

CYTOSKELET

Cytoplasma

- = prostor mezi organelami, inkluzemi, ribozomy a jádrem = cytoplasma/cytosol atd.
- vysoce uspořádaná struktura – v některých řasách existují 2 fáze – fluidní, gelovitá; obecně viskózní až gelovitý charakter (může se lišit u buněk) + dána existencí cytoskeletu
- metabolicky významný kompartment
- většina vlastností dána existencí cytoskeletu → zajišťuje pohyb organel; kompartmentace metabolických dějů
- = místo syntézy sacharózy, umístění enzymů, syntézy četných sekundárních metabolitů

CYTOSKELET

= 3D síť proteinových vláken EB; vysoce dynamický systém! (nejde o pevnou strukturu)

- vysoce konzervovaný systém (podjednotky jsou si podobné)
- typicky eukaryot. struktura, nicméně existují prokaryotní předchůdci – viz. FtsZ u bakterií
- intermediární filamenta nesoucí hlavně pevnost – v rostlinných buňkách není
- pokud zabráněno dynamice cytoskeletu → buňka umírá; životně důležitá schopnost de/polymerace cytoskeletu
- charakteristická vysoká konzervovanost cytoskeletárních složek u eukaryot
- **FtsZ** pro dělení bakterií, v dělicím aparátu u semiautonomních organel; více příbuzný

FUNKCE

- **udržení tvaru buněk** – u Žb. přímo; vs. u Rb tvar určen BS – pevná struktura, nicméně stavba BS je dána uložením cytoskeletu; i tvar Rostlinné B. je do jisté míry dán tvarem cytoskeletu!
- **pohyb organel** - u Rb nesmírně důležitý pohyb chloroplastů – odpověď na vnější světelné podmínky; pohyb jádra při dělení → *CYKLÓZA = cytoplazmatické proudění ←
- **transport vesikulů** – nicméně mezi ER a GA nemusí být podložen transport existencí cytoskeletu – dáno blízkostí těchto kompartmentů; nicméně např. pro exocytózu, endocytózu nezbytný C
- **základ kompartmentace**
- **kompartmentace proteosyntézy – připojení ribozomů; či kompartmentace metabol. drah – připojení enzymů → specifické asociace jak enzymů tak ribozomů**
- **účast pro přenos signálů** – jak v rámci buňky, tak i mezi b. a okolím
- **účast v jaderném dělení** – naprosto konzervované
- **účast v buněčném dělení** = obrovský rozdíl mezi ŽB a RB!! (→ přednáška Morfogeneze)

INTERMEDIÁRNÍ FILAMENTA

- mají průměr cca 25µm (tloušťka „mezi“ → intermediální)
- viz. obr. – geny pro tvorbu složek u rostlin nenalazeny; nicméně Rb mohou mít jiné cesty pro tvorbu fčně stejných struktur
- výjimka laminy (tvoří obal jádra, změna struktury v průběhu dělení) – objev lamin-like proteinů u Rb, příbuznost strukturní, nikoliv sekvenční
- u tabákové buňky z vnitřní strany jaderného obalu pozorovatelné struktury podobné živočišné lamině

MT (MIKROTUBULÁRNÍ CYTOSKELET) a AF (AKTINOVÝ CYTOSKELET)

- vznik polymerací globulárních bílkovinných podjednotek
- dynamické struktury → rychlá de/polymerace
- **polarizovaná vlákna + a – konec**; i globulární podjednotka je polarizovaná → + konec rychleji roste; - konec rychleji depolymeruje nebo je často ukotven
- **monomery váží NTP (=nukleotid trifosfáty) – ATP pro AF; GTP pro MT**
- asociované proteiny zajišťují interakci s prostředím – specificky se váží

SPOLEČNÉ : vláknité polymery (*polymerací); dynamické polymery (neustále polymerují a depolymerují); polarizovaná vlákna; monomery váží NTP; interakci s okolím zajišťují asociované p.

MIKROTUBULY

- **heterodimer – α a β tubulinu** – přikládají se k sobě vždy ve stejném směru → tvorba + a – konce; =trubičky! průměr cca 25 μ m
- vazba mezi podjednotkami – nejsilnější vazba; samy se podjedn. nerozpadnou
- vazba v protofilamentech – oproti sobě vzájemně posunuta – v MT typicky 13 → při rozpadu MT ještě zůstávají protofilamenta u sebe
- vazba mezi protofilamenty nejslabší (v 1mikrotubulu je 13protofilament)
- na + konci většinou MT přirůstá vs. na – je buď stabilizován, nebo depolymeruje

Tubuliny

- β tubulin je konzervovanější – pravděpodobně původnější
- kódováno genovými rodinami – počet genů u R vyšší než u Ž; tubulin z každého genu je trochu jiný → izotypy tubulinu
- + konec podstupuje „mikrotubulární katastrofu“ – dochází k odlupování celých protofilament, která až postupně depolymerují na heterodimery
- polymerace a depolymerace požadují úplně jiné enzymy – nejde o jednoduše opačné jevy → při růstu MT se heterodimery pravidelně přikládají
+ rostlinné buňky = „acentrozomální organismy“ = mikrotubuly nejsou organizovány z jednoho místa jako u živočišné buňky (centrozom), kde vychází z jednoho centra → γ tubulin (= součástí tzv. MTOC, mikrotubuly organizující centra). U RB jsou mikrotubuly organizovány z mnohočetných míst v cytoplasmě (↓).

