

PLASTIDY

- prominentní organely Rb.
- objev spojen s rozvojem mikroskopie; jedny z prvních pozorovaných organel
- 17. století Antony van Leeuwenhoek – jejich popis v dopise Královské britské vědecké akademii = 1. vědecký popis chloroplastu u řasy *Spirogyra*
- Franz Meyen – 1. pozorování gran ve stromatu chloroplastů (CH)
- Andreas Schimper
 - první užil termín „plastid“ – z řeckého „plastikos“ – tvarovatelný; odráží to jejich typickou schopnost vytvářet různé struktury
 - definice plastidů dle barvy: **leukoplasty** (bezbarvé); **chromoplasty** („červené a žluté“)
 - popis vývoje z **prekurzoru = proplastid**
- Konstantin Mereškovský – rozvinul endosymbiotickou teorii. (Představa byla, že různě zbarvené plastidy vznikly pokaždé jinou endosymbiózou, což bylo později vyvráceno; všechny plastidy pocházejí pravděpodobně z jediné endosymbiotické události (Es) = plastidy jsou monofyletické.
- Emil Heitz – popis gran a jejich diskovité struktury; pozorování z více stran

FUNKCE

- **fotosyntéza (F)**, jak u rostlinných tak i nerostlinných druhů
- **asimilace N a S**
- **zásoba škrobu a olejů**
- **interakce s prostředím** – barva ovoce, květů
- **vnímání gravitace** – jedná se totiž o poměrně těžké organely
- **kontrola zavírání/otevírání svěracích b. průduchů**
- **reakce na světlo** – vnímání signálů z okolí

VZNIK

- úvahy o Es původu – 1. impuls bylo pozorování nezávislého dělení plastidů v b. – přelom 19./20.stol.
- **původ plastidů monofyletický**
- primární Es = primární plastid obsahuje 2 membrány, u nejstarších i výskyt peptidoglykanové vrstvy mezi membránami
- sekundární Es = vznik plastidů i u nerostlinných organismů

viz. obr

- primární Es: nefotosyntetizující eukaryot + pohlí sinici (prokaryot) – její transformace na semiautonomní organelu
- sekund. Es: nefotosyntetizující eukaryot + pohlí eukaryot. b., která již má plastid (řasu) – sekundární endosymbiont velmi redukován až zbyde jen jeho původní plastid (má více obalových membrán). U některých řas (např. *Chlorarachniphyta*, *Cryptomonas*) je zachováno i reziduum jádra eukaryotického endosymbionta- nukleomorf.
- terciární Es: eukaryot. b. s plastidem/ (či sekundárně ztraceným plastidem) + pohlí eukaryota se sekundárním plastidem
- sériová Es: organismus se sekundárním plastidem + pohlí eukaryota s primárním plastidem
→ organismus tak ve výsledku má 2 sekundární plastidy různého původu
- Chromalveolární teorie: předpokládá, že sekundární Es je složitá a stala se max. 1-2x; → sdružení Eukaryot se sekundárním či terciárním plastidem do skupiny Chromalveolata, což by mělo být monofylum; kdy předchůdce pohltil červenou řasu, ze které vznikl sekundární plastid. Existence organismů bez plastidu v Chromalveolární skupině je vysvětlována sekundární ztrátou plastidu. Dnes teorie není přijímána, a Chromalveolata se dělí nejméně do 2 sk., nejsou

tedy monofylum); obecně Es důležitá pro studium evoluce. Stále ale platí, že k sekundárním endosymbiózám došlo v historii spíše málokdy, cca 2-3x.

