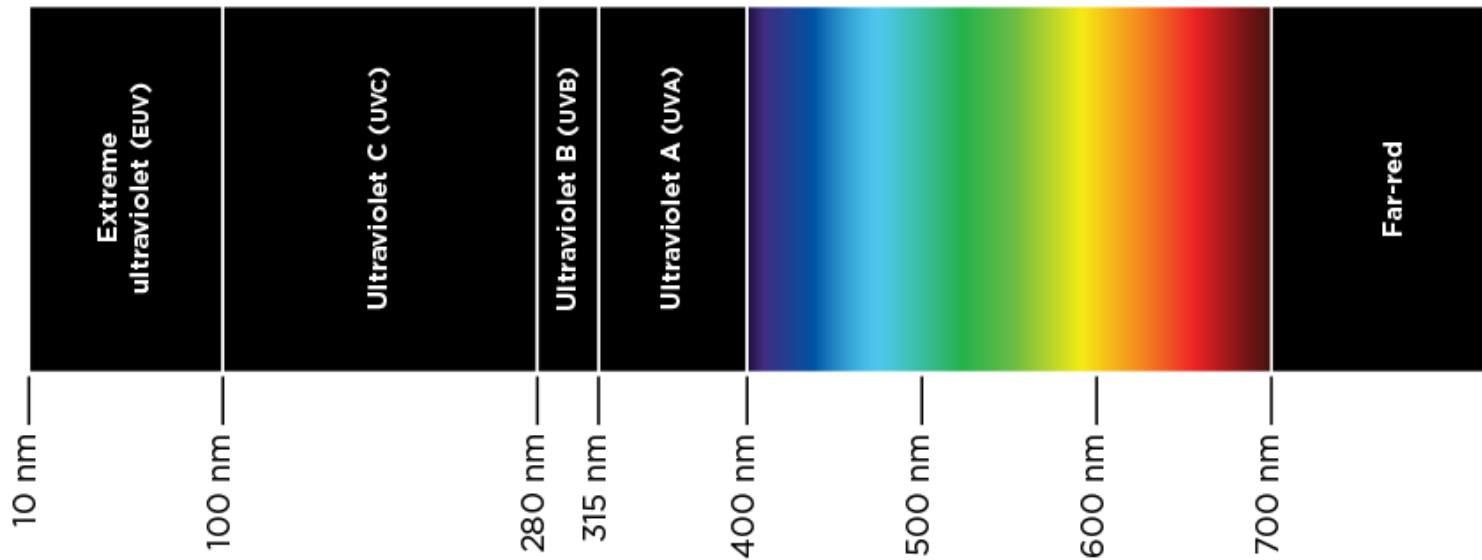


PLASTIDY

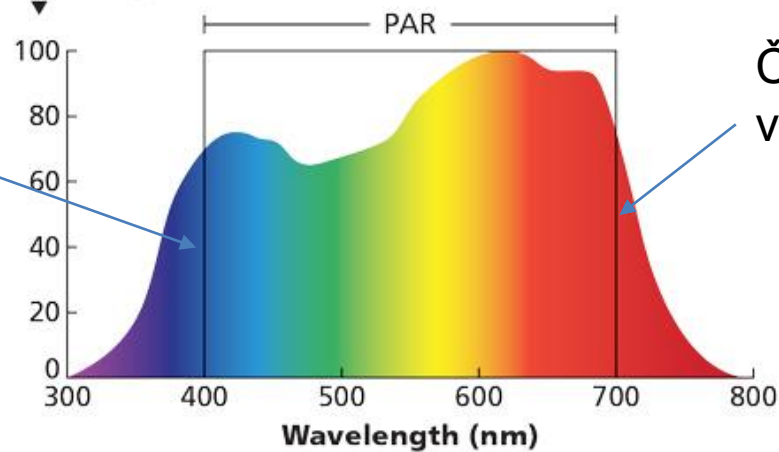
ELECTROMAGNETIC SPECTRUM

← Rostliny vnímají široké spektrum světla! →



Modré světlo: absorbováno chlorofyly, karotenoidy, ale fotosynteticky málo účinné

Relative photosynthetic efficiency (%)



Červené světlo: využití v PSII

Historie objevu plastidů

Anthony van Leeuwenhoek (1632-1723)

"Passing just lately over this lake, . . . and examining this water next day, I found floating therein divers earthy particles, and some green streaks, spirally wound serpent-wise, and orderly arranged, after the manner of the copper or tin worms, which distillers use to cool their liquors as they distil over. The whole circumference of each of these streaks was about the thickness of a hair of one's head. . . all consisted of very small green globules joined together: and there were very many small green globules as well." (1674)

Bonaventura Corti (1729-1813)

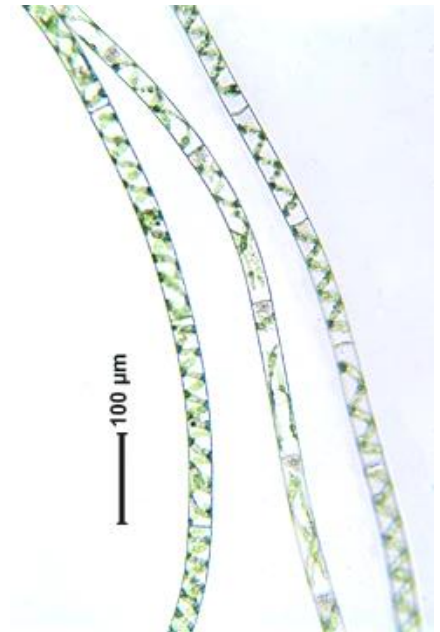
Zelené částice proudící v buňkách Chary

Andrea Comparetti (1745-1801)

Studium zelených partikulí v rostlinných buňkách

Franz Julius Ferdinand Meyen (1804-1840)

Neues System der Pflanzenphysiologie (1837): popis chlorofylových zrn jako „tělísek s tmavšími body“ (první popis gran a stromatu)



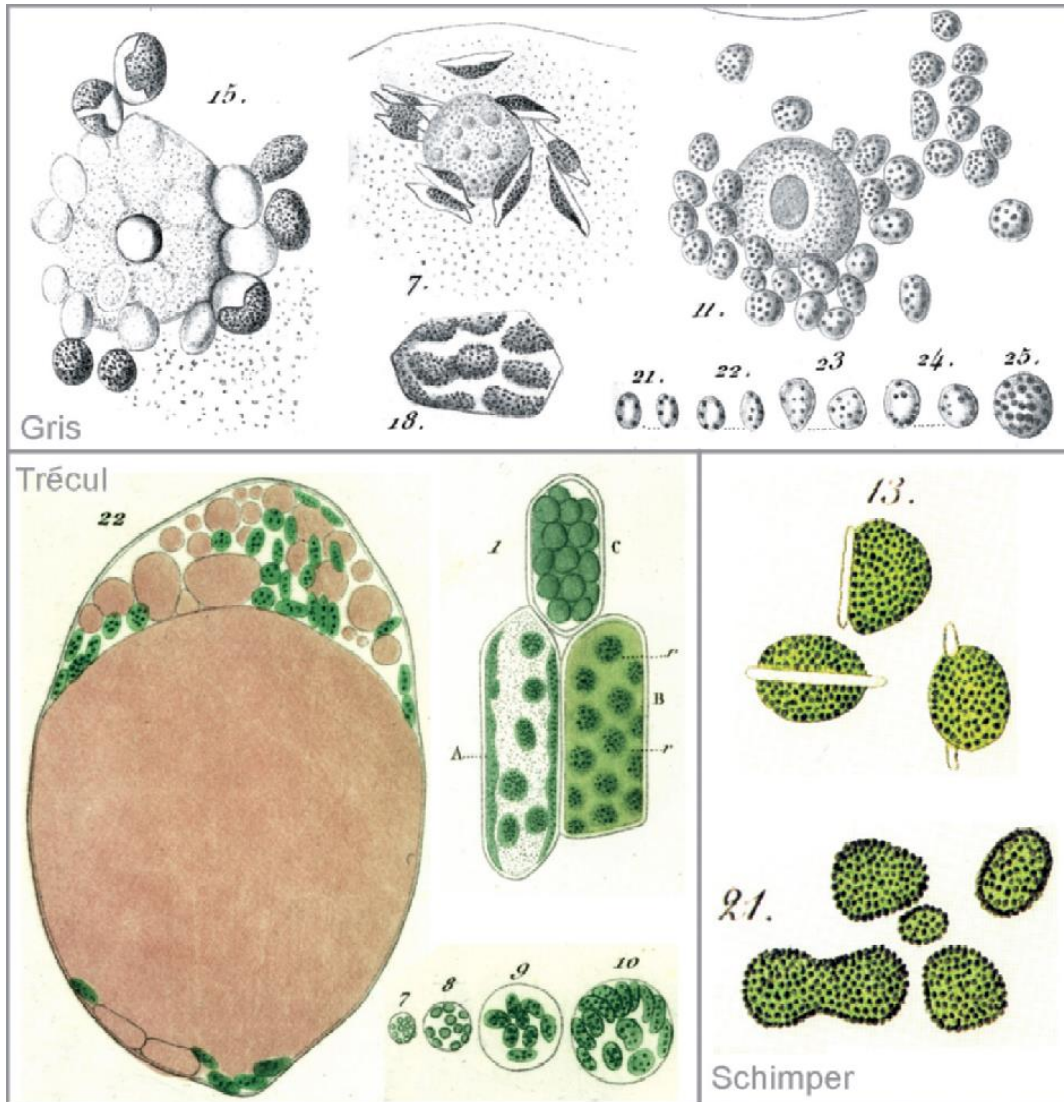


Fig. 4. Grana in chloroplasts, 1857–1885. (Top): from A. Gris (1857, see text for details); 15—*Solanum tuberosum* stem cell with nucleus surrounded by “spheres coated with green granular material”; 7—*Phajus grandiflorus*, cell from green bulb; 18—*Hydrangea hortensia* mesophyll; 11—*Vanilla planifolia* leaf cell; 21–25—stages of chloroplast development in *Sempervivum tectorum*. (Center left): from A. Trécul (1858, see text for details); 22—*Solanum nigrum* fruit cell; 1—*Lepanthes cochlearifolia*, stages of development A-B-C, with cell B showing “more granular” green bodies; 7–10—developmental stages of young fruit of *Solanum nigrum* (22). (Center right): from Schimper (1885, see text for details); 13—the orchid *Goodyera*; 21—the moss *Polytrichum*, described as having “prominent grana”. (Bottom): from Meyer (1883, see text for details); 10–15 *Acanthophippium*; 16—*Vallisneria*; 10—chloroplast from green tuber; k crystalloid, s starch, p granum (dated 1 April 1882); 11—successive stages of swelling of grana in water; 12—effects of “Chlorallösung” (the clearing agent chloral hydrate) on grana; 13—after extraction with alcohol; 14—chloroplasts from leaf tissue; 15—grana in leaf chloroplast, swollen by uptake of water; 16—a) internal planes of focus, b) surface focus.

The Structure and Function of Plastids, Ed. Wise a Hooper, Springer, 2007

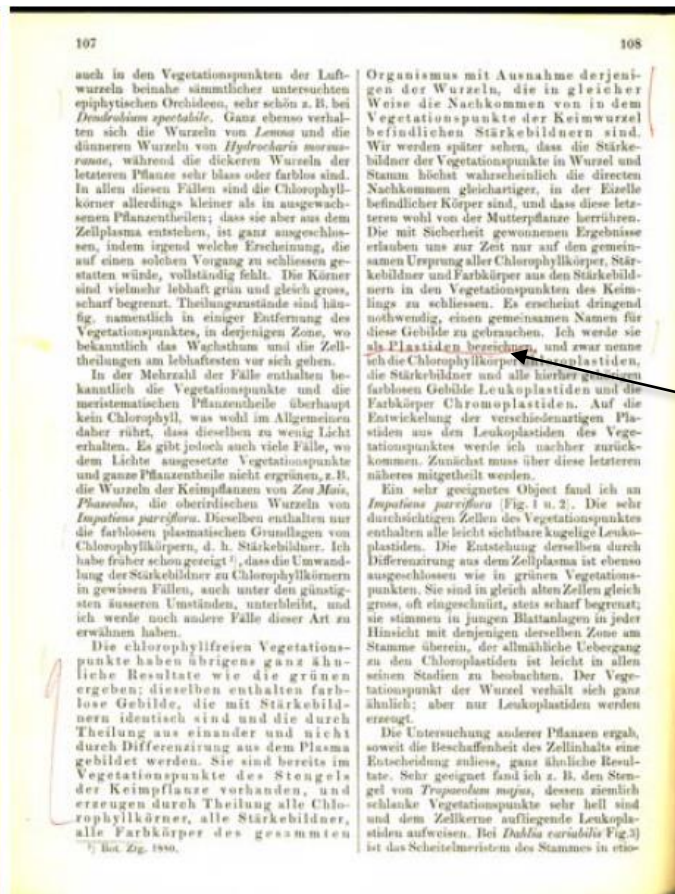
Andreas Franz Wilhelm Schimper (1856-1901)

Použil poprvé slovo plastid, odvozené z řeckého *Plastikos*.

Definice plastidů dle barvy.

Popis vývoje plastidů z jejich prekurzorů.

První úvahy o původu plastidů jako endosymbiontů.



Faksimile začátku slavného článku A.F.W. Schimper z roku 1883, ve kterém jsou poprvé systematicky popsány a definovány plastidy (viz vpravo nahoře: „Ich werde sie als Plastiden bezeichnen...“).

Konstantin Sergejevič Mereškovský (1855-1921)

Rozvinul endosymbiotickou teorii.

Arthur Meyer (1850-1922)

Zavedl slovo grana (1883)

J. Doureligne

První fotografie gran (1933)

Emil Heitz (1892-1965)

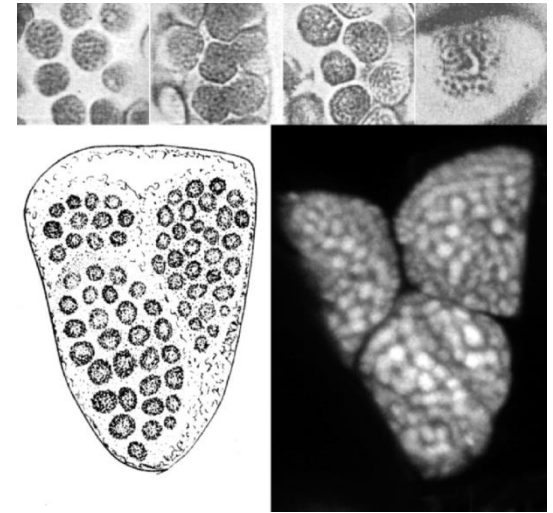
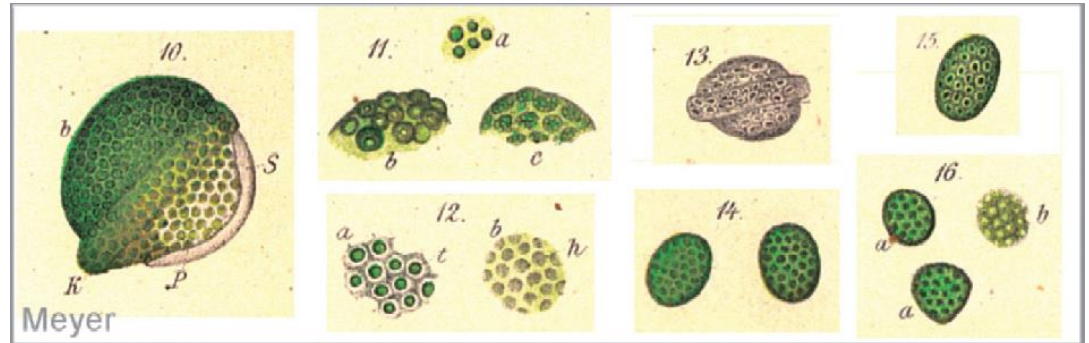
Popis gran jako diskovitých struktur

G. Kausche a H. Ruska

Publikace prvních elektronmikroskopických snímků plastidů (1940)

Wilhelm Menke

Prosadil termín thylakoid (1961).



The Structure and Function of Plastids,
Ed. Wise a Hooper, Springer, 2007

Funkce plastidů

Plastidy tvoří diverzifikovanou skupinu eukaryotických organel, které jsou fylogeneticky, ontogeneticky a fyziologicky příbuzné.

Vyskytují se prakticky ve všech buňkách rostlin a buňkách řas.

Role:

- FOTOSYNTÉZA
- Syntéza aminokyselin a lipidů
- Asimilace N a S
- Zásobárna škrobu a olejů
- Barva ovoce a květů
- Vnímání gravitace
- Kontrola funkce svěracích buněk průduchů
- Vnímání podnětů z okolí buňky.

Vznik plastidů

Schimper (1883), Mereškovský (1905, 1910) : první úvahy o endosymbiotickém původu plastidů

Rok 2000 a dále: hypotéza, že endosymbiotická událost proběhla jen jednou a původ plastidů je **monofyletický**.

Primární endosymbióza:

- udála se před více než 1 miliardou let (cca 1,5 miliardou let)
- počáteční bod, od kterého se odvíjely všechny ostatní vývojové události, vedoucí ke vzniku rostlin a též dalších fotosyntetizujících eukaryot nejrůznějších forem
- primární plastid má vždy dvě obalové membrány

Následující endosymbiotické události:

Sekundární, terciární a sériová terciární endosymbióza (netýká se rostlin!)

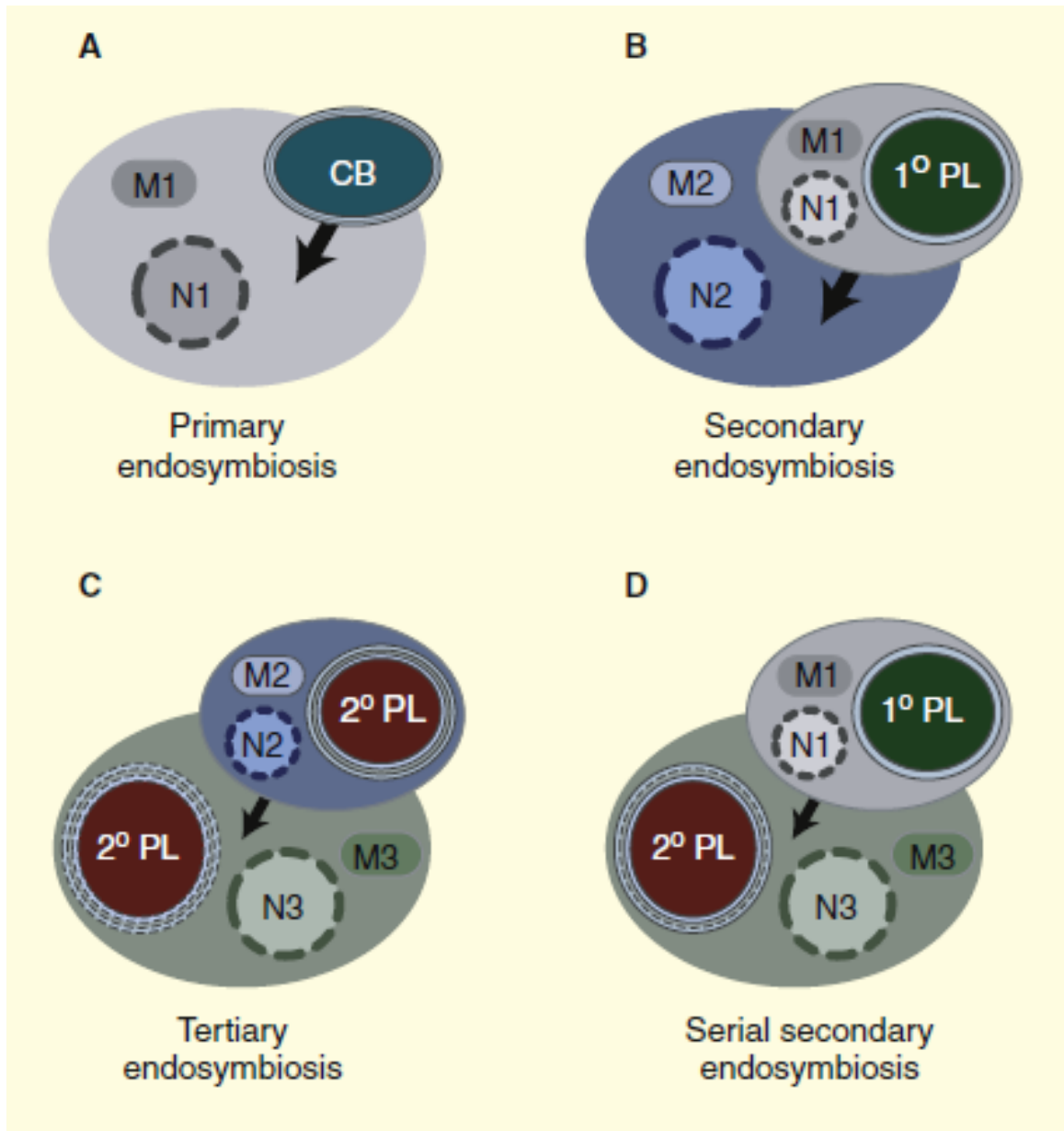
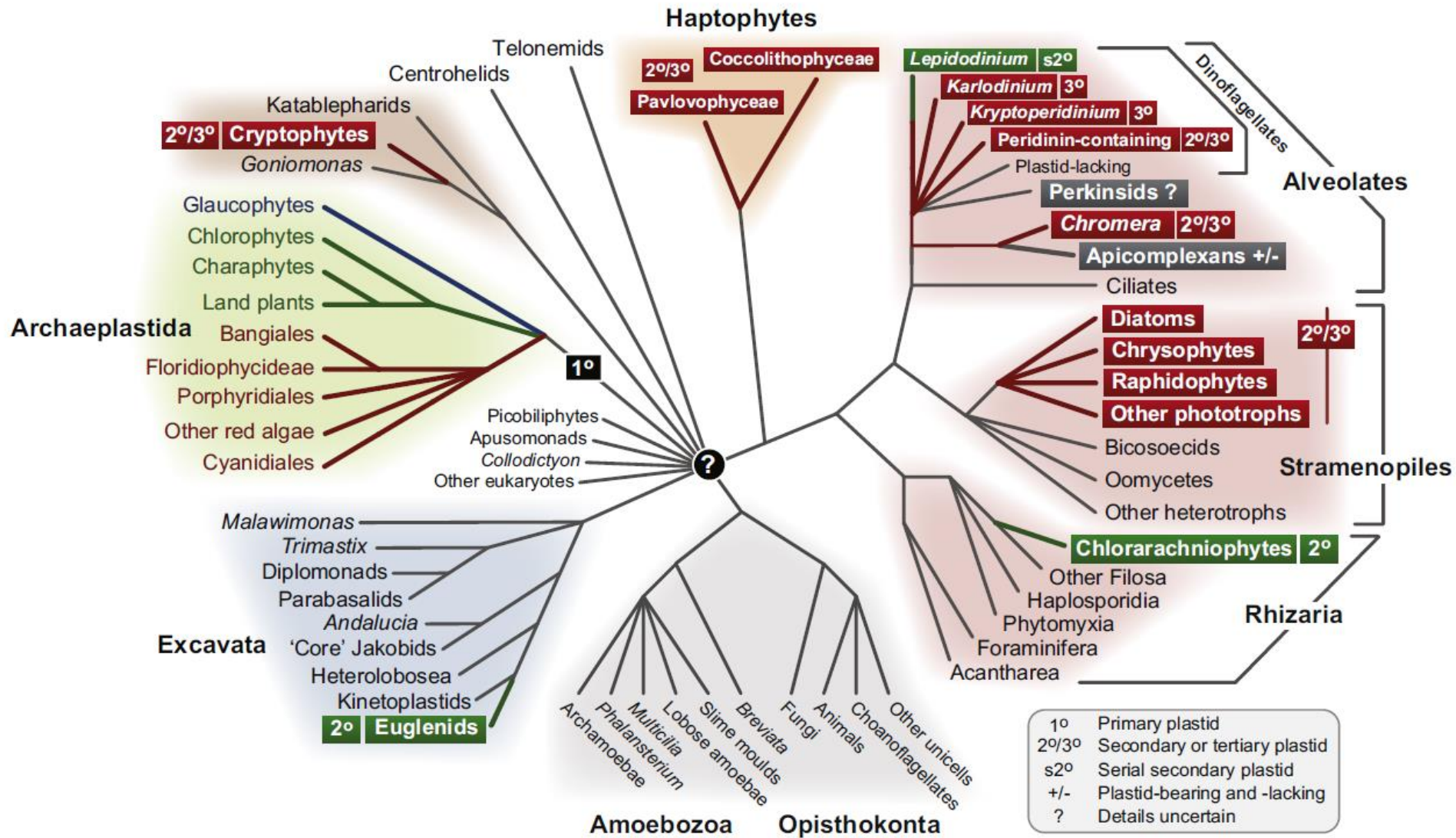


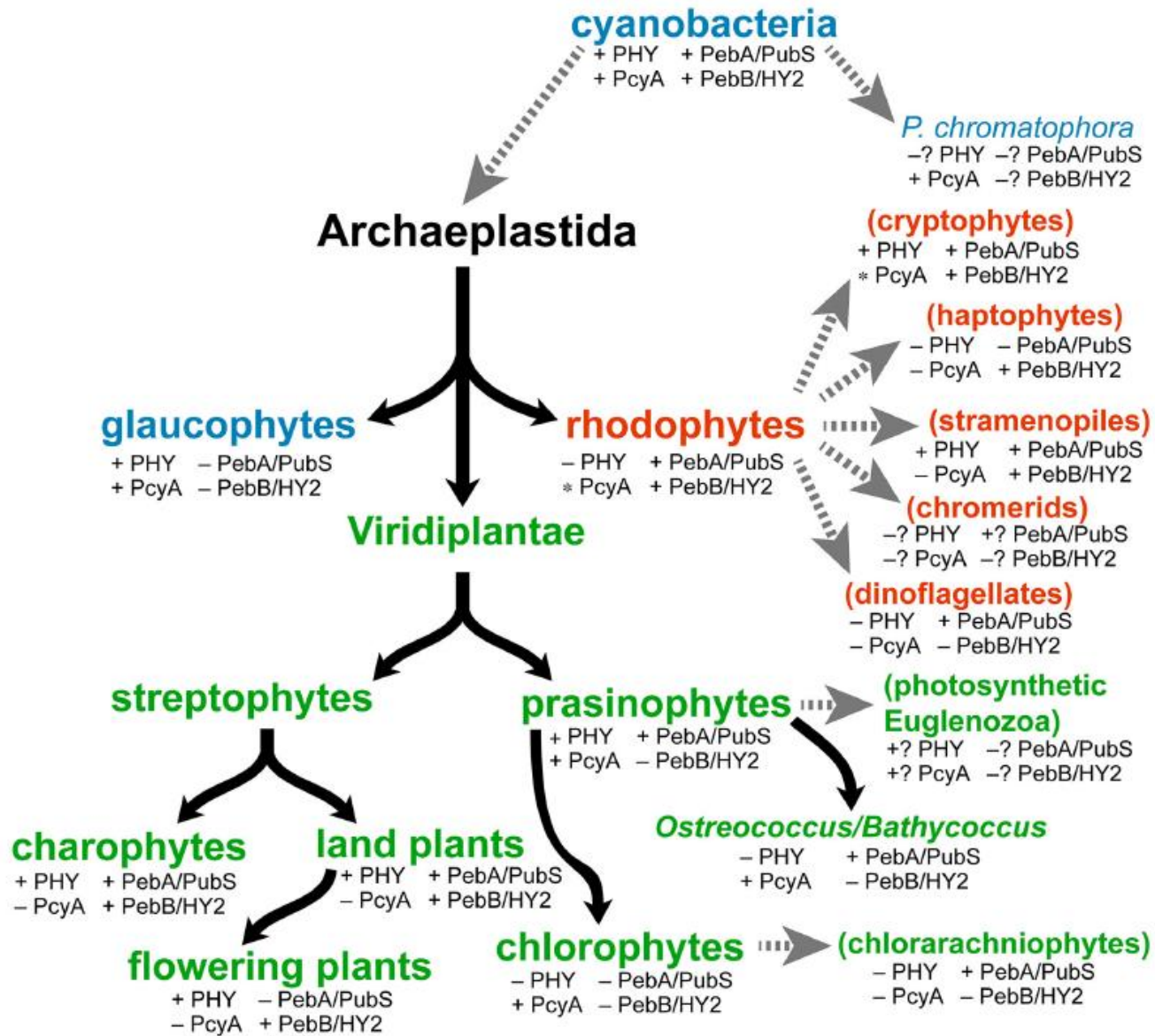
Figure 1. Plastid evolution by primary, secondary, and tertiary endosymbiosis. (A) A cartoon depicting the primary endosymbiotic origin of plastids through the uptake of a double-membrane-bound cyanobacterium by a nonphotosynthetic host eukaryote. (B) Secondary endosymbiosis involves the engulfment of a primary-plastid-containing eukaryote by a second, non-photosynthetic eukaryote. All known primary plastids are surrounded by two membranes and, in the case of glaucophyte algae, a layer of peptidoglycan. (C) Tertiary endosymbiosis occurs when a secondary-plastid-containing endosymbiont is taken up by a eukaryotic host, which may or may not itself possess a plastid. (D) Serial secondary endosymbiosis between a secondary-plastid-containing eukaryotic host and an endosymbiont with a primary plastid.

Plastidy je možno druhotně též ztratit!