Nukleace MT

- polymerace a tvorba MT je proces vyžadující energii a faktory (samovolně se netvoří)
- **MTOC = mikrotubuly organizující centra**
 - proteinové komplexy vždy obsahující γ -tubulin → tvoří **γ -tubulin ring complex (TuRC = obsahuje γ -tubulin + další nepříbuzné proteiny) → konzervované složení díky němu → dokáže nukleovat mikrotubuly – lokalizovat je**
 - přináší k sobě jednotlivé tubuliny a umožňují polymeraci
 - mikrotubul zakotven koncem v MTOC = stabilizace
 - **small γ -tubulin complex**
 - **komplexy rozmístěné difuzně v cytoplasmě rostlinných buněk**

Organizace.

- existence 1 centrálního místa, které organizuje tvorbu MT u **Žb. = centrozóm**
- **u Rb. neexistuje 1 centrální organizační místo MT**
- centrozóm obsahuje γ -tubulin. komplexy (na obr. Žb značeno 1 bodem na černobílém obr.)
- **vyšší rostliny acentrozomní organismy**
- nižších R a některých řas: organizace mikrotubulů z centrozómu/bazálního tělíska bičíků
- **v Rb. jsou MTOC distribuována difuzně po buňce**
- **MTOC dispergovaná místa v cytoplasmě** – asociují s MT a mají schopnost je polymerovat, především v kortikální cytoplasmě → umožňují i větvení MT
- po syntéze MT do neorganizované sítě – ty, které jsou ve směru, který b. potřebuje → kortikální MT

BIČÍKY A CILLIE

- polymerace tubuliny v dublety a triplety = základním stavebním prvkem bičků a bazálních tělísek (př. zde triplety)
- **stabilní formy mikrotubulů – bičky, centrioly (součást centrozomu) a bazální tělíška; nemají dynamiku jako cytoplasmatické mikrotubuly**
- bičky – 9 + 2 dublety ve středu; centriola – 9 tripletů
- viz. obr. – centriola součást centrozomu u Žb. – nejčastěji najdeme v b. 2 kolmé na sebe (zdvojení v G1 fázi)
 - bazální tělíška – v místě zakotvení bičku
 - bičky vždy kryty plasmatickou membránou
- u vyšších rostlin se tyto struktury již nevyskytují (buňky se nepohybují a mají pevnou buněčnou stěnu); pohyblivé spermatické buňky pouze u mechů, kapradňorostů, cykasů a jinanu (= „blefaroplast“, nově tvořené MTOC během vývoje spermatických buněk, z blefaroplastu vznikají bazální tělíška a posléze bičky)

MAPs = mikrotubulo asociované proteiny

- vázající – konec (γ -tubulin, Spc98, Spc97) **X** vázající + konec (Váží se na rostoucí konec mt)
 - *EB1* (end-binding protein 1); *CLASP*, *SPIRAL1* (rostlinně specifický)
 - dynamicky interagují s + koncem – starší část MT opouštějí; při depolymeraci se odpojují
 - zajišťují i interakci se strukturami v b.
 - vysoce konzervované
 - **+TIPs** = +konec interagující proteiny
- stabilizující mikrotubuly
 - indukují nukleaci a zvyšují dynamiku MT
 - **indukce svazování – MAP65 rodina proteinů**; umí interagovat s vnější str. MT
 - každý z MAP65-1 vytváří speciální svazky MT = proteiny asociované s mikrotubuly
- destabilizující mikrotubuly
 - **katanin** – schopen štěpit MT na – konci (rozsekává je)
 - živočišný dokáže odštěpovat na – konci u centrozómu → uvolňuje volní konce MT a zvyšuje tak vlastně dynamiku MT
 - Rb – důležité pro organizaci kortikálních MT + elongaci buněk
- motory
 - vyšší rostliny nekódují dynein – translokace k – konci MT
 - **kineziny** – transport ve všech směrech – *obrovská rodina kinezinů u rostlin!, nahrazují fci chybějících dyneinů (-konec mikrotubulů)
 - mitotické kineziny konzervované, ale mají i rostlinné specifické domény