Recentní endosymbiózy:

- *Paulinella chromophora*
 - prvok kmene Cercozoa má prokaryotního endosymbionta podobného dnešní sinici *Prochlorococcus / Synechococcus* – tvoří **organelu – plastid = cyanela** (ta má vlastní genom, kdy ale 2/3 genů již ztraceno). K endosymbiotické události došlo před cca 60 mil. lety.
 - (Viz <http://www.osel.cz/2120-endosymbioticka-udalost-online.html>, nebo <https://en.wikipedia.org/wiki/Paulinella>)
-
- *Rhopalodia gibba*
 - Endosymbiont podobný sinici *Cyanothece*; tvoří sféroidní tělísko pro fixaci N₂, vznik před cca 25 mil. lety.
 - jinak má i svůj regulérní primární plastid

Sekundární endosymbióza

- klasické plastidy kódují cca 200 proteinů; 1000 – 1300 genů ale přesunuto v eukaryotním jádře pouze pro správnou funkci plastidů → **stopa endosymbiózy = geny původně endosymbionta, které se přesunuly do eukaryotického jádra**; důležitý fylogenetický nástroj

Při sekundární Es bylo nutno do hostitelského organismu přestěhovat i geny eukaryotického jádra endosymbionta; dále nutnost vybudovat transportní mechanismy pro přenos proteinů do sekundárních plastidů přes 3-4 membrány – velmi složité, snad důvod pro málo úspěšných sekundárních endosymbióz.

Všechny organismy říše Archaeplastida (řasy a rostliny) mají pouze primární plastid!!! (veškeré další informace se týkají pouze primárních plastidů řas a rostlin, pokud nebude uvedeno jinak).

Primární plastidy

- mají vždy jen 2 obalové membrány. Vyskytují se u skupin: Glaucophyta, Rhodophyta, zelené rostliny (*Viridiplantae*).
- 2 obalové membrány – mezi nimi **mezimembránový prostor (=1. kompartment)**
- vnitřní membrána ohraničuje **protoplasmatický obsah = stroma** – zde uložena DNA, ribozomy, enzymy Calvinova cyklu; **(2. kompartment)**
- membránová struktura = thylakoidy; thylakoidní membrána uzavírá **3. kompartment = lumen thylakoidu**

Glaucophyta

- mají ještě původní peptidoglykanovou vrstvu mezi dvěma obalovými membránami – ancestrální znak odkazující na stěnu endosymbiotické sinice. Proto se plastid nazývá též **muroplast**
- thylakoidní membrána netvoří grana; thylakoidy koncentrické.
- Složení chlorofylů a existence fykobilisomů a karboxysomu opět blízké sinici.

Rhodophyta

- **plastid = rhodoplast**
- obsah volných thylakoidních membrán
- Složení chlorofylů a existence fykobilisomů blízké sinici

Zelená linie (bereme v potaz chloroplasty) = **zelené řasy, rostliny - Viridiplantae**

Chloroplasty velmi podobné, obsahují chlorofyl a, b; neobsahují již fykobilisomy. Thylakoidy buď volné (většina zelených řas), nebo vytvářejí grana (vyšší rostliny).

Platidy zelených řas:

- Jeden až několik málo velkých plastidů v buňce
- tvar plastidu (chloroplastu) přizpůsoben často tvaru buňky
- fotosyntetický metabolismus stejný jako u vyšších rostlin
- vyvinutý **pyrenoid = bílkovinné tělísko obsahující enzym Rubisco** (= ribulóza-1,5-bisfosfát karboxyláza/oxygenáza). Pyrenoid je struktura sloužící ke zvyšování koncentrace CO₂ v okolí Rubisca (význam viz text o enzymu Rubisco) ve vodním prostředí.
- viz obr. – zvláštní struktura – thylakoidní membrána; pyrenoid obklopen škrobovými zrny, enzymy anhydrázy pro konverzi HCO₃⁻ na CO₂.