Následné endosymbiózy plastidu se stala základem obrovské diverzity plastidů moderních organismů

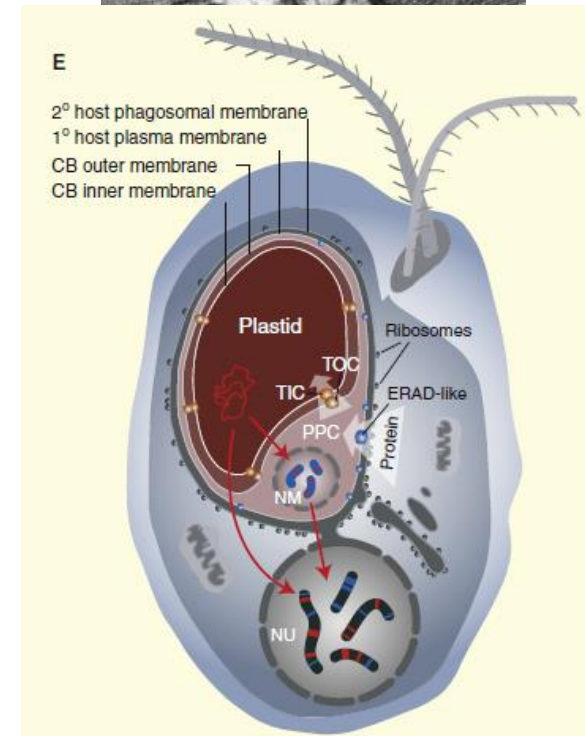
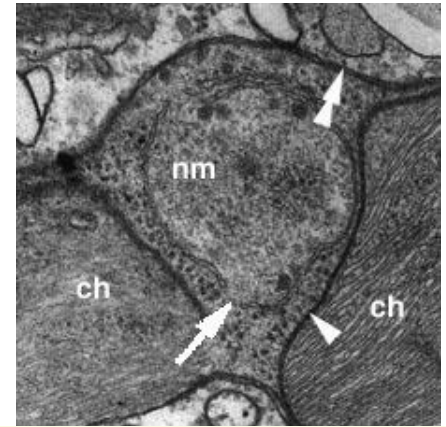


Sekundární endosymbióza plastidu se udála cca 3x (asi)



Sekundární endosymbióza

- Přesídlení většiny genů z endosymbionta do eukaryotického jádra během primární endosymbiózy (plastidy kódují ne více než 200 proteinů, více než 1000 dalších genů v euk. jádře jsou nutné pro jeho funkci).
- („stopa endosymbiózy“ u sekundárně ztracených plastidů)
- Eukaryotické jádro sekundárního endosymbionta se většinou ztrácí, někdy persistuje jako nukleomorf při sekundární endosymbióze
- Nutné **další přesídlení genů** z euk. jádra sekundárního endosymbionta do hostitelského jádra
- Další obalové membrány sekundárních plastidů – nutné nové transportní dráhy pro proteiny
- Předpokládáme, že událost sekundární endosymbiózy proběhla snad 2-3x

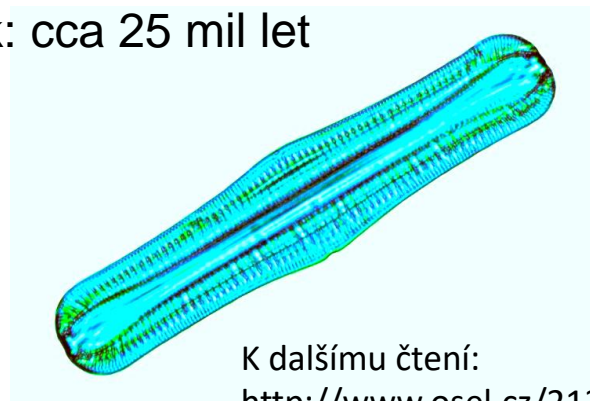


„Recentní“ endosymbiózy

Paulinella chromatophora, endosymbiont podobný sinicím *Prochlorococcus/Synechococcus* tvoří chromatofor/plastid/cyanelu.
Vznik: >60 mil. let



Rhopalodia gibba, endosymbiont podobný sinici *Cyanothece* tvoří sféroidní tělísko (fixace N_2). Vznik: cca 25 mil let



K dalšímu čtení:

<http://www.osel.cz/2120-endosymbioticka-udalost-online.html>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Paulinella>

Tři vývojové linie primárních plastidů

Primární endosymbióza dala vznik třem liniím:

1. Glaucophyta
2. Rhodophyta (červené řasy)
3. Zelená linie (zelené řasy a rostliny)

2676 C. J. Howe *et al.* *The origin of plastids*

Table 1. Examples of different plastid types, modified from Larkum *et al.* (2007).

group	primary, secondary or tertiary	presence of chlorophylls and/or phycobiliprotein	no. of surrounding membranes
green plants/algae	1°	chlorophyll <i>a, b</i>	2
red algae	1°	chlorophyll <i>a</i> , phycobiliprotein	2
Glaucophyta	1°	chlorophyll <i>a</i> , phycobiliprotein	2
Cryptophyta	2°	chlorophyll <i>a, c</i> phycobiliprotein	4
Chlorarachniophyta	2°	chlorophyll <i>a, b</i>	4
Ochrophyta and heterokonts	2°	chlorophyll <i>a, c</i>	4
Haptophyta	2°	chlorophyll <i>a, c</i>	4
Euglenophyta	2°	chlorophyll <i>a, b</i>	3
dinoflagellates	2°, 3°	mostly chlorophyll <i>a, c</i>	3
Apicomplexa	2°	none	4

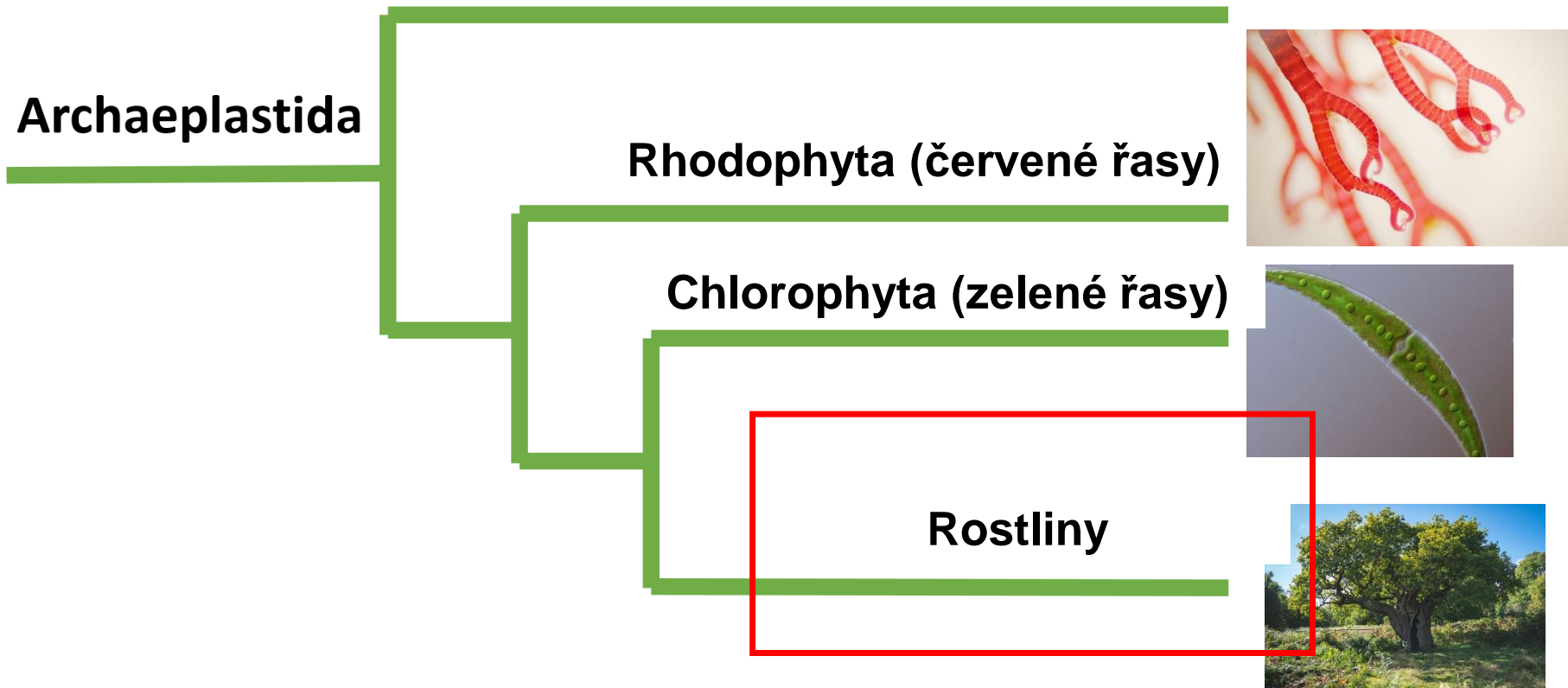
Tři vývojové linie primárních plastidů

Primární endosymbióza dala vznik třem liniím:

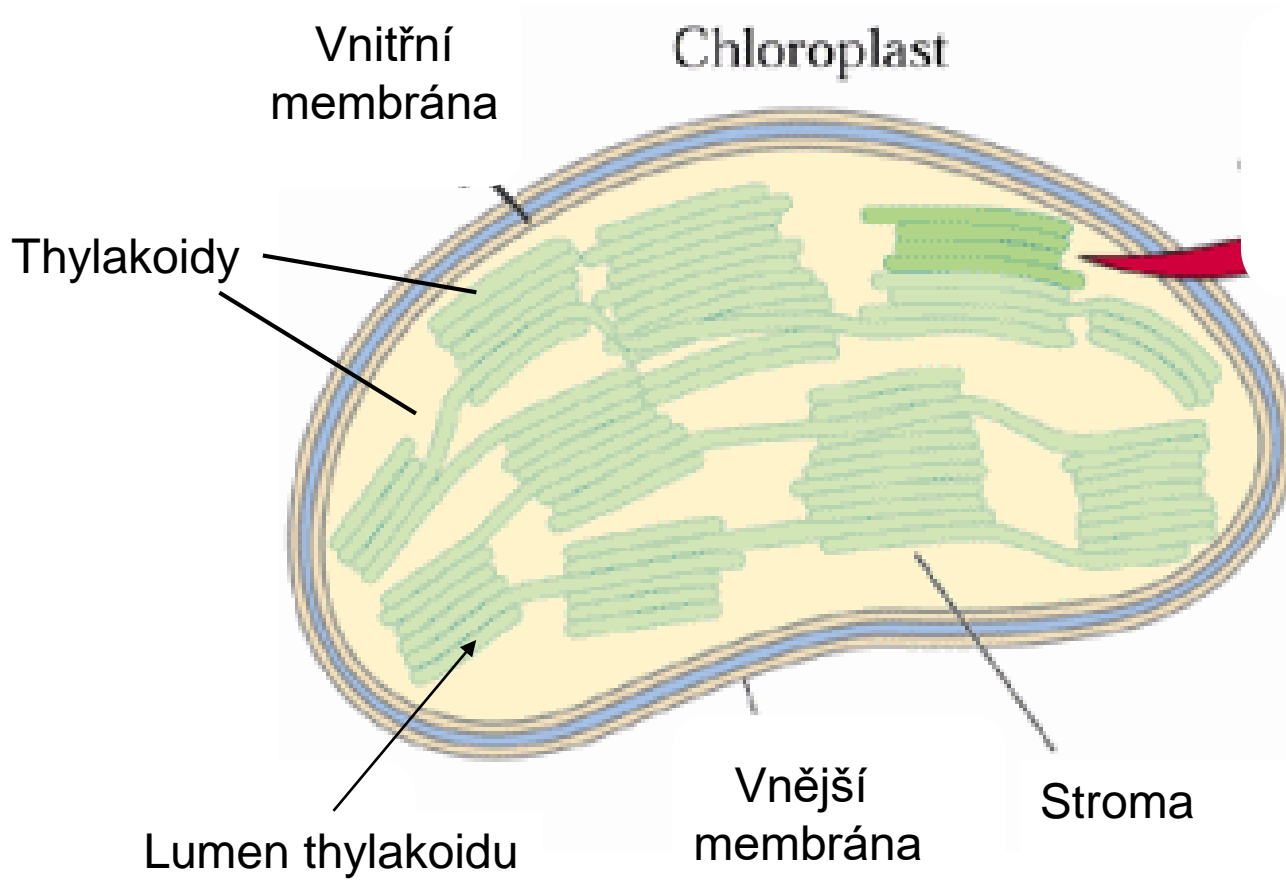
1. Glaucophyta
2. Rhodophyta (červené řasy)
3. Zelená linie (zelené řasy a rostliny)



Glaucophyta

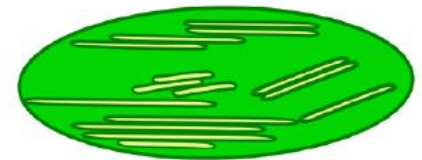


Struktura primárního plastidu



Thylakoidní membrány jsou jednodušší u řas, složitěji strukturované u vyšších rostlin:

Green Algae



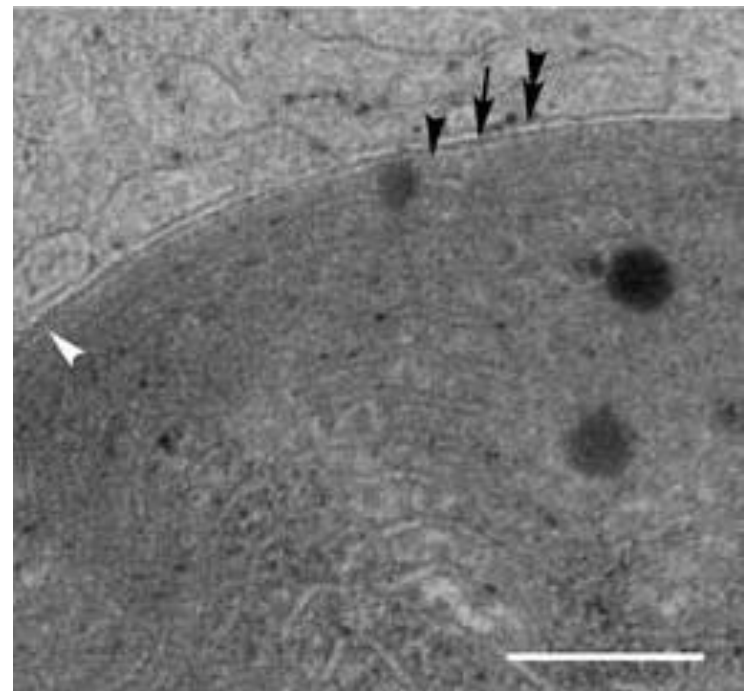
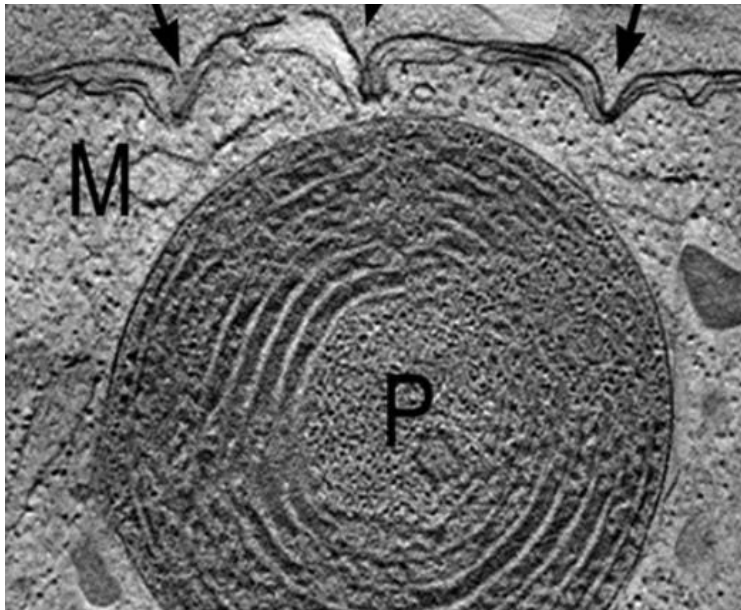
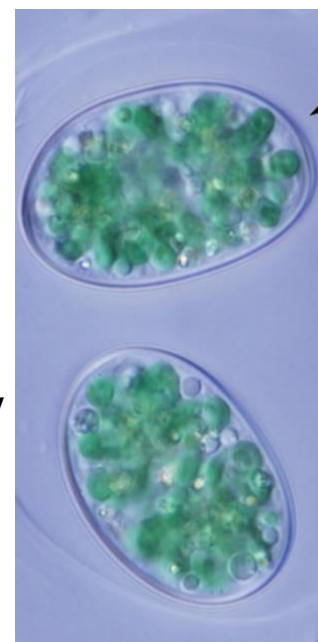
Higher Plants



Tři vývojové linie primárních plastidů - Glaucophyta

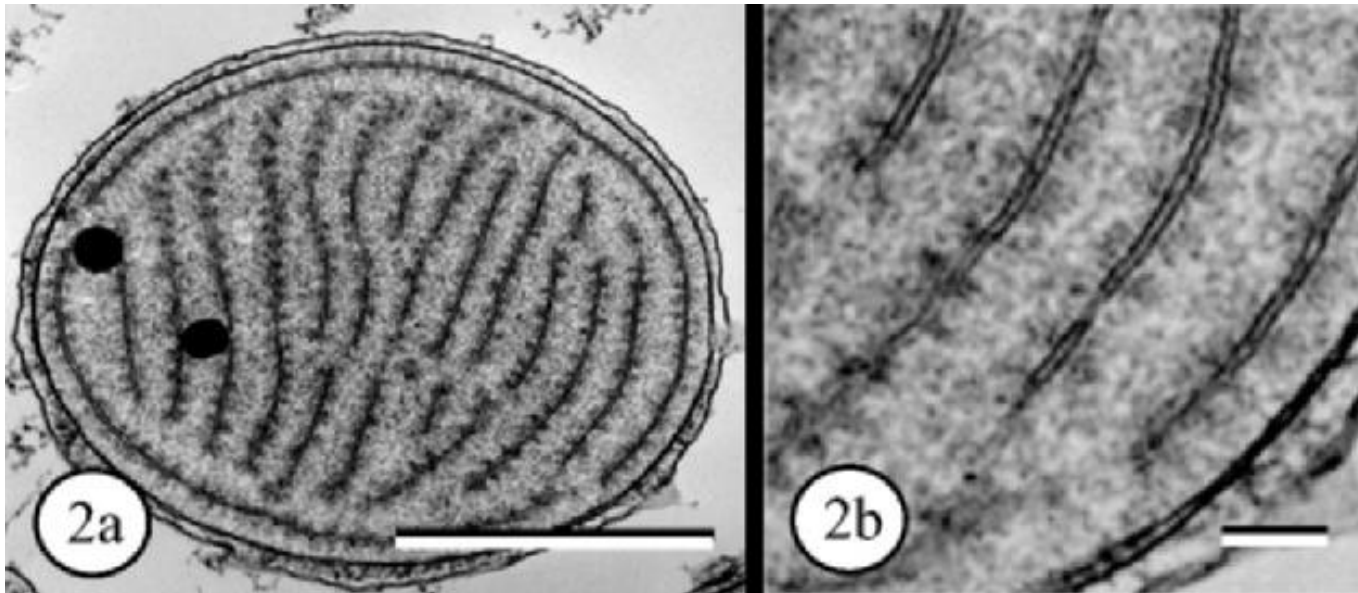
Jednoduchý fotosyntetizující plastid s ancestrálními znaky:

- Plastid obalený peptidoglykanovou vrstvou prokaryotického původu (někdy nazýván **muroplast**); peptidoglykan se nachází mezi dvěma obalovými membránami
- thylakoidní membrány jsou koncentrické a nepřitištěné
- molekuly podílející se na fotosyntéze jsou blízké sinicím (fykobilisomy, chlorofyl *a*).
- přítomnost karboxysomu (Rubisco)

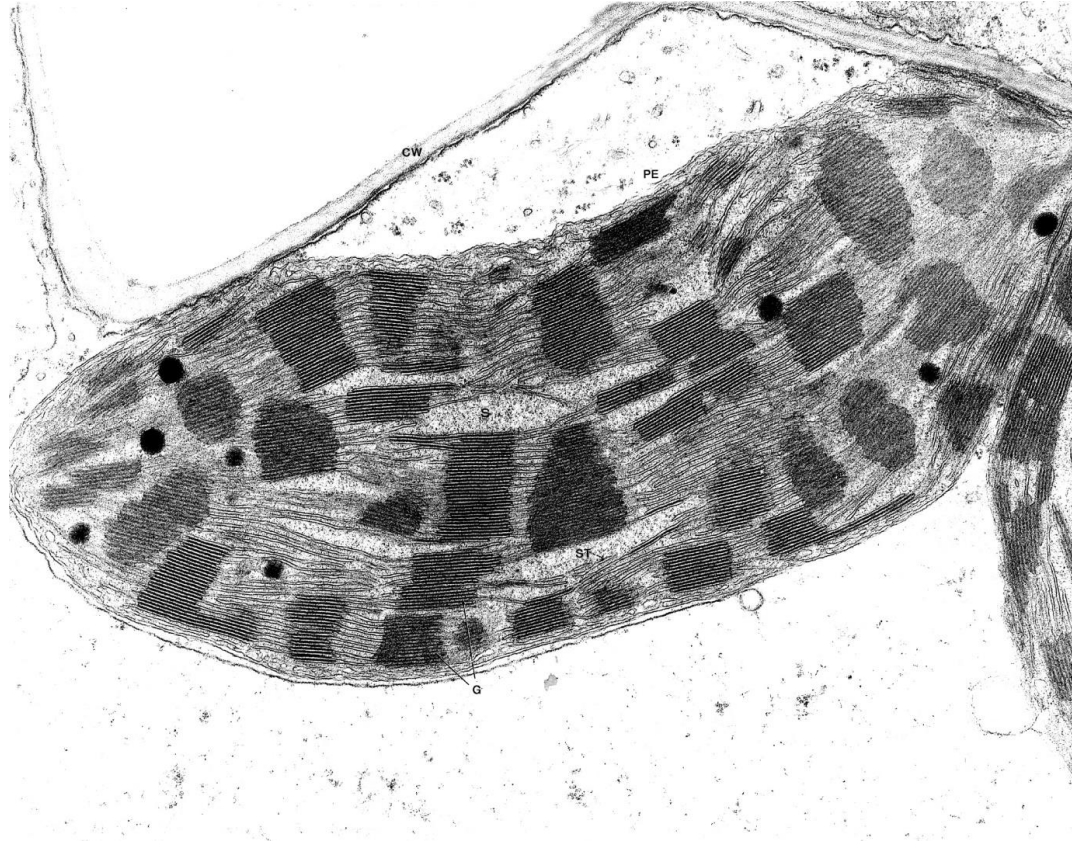


Tři vývojové linie primárních plastidů - Rhodophyta

- plastid červených řas se nazývá **rhodoplast**
- dvě obalové membrány
- obsahuje nepřitištěné thylakoidní membrány
- červená až fialová barva (dle hloubky, kde řasy žijí)
- Složení chlorofylů, zásobních látek a enzymů je primitivnější (fukobilisomy, chlorofyl *a*).



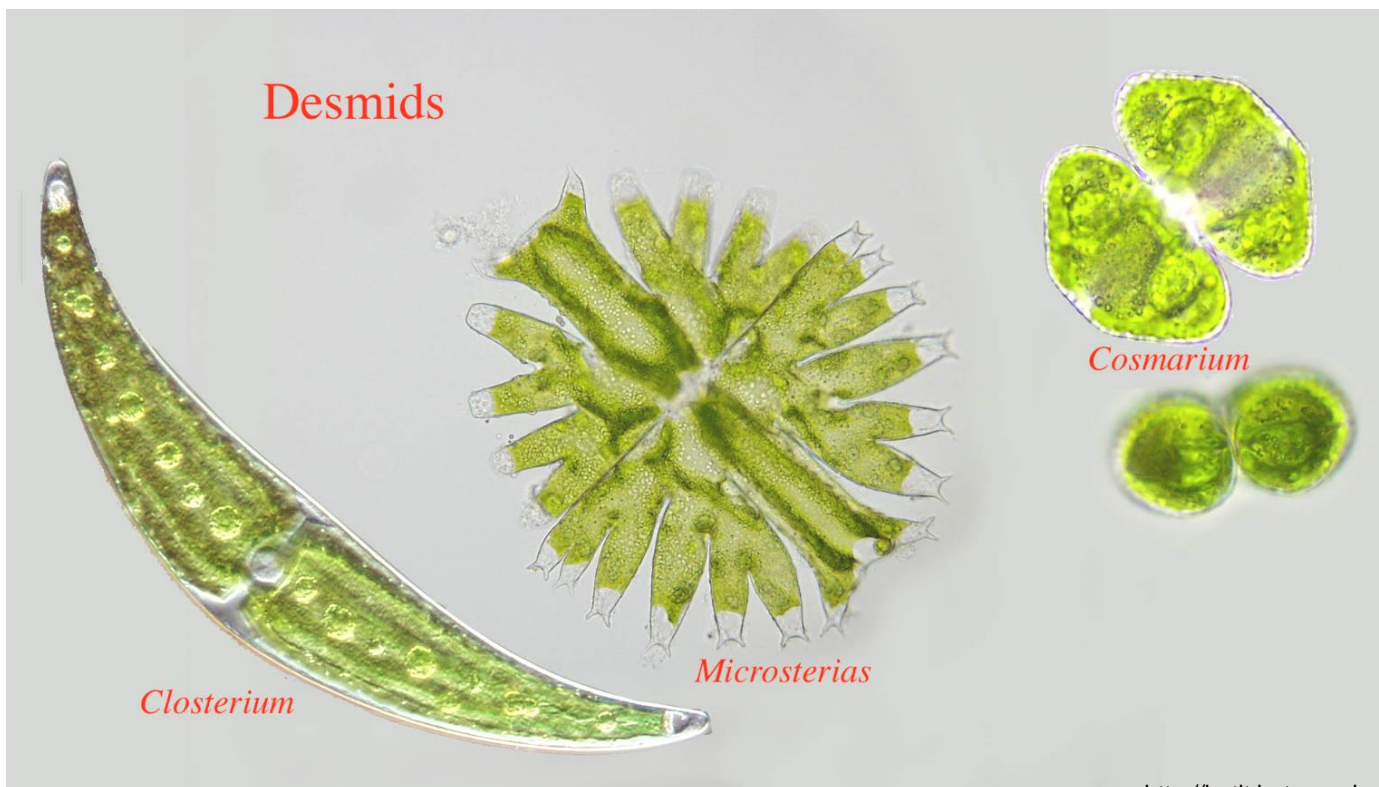
Tři vývojové linie primárních plastidů - Zelená linie (rostliny a řasy)



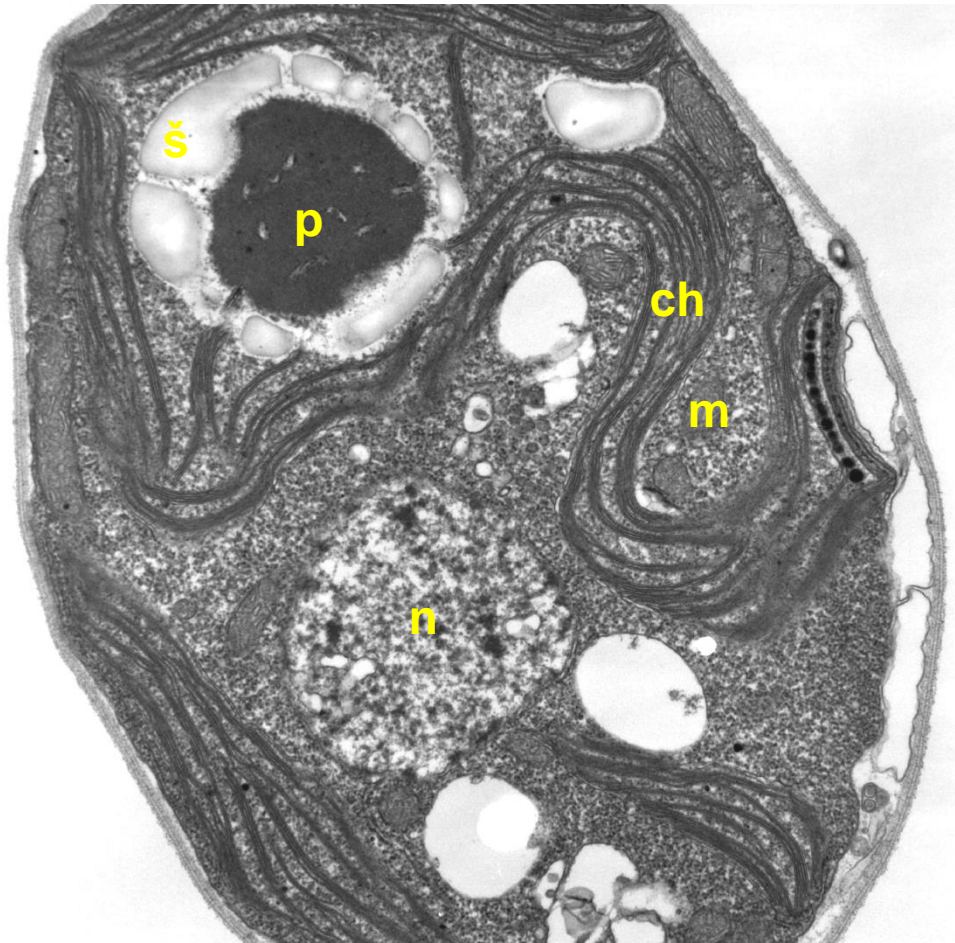
- plastid zelených řas a vyšších rostlin mají shodné složení chlorofylů (chlorofyl *a* a *b*) a neobsahují fykobilisomy.

Chloroplasty zelených řas

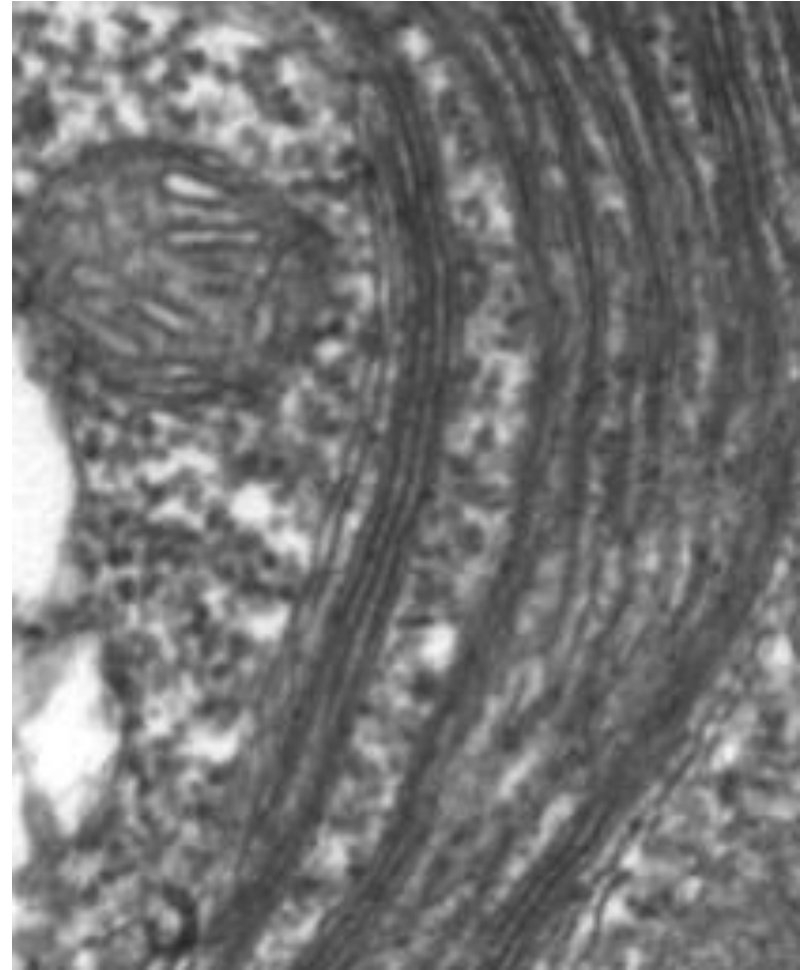
- Řasy obsahují **jeden** až několik málo plastidů, často vyplňujících většinu objemu buňky
- Nejrůznější tvary
- Složení chlorofylů a typy karotenoidů jsou stejné jako u vyšších rostlin
- Ve stroma jsou lamely tvořené několika **thylakoidy** (2-6). Většinou nejsou vyvinuta grana.
- Většinou vyvinutý **pyrenoid** – bílkovinné tělísko obsahující enzymy RUBISCO.



