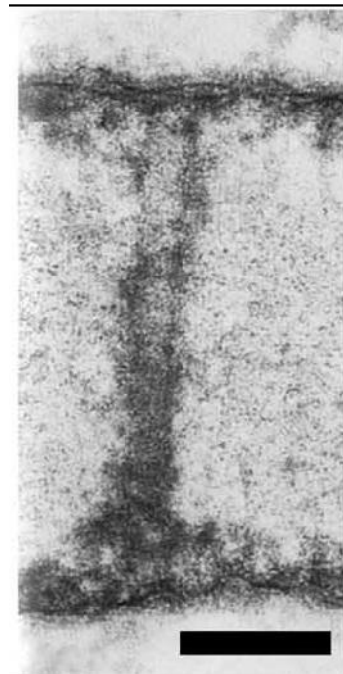
Plazmatická membrána v PD má zvýšený obsah sterolů a sfingolipidů s velmi dlouhými saturevanými mastnými kyselinami – složení podobné membránovým mikrodoménám se sníženou tekutostí.

Desmotubulus, membránová tyčinkovitá struktura odvozená od ER, obsahuje specifické retikulumy.

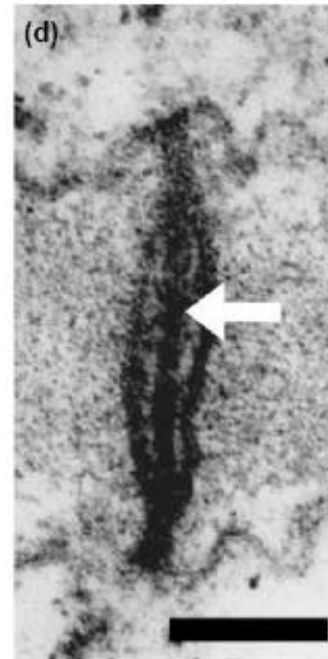


Plasmodesmy – struktura

Plasmodesmus řas má jednodušší strukturu



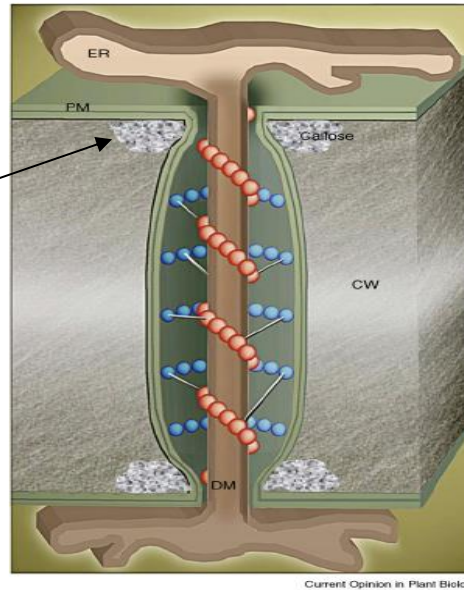
PD řasy Chara
(bez desmotubulu)