Platidy vyšších rostlin:

- mnoho plastidů (chloroplastů) – citlivé na světlo, nutná manipulace s nimi a proto je jednodušší pro b., když je jich mnoho a jsou menší
- liší se u různých typů buněk
- plastidy mají mnoho rozličných funkcí, včetně specializovaných plastidů bez fotosyntetické funkce (zásobní funkce)
- pro plnohodnotný vývoj potřeba světla

Kompartmenty plastidu:

- vnější membrána – nespecificky propustná, transportní kanály
- vnitřní – selektivně propustná; obsah galaktolipidů – stabilizace membrán, pokud obsahují mnoho proteinů
(místa, kde jsou membrány k sobě přitíženy = kontaktní místa – pro specifický průchod proteinů (viz transport proteinů do plastidů))
- thylakoidy: membránové vaky ve stroma plastidu, původ ve vnitřní membráně, v diferencovaném stavu však s vnitřní membránou nesouvisí. Membrána thylakoidů je místem fotosyntézy – zde umístění superkomplexů fotosystémů.
Thylakoidy u vyšších rostlin tvoří:
 1. **grana** = diskovité útvary thylakoidní membrány – přitíženy k sobě (granální/přitížené thylakoidy)
 2. **thylakoidy stromatu** – propojují grana (nepřitížené; thylakoidy stromatu)

FOTOSYNTÉZA

- cílem je konverze světelné energie do chemické energie = energie chemických vazeb stabilních produktů

1. Světelné reakce

- proteinové komplexy: fotosystém I (PSI) a fotosystém II (PSII) v membráně thylakoidu
- Fotosystém:
 - **reakční centrum (RC)**: dojde zde k excitaci elektronu a ten je předán akceptoru
 - **LHC (= light harvesting complex)**: zachycení energie a předání do RC
 - předání energie Försterovým rezonančním přenosem – až 99% účinný přenos energie bez nutnosti vyzářit a opět absorbovat energii fotonu; důležitá je ale orientace a vzdálenost pigmentů → pigment-proteinové struktury, kde proteiny tvoří kostru.

- **PSI: RC s chlorofylem P700 +LHCI**
- **PSII: RC s chlorofylem P680 + LHCII** – potřeba více energetické záření

PSI

- LHC typicky tvořeny 4 proteiny na 1 straně RC
- PSI + LHCI → superkomplex, který se samostatně uspořádává v membráně thylakoidu

PSII

- D1,D2 podjednotky často světelně poškozeny v důsledky absorpce vysoce energet. záření; tvoří dimery
- LHCII – trimery; množství proteinů kolem dimeru RC závisí na osvětlení
- v membráně thylakoidu dochází k uspořádání obou komplexů podle jejich vlastností

PRŮBĚH FOTOSYNTÉZY

- obecně za účasti – PSI + PSII + cytochrom b_6f + ATP syntáza

Necyklický přenos elektronů:

- do PSII přijde energie ve formě fotonu, excitace elektronu → elektron přejde na **plastochinon (PQ; molekula vázána do membrány)** (elektron v PSII je doplněn fotolýzou vody) – který je **redukován na plastochinol** → přenos elektronu na **cytochrom b_6f** → elektron na **plastocyanin (PC; malá mobilní molekula na straně lumen thylakoidu chloroplastu);** napojení na cytochrom b_6f a PSI
- PSI přijme další foton – energie excituje elektron, který je předán na **ferredoxin oxidoreduktázu** → **enzym tvořící redukované NADPH ve stromatu**
- elektron na PSI je doplněn z PSII
- **finální akceptor elektronu je ferredoxin**
- = **zvýšená koncentrace H^+ v lumen thylakoidu; ve stromatu redukované kofaktory NADPH – pro Calvinův cyklus**

Fotofosforylace

- **ATP syntáza** – vytváří ATP přes elektrochemický potenciál = využívající zvýšenou koncentraci H^+ v lumen; kdy za průchodu H^+ do stromatu se syntetizuje ATP
- 2 podjednotky: CF_0 ; CF_1

Uspořádání fotosyntetických komplexů v thylakoidní membráně:

- **v granech především PSII + cytochrom b_6f**
- **ve stromatálních thylakoidech: PSI + cytochrom b_6f**
- **ATP syntáza v nepřitištěných membránách (stromatální thylakoidy)**
- důvody rozdělení komplexů:
 - v granech je hodně slabých interakcí a van der Waalsových sil mezi jednotlivými komplexy
 - PSII a jeho LHCII mají tendenci tvořit krystalové struktury – uložení v granálních přitištěných membránách
 - **stérické důvody** – ATP syntáza má velkou stromatální podjednotku

Význam existence gran: pravděpodobně efektivnější fotosyntéza (absorpce světla) pokud jsou PSI a PSII laterálně segregovány; přitištění membrány gran zřejmě napomáhá samouspořádávání LHCII do superkomplexů.

2. Calvinův cyklus

- 1. stabilní produkt je 3C sloučenina **3-fosfoglycerát (3PGA)** → **C3 metabolismus**
- **fixace CO_2 na molekulu ribulóza-1,5-bisfosfát (5C)** → vznik nestabilní 6C molekuly – dochází tedy k rozkladu na **2 (3C) molekuly 3-fosfoglycerátu**
- katalyzováno enzymem **Rubisco** – jeho **karboxylázovou aktivitou**

- nicméně jeho oxygenázovou aktivitou může dojít k rozpadu na 1 molekulu 3PGA a molekulu 2-fosfoglykolátu (C2 sloučenina), což je molekula, kterou nelze v CC metabolizovat (nejsou vyvinuty příslušné enzymy) a proto oxygenázovou aktivitou Rubisca dochází k omezení účinnosti fotosyntézy. Organismy se proto oxygenázové aktivitě brání (viz zvyšování účinnosti fotosyntézy v pyrenoidu, vývoj C4 fotosyntézy u vyšší rostlin atp.). Degradace 2-fosfoglykolátu je možná v tzv. glykolátovém cyklu (fotorespirace), viz přednáška o peroxisomech.

- 1) karboxylace
- 2) redukce
- 3) regenerace – obnovení molekuly ribulóza-1,5-fosfátu

C4 metabolismus

- př. kukuřice, cukrová třtina, obecněji rostliny tropického pásma
- První stabilní produkt je C4 molekula (odtud název metabolismu)

Prostorové oddělení fixace CO₂ a světelné fáze fotosyntézy:

1. V mezofylových buňkách fixace CO₂ enzymem PEP (fosfoenolpyruvát karboxyláza) → vznik organické C4 kyseliny = meziprodukt (výhody PEP: pracuje s HCO₃⁻, kterého je ve vodním prostředí buňky více než CO₂; nemá oxygenázovou aktivitu).
2. C4 kyselina transportována do buněk pochev cévních svazků – rozpad org. kys. na CO₂ a jeho využití v Calvinově cyklu

Tímto prostorovým oddělením fixace CO₂ a fotosyntézy dochází k navýšení koncentrace CO₂ okolo Rubisca – preference karboxylázové aktivity Rubisca

C4 rostliny mají proto **speciální anatomii listů (Kranz anatomie)**: mezofylové buňky mají grana a provozují světelnou část fotosyntézy, ale ne CC. Buňky pochev cévních svazků je velmi málo PSII a nedochází k tvorbě gran, je zde však vysoká koncentrace Rubisca ve stroma

Ozářenost listů

- př. koruna stromu – kde je rozdíl mezi listy na kraji a v srdci koruny
- při větším ozáření – je v chloroplastech málo gran; méně thylakoidních disků v granu; obecně jsou vytvořeny menší LHC komplexy
- změny v morfologii jsou u listů pozorovatelné do 10 min

TYPY PLASTIDŮ

- většina inf. o plastidech pochází od krytosemenných rostlin

PROPLASTID

- **prekurzor všech plastidů**
- velmi málo vyvinut vnitřní membr. systém
- viz. obr. – dvojitá membr., a jen pár thylakoidních membrán; někdy možnost najít uvnitř inkluze
- **v pletivech meristémů a embryí** – pletiva, která se budou vyvíjet a podstoupí diferenciaci