Chloroplasty řas pyrenoid



Chlamydomonas reinhardtii



<http://remf.dartmouth.edu/images/algaeTEM/source/4.html>

p = pyrenoid; ch = chloroplast; š = škrobová zrna; m = mitochondrie; n = jádro

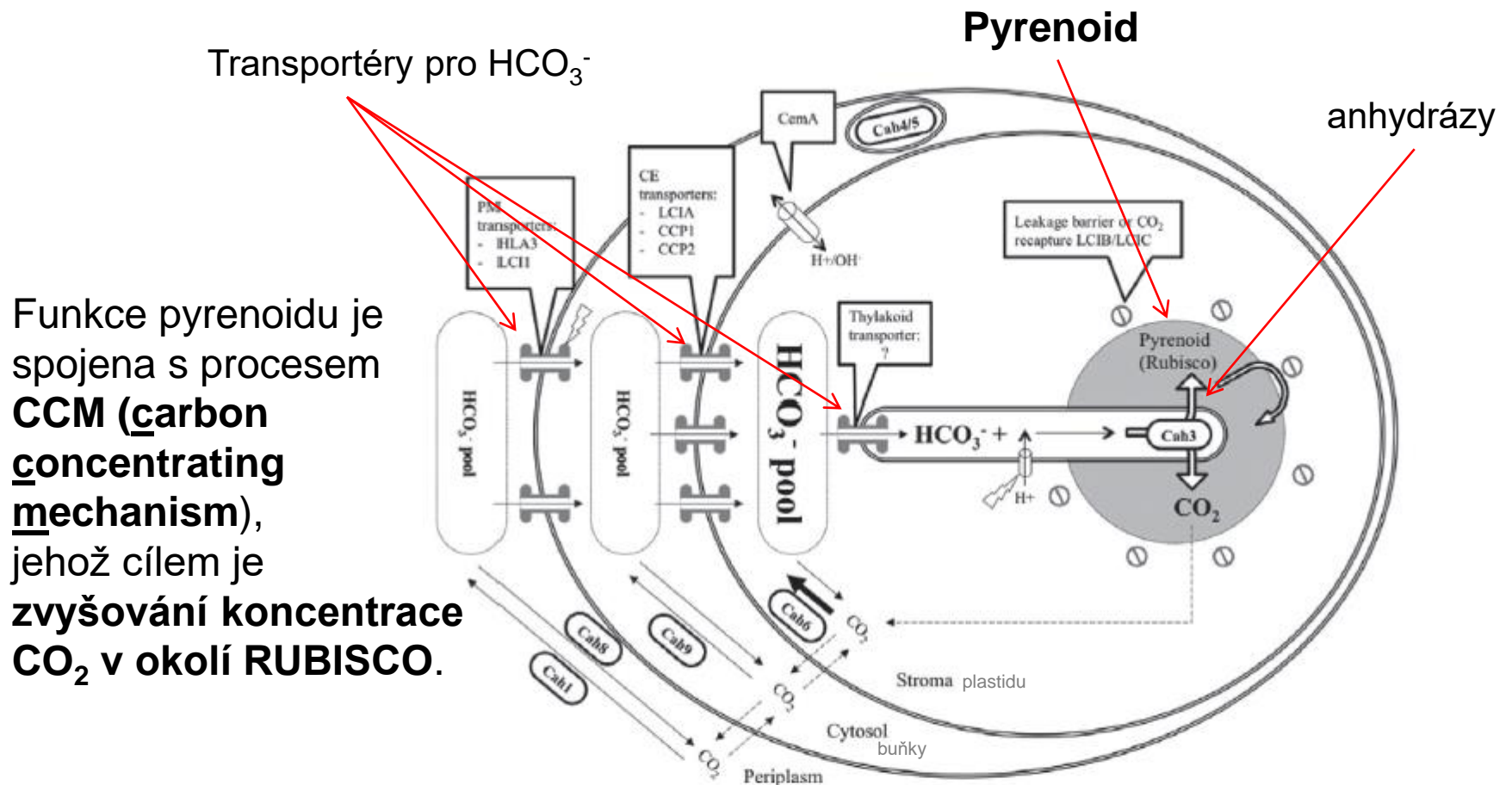
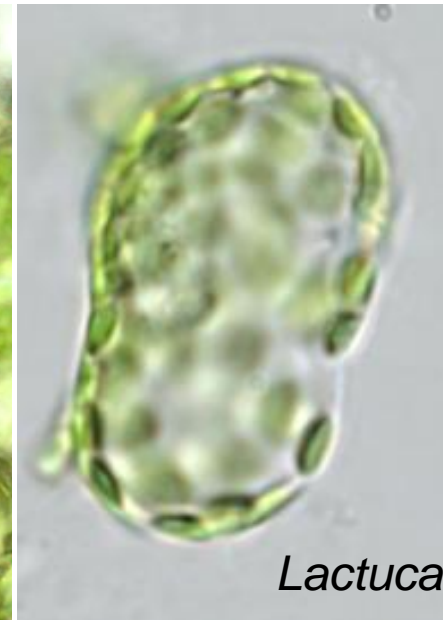
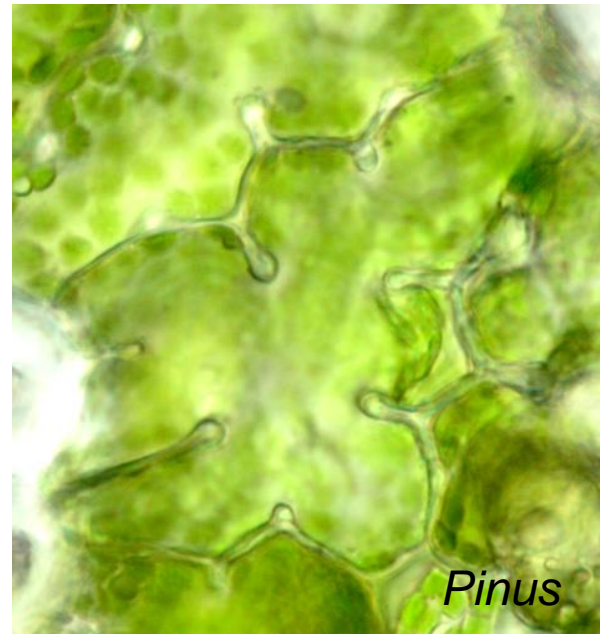
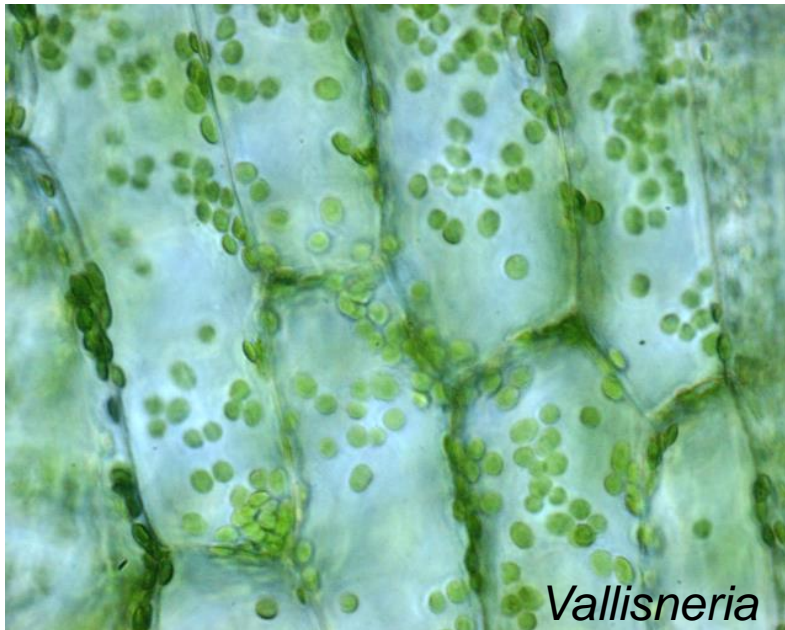


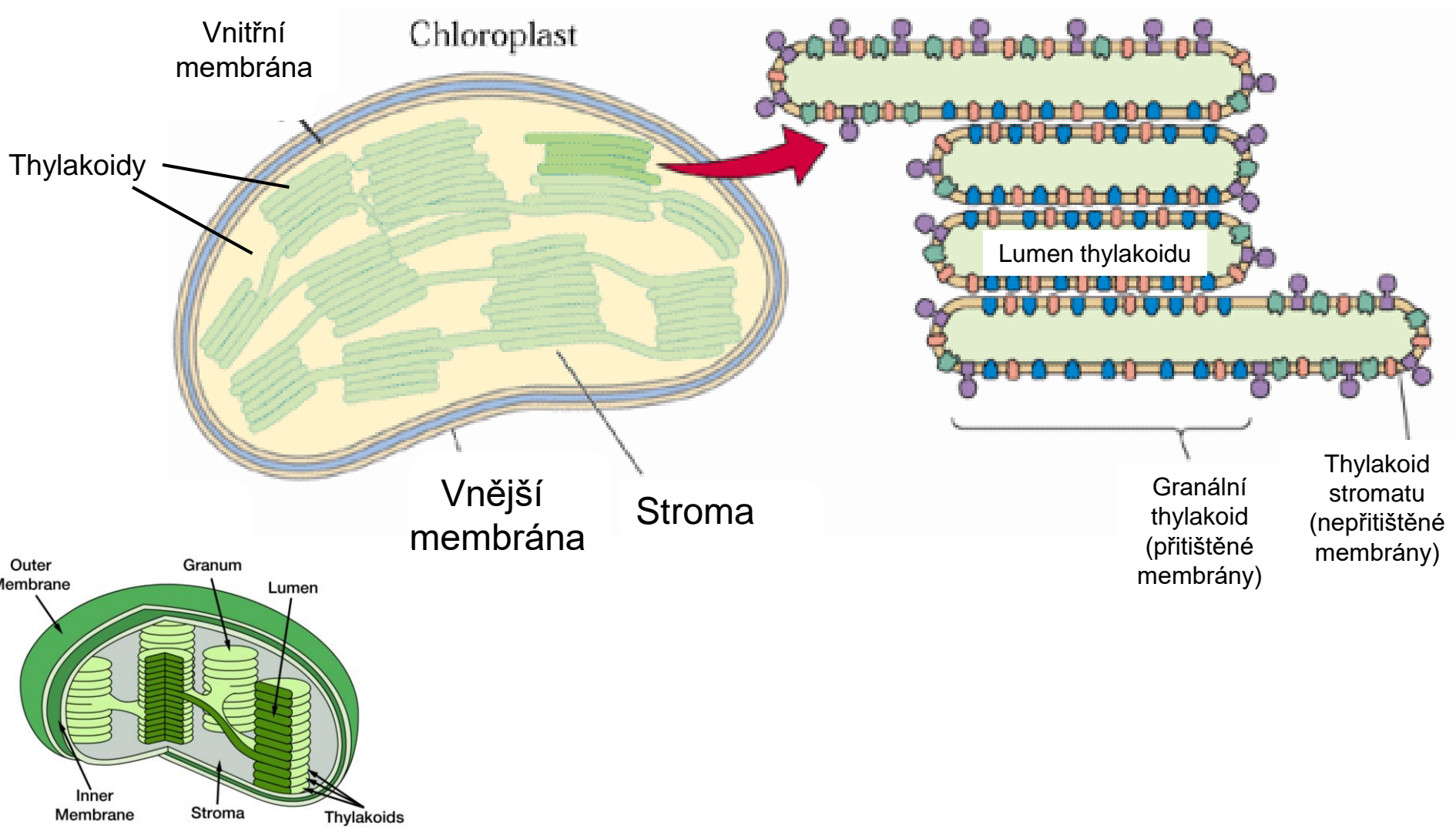
Fig. 1. Hypothetical model of the *C. reinhardtii* biophysical CCM. The current consensus on the mechanisms of CO_2 delivery to Rubisco in *Chlamydomonas* is as follows: (i) active transport of bicarbonate (naturally abundant in aquatic environments, membrane impermeable): extracellular environment \rightarrow cytosol \rightarrow stroma \rightarrow lumen of transpyrenoid thylakoids; (ii) conversion of luminal bicarbonate to CO_2 by a resident CA (CAH3); (iii) barrier to, or recapture of, CO_2 leaking from the pyrenoid by 350kDa hexameric complexes (LCIB/LCIC) and a stromal CA (CAH6); and (iv) equilibration of charges by proton pumps. There are two putative inorganic carbon transporters at the plasma membrane (ATP-dependent HLA3, and LCI1), and three at the chloroplast membrane [LCIA, and two isoforms of chloroplast carrier protein (CCP)], but their exact localization is not known.

Plastidy vyšších rostlin

- Buňky cévnatých rostlin obsahují několik až stovky plastidů
- Nejčastěji jsou plastidy čočkovitého nebo oválného tvaru, 5-8 μm dlouhé a 3-4 μm široké.
- Velmi různorodé role**
- Pro svůj plný vývoj potřebují plastidy cévnatých rostlin světlo



Plastidy vyšších rostlin - grana



Vnější membrána

- Obsahuje nespecifické proteinové póry, které dovolují rychlý průchod vodě, iontům a některým metabolitům (až do velikosti cca 10 kDa) mezi cytoplazmou a mezimembránovým prostorem.
- Nikdy nesouvisí s vnitřní membránou, ale existují kontaktní místa interakce vnější a vnitřní membrány

Vnitřní membrána

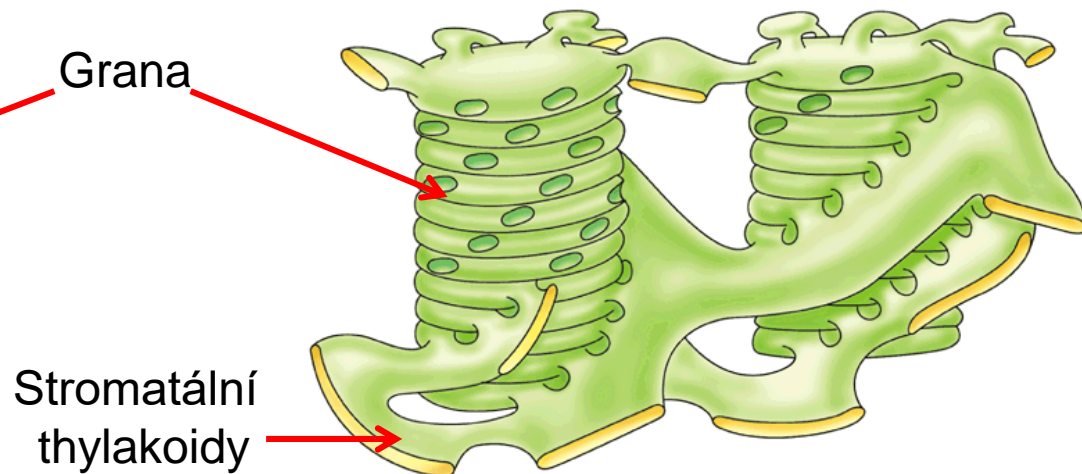
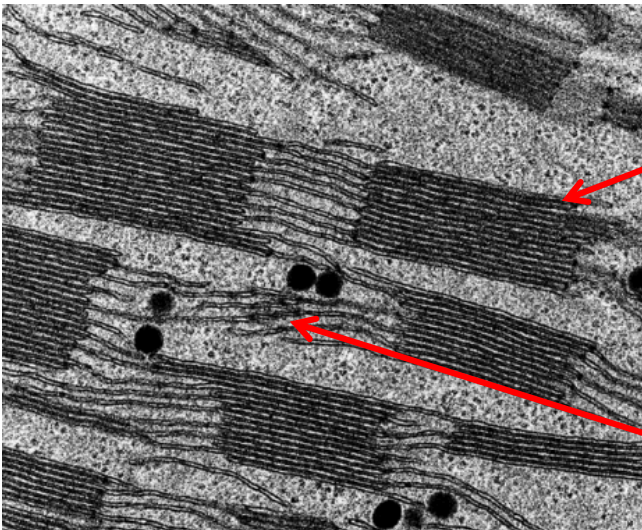
- Volně prostupná pro malé nenabitě molekuly (např. O_2 a NH_3) a nízkomolekulární monokarboxylové kyseliny.
- **Specifické transportéry** pro transport metabolitů
- Vnější i vnitřní membrána obsahují spíše málo fosfolipidů, ale velké množství **galaktolipidů**.

Stroma

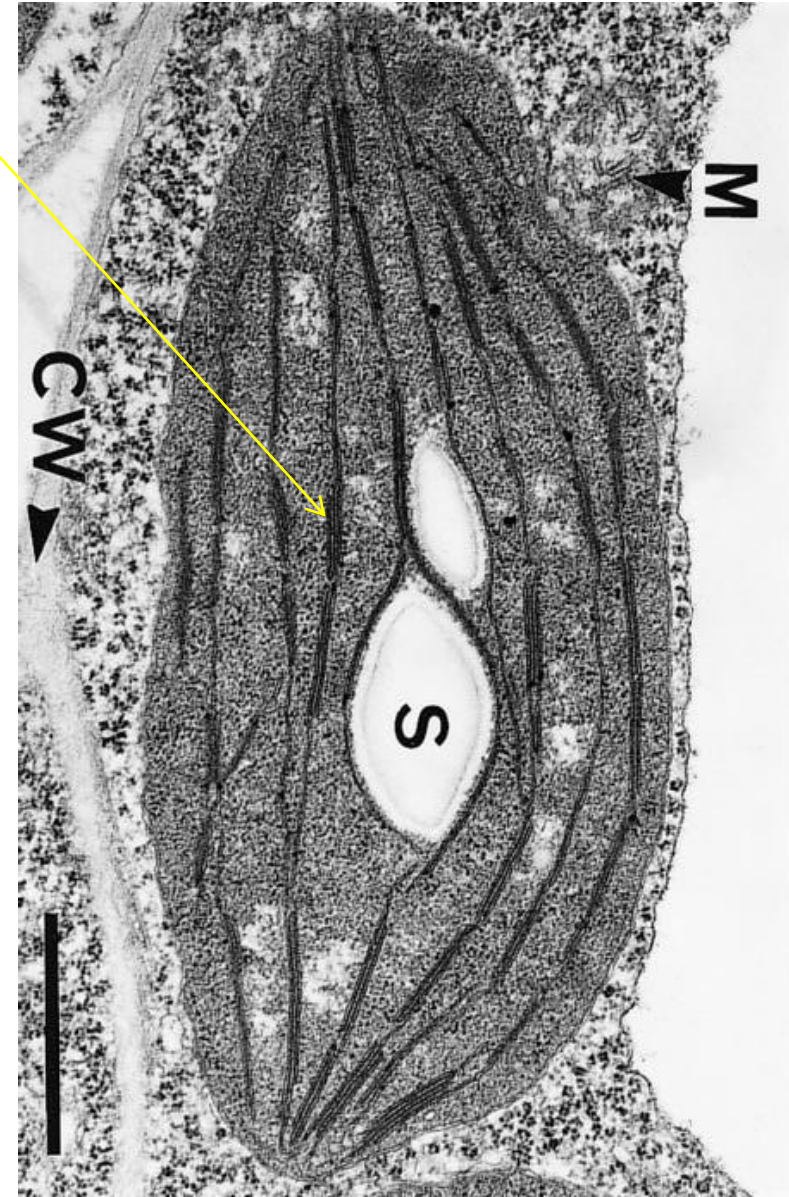
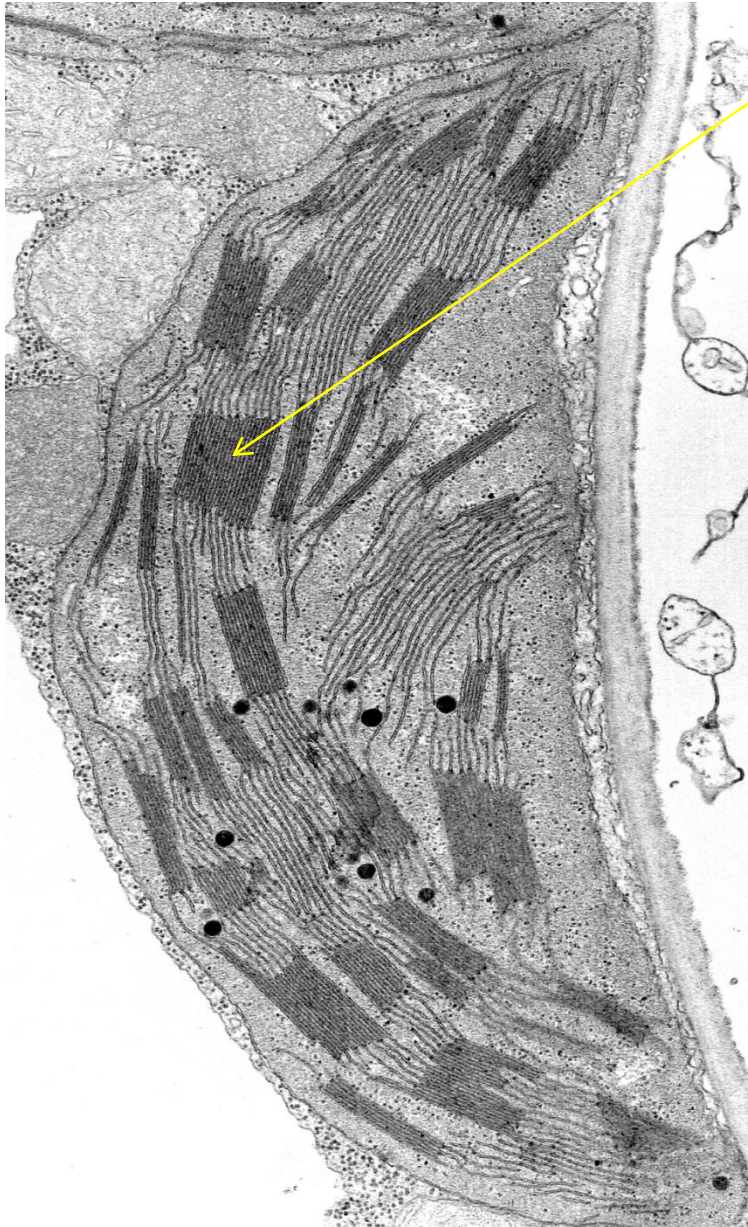
- Prostor ohraničený vnitřní membránou, kde se nacházejí další membránové útvary – **thylakoidy**.
- Ve stroma probíhá **Calvin–Benson–Basshamův cyklus** (CBB, Calvinův cyklus)
- Ribozómy, DNA.

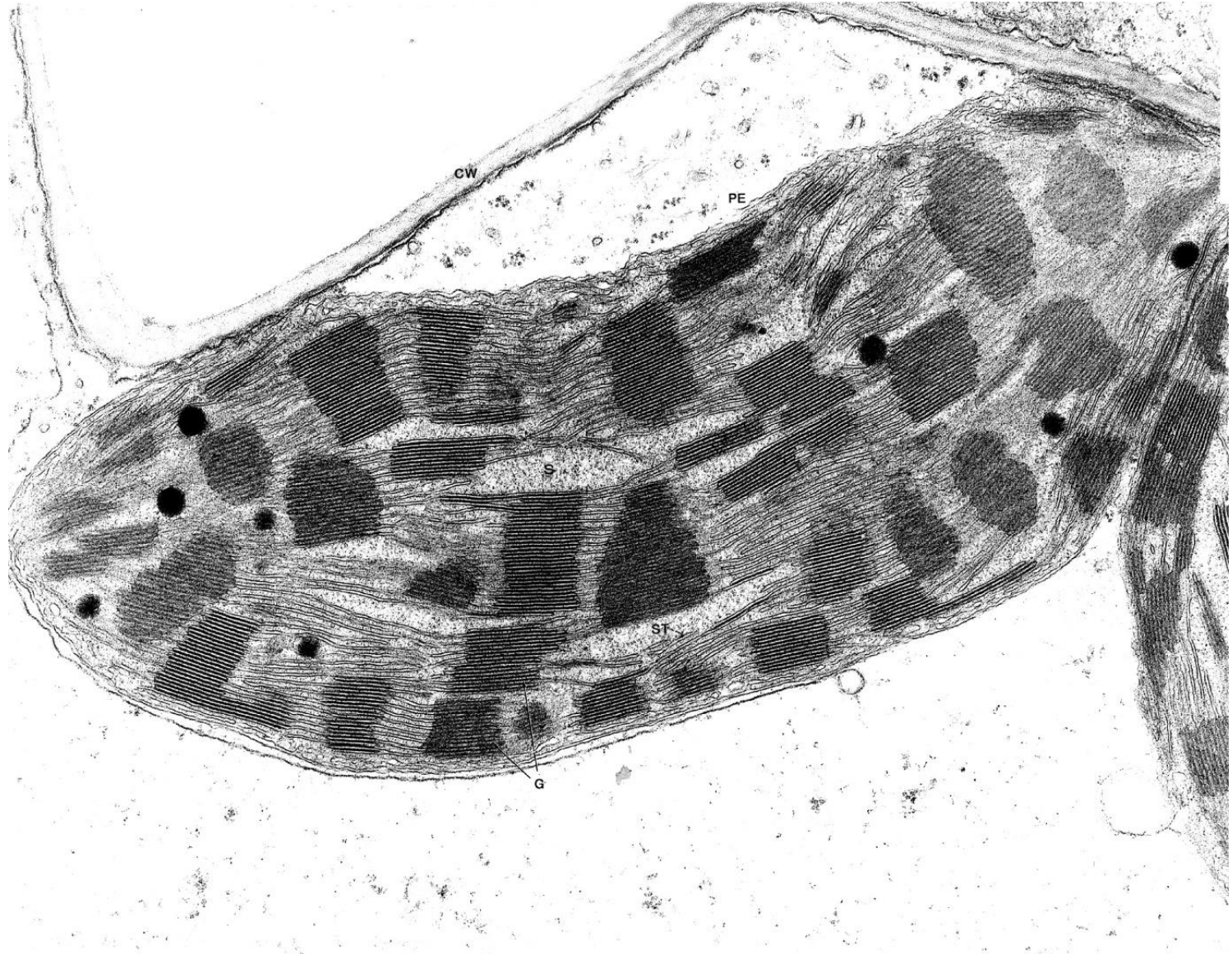
Thylakoidy

- Thylakoidní membrána uzavírá další prostor, **lumen thylakoidu**.
- V thylakoidní membráně jsou umístěny proteinové superkomplexy, zajišťující **fotosyntézu**.
- Rozlišujeme:
grana (přitištěné diskovité thylakoidy). Grana (j.č. granum) vznikají opakovaným přikládáním jazykovitých útvarů thylakoidů, připomínajících vak.
thylakoidy stromatu (stromatální thylakoidy, nepřitištěné thylakoidy).
Propojují grana.

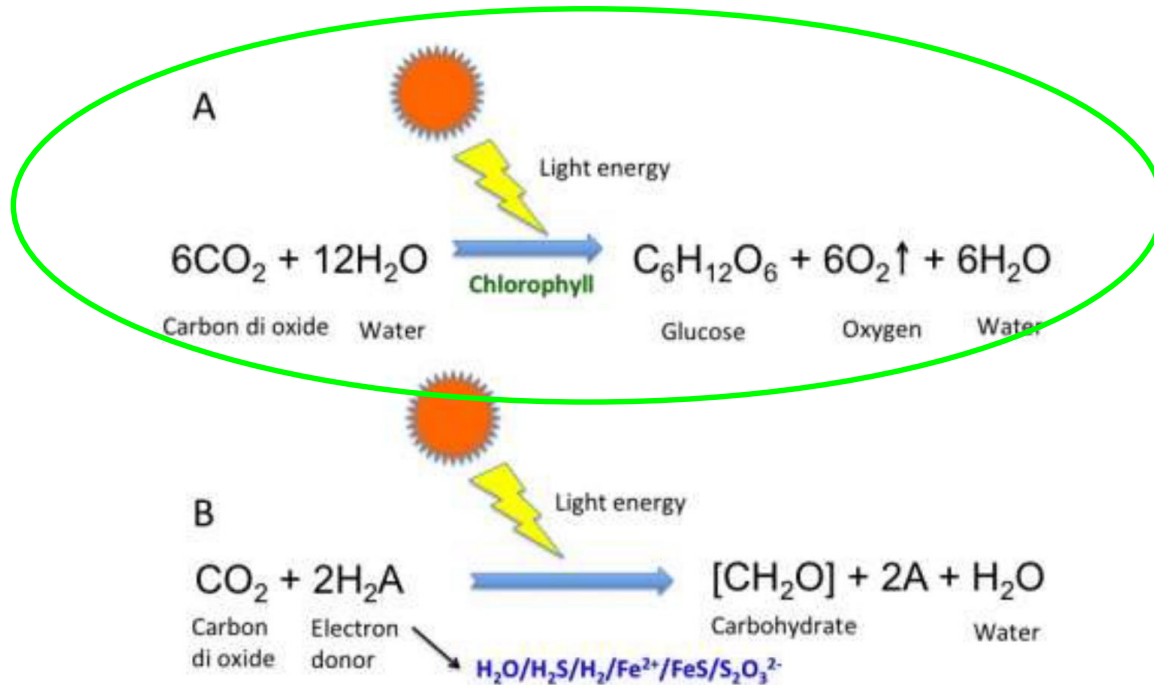


Plastidy vyšších rostlin -
grana





FOTOSYNTÉZA



FOTOSYNTÉZA

Fotosyntéza je oxido-redukční proces, ve kterém je světelná energie konvertovaná do energie chemických vazeb, tedy stabilních chemických produktů.

Skládá se ze dvou částí:

1. **světelné reakce** (vznik redukovaných kofaktorů a ATP)
2. **CBB (Calvin–Benson–Bassham) cyklu**, ve kterém je redukován CO_2 na organické látky za spotřeby ATP a NADPH, které vznikly během světelné reakce.

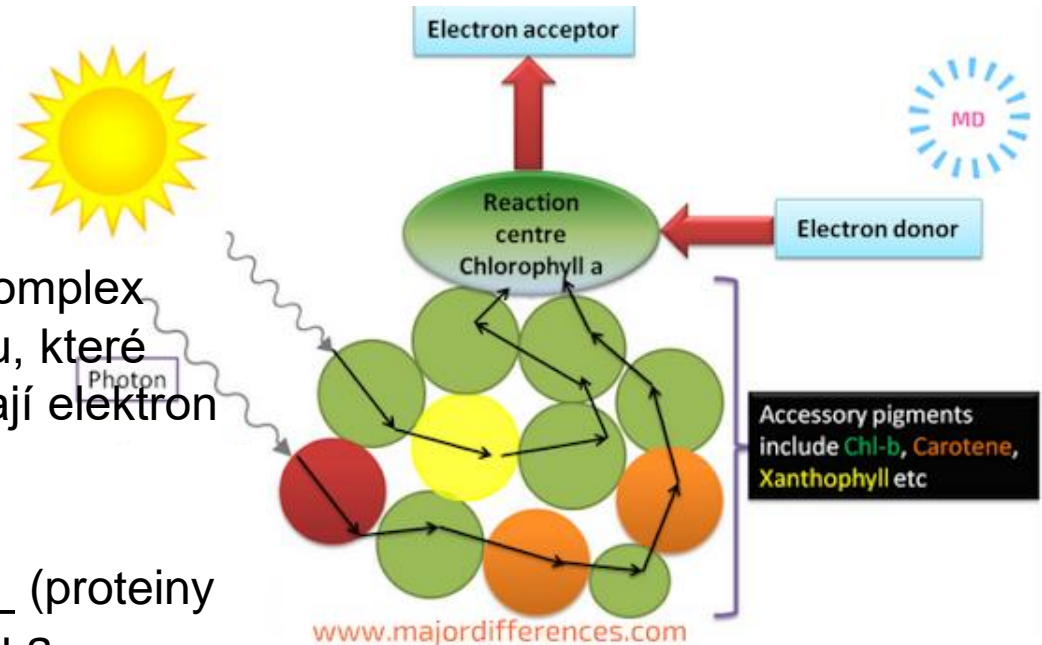
Světelné reakce fotosyntézy

Světelné reakce fotosyntézy probíhají v proteinových superkomplexech v **membráně thylakoidu**, nazývaných **fotosystém I (PSI)** a **fotosystém II (PSII)**

Složení fotosystémů:

1. reakční centrum (proteinový komplex s navázanými molekulami chlorofylu, které absorbují foton a následně předávají elektron akceptoru)

2. světlosběrné komplexy (LHC) (proteiny s navázanými molekulami chlorofylu a karotenoidů, zajišťující absorpci světelné energie a její přenos do reakčního centra fotosystému)



<https://www.majordifferences.com/2013/12/difference-between-photosystem-i-and.html#.XbwDYWfsaM8>

PS=photosystem; LHC=light harvesting complex

Světelné reakce fotosyntézy

Světelné reakce fotosyntézy probíhají v proteinových superkomplexech v **membráně thylakoidu**, nazývaných **fotosystém I (PSI)** a **fotosystém II (PSII)**

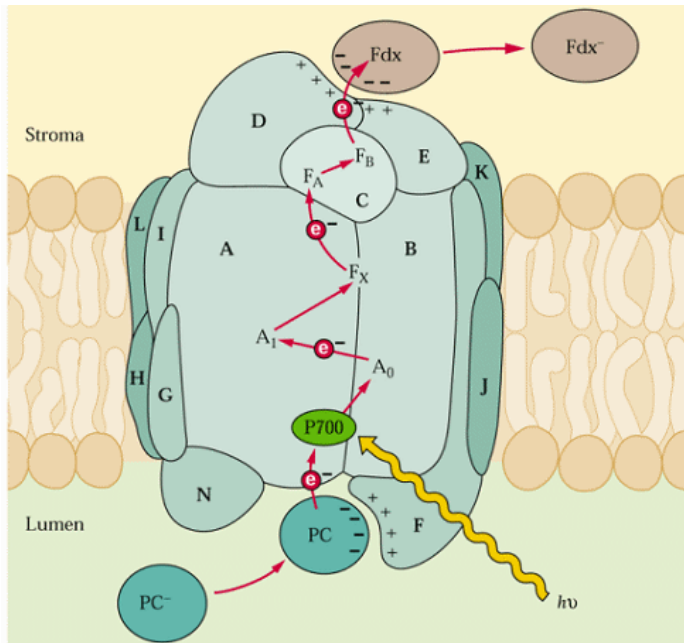
Složení PSI: Reakční centrum obsahuje chlorofyl P700
 Světlosběrný komplex LHCI

Složení PSII: Reakční centrum obsahuje chlorofyl P680
 Světlosběrný komplex LHCII

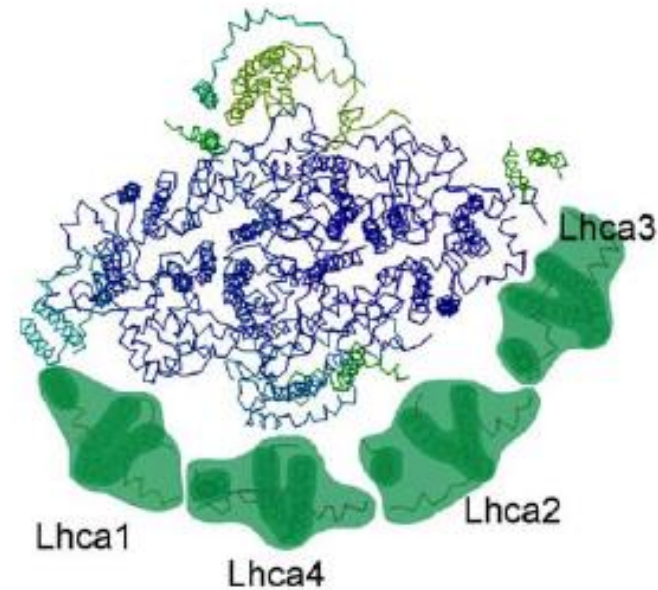
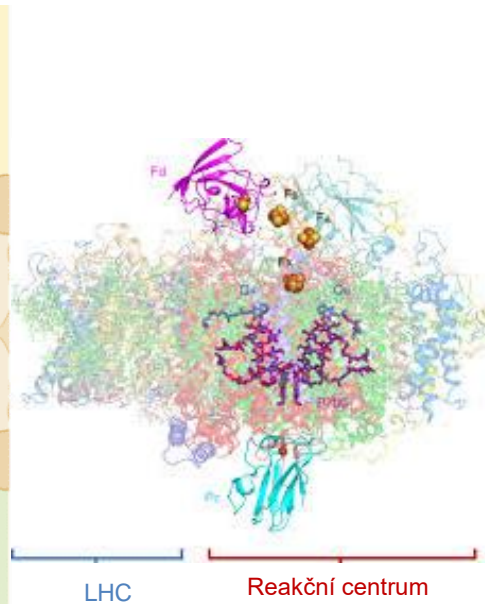
Fotosystém I (PSI)

Reakční centrum je multiproteinový komplex (cca 110 kofaktorů; největší podjednotky jsou PsaA a PsaB).