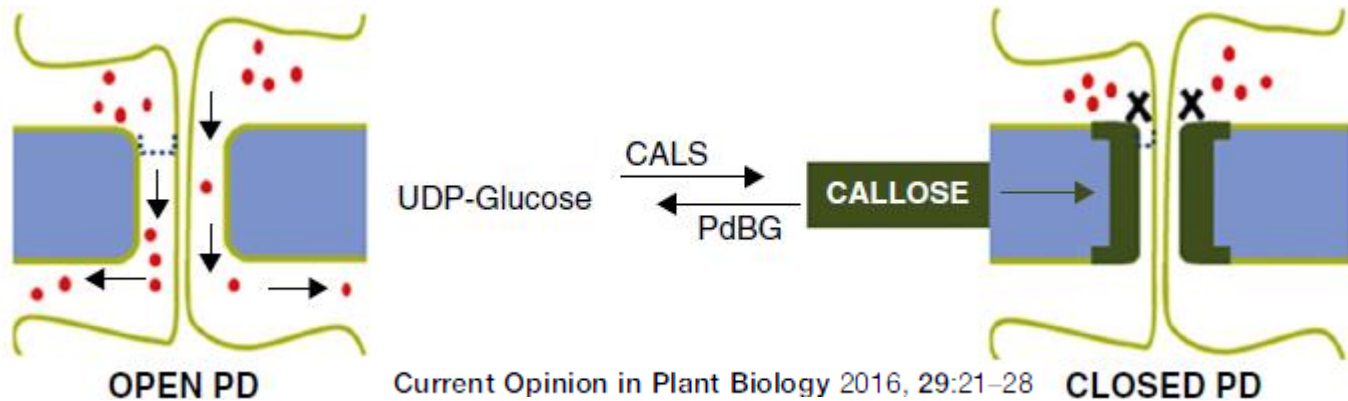
PD tabáku

Plasmodesmy - struktura

Kalóza v krčku
buněčné stěny



Transport skrze PD je regulován ukládáním kalózy v přilehlé buněčné stěně (CALS, kalóza syntázy) a degradací kalózy (PdBG, β -1,3 glukonázy v PD)



Plasmodesmy - funkce

Pasivní transport: cytoplazmatický rukáv a membrány ER

Aktivní transport: předpokládáme specifický transport, mechanismus není znám

Prokázán transport:

- metabolitů (mono- a oligosacharidy, aminokyseliny)
- malých RNA
- regulačních proteinů (transkripční faktory regulující vývoj rostlin)
- fytohormonů
- patogenních RNA
- virů

Otevírání a zavírání plasmodesmů:

Zvýšená koncentrace Ca^{2+} iontů – aktivace kalóza syntázy – uzavření plasmodesmů kalózou.

Plasmodesmy - funkce

SEL (size exclusion limit): liší se dle rostliny, buňky a vývojového stádia, typicky mezi 0,4 a 10 kDa.

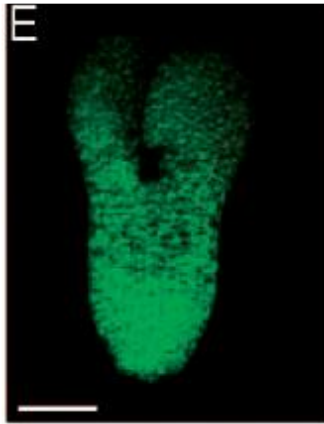
Proteiny regulující SEL:

Protein	Plasmodesmata modification	Function
Virus		
Several viral MPs and CPs	SEL regulation	RNA trafficking
Groundnut rosette virus (ORF3)	–	Long-distance RNA trafficking
Plant		
Assorted transcription factors	–	–
CmPP16	SEL regulation	Long-distance RNA trafficking
CmPP36	SEL regulation	Phloem movement (when proteolytically cleaved)
CmNACP	SEL regulation	Long-distance developmental signaling, shoot meristem function
HSP70 (from phloem exudate)	SEL regulation	Protein trafficking
PP1, PP2 (from phloem)	SEL regulation	RNA interaction
SUT1	–	Protein trafficking (CC-SE only)
Thioredoxin h	SEL regulation	–
Assorted phloem proteins	SEL regulation	Protein trafficking
ISE 1	SEL regulation	–

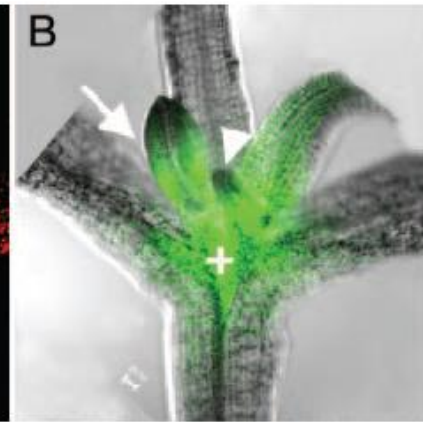
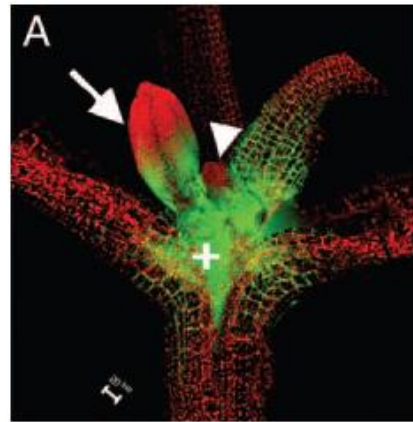
Plasmodesmy – funkce