ETIOPLAST

- „etioler“ bledý (z francouzštiny); 1793 použit tento termín – popis vybledlých stonků celeru
- **typ plastidu, který se vždy vyskytuje v nadzemních částech rostlin, které byly zastaveny ve vývoji v důsledku nedostatku světla**
- vzniká v zastíněných částech rostlin
- charakter. struktura: **prolamelární těleso** (obr. PR) – semikrystalický charakter; tvořena lipidy

- vlivem nedostatku světla, se z proplastidu vyvinul etioplast; po osvětlení se rychle vyvíjí do chloroplastu
- nevíme, že by se běžně vyskytoval přirozeně; studován, jelikož tvoří přechod mezi proplastidem a chloroplastem; + lehce indukován v laboratorních podmínkách
- **prolamelární těleso**
 - semikrystalická struktura
 - symetricky uspořádané tubuly, které se i větví
 - **fce: zásobárna membr. lipidů**
 - v proplastidu za nepřítomnosti světla zahájena syntéza lipidů pro vývoj, ale nedochází k syntéze proteinů; nadbytek lipidů tak uchován v prolamelárním tělese – obsah 80%, a betakaroten
 - **obsah bezbarvého prekurzoru chlorofylu prochlorofyllide a**
 - po osvětlení lipidy tvoří komplexy s proteiny a chlorofyly – struktura se rozpadá a tvoří se thylakoid

GERONTOPLAST

- vznikají z normálních plastidů během senescence
- metabolicky a biochemicky odlišný, aktivní jiné dráhy
- rozpadají se grana; thylakoid. membr. nepřítisťené
- akumulace plastoglobulí
- obal během vývoje zůstává neporušen
- **fce: během senescence se rostlina snaží recyklovat co nejvíce látek – hlavně amk a N; kontrolovaně degraduje prvky fotosystému**
- při nekontrolovaném rozkladu vzniká plno toxických látek a proto je zde speciální způsob degradace v gerontoplastu

CHLOROPLASTY SVĚRACÍCH BUNĚK PRŮDUCHŮ

- obsah plně aktivního PS; a zřejmě fotosyntézu provozují, ale do celkové bilance přispívají jen málo
- **role senzorů** – pomáhají rozhodovat o otevřenosti a uzavřenosti průduchů
- umí pohlcovat záření – senzory světla
- vnímají a reagují koncentraci CO₂

Další útvary v plastidu:

PLASTOGLOBULY

- na snímcích z transmisního elektr. mikroskopu tmavé; ale ne u jiných mikroskop. technik
- nikdy neplavou ve stroma, jsou **pevně spojené s membránou thylakoidů; se stromatální stranou membrány**
- obaleny lipidovou 1vrstvou (analogie s oleosómy); pučí do stroma
- obsah lipidů a proteinů specifické pro chloroplast
- **fce: v biosyntéze lipidů; výskyt během biosyntézy chlorofylu a během senescence**
- detekce i během oxidativního stresu u rostlin
- viz. 3D obr. pohled ze strany na grana – žlutě plastoglobuly; vznik ve specifických částech thylakoidu
- hojně se tvoří v záhybech thylakoidní membrány
- struktura: lipidy uskladněny mezi lipidickou 1vrstvou; na povrchu membrány mohou být uskladněny specifické proteiny

STROMULY

- nyní hojně studováno; nejdříve se myslelo, že jde o artefakty
- dají se pozorovat *in vivo* – přes GFP