LHCI jsou tvořeny 4 proteiny s pigmenty (Lhca1-4); tyto obklopují reakční centrum z jedné strany.



PSI reakční centrum

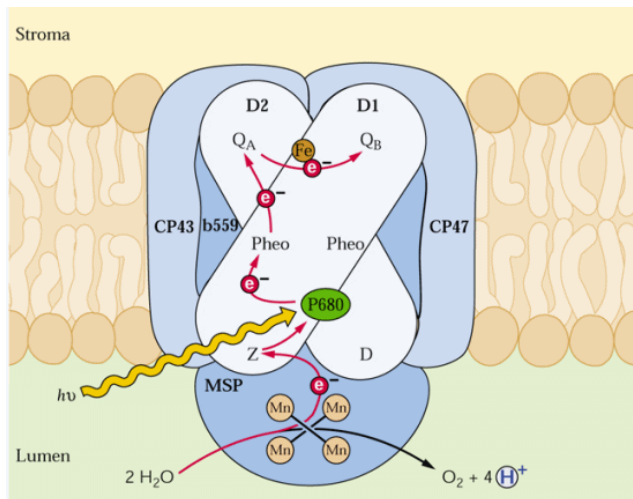


PSI-LHCI superkomplex

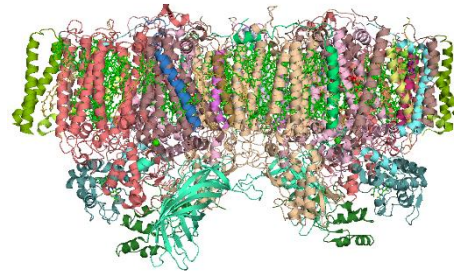
Fotosystém II (PSII)

Reakční centrum je proteinový komplex (hlavní proteiny D1 a D2). Dimer v membránách gran.

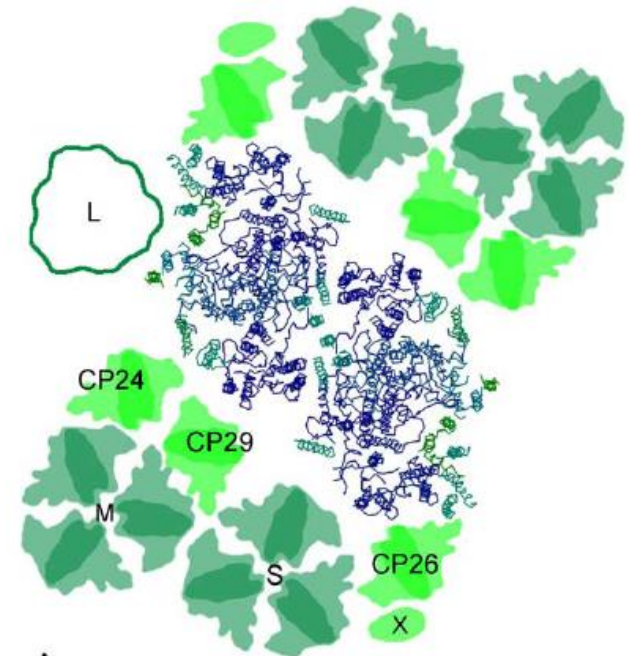
LHCII protein vázající pigment se většinou vyskytuje jako trimer. Asociace s PSII v membránách za tvorby PSII-LHCII superkomplexů.



PSII reakční centrum

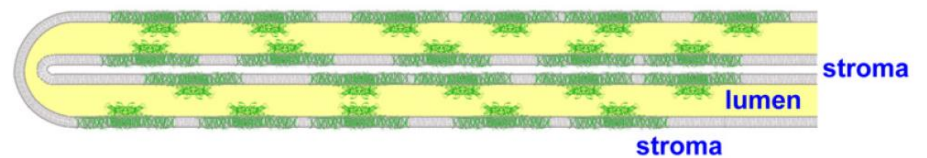
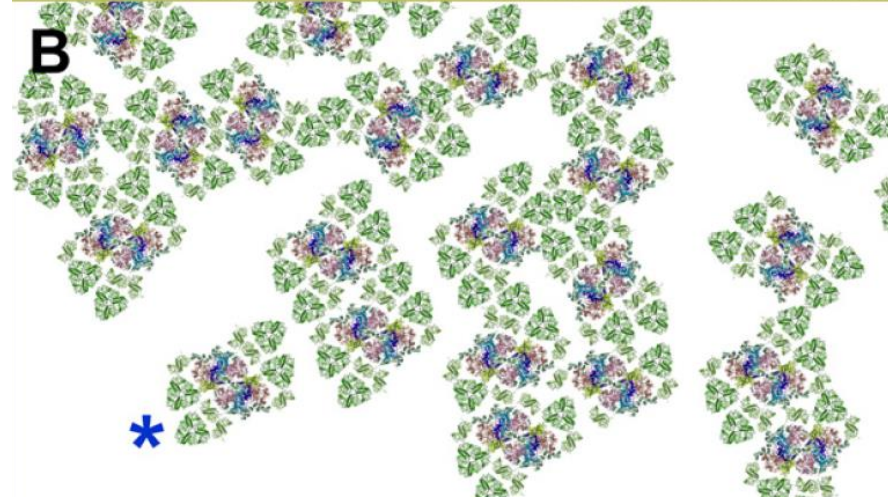
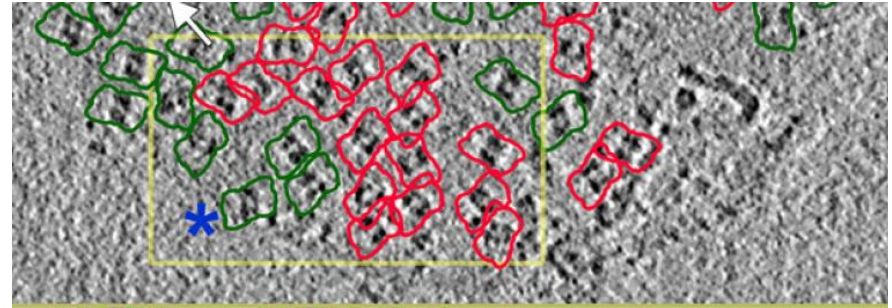
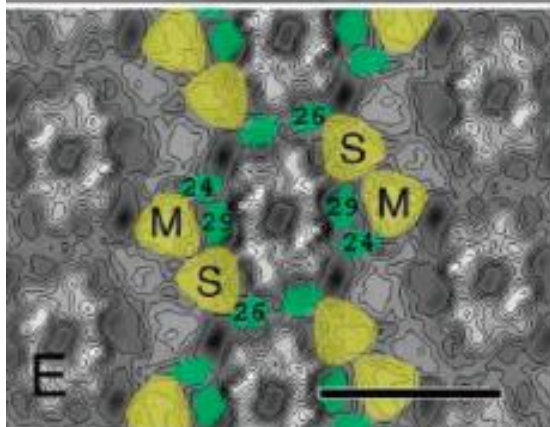
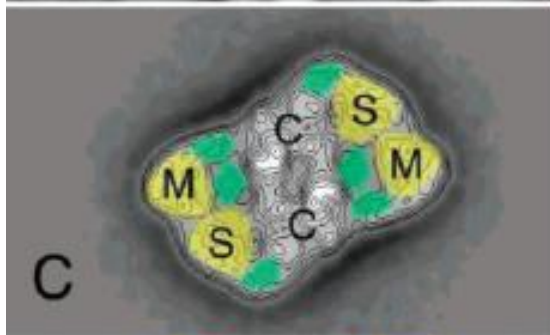
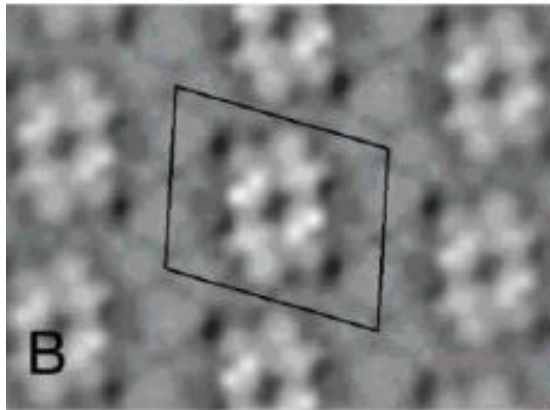


Dimer PSII
reakčního centra



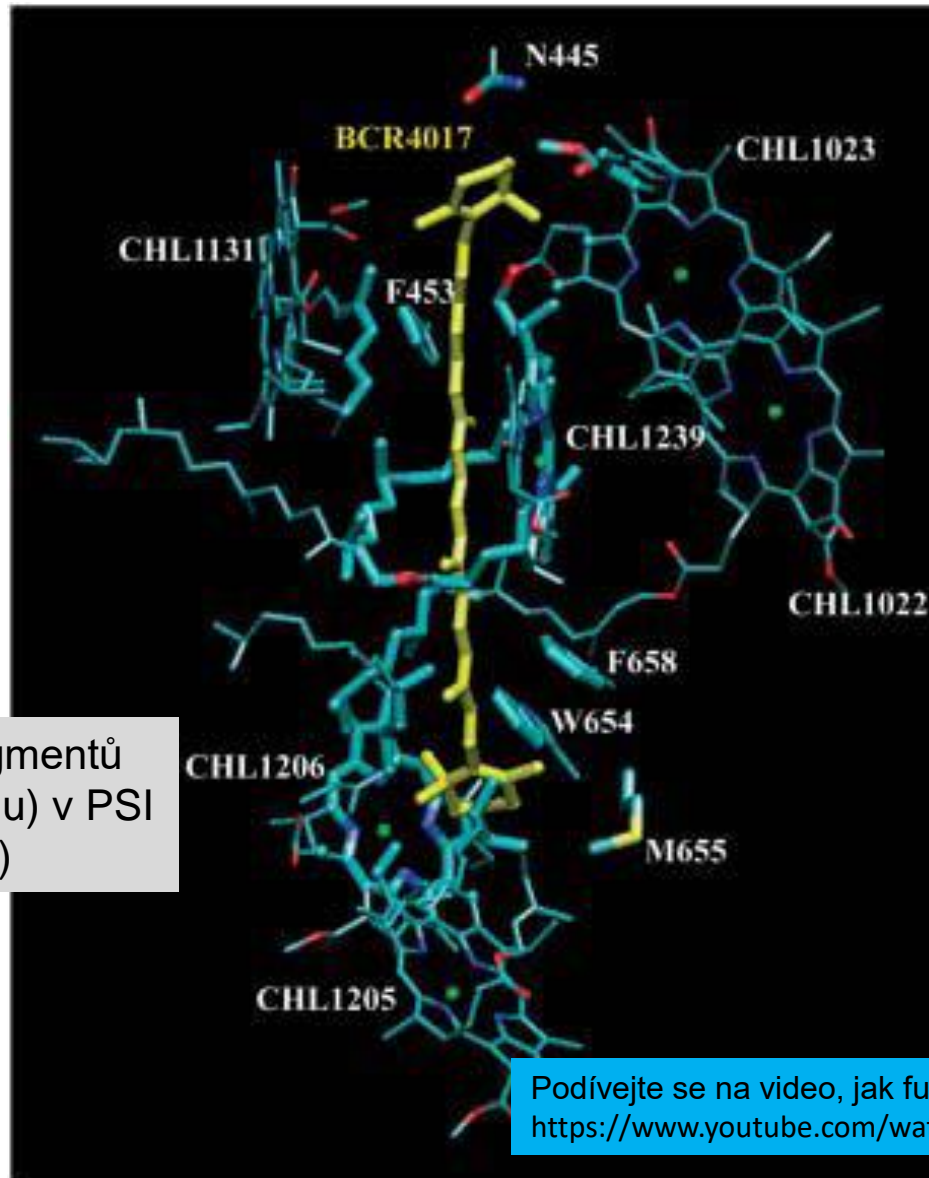
Δ
PSII-LHCII superkomplex

Krystalické uspořádání PSII-LHCII superkomplexů v membráně gran - megakomplexy



Biochimica et Biophysica Acta 1807 (2011) 368–374

Pigment-proteinový komplex: protein zajišťuje správnou prostorovou orientaci pigmentů, absorbujících a přenášejících energii



Příklad uspořádání pigmentů (chlorofylů a β -karotenu) v PSI sinice *Synechococcus*)

Podívejte se na video, jak funguje přenos energie fotonu:
<https://www.youtube.com/watch?v=3Ufv060N27g>

Schéma necyklického přenosu elektronů

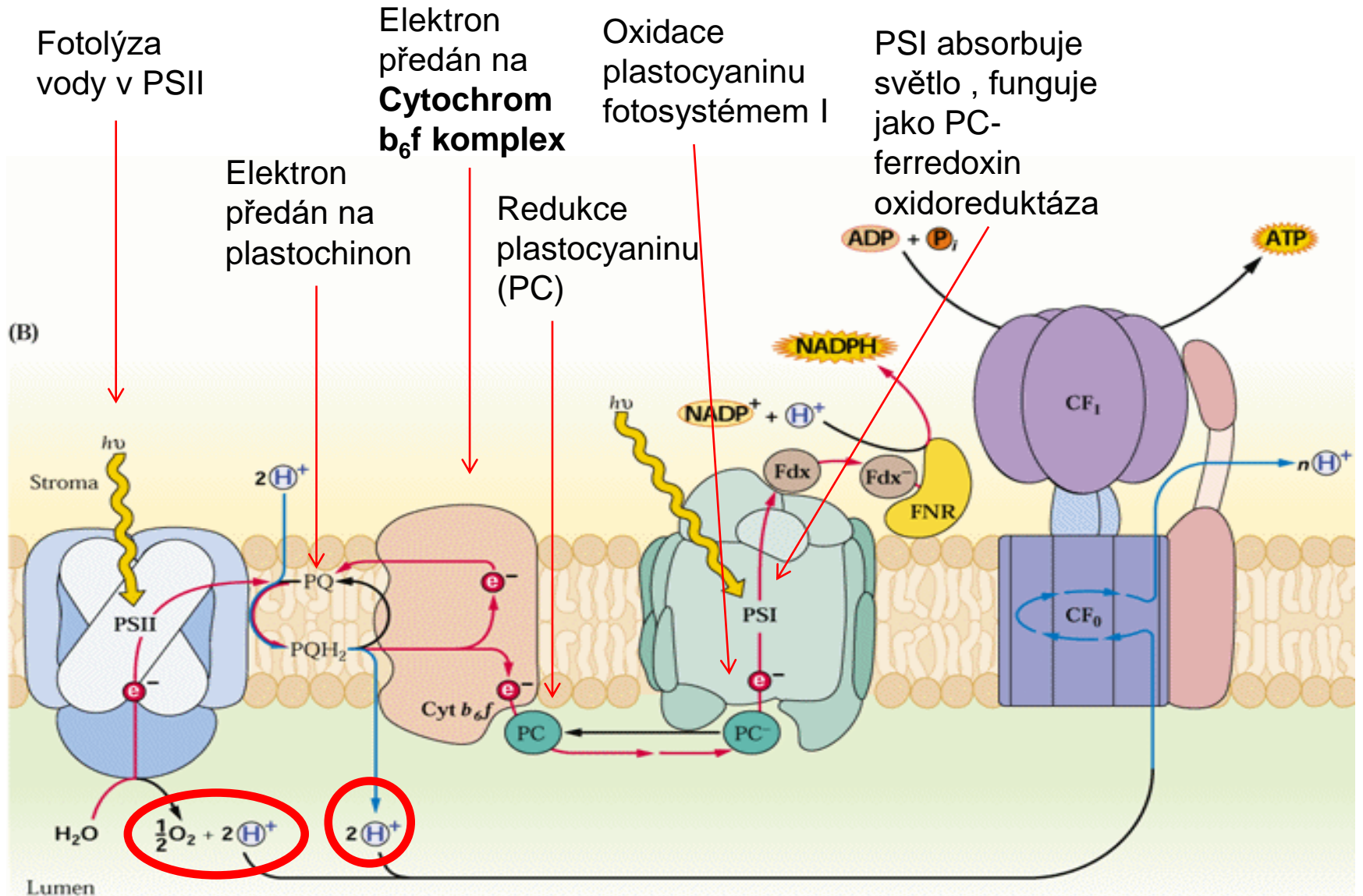


Schéma necyklického přenosu elektronů

Terminálním akceptorem elektronů je **ferredoxin**, který redukuje NADP^+ na NADPH

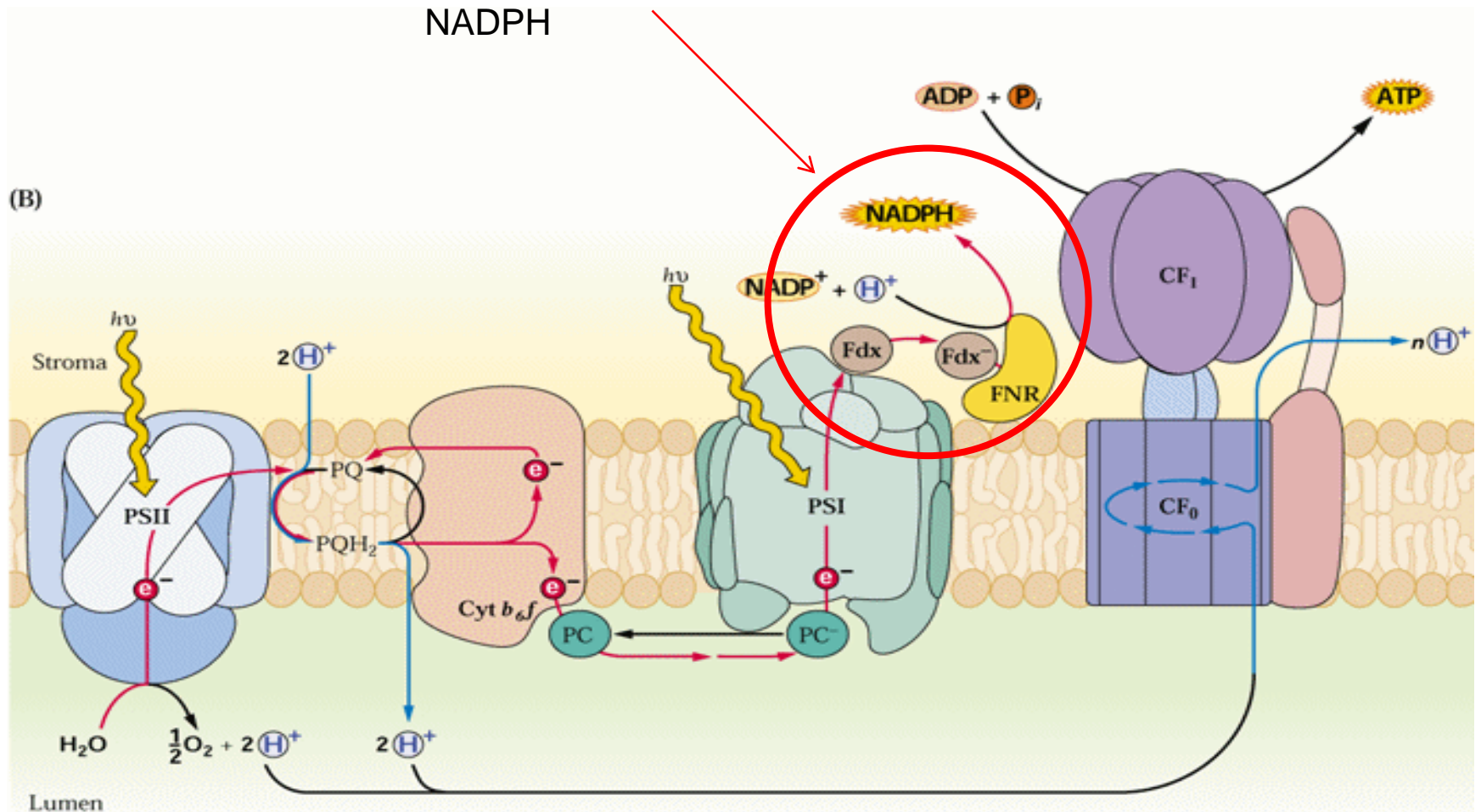
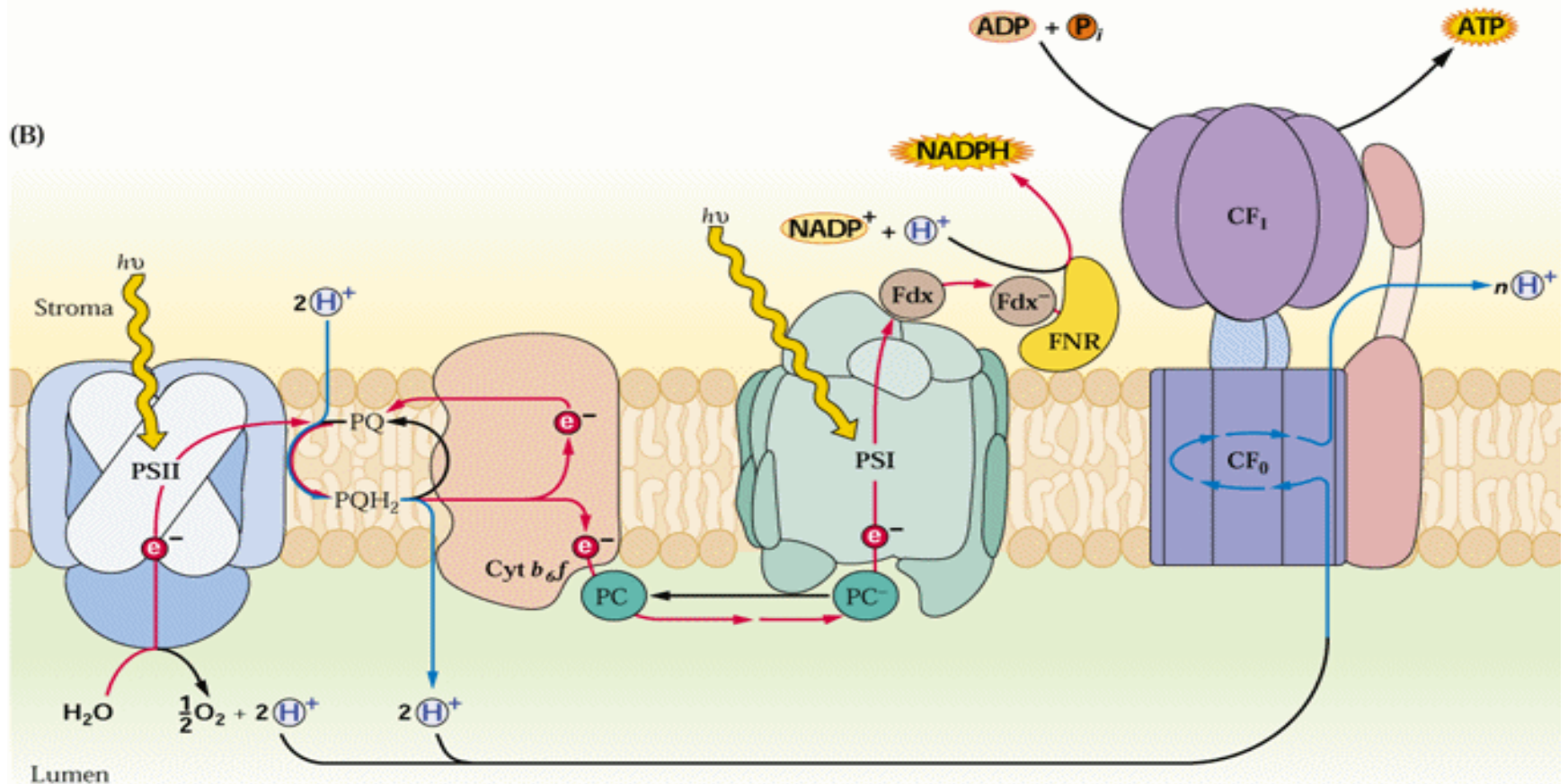


Schéma necyklického přenosu elektronů

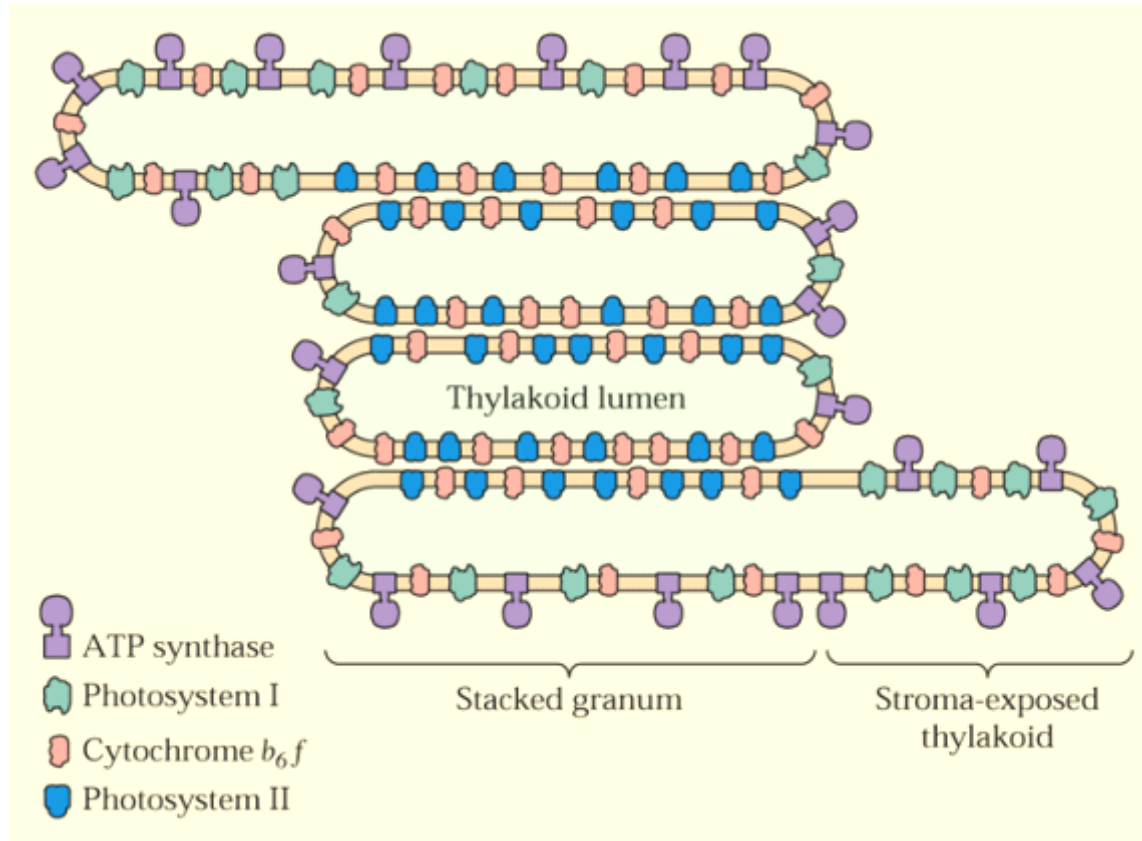
Výsledkem světelné fáze fotosyntézy je vznik **elektrochemického gradientu** a vznik **redukováných kofaktorů NADPH**.

Fotofosorylace: ATP-syntáza v membráně thylakoidu využívá elektrochemický potenciál k syntéze ATP.



https://www.youtube.com/watch?v=hj_WKgnL6MI

Lokalizace proteinových komplexů v membráně thylakoidu



Lokalizace:

PSII: membrána gran

PSI a ATP-syntázy: membrána thylakoidů stromatu

b_6f komplex: obě membrány

Možné důvody laterální segregace a vzniku gran:

1. Elektrostatické a Van der Waalsovy síly
2. Samouspořádávání PSII do superkomplexů
3. Stérické zábrany (ATP syntáza, PSI)

Granum zajišťuje:

1. fyzickou separaci PSI a PSII a jejich anténních systémů, což umožňuje vysokou výkonnost fotosyntézy.
2. Míra přitištění membrán umožňuje regulovat množství dopadajícího světla (zastínění – více širších gran, navýšení PSII)
3. Přitištění membrán snad umožňuje též vytvořit rozsáhlé komplexy anténních systémů kolem PSII, čímž se zvyšuje pravděpodobnost zachycení fotonu PSII.

Chloroplasty ozářených a zastíněných listů

Chloroplasty mají adaptační mechanismy umožňující přizpůsobit svou strukturu a funkci světelným podmínkám – vývoj chloroplastu je pod kontrolou světelných podmínek.

Chloroplasty ozářených listů mají:

- méně gran
- méně thylakoidů v granu
- menší celkovou plochu thylakoidů
- menší světlosběrné komplexy
- vyšší aktivitu enzymů pro redukci CO_2



Calvinův cyklus (též Calvinův-Bensonův-Basshamův cyklus, CBB cyklus)

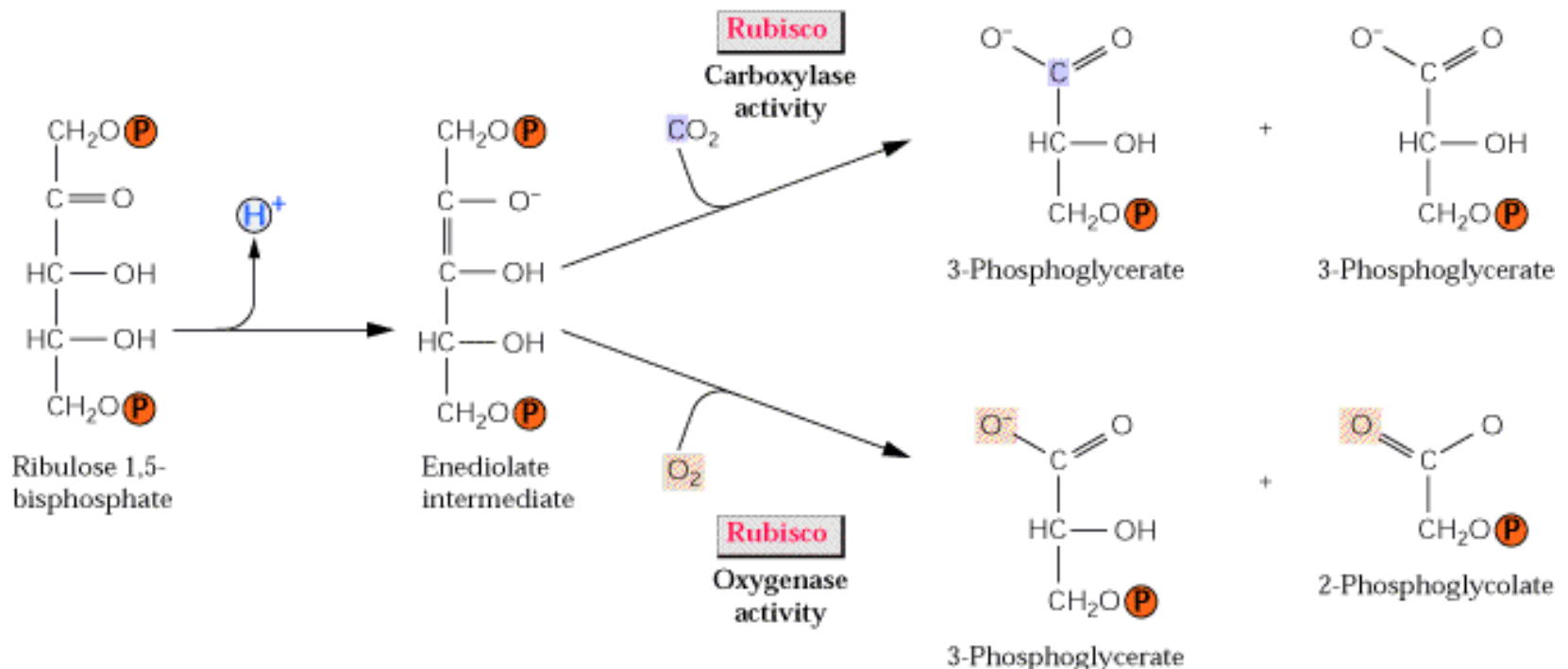
Série reakcí, jejichž výsledkem je konverze (redukce) CO_2 v karbohydráty – cukry. Využívána je ATP a NADPH vzniklé během světelné reakce v elektron-transportním řetězci.