Změna SEL během vývoje – důležitý regulační faktor

Expresse GFP v meristematických buňkách a jeho pohyb symplastem:



v embryu



v mladých rostlinách *Arabidopsis*

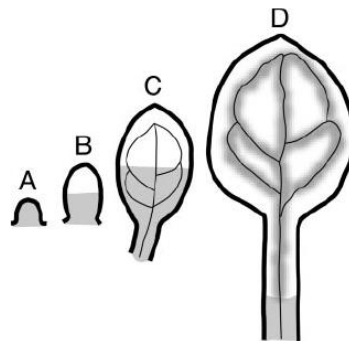
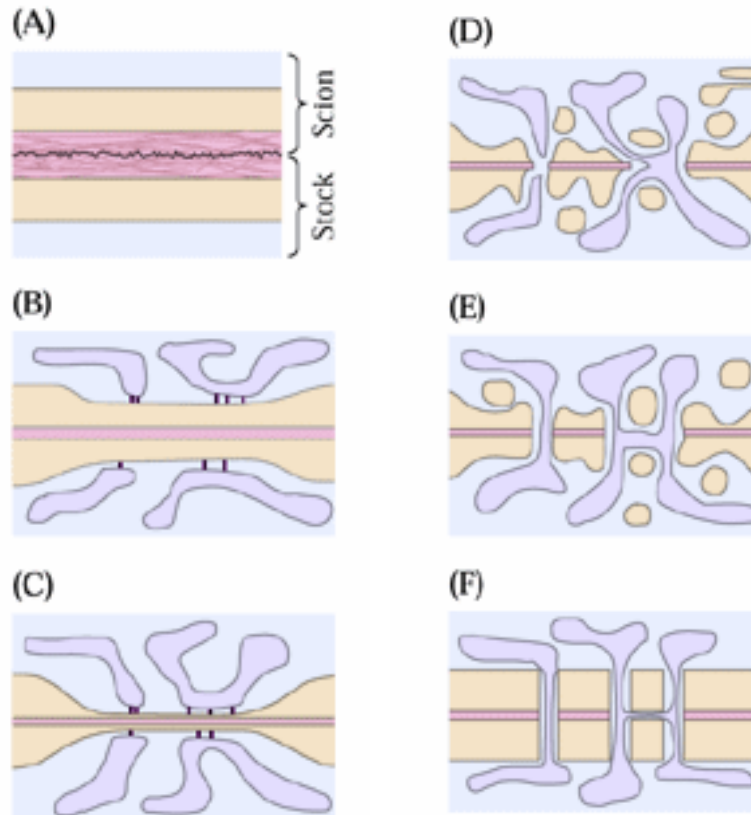


Fig. 5. Diagram of sGFP movement pattern during leaf development. (A) Leaf primordia allow the movement of 1×sGFP from the SAM. Younger leaves without (B) and with (C) visible vein structures allow 1×sGFP movement throughout the basal half of leaf blades. (D) Older leaves with elongated petioles allow the sGFP (1× and 2×) movement through vascular tissues and leaf veins and the basal part of petioles closer to the SAM.