- pozorováno, že GFP lokalizováno do stroma plastidů – označuje i „řetízky“, které vzájemně plastidy propojovaly
- dynamické (velmi rychle vznikají i zanikají) výrůstky plastidové membrány a propojují plastidy a tak umožňují výměnu stroma mezi plastidy
- **fce:**
 - **propojení stroma plastidů a tím i výměnu metabolitů a tak např. optimalizovat výkon metabolických drah**
 - možnost výměny plazmidů
 - **zvyšují povrch vnější membrány a tím zvětšují povrch plastidu, pro rychlejší transport mezi plastidy a cytoplasmou**
- pohyb závisí na aktinovém cytoskeletu
- viz. obr. vpravo– červená fluorescence = autofluorescence plastidů; zelená je exprese GFP v plastidu (vlevo); uprostřed obrázek složený
- obr. čas ve vteřinách (buňka trichomu rajčete) – vznik stromulu, jeho připojení a na zvětšených obr. pozorujeme růst

Typy nezelených plastidů u vyšších rostlin a jejich přeměny

- u vyšších rostlin diverzifikace do mnoha typů s rozličnými funkcemi
- **amyloplasty, chromoplasty a leukoplasty jsou revertovatelné na chloroplasty; a chloroplast je revertovatelný na proplastid** (příklad chromoplastu na chloroplast: zelenání kořene mrkve; chloroplast na chromoplast: zrání rajčete; leukoplast na chloroplast: zelenání brambor atp.)

LEUKOPLASTY (amyloplasty, elaioplasty, chromoplasty):

- neobsahují barevné pigmenty

AMYLOPLASTY

- nejstudovanější
- v plastidech je biosyntetická dráha škrobu – u vyšších rostlin je škrob ukládán pouze tam; i v normálních chloroplastech nalezena škrobová zrna jako krátkodobý zdroj cukru během dne při běžící fotosyntéze
- **v amyloplastech škrob uložen do velkých škrobových zrn s funkcí dlouhodobé zásobárny cukru**
- z důvodů obrany před osmotickými výkyvy mimo jiné
- amyloplasty v semenech obilnin velmi studované
- **amyloplasty jsou těžké a jsou tak využívány pro gravipercepce**
-

Struktura škrobu: amyulóza a amylopektin, syntetizovány mnoha izoformami enzymu starch synthase (SS). Vznik škrobových zrn s lamelovitou strukturou dodnes nedořešen. Voskové fenotypy – absence nebo snížené množství amylózy vlivem chybějícího enzymu.

ELAIOPLASTY

- **zásobárna lipidů**
- obsahují syntetickou dráhu pro syntézu MK a lipidů – prokaryotického původu (eukaryotického původu v ER)
- získaly fci i ukládání
- **výskyt v olejových semenech – jako zásobárna energie; semene Orchideaceae, Liliaceae**

CHROMOPLASTY

- barvy pochází z obsahu různých typů a složení karotenoidů
- zprostředkovávají vztah s prostředím – opylovači např.

- obsah charakter. struktur – **kapénky lipidů a karotenoidů**
- **fibrily** – obsah *karotenoidového jádra* – kryté lipidovou vrstvou – v ní protein **fibrilin** (studován v souvislosti s obranou rostlin proti stresu)
- dokáží snadno revertovat na chloroplasty a naopak; př. zrání rajčat a reverze na chromoplasty
- vyvinut systém thylakoidů

PLASTIDOVÝ GENOM (PLASTOM)

Přeměny plastidového genomu během evoluce zahrnují:

1. přesun genů nutných pro funkci plastidu do eukaryotického jádra
 2. přesun genů do eukaryotického jádra a získání nových funkcí nesouvisejících s plastidem
 3. ztráty genů
- = došlo tedy k reorganizaci celého eukaryot. Genomu
- plastidy dnes kontrolovány geny z eukaryot. jádra – genová mozaika (viz. Schéma)
 - v dnešním plastidu *Arabidopsis t.* 87 genů; většina přesídlila do eukaryot. jádra, kde je až 18% genů je původem prokaryotických
 - Přesuny mezi organelami:
 - v mitochondriích geny z plastidů kódující t-RNA sinicového původu; některé přepisovány nejsou, ale některé fungují a mohou nahrazovat ty původně mitochondrií ztracené
 - tok genů z mitochondrie do plastidů velmi omezen – způsobeno tím, že plastidový genom je mnohem kompaktnější (endosymbióza proběhla „nedávno“ v porovnání s mitochondrií) a změny genomu jsou většinou letální
 - navíc homologní rekombinace v plastidech vzácná, naopak v mitochondriích velmi častá