Všechny enzymy CBB (Calvinova) cyklu jsou lokalizovány ve stroma.

Prvním stabilním produktem je u většiny rostlin 3-fosfoglycerát (3PGA) = C3 metabolismus.

Nejenzymu Rubisco:

- Jeden z **nejvíce zastoupených** enzymů v biosféře
- **Nejobsáhlejší** rozpustný protein v chloroplastech
- Více než 90% uhlíku v biomase bylo konvertováno z anorganického CO₂ enzymem Rubisco
- Enzym, který „krmí“ planetu Zemi



Rubisco = ribulóza 1,5 bisfosfát karboxyláza/oxygenáza. Lokalizován ve stroma.

CBB cyklus má tři fáze: **karboxylaci**, **redukci** a **regeneraci**.
 Většina vytvořeného GAP (glyceraldehyd-3-fosfátu) je využita na **regeneraci** ribulózy 1,5-bisfosfátu.

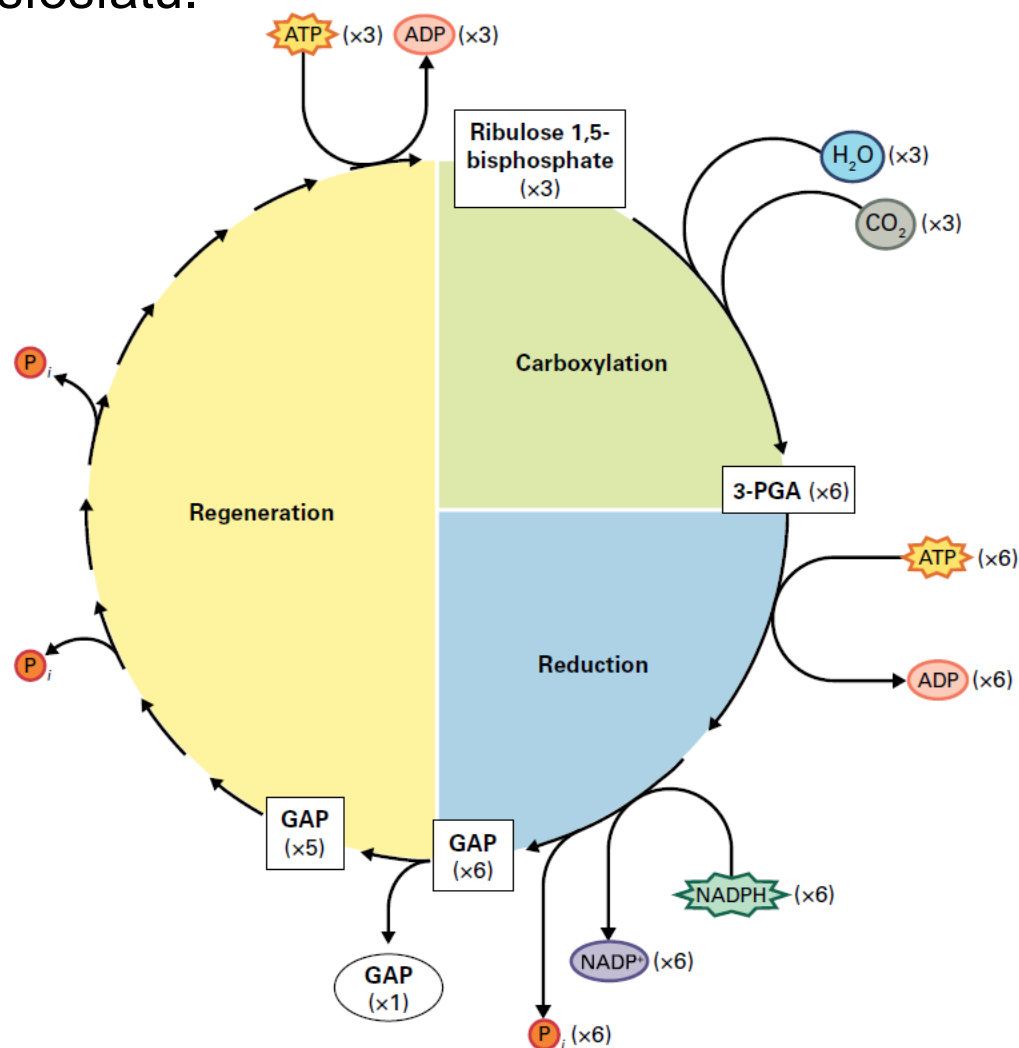
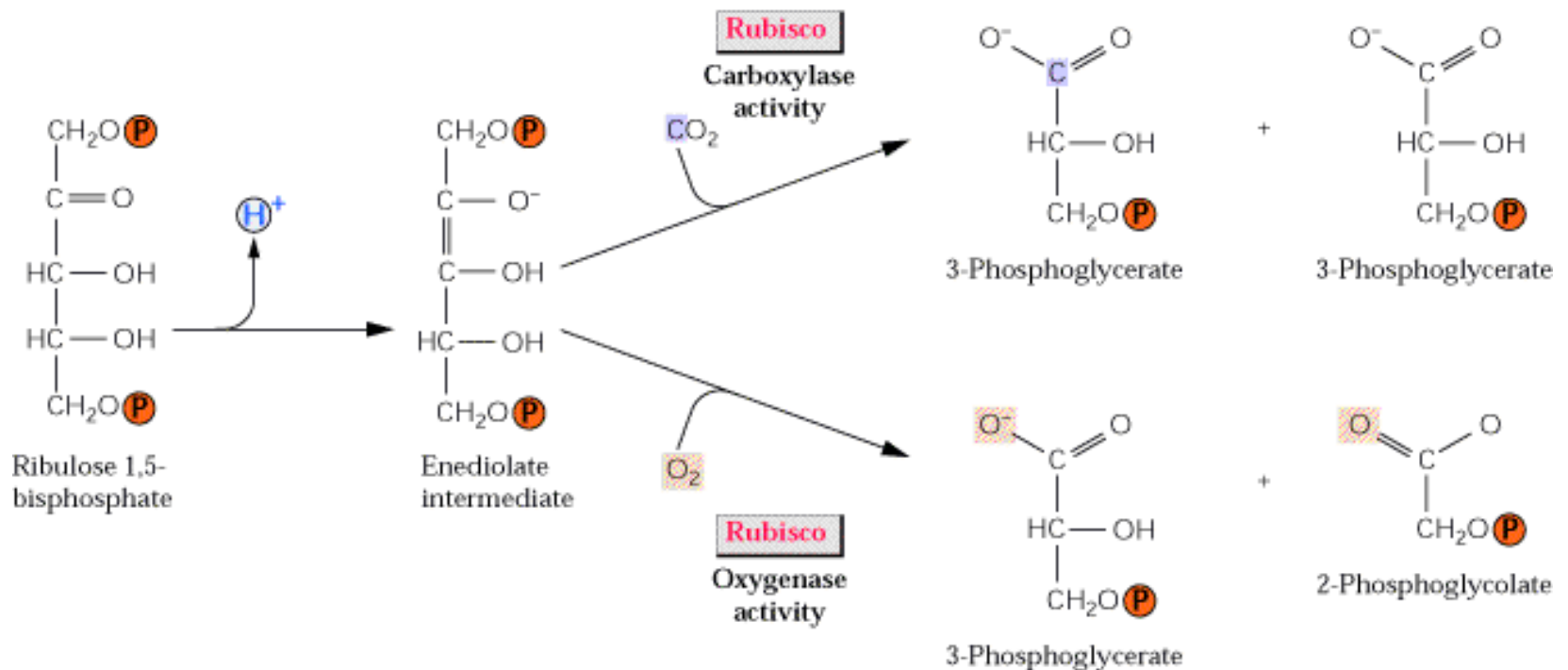


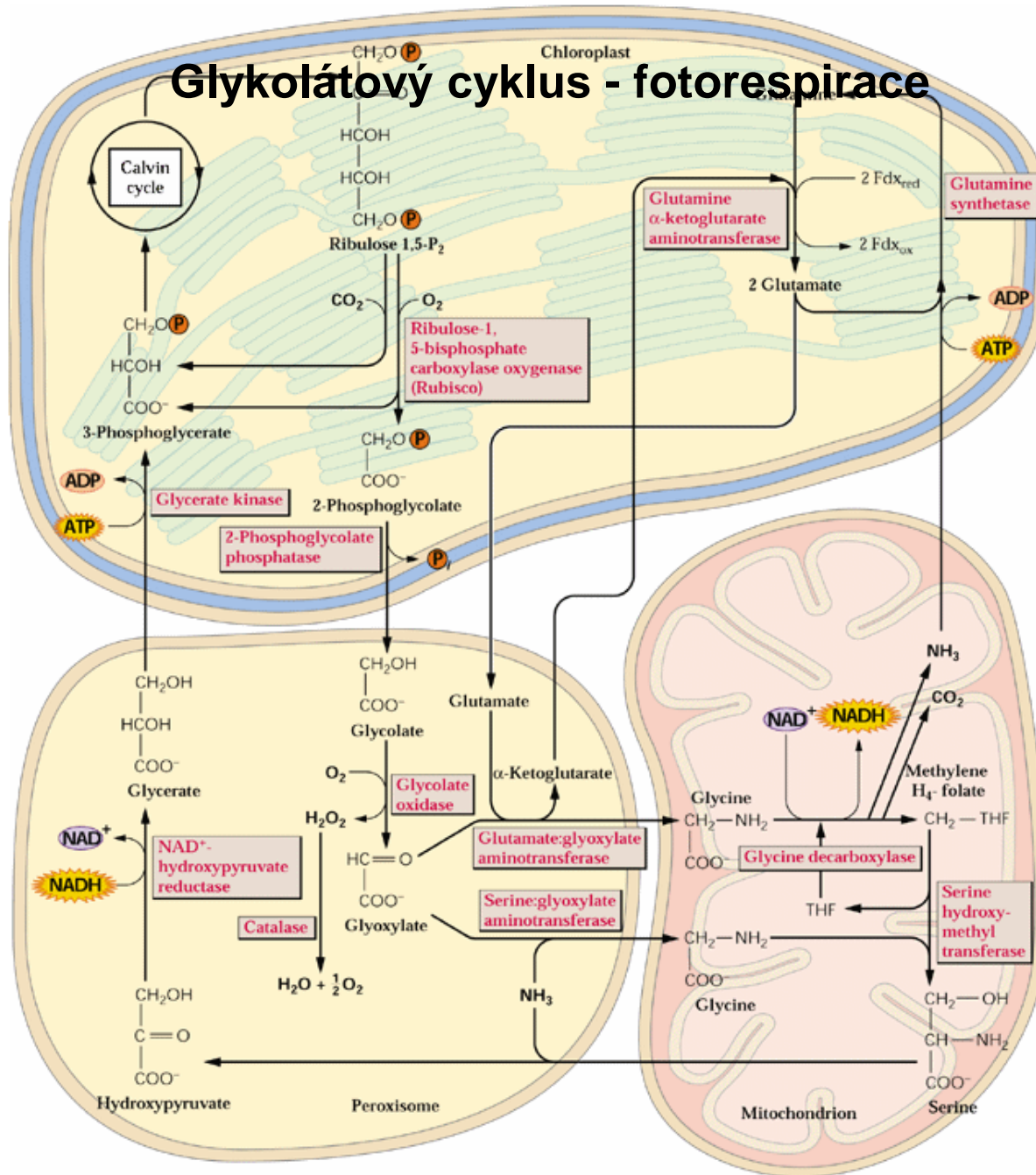
FIGURE 12.34 Three phases of the Calvin–Benson cycle: carboxylation, reduction, and regeneration. Overall, the fixation of three molecules of CO₂ into one molecule of triose phosphate requires six molecules of NADPH and nine of ATP (3 CO₂: 6 NADPH: 9 ATP ≡ CO₂: 2 NADPH: 3 ATP). The net glyceraldehyde 3-phosphate (GAP) formed is utilized either for immediate metabolic needs or converted to a storage form of carbohydrate—starch in the chloroplast or sucrose in the cytosol. 3-PGA, 3-phosphoglycerate.

Oxygenázová aktivita Rubisco



Rubisco = ribulóza 1,5 bisfosfát karboxyláza/oxygenáza. Lokalizován ve stroma.

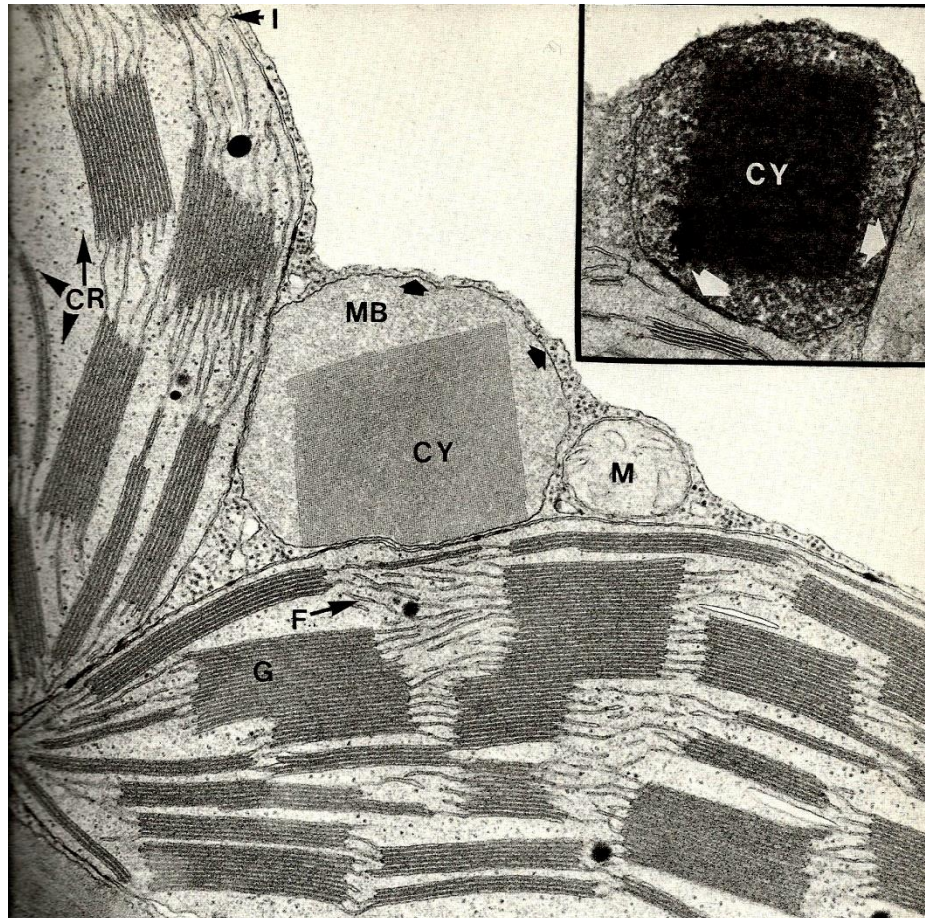
Glykolátový cyklus - fotorespirace



Fotorespirace:
 Regenerace
 cca 75%
 uhlíku,
 ztraceného
 oxygennační
 aktivitou
 Rubisca.

Glykolátový cyklus - fotorespirace

2 molekuly 2-fosfoglykolátu → 1 molekula CO₂ a 1 molekula 3-fosfoglycerátu



MB: peroxisóm
CY: kataláza
M: mitochondrie
G: granum
CR: plastidové
ribozomy
F: stromatální
thylakoidy
I: vnitřní
membrána
plastidu

Chloroplasty rostlin s C4 metabolismem

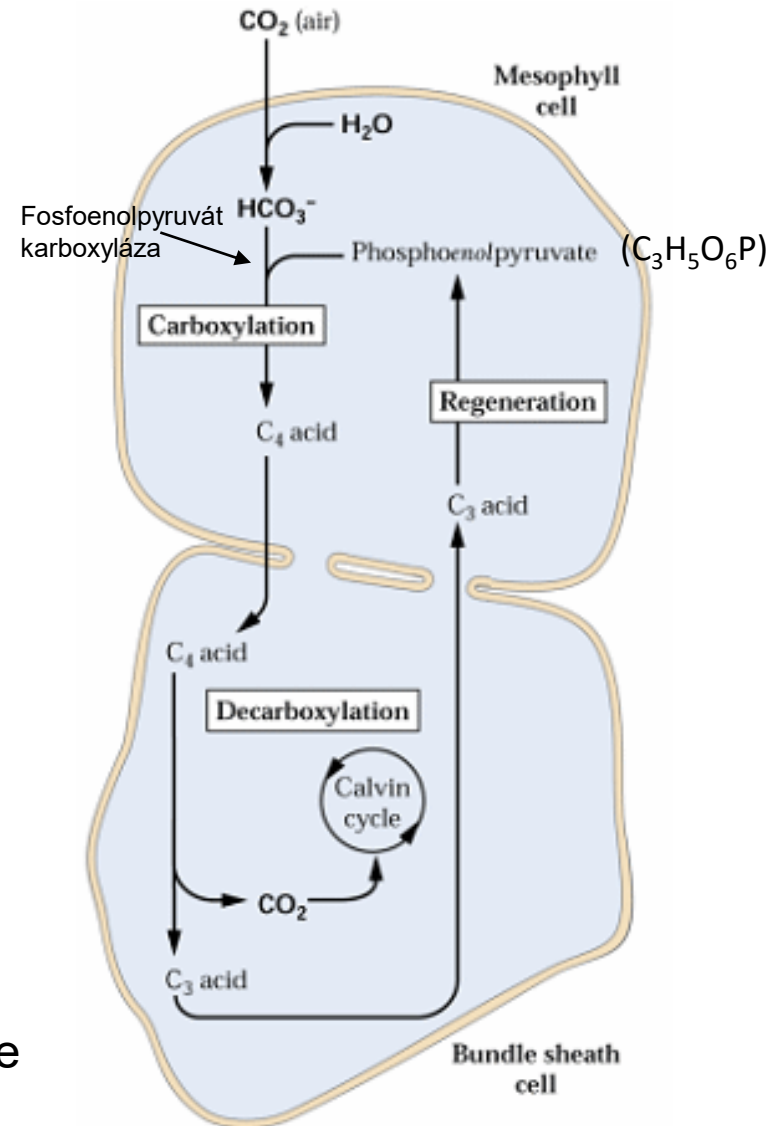
Prvním stabilním produktem je C4 molekula = **C4 metabolismus**

Prostorové oddělení fixace CO₂ a světelné reakce fotosyntézy s cílem omezit oxygenázovou aktivitu enzymu Rubisco.

Pozměněná morfologie listů se dvěma typy chloroplastů: **buňky pochev cévních svazků a mezofylové buňky.**

Mezofylové buňky: fixace HCO₃⁻ enzymem **fosfoenolpyruvát karboxylázou (PEP)** za vzniku C4 organické kyseliny.

Buňky pochev cévních svazků: dekarboxylace C4 kyseliny a využití CO₂ v CBB cyklu.



Chloroplasty rostlin s C4 metabolismem

Prvním stabilním produktem je (C4) molekula = **C4 metabolismus**

Prostorové oddělení fixace C4 od **světelné reakce fotosyntézy** s cílem omezit oxygenázovou aktivitu enzymu Rubisco.

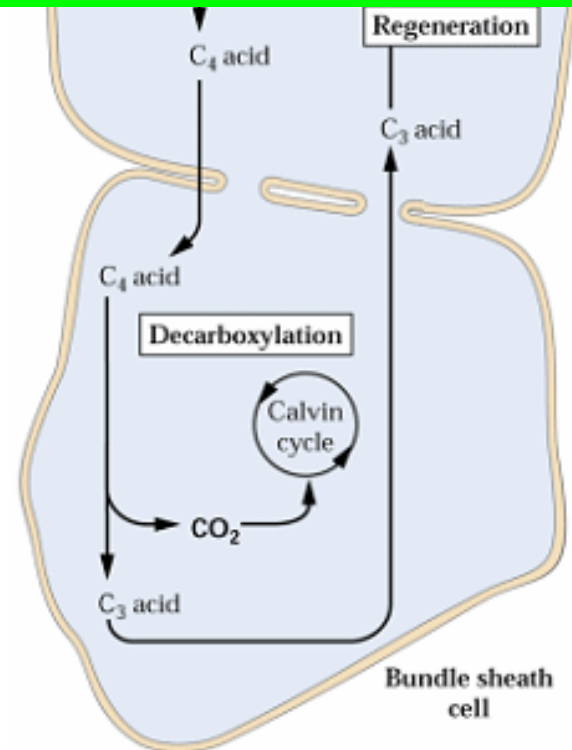
Pozměněná morfologie listů se dvěma typy chloroplastů: **buňky pochev cévních svazků a mezofylové buňky.**

Mezofylové buňky: fixace HCO_3^- enzymem **fosfoenolpyruvát karboxylázou (PEP)** za vzniku C4 organické kyseliny.

Buňky pochev cévních svazků: dekarboxylace C4 kyseliny a využití CO_2 v CBB cyklu.

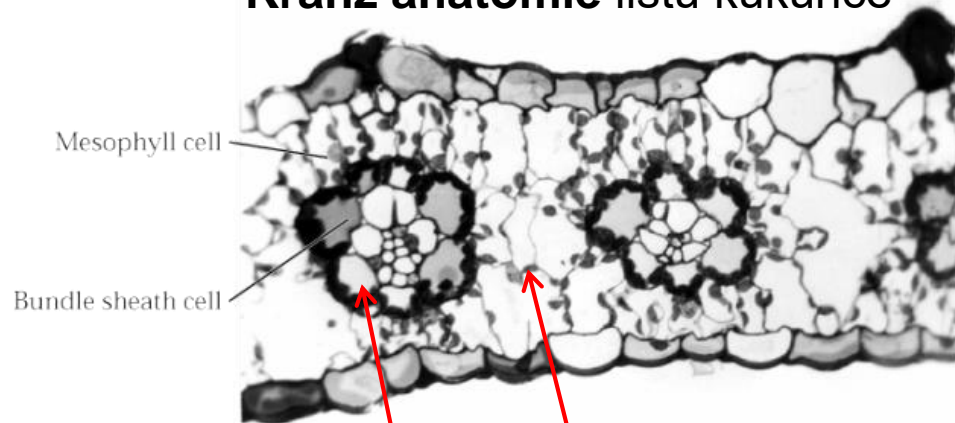
Výhody enzymu PEP:

- Jako substrát používá HCO_3^- , jehož tvorba je ve vodním prostředí preferována, nikoliv plynný CO_2
- Neumí fixovat kyslík



Chloroplasty rostlin s C4 metabolismem

Kranz anatomie listu kukuřice



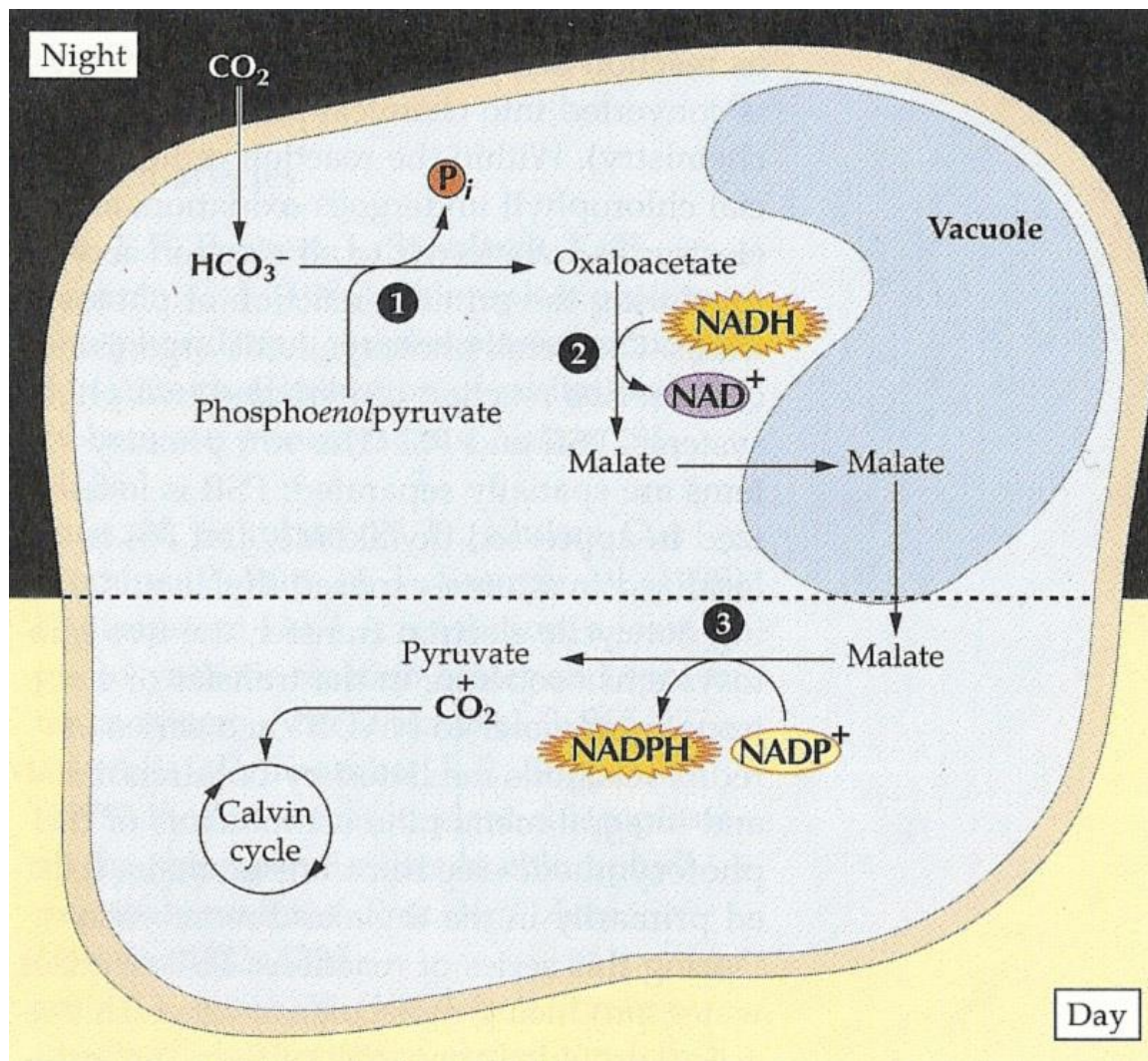
Mezofylové buňky

Buňky pochev cévních svazků

Prostorové oddělení fixace CO_2 a světelné reakce!

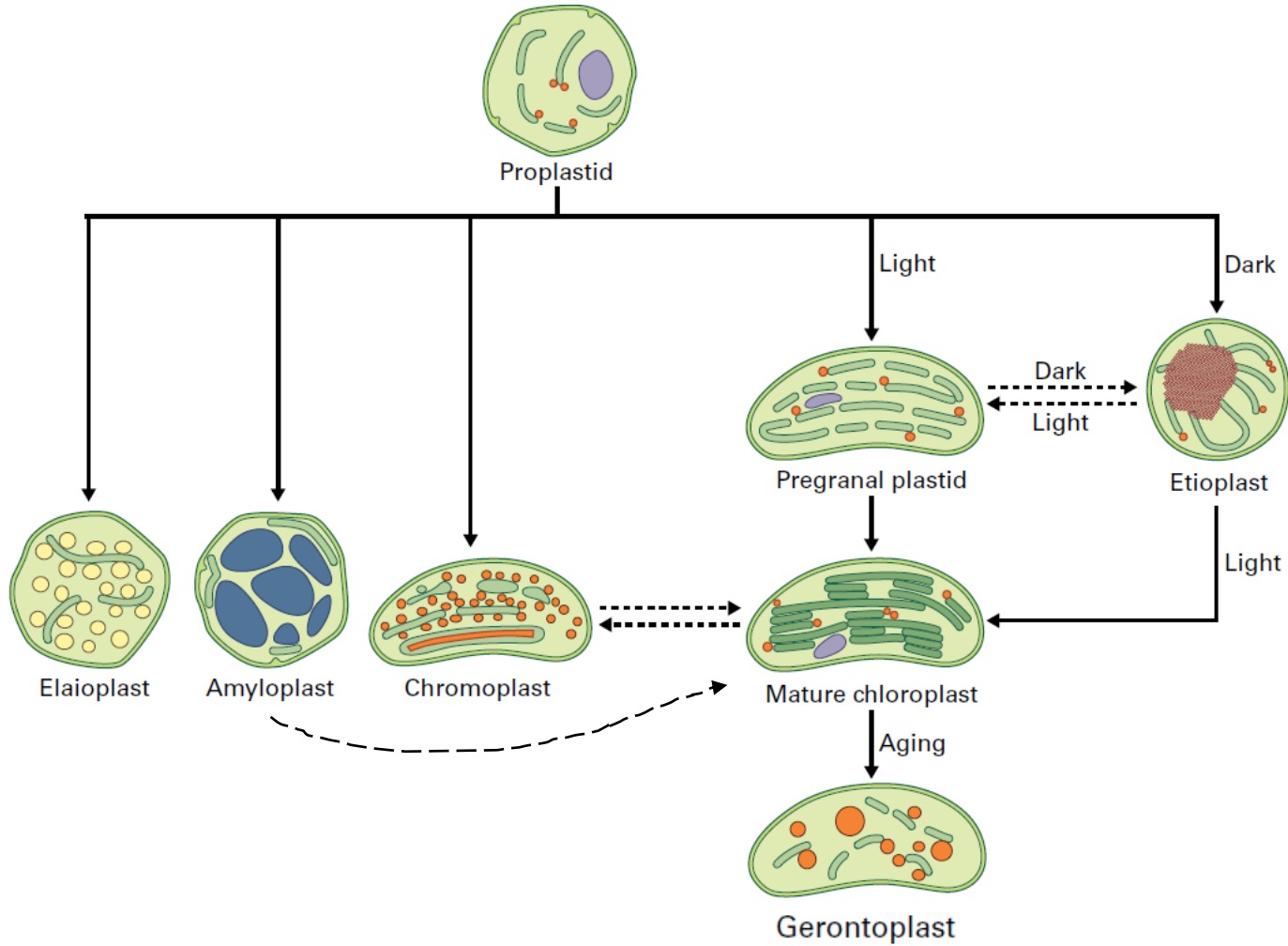


CAM metabolismus (Crassulacean acid metabolism)



Časové oddělení fixace CO_2 a světelné reakce!

Typy plastidů (vyšší rostliny)



Proplastid

Prekurzory všech typů plastidů

Malé (cca 1 μ m) nediferencované plastidy, většinou kulatého tvaru

Velmi málo vyvinutý vnitřní membránový systém

Nacházejí se v buňkách meristémů a embryí

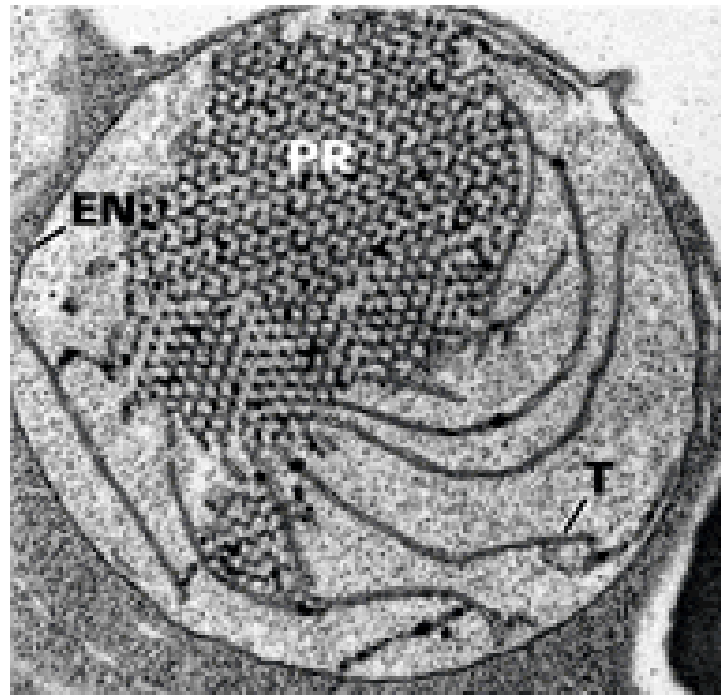


Etioplast

Plastidy nadzemních částí rostlin, jejichž vývoj byl zastaven vlivem nedostatku světla.

Obsahují charakteristickou strukturu: prolamelární těleso.

Etioplasty se zřídka vyskytují přirozeně.