Vznik a zánik plasmodesmů

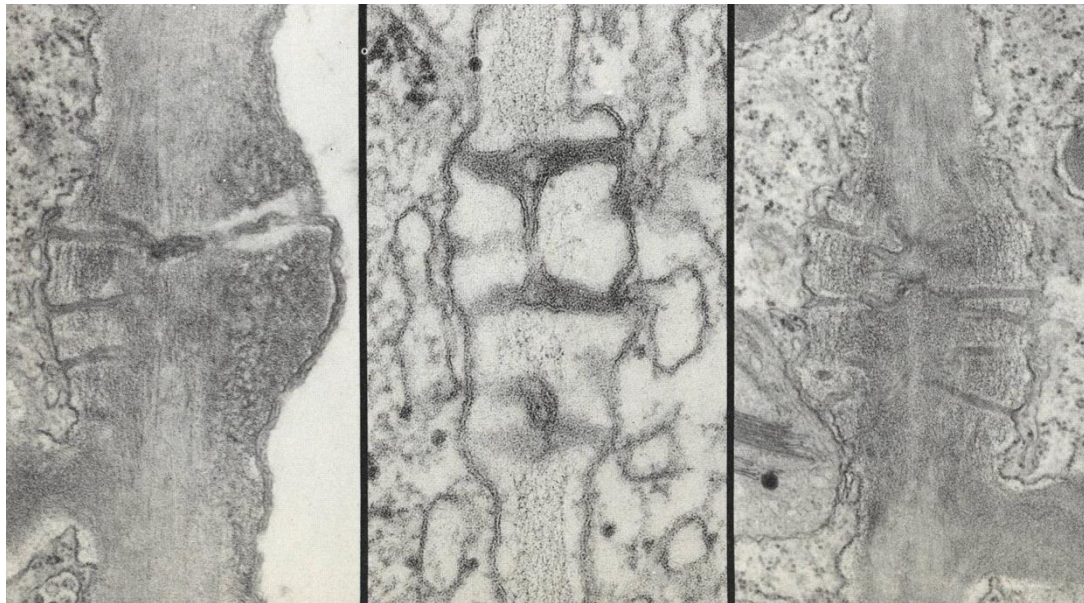
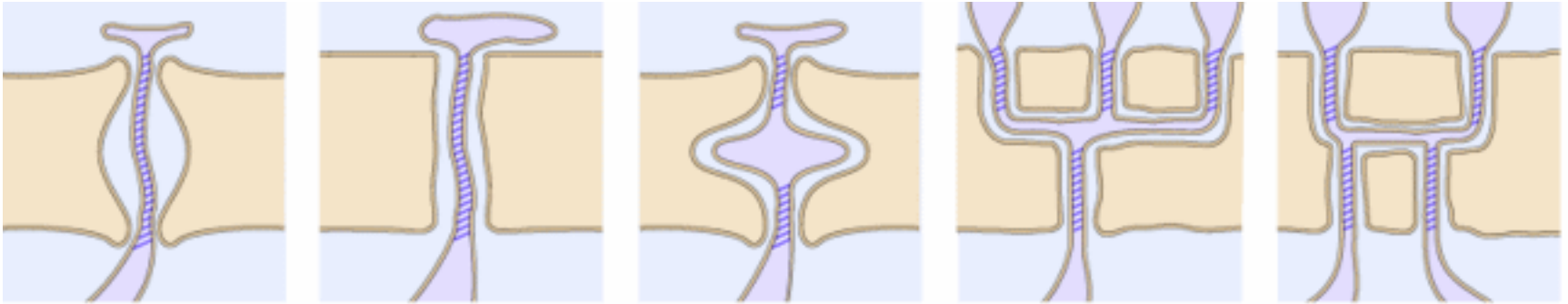
Primární plasmodesmy: vznik během dělení buněk

Sekundární plasmodesmy: tvoří se v již existující buněčné stěně:



Zánik plasmodesmů: uzavření nebo úplné odstranění plasmodesmů během vývoje

Plasmodesmy - struktura



Proteiny identifikované v plasmodesmech

Table 1. Proteins associated with plasmodesmata (PD).