Transport genů proběhl několikrát. Mechanismus: Při přesunu hrála roli DNA a ne RNA (v eukaryot. jádře možno nalézt celé chromozomy organelové). Přesun genu snad spojen s poškozením membrán endosymbionta, např. při autofagocytóze organel, mohla tak DNA vycestovat do cytoplasmy a být pak inkorporována do jádra. Dále např. při degradaci endosymb. organel při vzniku gamet – organely děděny po 1 linii (často maternální) – jedna gameta tak eliminuje organely a může tak dojít k dočasnému uvolnění DNA a možného vcestování do eukaryot. jádra.

Některé oblasti eukaryot. genomu mají na okrajích oblastí včleněných z organel **mikrohomologie** – malé krátké úseky 3-5 bp; jsou známy mechanismy, které umí spojit tato ds místa u mikrohomologií, a mohou být zodpovědné za inkorporaci a udržení této DNA v jádře

Uvádí se, že plastom je tvořen cirkulární molekulou, fyzicky byly ale byly také detekované lineární či větvené formy (možná souvislost s replikací)

Struktura plastomu:

- **DNA se 2 invertovanými repetitivními sekvencemi** – rozdělují genom na větší single copy region a menší single copy region
- repetitivní sekvence nejsou př. u jehličnanů a luštěnin
- většina suchozemských rostlin: 120 – 160 kbp
- počet genů u suchozemských rostlin 100 – 150; řasy mají až 500 (*čím odvozenější tedy plastid je, tím méně genů má*)

Které geny jsou dnes v genomu plastidů kódovány:

- **geny některých r-RNA; všechny t-RNA; většina podjednotek PSI a PSII; některé ribozomální proteiny;...**
- uspořádání v operonu podobné, jako u prokaryotního endosymbionta
- *Arabidopsis thaliana* – PSI + PSII + další struktury fotosynt. komplexů – v naprosté většině pod kontrolou genomu endosymbionta

- Calvinův cyklus, biosyntéza hemu částečně pod kontrolou i genů eukaryot. jádra

TRANSPORT PROTEINŮ DO PLASTIDU

- potřeba transport pro 2500-3000 proteinů
- geny prokaryot. i eukaryot. původu – proteiny překládány v eukaryotické cytoplasmě a **transport je post-translační** (na rozdíl od proteinů syntet. na ER, který je ko-translační)
- **proteiny určeny pro fci plastidu s pre sekvencí (= transitní peptid) na N-konci proteinu**
- **presekvence nutné pro transport přes 2 membrány; po transportu sekvence odstraňována SPP enzymem**
- způsob konzervován u všech rostlinných buněk a řas; transport tak musel vzniknout krátce po endosymbiot. Události

Proteiny transportovány skrze transportní komplex proteinů = **translokony** (viz. Schéma)

- 2 translokony = TOC ; TIC
- odlišné systémy, nesdílí homologie složení proteinů; více se ví o TOCu – (izolovat vnitřní membránu plastidu bez poškození dobře nejde)

TOC

- 500-1000 kDa
- základem 3 proteiny: **Toc 159, Toc 34 = receptory**, zajišťují rozpoznání proteinů pro import; **Toc 75 – tvoří kanál samotný**

TIC

- **kanál tvořen proteiny Tic 110 Tic 20/21**
- sekvenční analýza prokázala, krom Toc 75 jsou eukaryotického původu
- *Toc 75 jediný prokaryotického původu*; okolo tohoto prokaryotického proteinu eukaryota vybuodovala celý transportní systém - Toc 75 je příbuzný bakteriálním transportním proteinům

Transport proteinu je 3-fázový proces

Cytosolické proteiny – *chaperony* – zajišťují dopravu proteinu v nesbalené podobě až k translokonu; př. Hsp70. Příklad faktorů ve stroma: SPP protein – odstřihává transitní peptid. Transport se děje najednou – TOC/TIC tvoří komplex a umožní tak transport přes obě membrány. Děje se tak v místě kontaktních míst vnější a vnitřní membrány – **contact sites**.