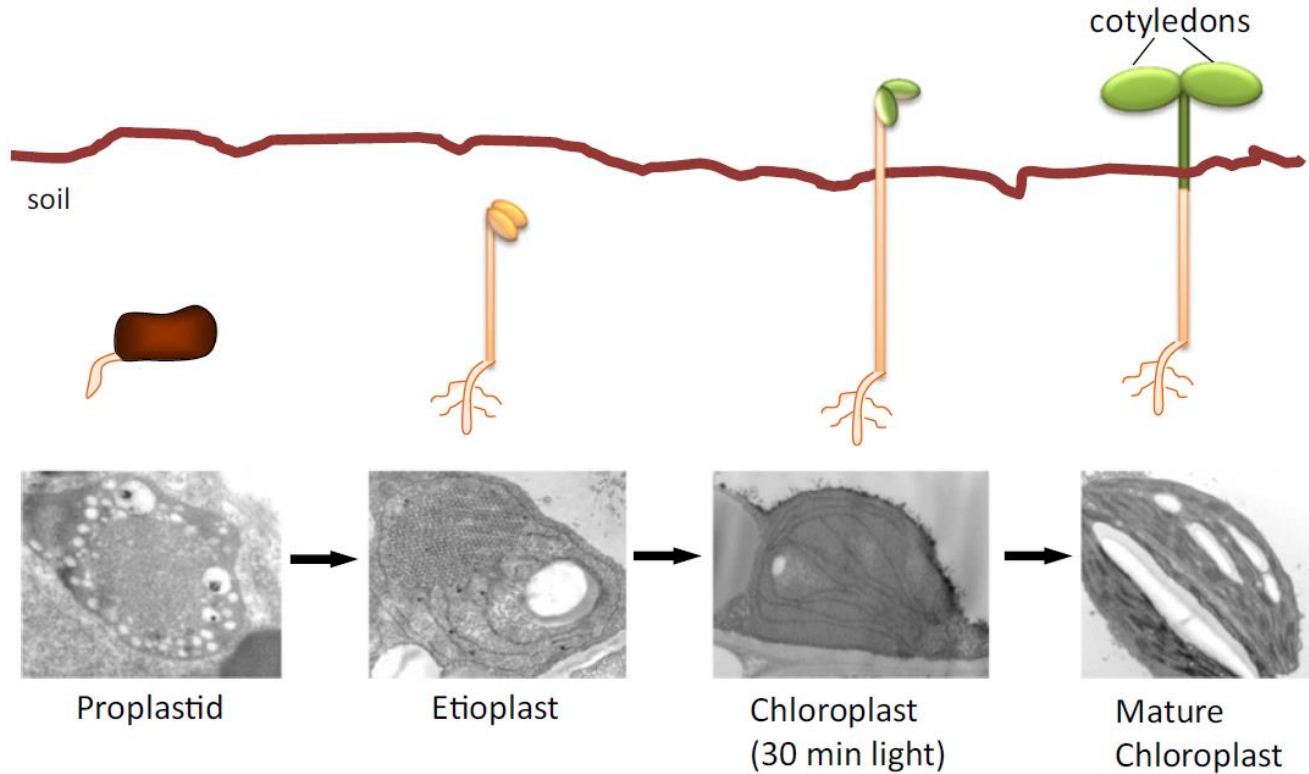


Etioplast

Plastidy nadzemních částí rostlin, jejichž vývoj byl zastaven vlivem nedostatku světla.

Obsahují charakteristickou strukturu: prolamelární těleso.

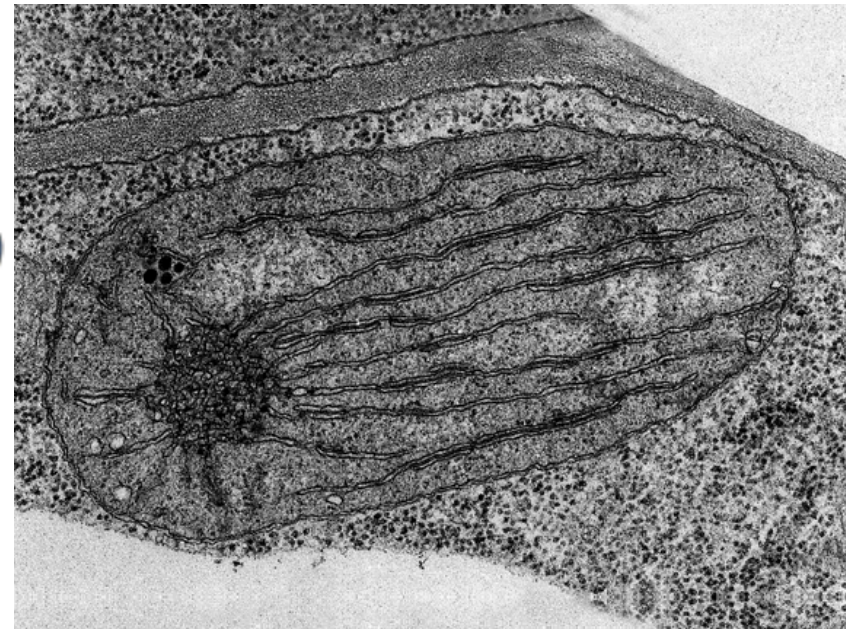
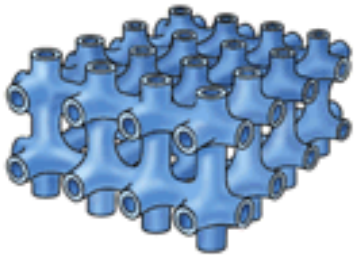
Etioplasty se zřídka vyskytují přirozeně.



Etioplast

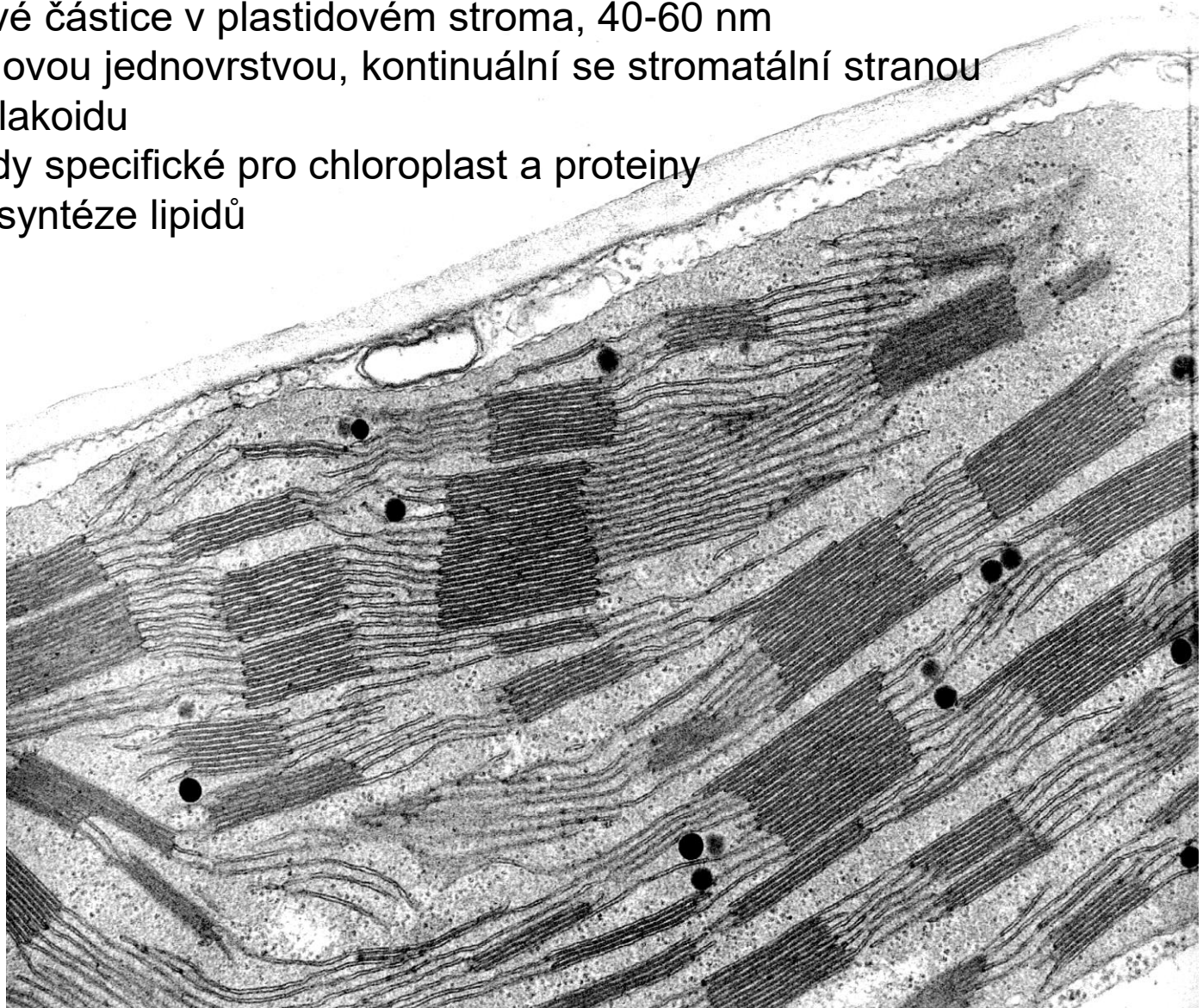
Prolamelární těleso:

- Semikrystalická struktura symetricky uspořádaných větvených tubulů
- Slouží ke skladování membránových lipidů (75% obsahu lipidů)
- Není fotosynteticky aktivní
- Obsahuje protochlorophyllide *a* (bezbarvý prekurzor chlorofylu *a*)
- Po ozáření je aktivována syntéza proteinů, tvoří se komplexy proteinů s chlorofylem, a semikrystalická struktura se rozpadá za tvorby tylakoidní membrány

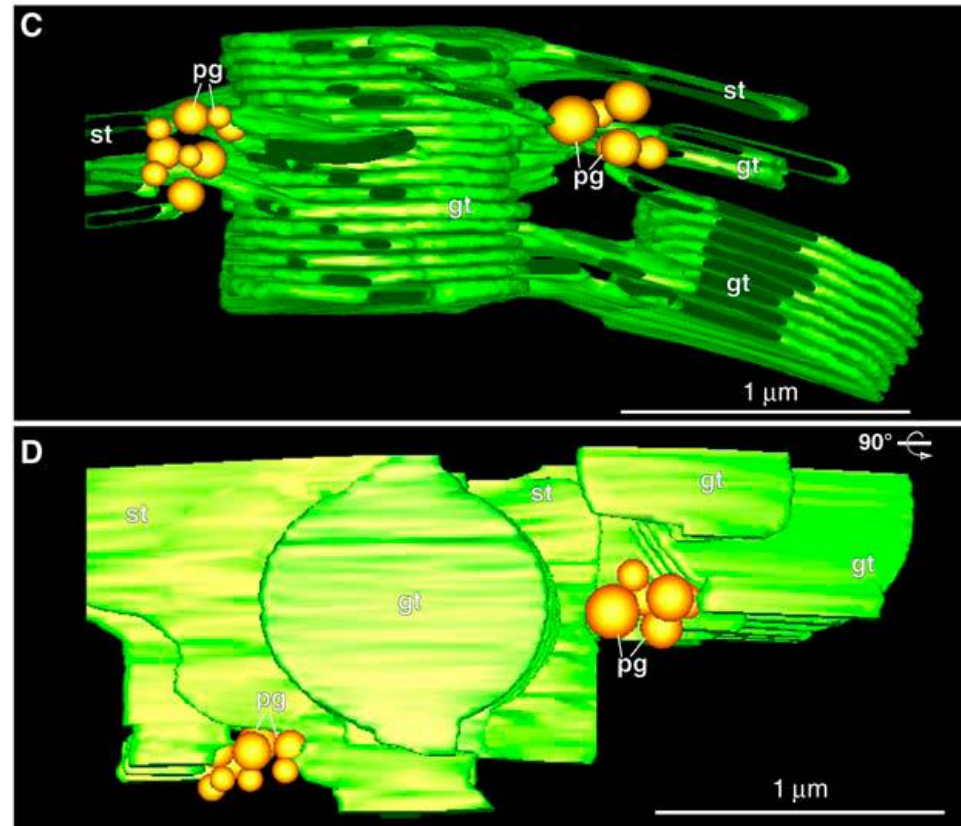
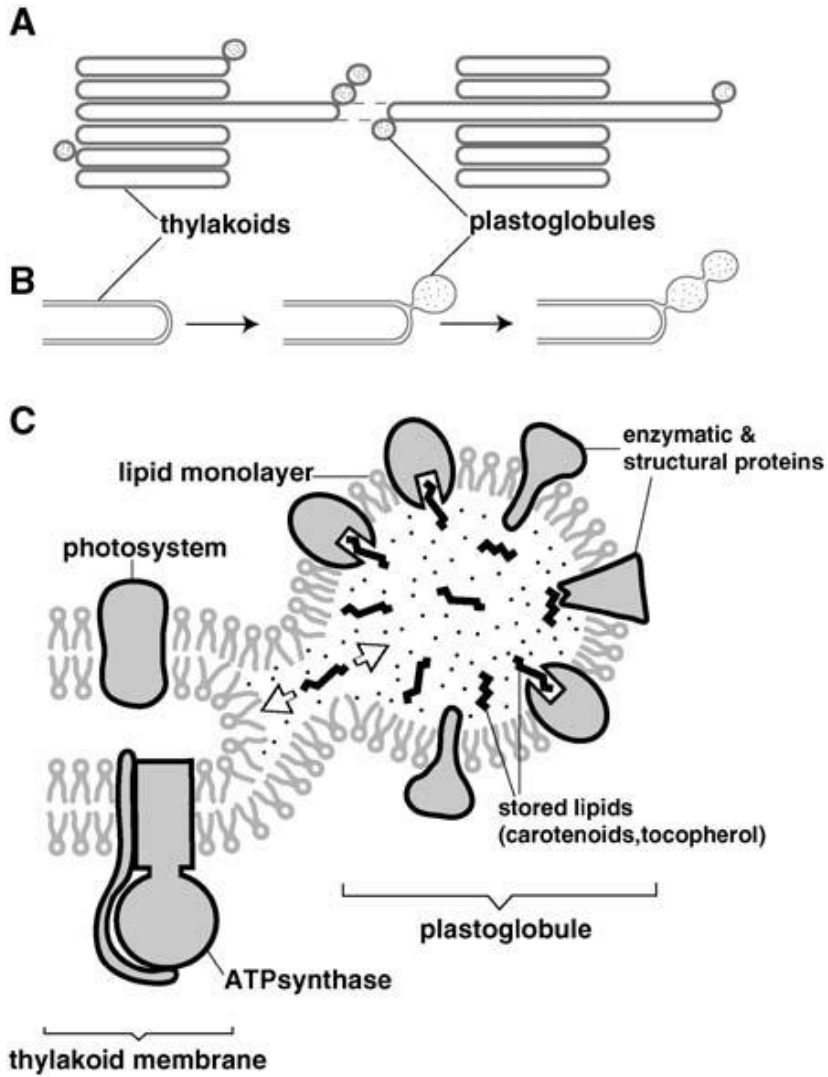


Plastoglobuly

- Lipoproteinové částice v plastidovém stroma, 40-60 nm
- Obalené lipidovou jednovrstvou, kontinuální se stromatální stranou membrány thylakoidu
- Obsahují lipidy specifické pro chloroplast a proteiny
- Funkce v biosyntéze lipidů

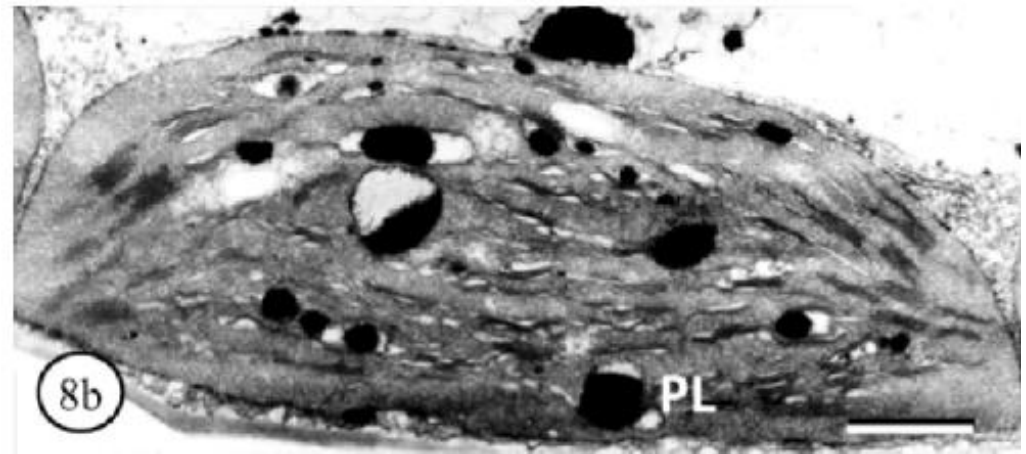
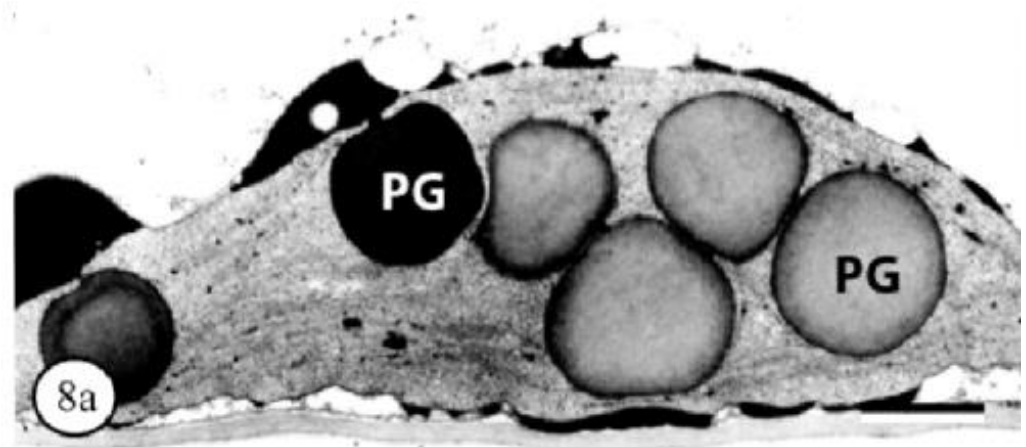


Plastoglobuly



Gerontoplast

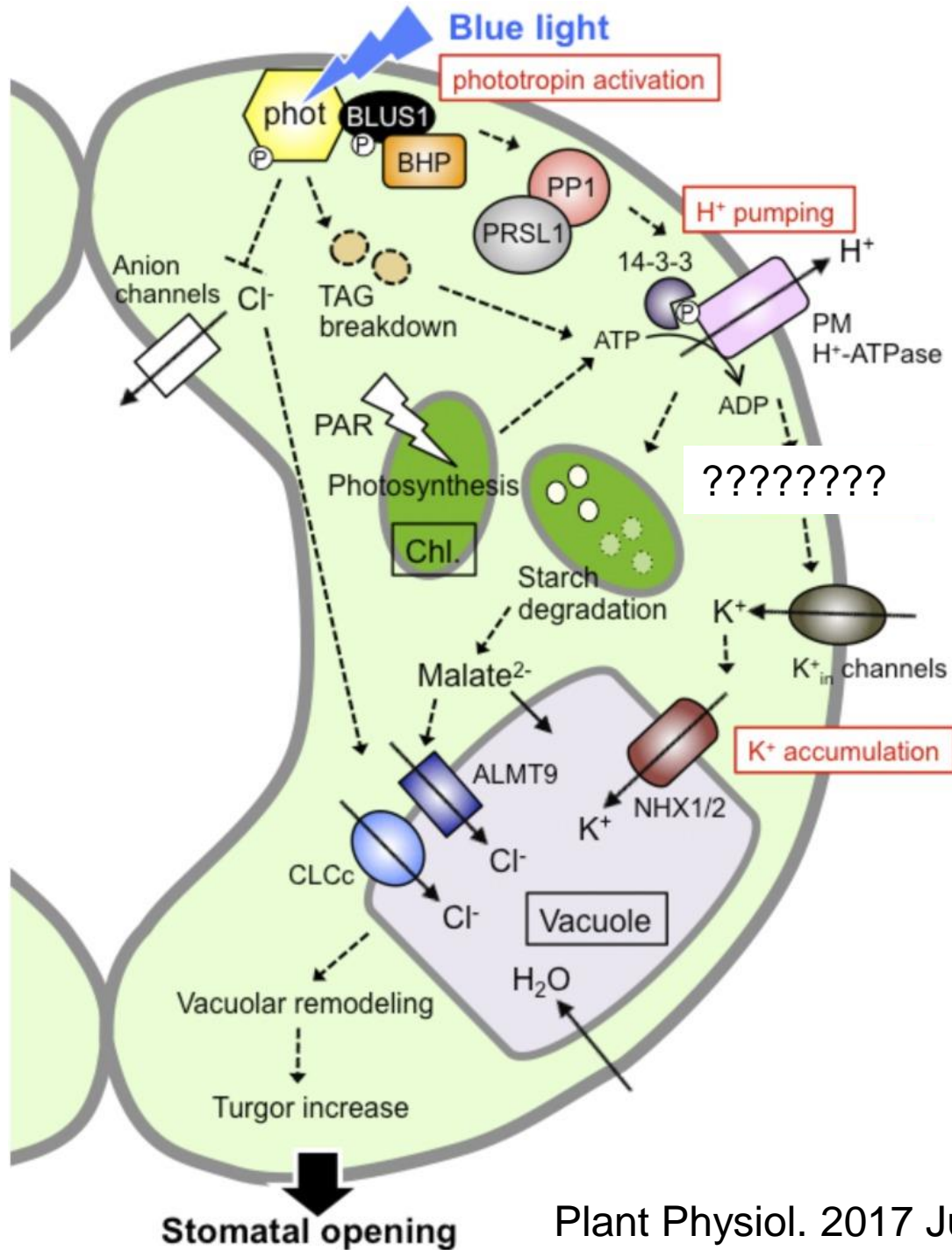
- Metabolicky a biochemicky odlišný plastid, vyvíjející se z chloroplastu během **senescence** listů
- Grana nepřitištěná, rozpad tylakoidních membrán, akumulace plastoglobulí.
- Obal zůstává neporušen
- Funkce: **kontrolovaná degradace fotosyntetických membrán** (recyklace, eliminace toxických meziproductů)

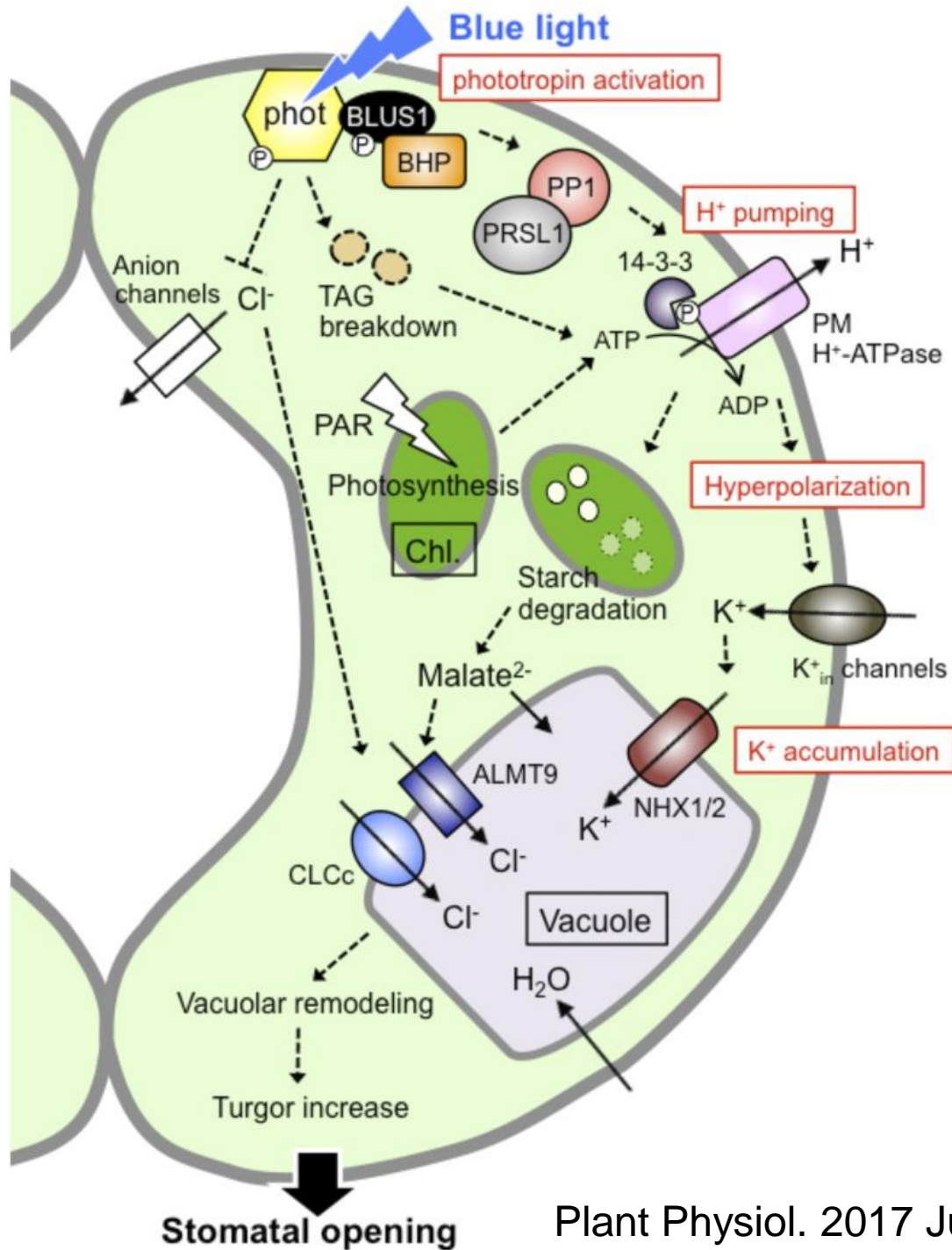


Chloroplasty svěracích buněk průduchů

- Zvláštní typ chloroplastů
- Plně schopny fotosyntézy
- Role senzorů, které rozhodují o otevřenosti či uzavřenosti průduchů (signálem je světlo a CO_2)
- Fyziologie těchto chloroplastů je předmětem intenzivního studia

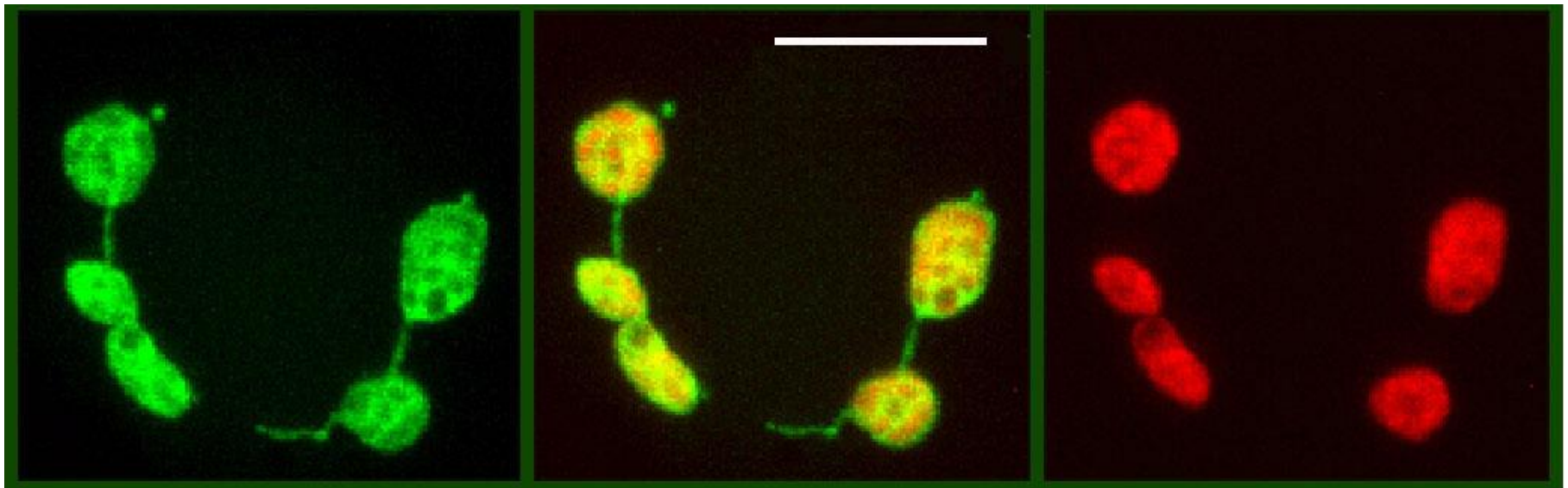






Stromuly

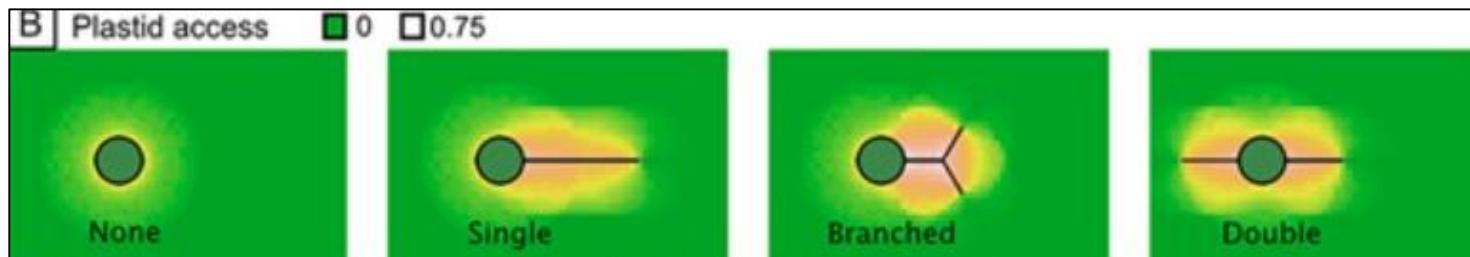
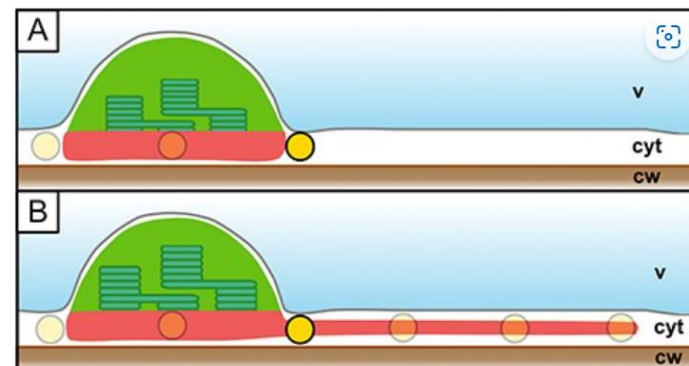
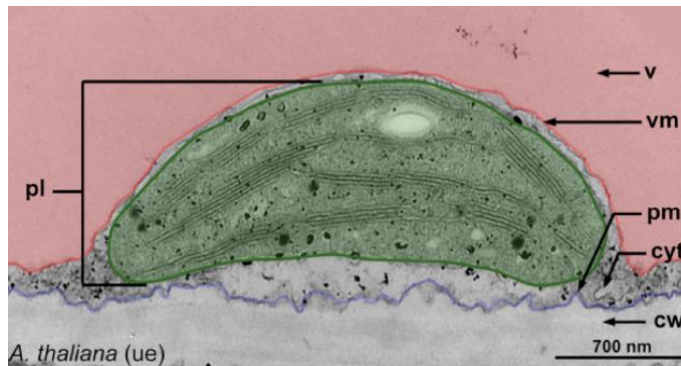
- **Stromuly** (stroma-filled tubules) popsány především díky GFP technologii
- Dynamické výrůstky plastidové membrány propojující plastidy a umožňující výměnu stroma mezi plastidy. Mají různou délku; tloušťka je mezi 0,4-0,8 μm .
- Vytvářeny proplastidy, chloroplasty, etioplasty, leukoplasty, amyloplasty i chromoplasty
- Pohyb - závislý na cytoskeletu.