5 MIKROTUBULÁRNÍCH STRUKTUR

- **KORTIKÁLNÍ MIKROTUBULY – v interfázové nedělící se buňce (G1, S až G2 fázi)**
 - kontrola syntézy BS
 - nachází se v kortikální cytoplasmě – těsně přilepeny k plasmatické membráně!!!
 - viz. obr. – kořen *Arabidopsis*
 - obtáčí buňky, transversální (kolmá k ose horizontální b.) a paralelní uspořádání
 - tvoří obrovskou plochu, na kterou mohou být navázány další proteiny
 - viz. obr. – MT propojeny spojkami, které kontrolují paralelní uspořádání
 - MAP65 se přednostně podílí na tvorbě příčných spojek
 - **uspořádání určuje orientaci celulózových mikrofibril v BS** – přímo přes multienzymové komplexy celulóza syntázových komplexů → MT jim brání v pohybu všemi směry, ale směrují je pouze 1 paralelním směrem
 - **fce v syntéze buněčné stěny (celulózy, udávají směr jejího uložení)**

- nicméně existuje i uspořádání mikrofibril na MT nezávislé
- viz. obr. - MT přiloženy těsně k PM; rozety = celulóza syntázové komplexy
- CSI1 protein interaguje jak s MT tak s celulóza syntázovým komplexem
- viz. obr. mutace *A. thaliana* - dochází ke stáčení orgánů na jednu stranu LEFTY – doleva; mutace v α -tubulinu; dimer je tímto nestabilní → stále polymerují ale MT jsou méně stabilní → nedokáží tvořit pravidelně paralelně transversální uspořádání a tvoří pravotočivé uspořádání
 - schéma – růst buněk šikmo do strany
- určující pro kontrolu směru ukládání cellulózních mikrofibril**
- **PPB = PŘEDPROFÁZOVÝ PRSTENEC**
 - tvorba těsně před mitózou – svazek MT v kortikální oblasti v prstencovitém útvaru
 - rozpad před mitózou
 - **vztah k poloze budoucí buněčné přepážky (určení)**
 - *profázní vřeténko* – formace na stále celistvé jaderné membráně; po rozpadu jaderné membrány chytají jednotlivé chromosomy a tvoří klasické mitotické vřeténko
- **MITOTICKÉ VŘETÉNKO**
 - organizace u Žb – ze 2 MTOC
 - u Rb. není centrozóm, nicméně tvoří bipolární vřeténko – póly jsou ale široké, jinak stejné jako u Žb
 - *kinetochory* – makromolek. proteinové komplexy, které interagují s centromerou na chromatidě a MT, který přes centromeru odtahuje chromatidy od sebe
- **FRAGMOPLAST**
 - specializovaná rostlinná struktura
 - lešení v místě centrifugálního růstu nové BS – zajišťuje transport materiálu (více v přednášce Morfogeneze)
- **ENDOPLAZMATICKÉ MT** – nukleované na jaderné membráně a směřují do kortikální cytoplasmy; procházejí endoplazmatickými řetězci

Buněčný cyklus MT

- endosperm – vznik splynutím spermatické b. a jádrem zárodečného vaku
- MT se podílí na vzniku syncytiálního charakteru endospermu – mnoho jader, ale nejsou tvořeny buněčné stěny → pouze dočasně, na konci vývoje endospermu tvorba BS mezi jádry (tzv. celularizace)
- viz. obr. – telofáze – obnova jaderné membrány, ale cytoplasma není rozdělena → jádro organizuje MT na jádře (endoplasmatické) – v místě styku MT pomyslný konec buňky; v místě styku MT 2 buněk – vznik minifragmoplastu – nasyntetizují BS v těchto místech

AKTIN

- globulární aktin G-aktin - monomer; polymerovaný je F-aktin (aktinová filamenta)
- filamentum: pravotočivá šroubovice

Nukleace:

- jeho koncentrace v buňce tak vysoká, že samovolně může polymerovat (u tubulinu opačná situace)
- 3 fáze (viz. obr.)
- tvorba nukleačního jádra – přidávání podjednotek z obou stran → vlákno ve stabilním stavu (na 1 konci přirůstá, na 2. pomalu depolymeruje)

AAPs

- **Arp2/3 komplex** – vazba na stranu aktin. vlákna a větví pod úhlem 70°
- **forminy** – na membráně indukují tvorbu dlouhých AF bez větvení a kotví je na + konci
- **myozin** – molekulární motor, který se pohybuje po aktinu
 - fce – pohyb cytoplasmy (cytoplasmatické proudění) – vždy závislé na AF

Fce aktinu:

- **proudění cytoplasmy – aktomyozinový komplex**
- **pozice organel** – především chloroplastů – u nich v závislosti na světle (kvůli ochraně před nadměrnou ozářeností)
- **apikální růst** – b. přirůstá kontrolovaně na 1 konci
- **vnímání geotropického signálu**
 - viz. obr. – rhizoidy kotví řasu v substrátu, předchůdci kořenů
 - *amyloplasty* fungují jako *statolity* – jsou obaleny vlákny AF, která udržují amyloplasty v určité vzdálenosti od špičky a zajišťují tak schopnost vnímat gravitaci;
 - AF také udržují integritu ER
 - *statocyt* = buňka obsahující statolity a schopna vnímat gravitaci

Ribozómy

- S (Svedberg) – rychlost sedimentace a sacharózovém médiu
- buď volně v cytoplasmě nebo na membránách ER
- tvorba polyzómů