3 fázový proces:

1. protein se váže na translokon, kdy vazba je reverzibilní a není pro tuto vazbu potřeba energie
2. preprotein translokován skrze komplex – nutná energie ATP + GTP
3. translokace proteinu do stroma – energie ATP

Transport proteinu uvnitř plastidu

- každé místo má jeden až více specifických způsobů dopravy
- 1. **vnější membrána** – proteiny vkládány přímo z cytosolu; výjimkou Toc 75 – který je sytetzizován v cytosolu, kanálem do stroma a neznámých způsobem do vnější membrány
- 2. **mezimembránový prostor** – neznáme mechanismus
- 3. **vnitřní membrána**
 - alespoň 2 různé dráhy
 - b) TOC/TIC do stroma, odstřipnutí presekvence a pak vložen do vnitřní membrány
 - c) neidentifikovaná dráha
- 4. **stroma**

- a) translokony
- b) ER-GA dráha eukaryot. hostitele; z cytoplasmy pomocí váčků, které splývají s vnější membránou thylakoidů, ale neví se jak dál

5. membrána thylakoidu

- a) SRP (Signal recognition particle-dependent pathway) závislá: systém se 2 signálními proteiny – interagují s vkládaným proteinem a zajistí vložení
- b) spontánní vkládání

6. lumen thylakoidu

- vyžadována aditivní signální presekvence; je odhalena odštípnutím presekvence ve stroma, a další sekvence protein navede do lumen
- a) Tat dráha - umí translokovat proteiny sbalené a proteiny i s kofaktory
- využívá gradient protonů, který vzniká na vnitřní membráně thylakoidu
- b) Sec – vyžaduje hydrolyzu ATP; transport nesbalených proteinů

Transport do sekundárních plastidů

- zajištěno bipartitním systémem
- na N-konci sekvence jako do ER a za ním presekvence pro transport do plastidu
- 3.-4.membrána je odvozena nejspíše od ER eukaryotického hostitele

Dělení plastidů

- jediný způsob množení
- plně pod kontrolou eukaryotních genů v eukaryotním jádře
- viz. obr. – *Chlorella* (1buněčná řasa); *Ulva* (mnohobuněčná řasa); *Physcomitrella* (mech)
- **zaškrcováním** – příbuzné způsobu jako u sinic
- u řas s 1 plastidem – ten se dělí společně s jádrem
- u vyšších rostlin – dělení plastidů nezávisle na jádře
 - př. buňka špenátu v apikálním meristému – po její diferenciaci plastidy následně prochází mnohonásobným dělením až dosáhnou počtu cca 200/buňka
- **pomocí PD (plastid division) prstence**
- viz. obr. – dvojitá šipka znázorňuje střední prstenec u některých řas

Postup:

1. **Ftsz** – předchůdce tubulinu u prokaryot; bakteriální protein, gen u rostlin přesídlen do jádra. Vytváří vnitřní prstenec na straně stroma.
 2. **Posléze se vytváří vnější prstenec.** Složení neznáme, ukládá se na cytosolickou stranu, a participuje tam protein **dynamamin** (čistě eukaryotický protein; sám nemá schopnost zaškrcovat, ale podílí se na remodelaci membrány)
 3. vnější prstenec tloustne – zaškrcuje a utahuje jako spirála vs. vnitřní zaškrcuje (snad) pomocí depolymerace
- dělení dokončí dynamin a vnější prstenec
 - u řas zjištěno, že vnější prstenec je polyglykanového (polysaharidového) a ne proteinového původu