Stromuly

Předpokládané **funkce stromulů**:

1. Propojení umožňuje výměnu metabolitů či dalších molekul (plazmidů)
2. Zvýšení povrchu plastidů pro rychlejší transport metabolitů mezi plastidem a cytoplazmou.
3. Interakce s dalšími organelami (mitochondrie, ER, PM, jádro)



Stromuly



Pohyb stromulů v tabákových buňkách. Cyan: plastid, žlutá: mikrotubuly

- <https://doi.org/10.7554/eLife.23625>

Typy primárních plastidů a jejich přeměny

Muroplast (Glaukofytní řasy)

Rhodoplast (Ruduchy)

Chloroplasty zelených řas

Vyšší rostliny: diverzifikace plastidů v mnoho typů:

Proplastid

Etioplast

Gerontoplast

Chloroplasty: - C3
 - C4
 - Ozářené/zastíněné
 - Svěracích buněk průduchů

Leukoplasty: - Amyloplasty
 - Elaioplasty

Chromoplasty

Typy plastidů a jejich přeměny

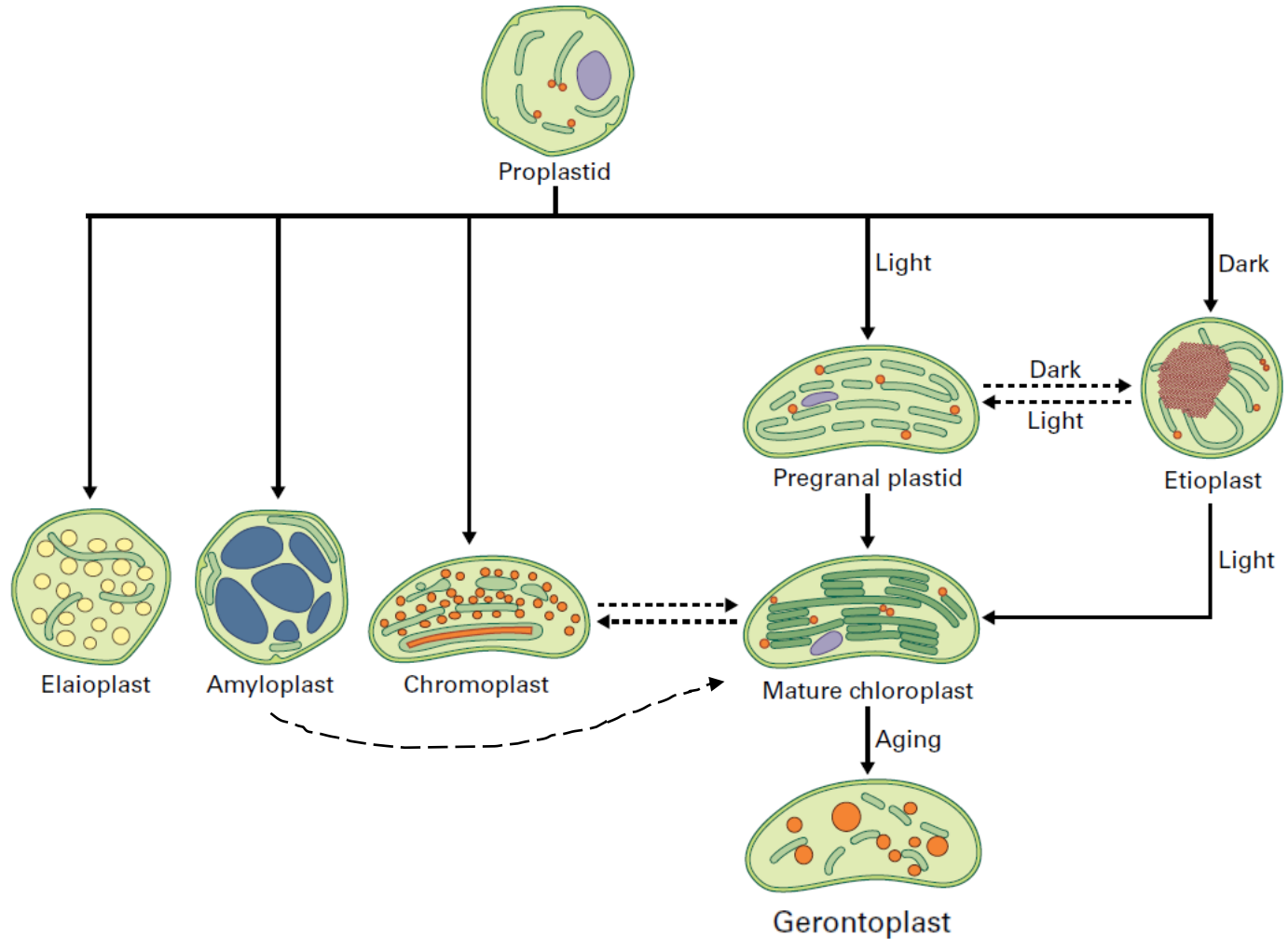
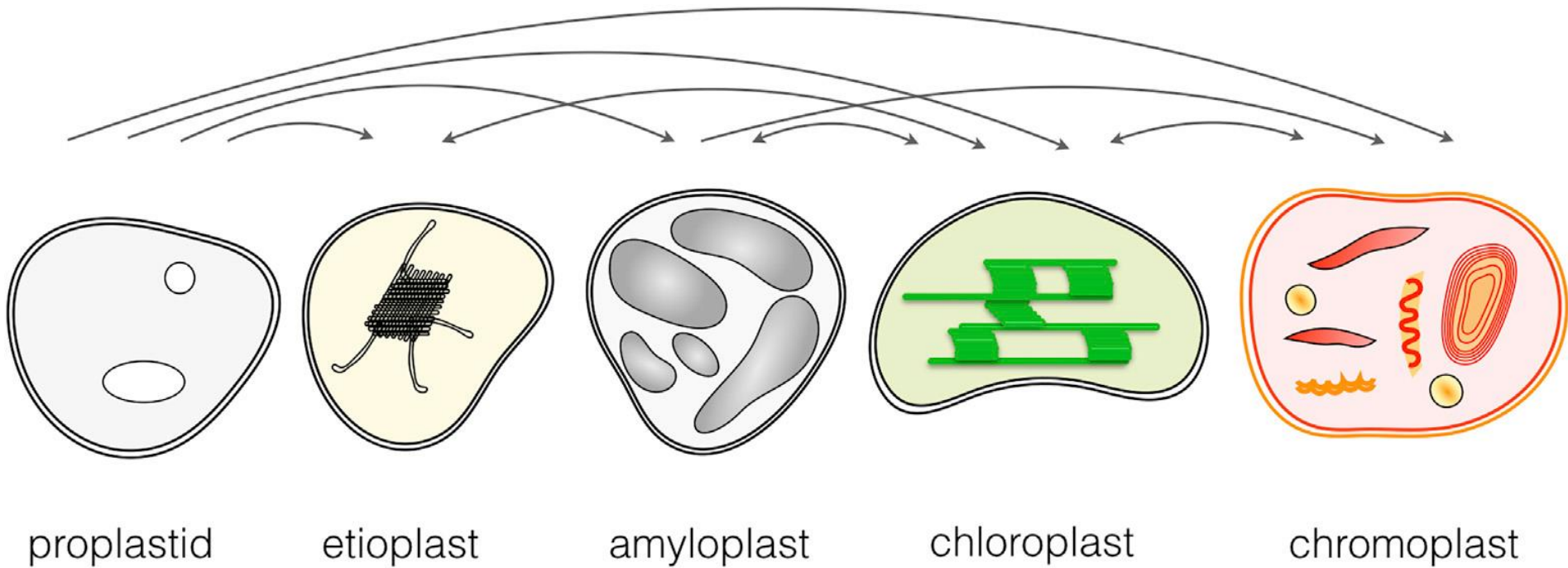


FIGURE 1.47 Diagram illustrating the developmental relationships between the major types of plastids. All plastids in plants are derived from proplastids, which are passed on to the next generation in eggs and sperm, and are maintained in the meristems. Single arrows with solid lines depict normal steps of plastid development; dashed arrows show conversions that occur under special circumstances.

Typy plastidů a jejich přeměny

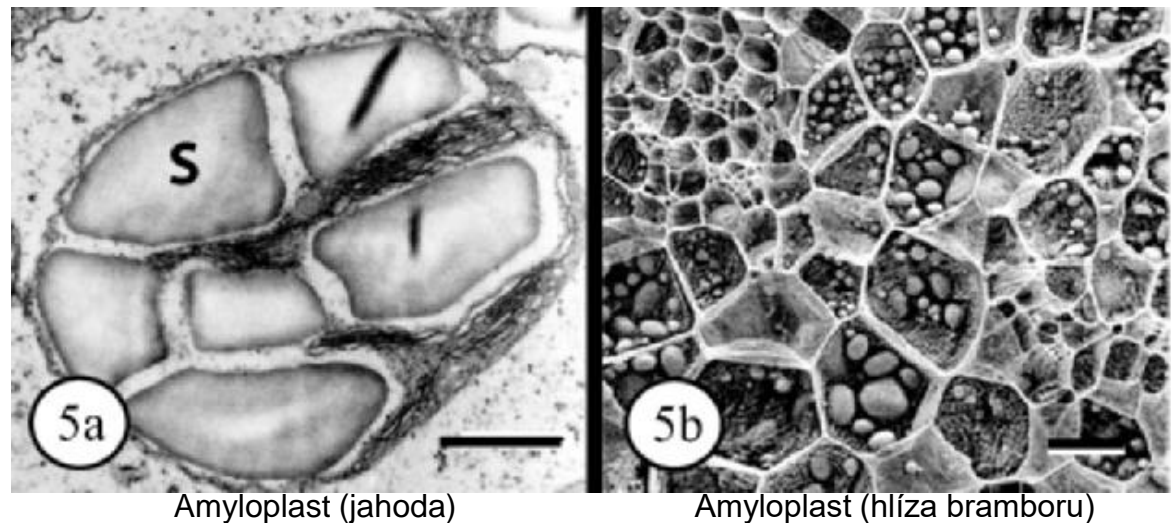
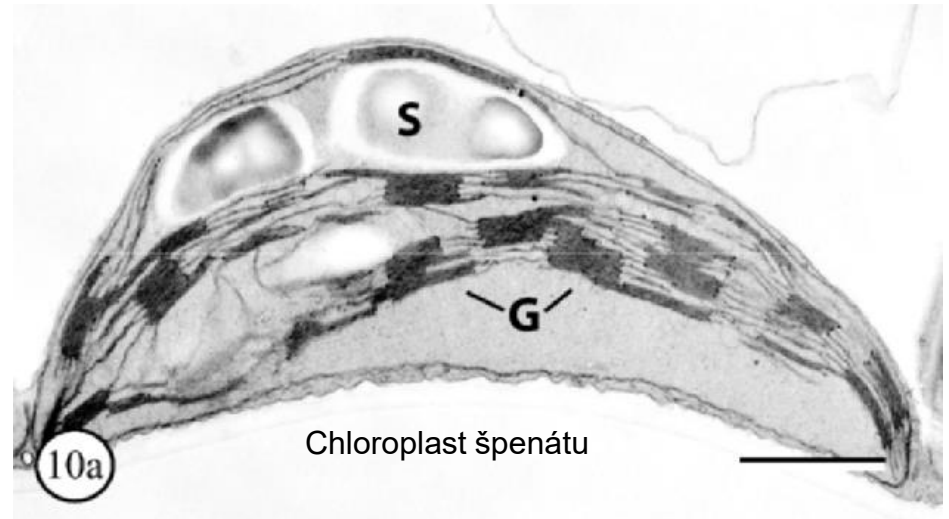


Leukoplasty

- Nebarevné plastidy (neobsahují pigmenty)

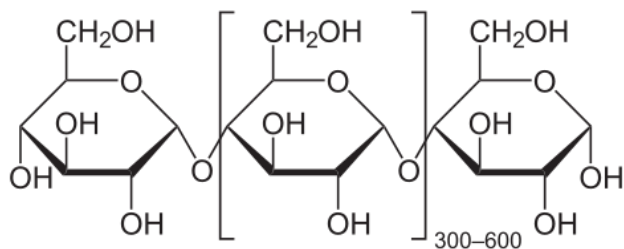
Amyloplasty:

- Obsahují a skladují škrob
- V buňkách plodů, semen, hlíz a stonků a lodyh
- Amyloplasty obilnin – hospodářsky důležité
- Gravipercepce

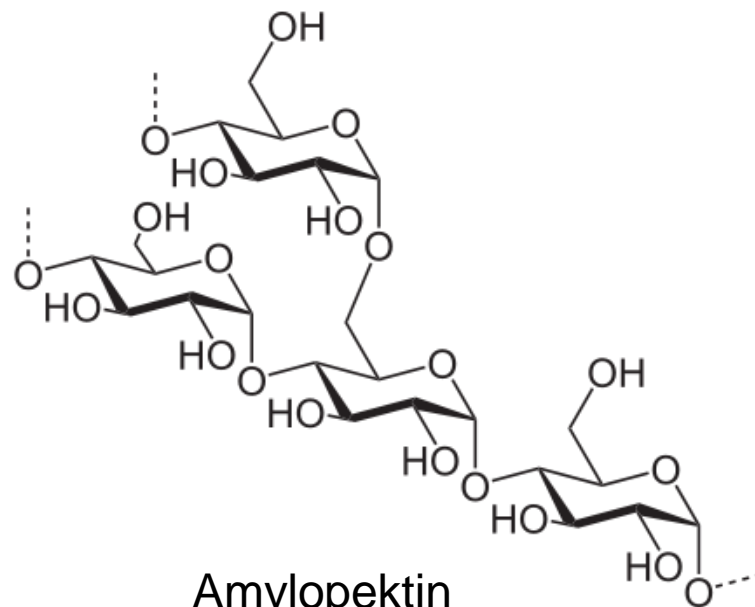


Škrob: D-glukózové podjednotky, spojené vazbou α -1,4-O (nevětvené molekuly) a α -1,6-O (větvení).

Obsahuje **amylózu** (15-30% obsahu ve škrobu, málo větvená molekula), a **amylopektin** (složitá větvená struktura, zřejmě zodpovědná za strukturu škrobu)

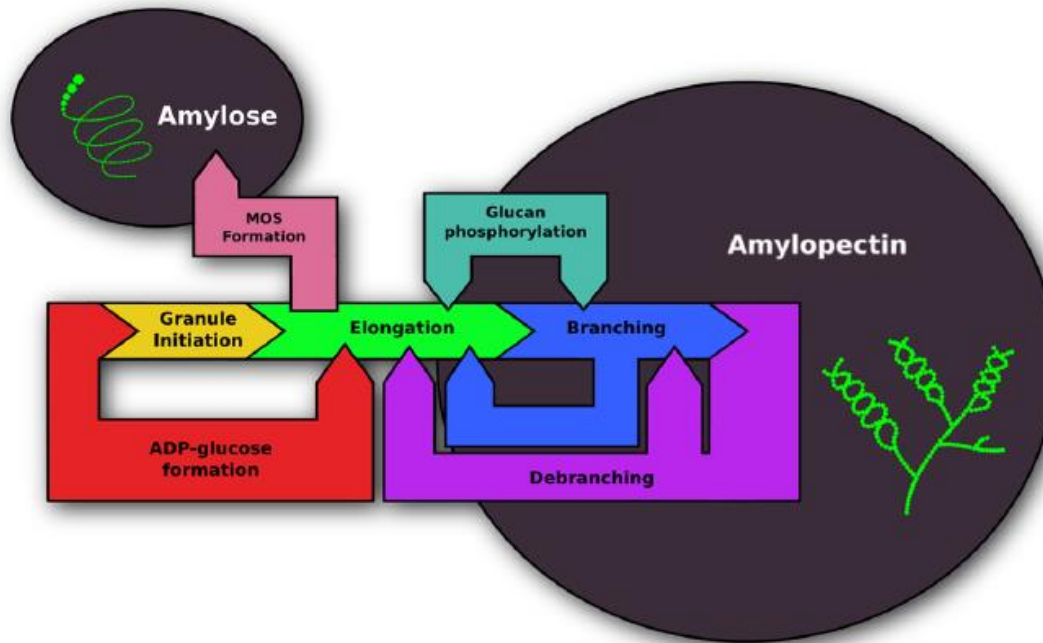


Amylóza



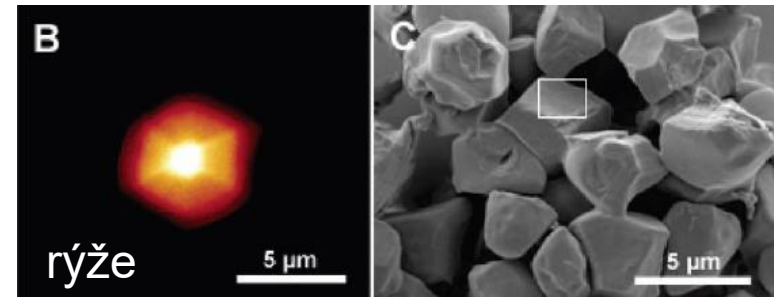
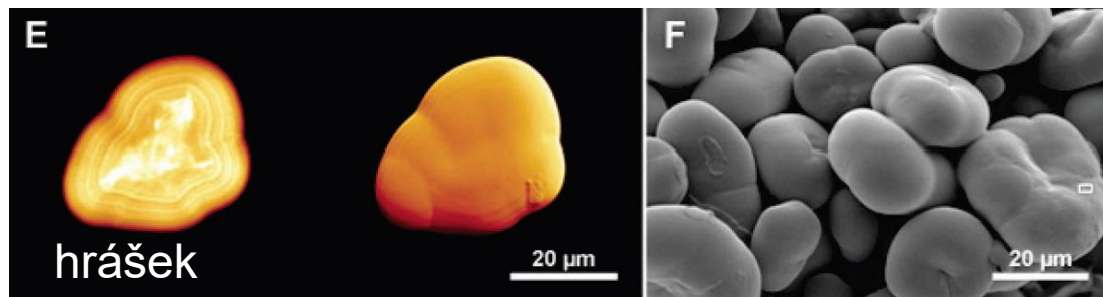
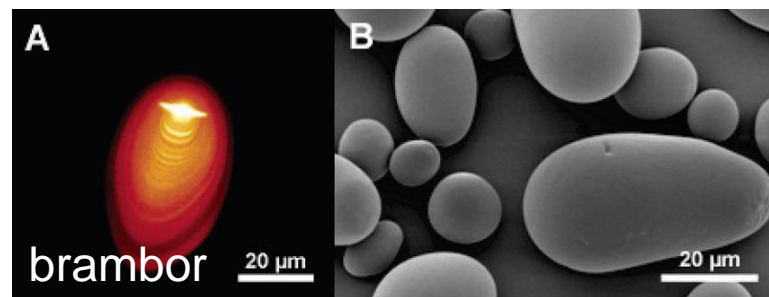
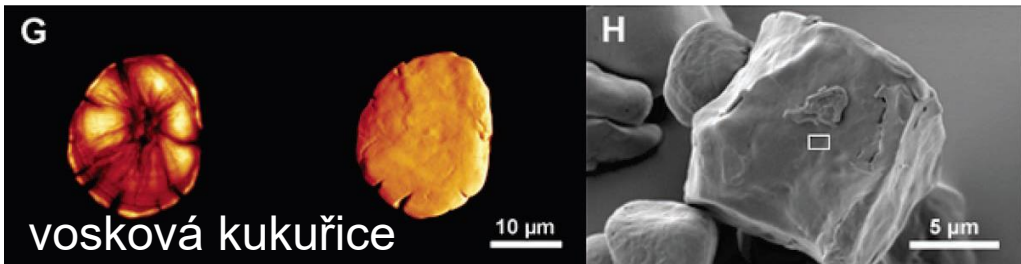
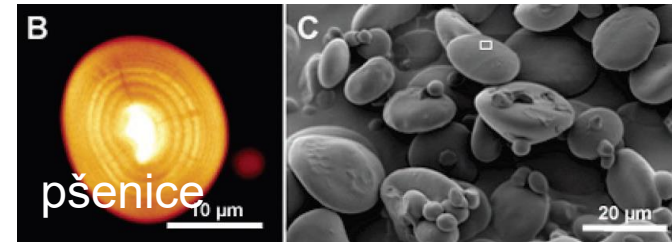
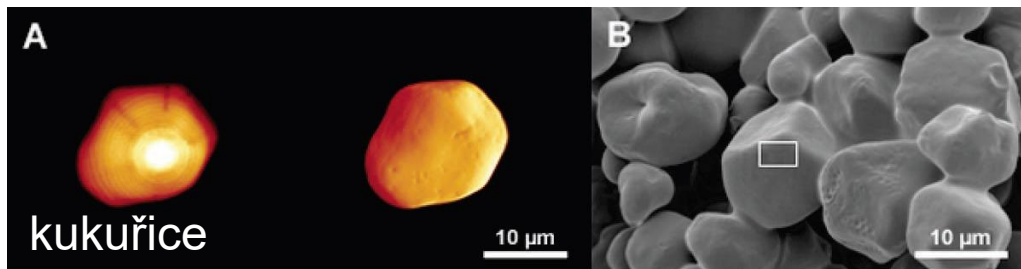
Amylopektin

Škrob je syntetizován čtenými izoformami enzymu starch synthase (SS) a začíná tvorbou prekursoru - **ADP-glukózy**

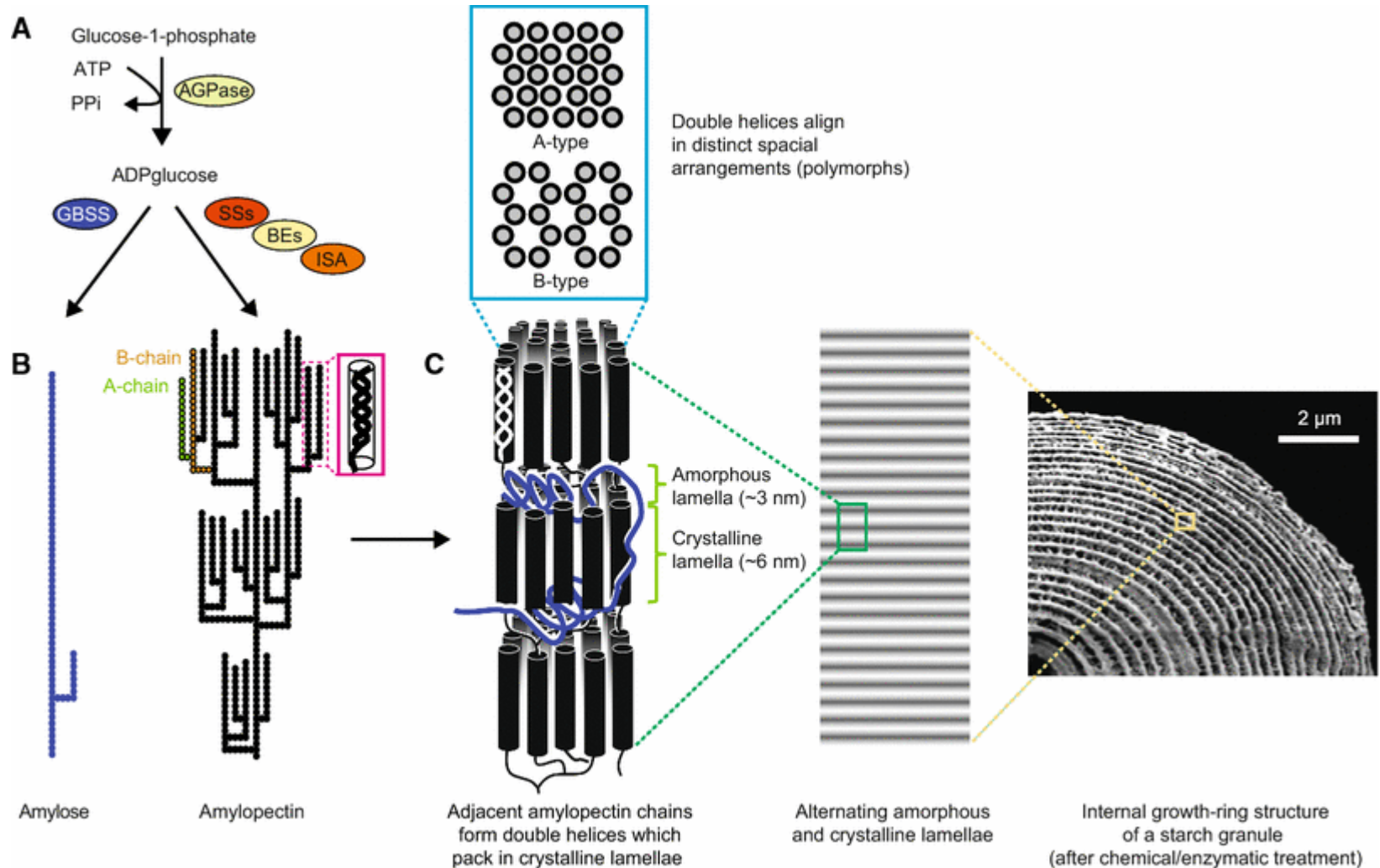


Precursor Formation	Granule Initiation	Amylopectin Elongation	Amylopectin Branching	Amylose (MOS) Synthesis	Debranching	Phosphorylation Dephosphorylation	Unknown Function
AGPase LSU (<i>brittle2</i>) AGPase SSU (<i>shrunken2</i>)	SSIV SSIII (<i>dull</i>) (<i>amo1</i>) SP (<i>shrunken4?</i>) PTST2 PTST3	SSI SSIIa (<i>sugary2, sex6</i>) SSIIb SSIII (<i>dull</i>) (<i>amo1</i>) SSIV	SBEI SBEIIa SBEIIb (<i>ae-</i>)	GBSSI (<i>waxy</i>) GBSSII PTST	ISA1 (<i>sugary1</i>) ISA2 ISA3* LDA (Pullulanase, <i>zpu1</i>)	GWD PWD LSF1 LSF2 Sex4	D-enzyme SP (<i>shrunken4?</i>)

Škrob je ukládán ve škrobových zrnech rozdílných velikostí a tvarů u různých genotypů rostlin



Struktura škrobových zrn a jejich tvorba je překvapivě složitá a prozatím málo prozkoumaná

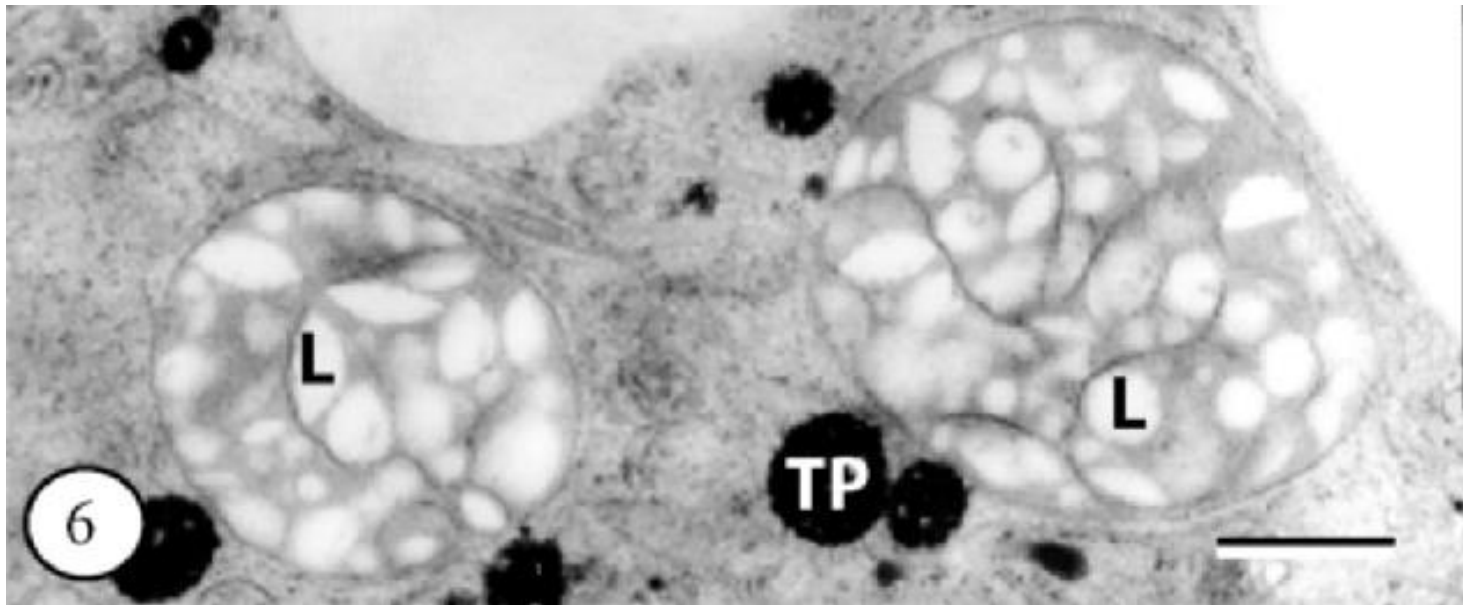


Leukoplasty

- Nebarevné plastidy (neobsahují pigmenty)

Elaioplasty:

- Malé, kulaté plastidy
- Obsah olejových kapek
- Funkce zásobárny lipidů



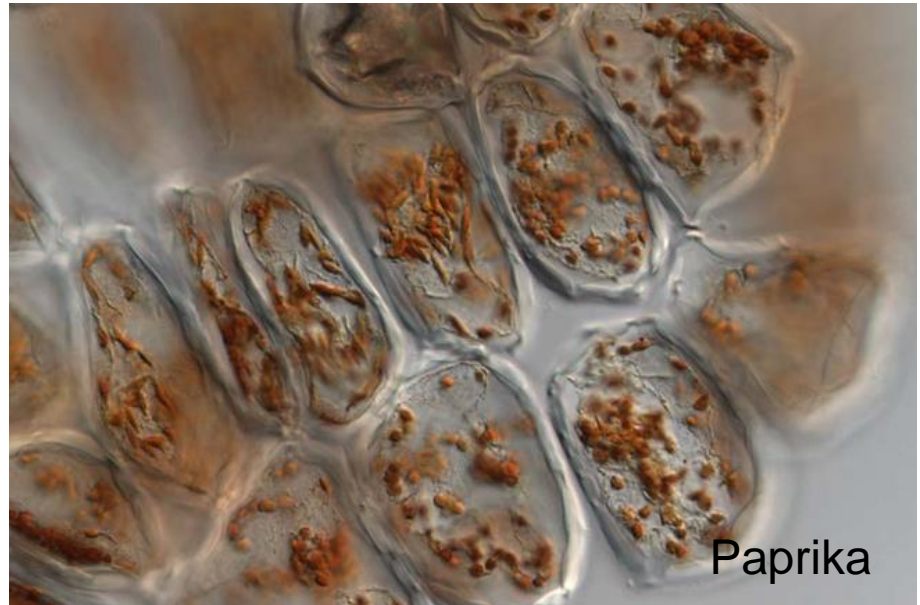
Chromoplasty

-Červené, oranžové a žluté plastidy v některých plodech, květech, listech a kořenech.