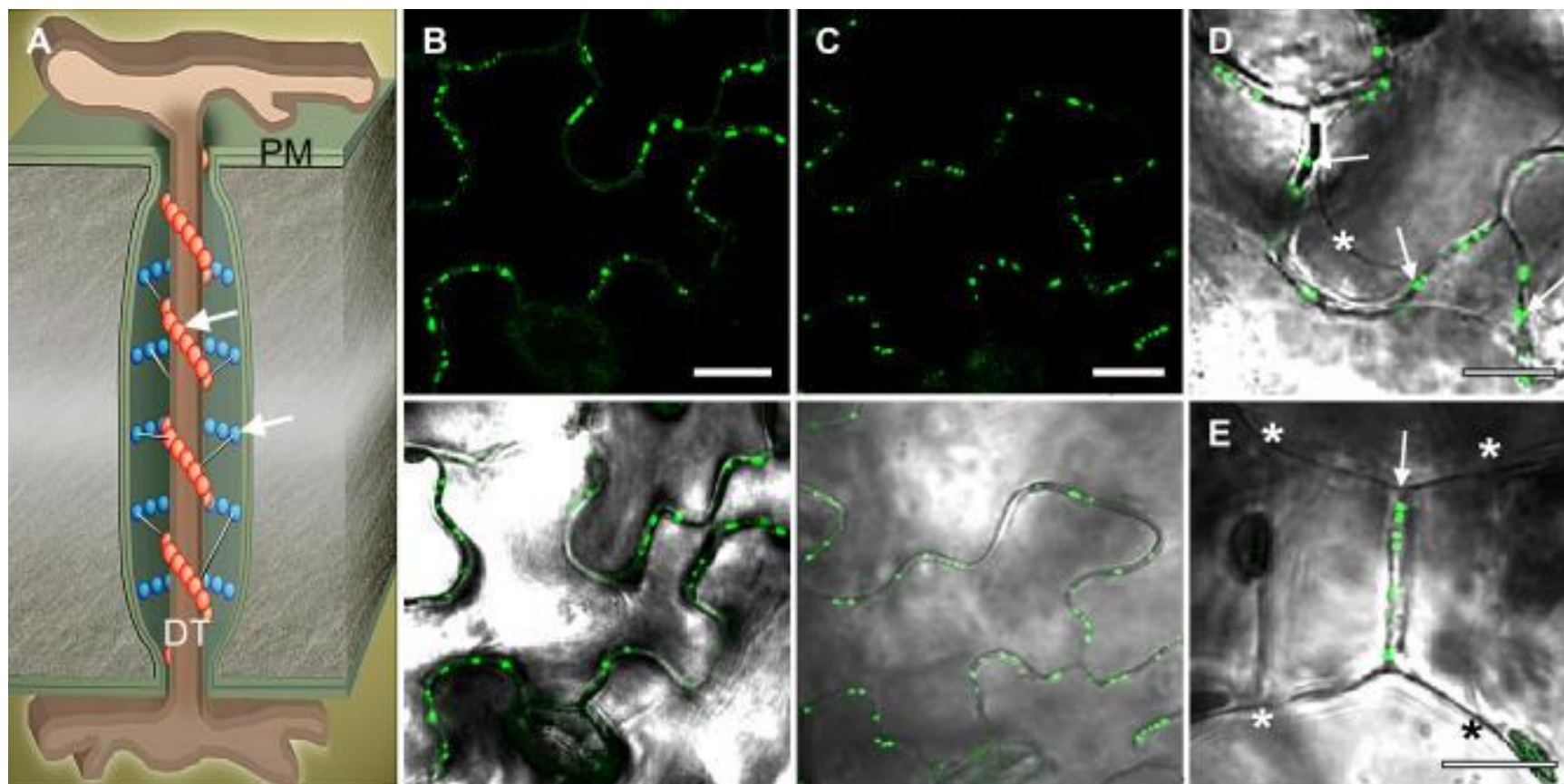
Gene	Protein Function	Method	Biological Function	References
<i>Actin</i>	Cell cytoskeleton	Immunolocalization	PD structure component	[49,50,51]
<i>Myosin</i>	Cell cytoskeleton	Immunolocalization	PD structure component	[46,51,52]
<i>Tubulin</i>	Cell cytoskeleton	Immunolocalization	PD structure component	[51]
<i>GSL8</i> (<i>CALS10</i>)	Callose synthase	Genetics and cell biology	Callose deposition and auxin response	[53]
<i>GSL12</i> (<i>CALS3</i>)	Callose synthase	Genetics and cell biology	Callose deposition and phloem development	[36]
<i>PDBGs</i> (<i>AtBG_ppap</i>)	β -1,3-glucanase	Proteomics and cell biology	Callose degradation and lateral root development	[28,54,55]
<i>PDCBs</i>	Callose binding protein	Proteomics and cell biology	PD localization and callose stabilization at neck region	[29]
<i>PDLPs</i>	Transmembrane receptor-like protein kinase	Proteomics and cell biology	SAR- and SA-induced callose accumulation	[55,56,57,58,59]

[10.3390/ijms20122946](https://doi.org/10.3390/ijms20122946)

Cytoskelet: prozatím neznámé funkce

Enzymy pro metabolismus kalózy: regulace velikosti plasmodesmů

Lokalizace PDLP1-GFP



PLoS Biol. 2008 Jan;6(1):e7.

Shrnutí:

Složení buněčné stěny:

- Polysacharidy (typy, složení, funkce, syntéza)
- Fenolické látky
- Proteiny strukturní, enzymy

Modifikace buněčné stěny (typy, struktura, složení, funkce, syntéza)

Mechanismy růstu a zastavení růstu buněčné stěny

Primární versus sekundární buněčná stěna,
Buněčná stěna typu I a II.

Plasmodesmy