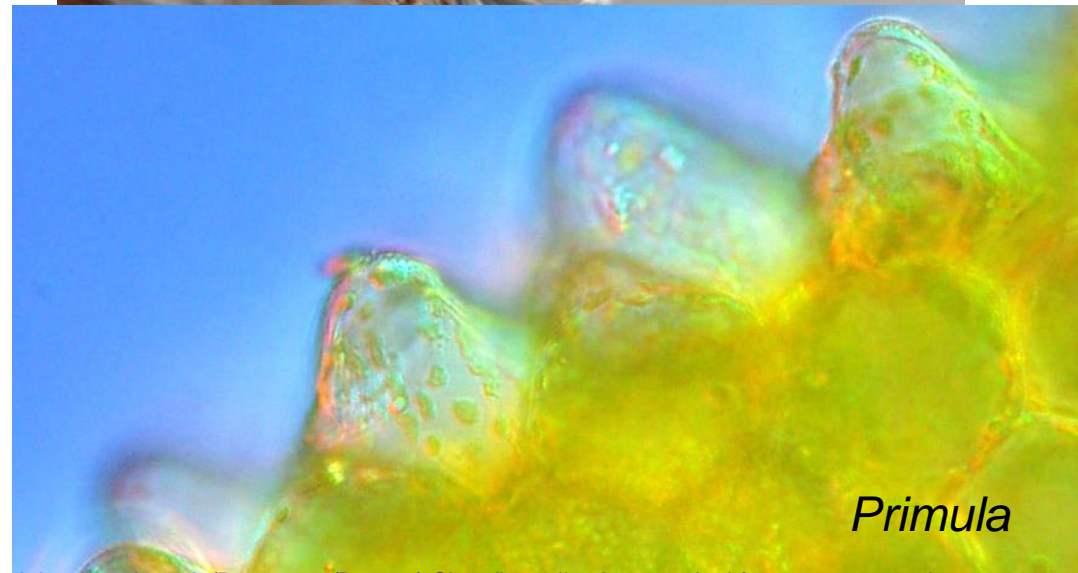
- Obsahují karotenoidy a xantofyly

- Vytvírají se z proplastidů či chloroplastů. Možnost rediferenciace

- Vývoj chromoplastu zahrnuje degradaci fotosystémů a masivní indukci enzymů pro syntézu karotenoidů



Paprika



Primula

Chromoplasty

Barviva jsou uložena v různě tvarovaných membránových strukturách, odvozených od **plastoglobulí (PG)**

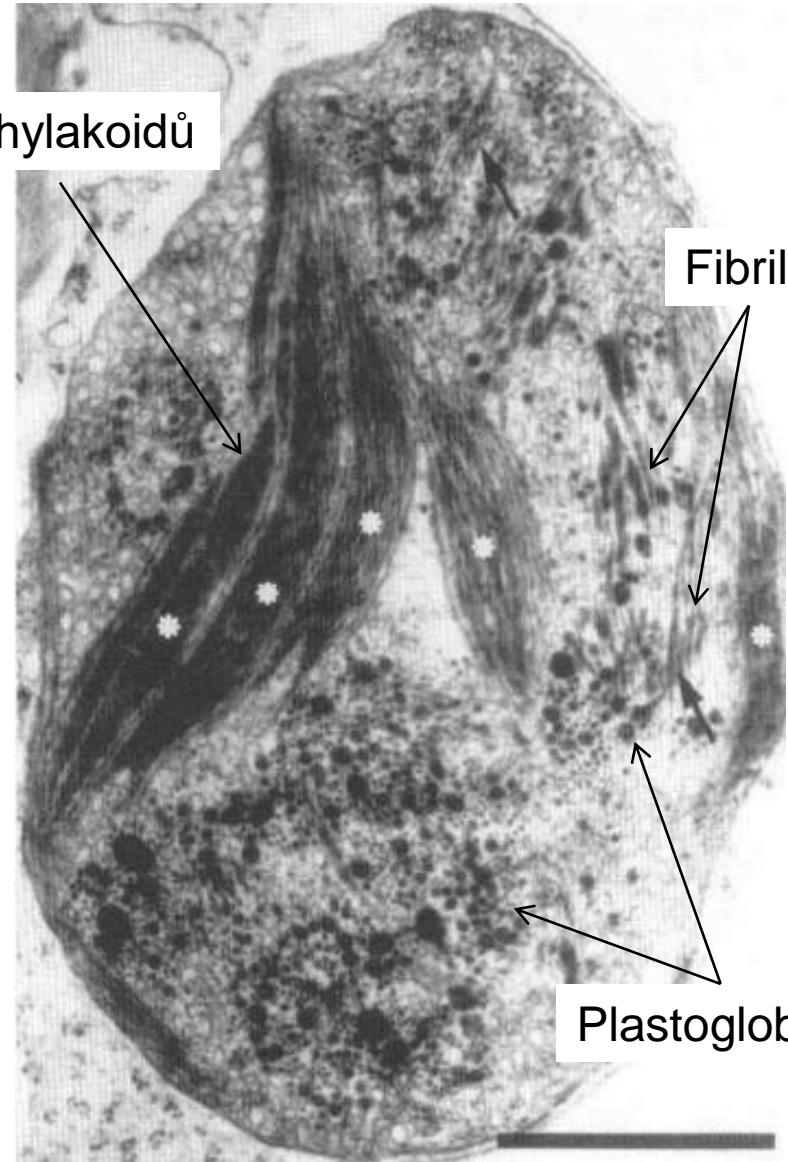
Karotenoidy mohou být přítomny ve formě různých krystalů či rozpuštěné v plastoglobulech různých tvarů (globulární, fibrilární)

Fibrily chromoplastů červené papriky:
PG fibrilárního tvaru - velké supramolekulové útvary, zásobárny karotenoidů. Struktura: karotenoidové jádro, vrstva lipidů a vnější vrstva z proteinu **fibrilinu**.

Systém thylakoidů

Fibrily

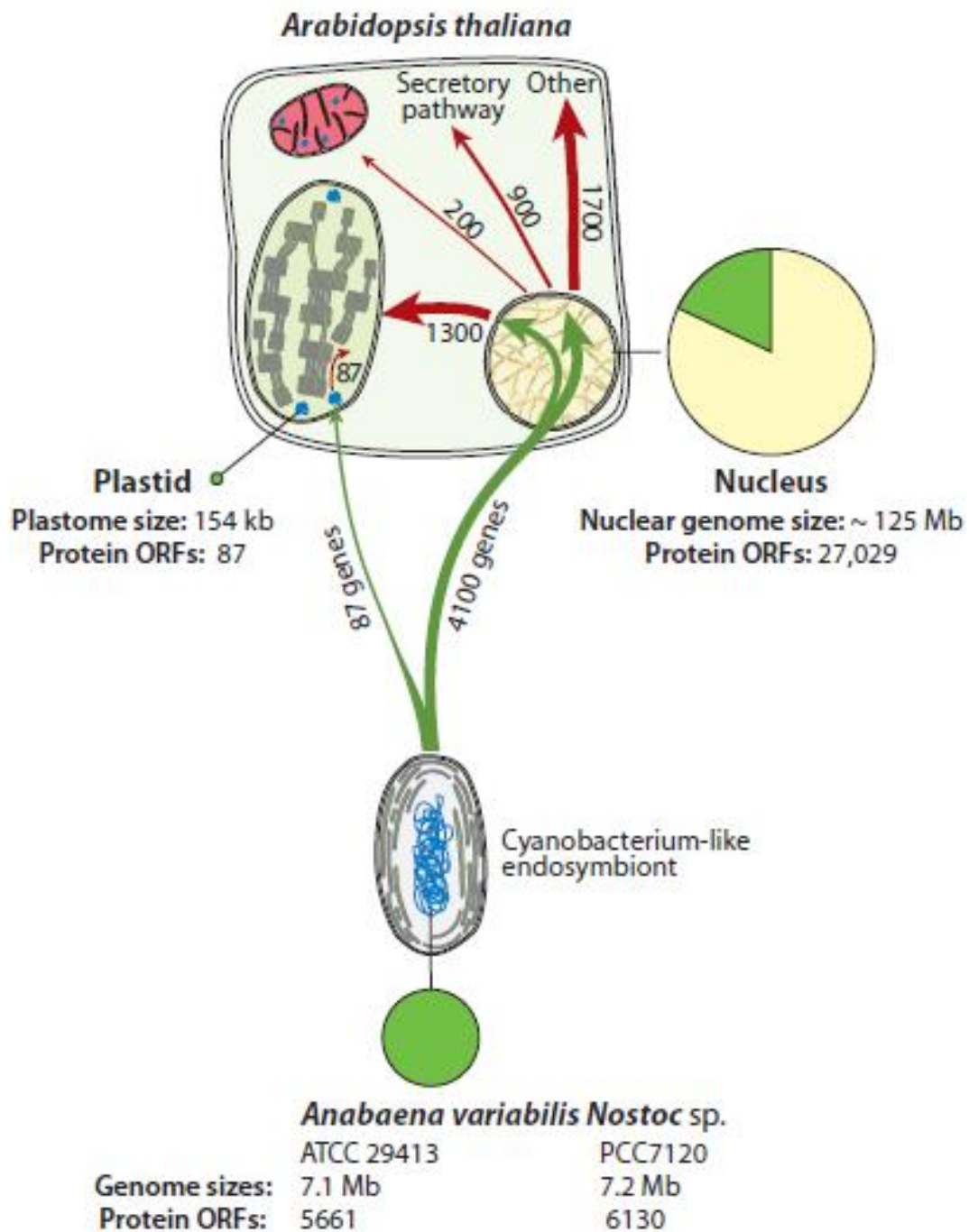
Plastoglobuly



Plastidový genom (plastom)

Změny genomu v důsledku endosymbiotické události:

- Přesídlení genů do eukaryotického jádra
- Ztráty genů
- Využití nových genů pro jiné funkce



Plastidový genom

Změny genomu v důsledku endosymbiotické události:

- Přesídlení genů do eukaryotického jádra
- Ztráty genů
- Využití nových genů pro jiné funkce

Endosymbióza nebyla jen spojena s přesunem prokaryotických genů, ale znamenala také zásadní změnu v reorganizaci a modelování eukaryotického genomu.

Přesuny genů zřejmě stále probíhají.

Předpokládáme přesun DNA spíše než RNA.

Plastidový genom

Suchozemské rostliny:

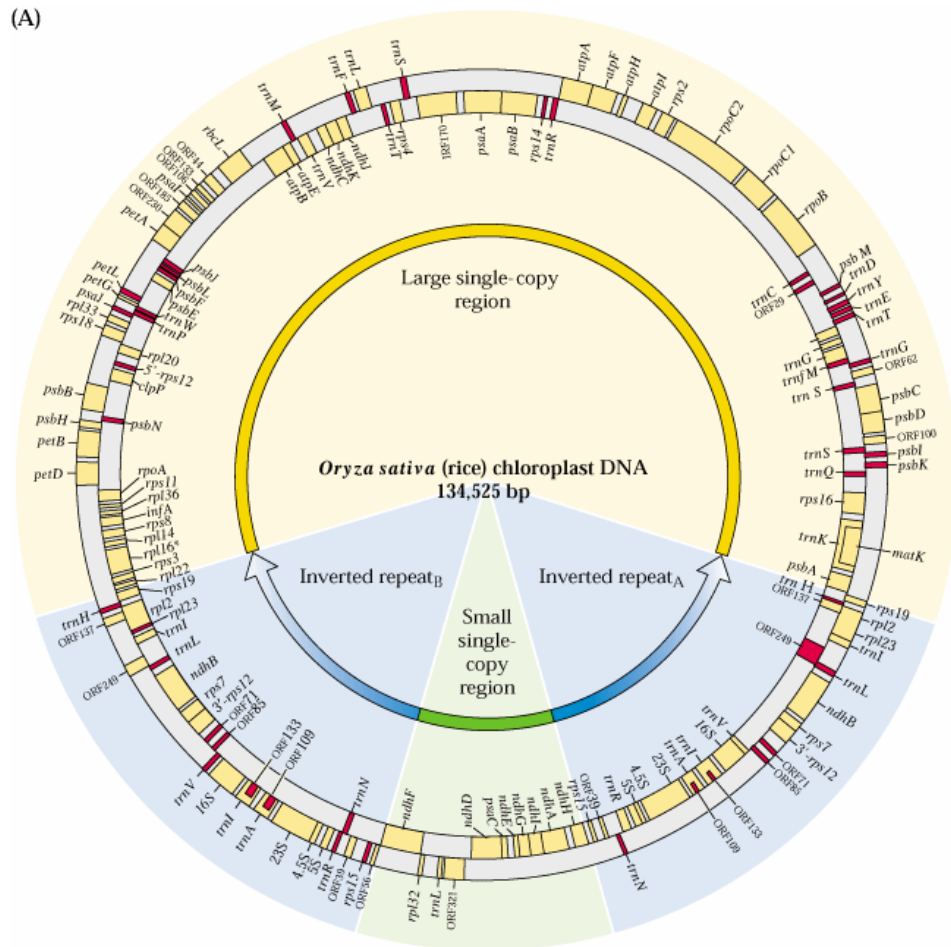
Struktura genomu a složení genů jsou vysoce konzervované: Velká a malá single copy region, 2x invertované repetitivní sekvence (IR).

Řasy:

Struktura i velikost více heterologní, např. často absence IR.

Sekvence genů potvrzují monofyletický původ plastidů.

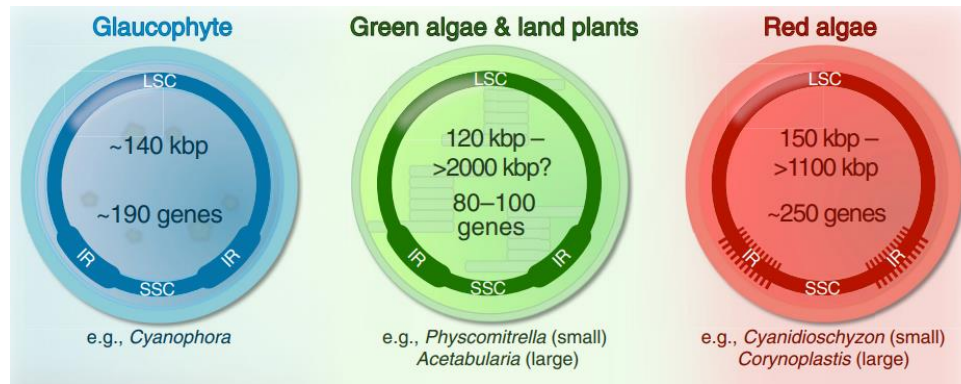
(A)



Plastidový genom

Velikost genomu: 120-160 (200) kb (některé řasy až 500 kb)

Počet genů: 100 (zelené řasy a vyšší rostliny)



Geny:

některé rRNA;

celý soubor tRNA;

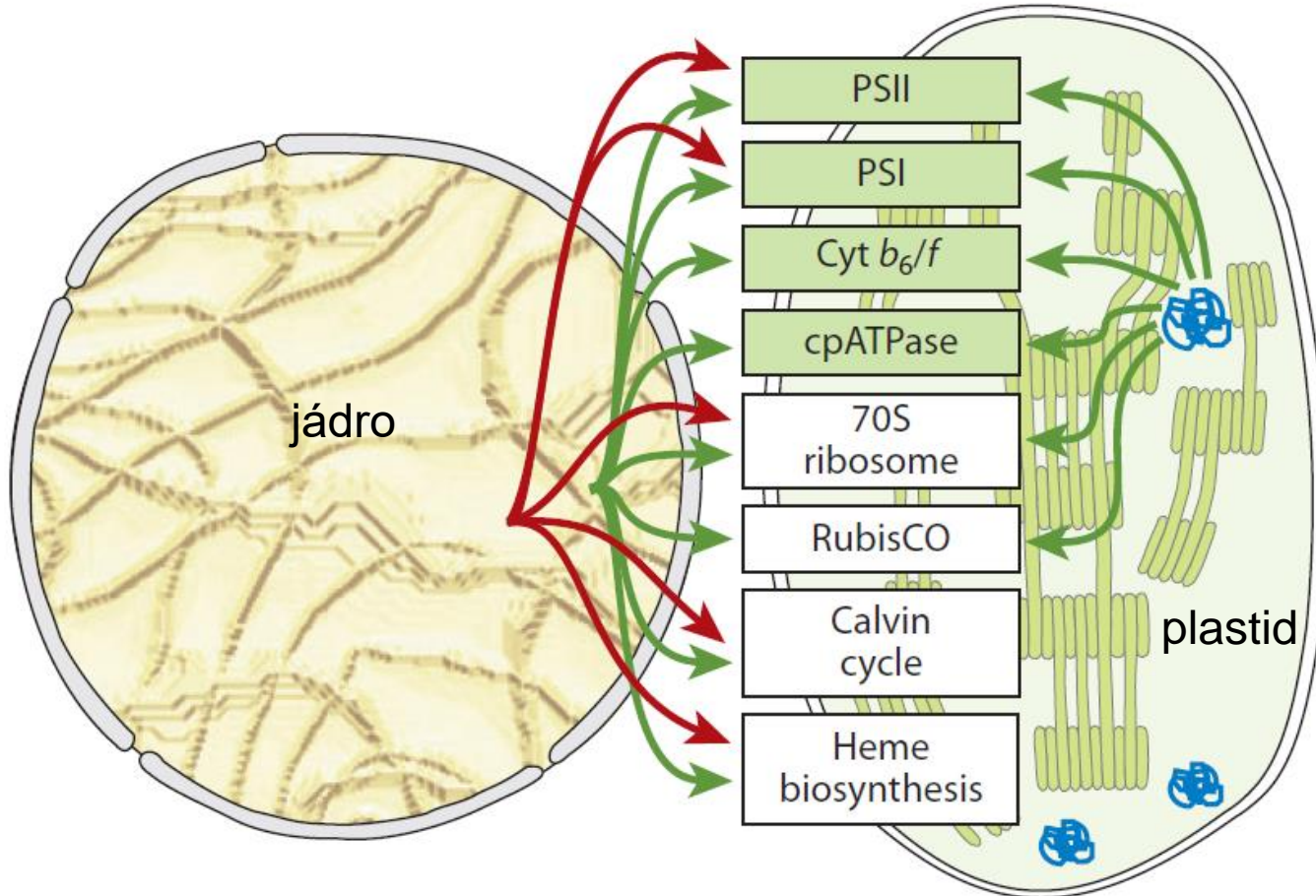
některé podjednotky RNA polymerázy prokaryotního typu;

většina podjednotek PSI, PSII, cytochrom b_6f komplexu a ATP syntázy;

některé ribozomální proteiny (uspořádané často ve stejném pořadí jako v operonu v sinici).

Plastidový genom

Fotosyntetické komplexy jsou sestavovány z podjednotek různého původu



→ Geny eukaryotického původu

→ Geny sinicového původu

Transport proteinů do plastidů

1. Proteiny určené pro plastid jsou syntetizovány v cytoplazmě a do plastidu jsou transportovány **post-translačně**.
2. Většina proteinů je syntetizována s **presekvencí** (tranzitním peptidem) na N-konci proteinu.
3. Po transportu přes dvě obalové membrány je ve stroma presekvence odstraněna peptidázou (**stromal processing peptidase, SPP**).

Transport do stroma zajišťují mnohaproteinové komplexy nacházející se na vnější a vnitřní membráně – **translokony**.

Transport proteinů do plastidů

Translokon na vnější membráně : TOC

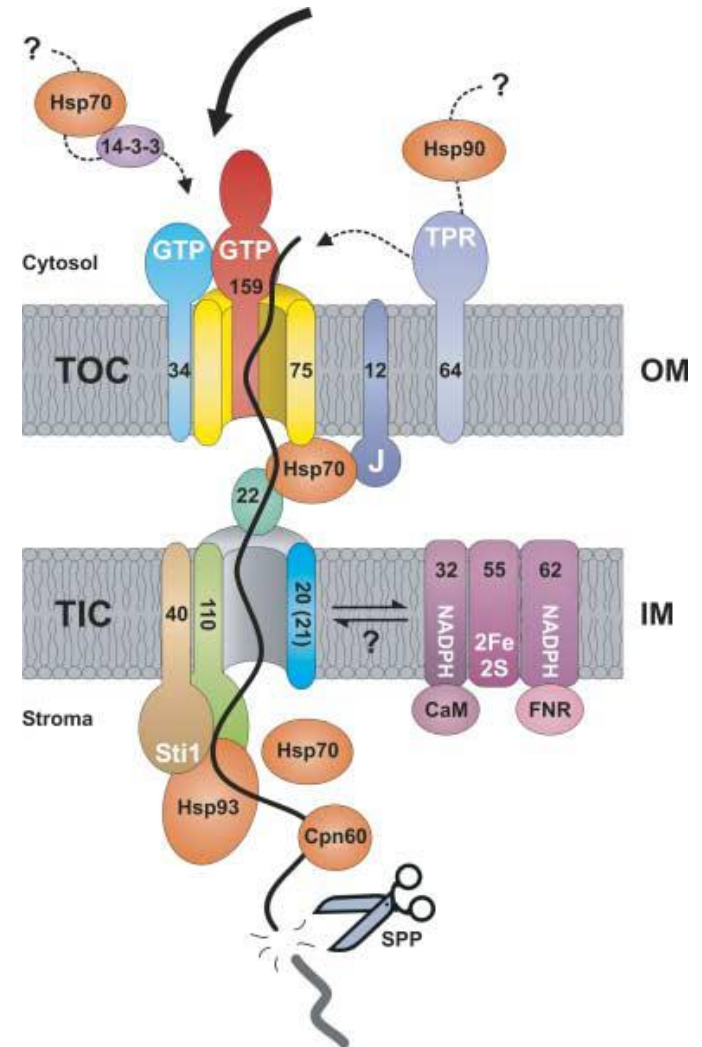
(Translocon at the **O**uter envelope membrane of **C**hloroplasts)

- 500-1000 kDa
- Toc159 a Toc34 (receptory, **GTPázy**) a Toc75 (kanál)
- Přesná kompozice neznámá

Translokon na vnitřní membráně: TIC

(Translocon at the **I**nnner envelope membrane of **C**hloroplasts)

- Snad 7 podjednotek
- Přesná kompozice neznámá
- Kanál snad tvořen Tic110 a Tic20/21 podjednotkou



Transport proteinů do plastidů

Post-translační přenos

Cytosolické faktory:

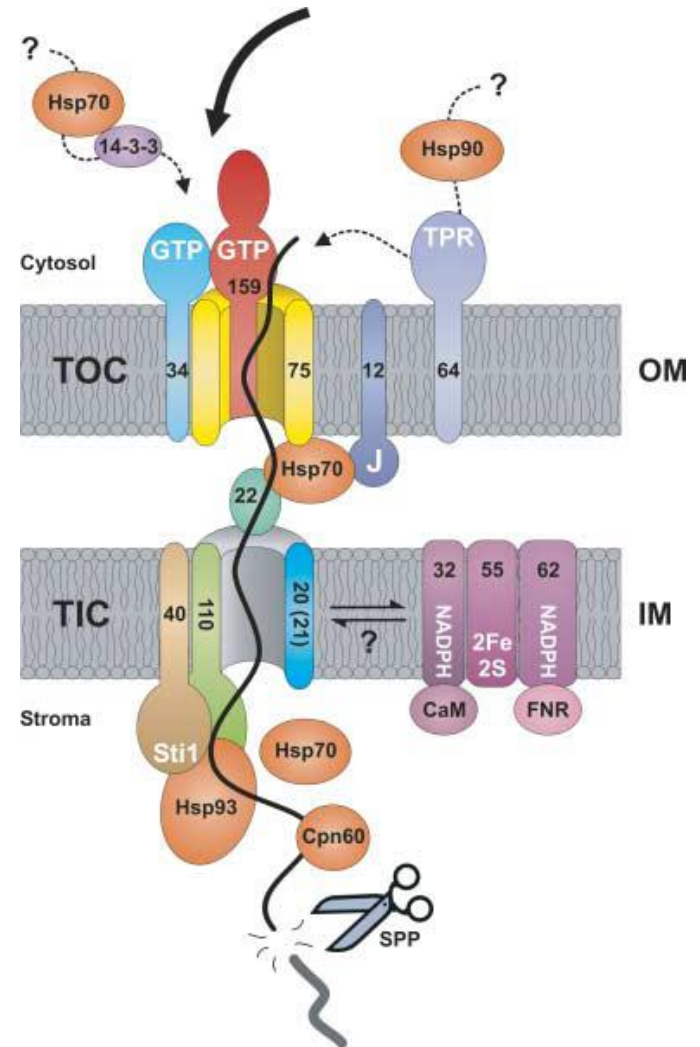
Zajišťují dopravu preproteinu k translokonu v nesbalené podobě

Většinou chaperony (Hsp70 a další)

Faktory ve stroma:

Zajišťují další úpravy preproteinu:

- SPP (enzym stromal processing peptidase)
- chaperony

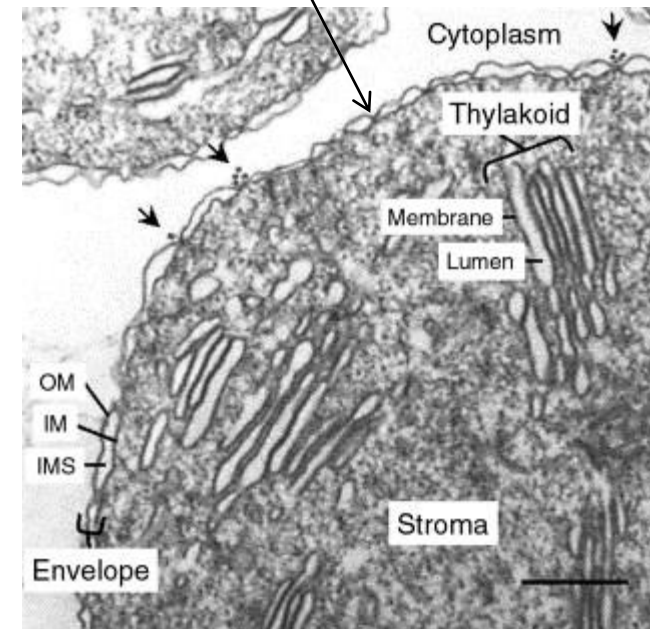
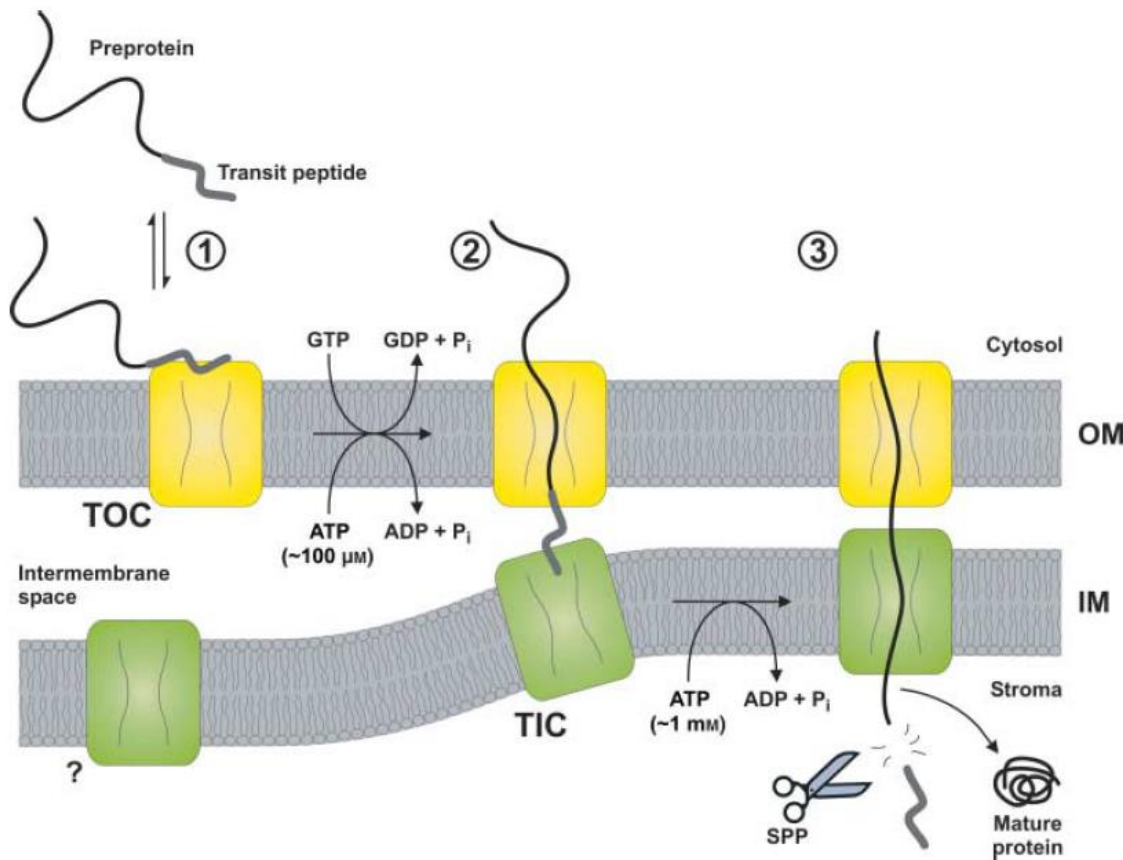


Transport proteinů do plastidů

Transport skrze translokon:

Transport se zřejmě děje najednou přes obě membrány v místech, kde TIC a TOC tvoří superkomplex (v kontaktních místech - contact sites).

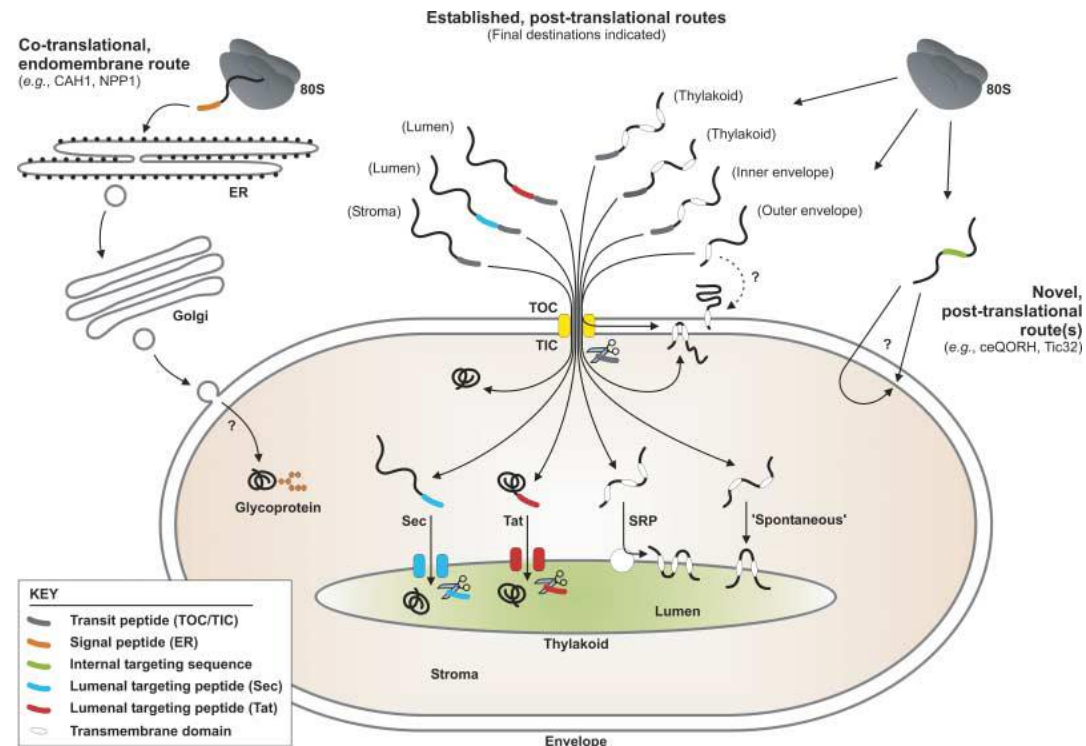
1. Vazba preproteinu na translokon. Energeticky nezávislá, reverzibilní.
2. Preprotein je transportován skrze komplex. Nutné ATP a GTP.
3. Translokace do stroma. ATP



Transport proteinů uvnitř plastidu

Chloroplast obsahuje 6 různých kompartmentů a membrán, kam musejí být transportovány specifické proteiny:

1. Vnější membrána
2. Mezimembránový prostor
3. Vnitřní membrána
4. Stroma
5. Thylakoidní membrána
6. Lumen thylakoidu



Transport proteinů uvnitř plastidu

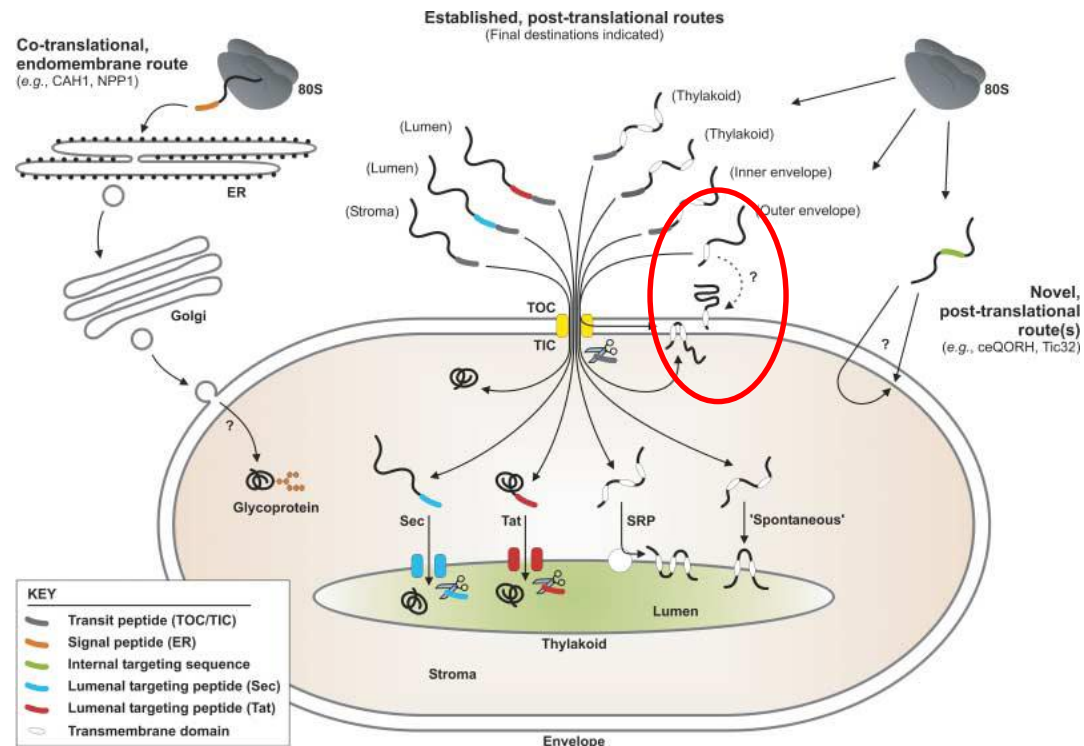
1. Vnější membrána

Proteiny zřejmě nejsou transportovány skrze translokony, ale jsou vkládány přímo z cytosolu.

Výjimka: Toc75

2. Mezimembránový prostor

Neznáme způsob transportu



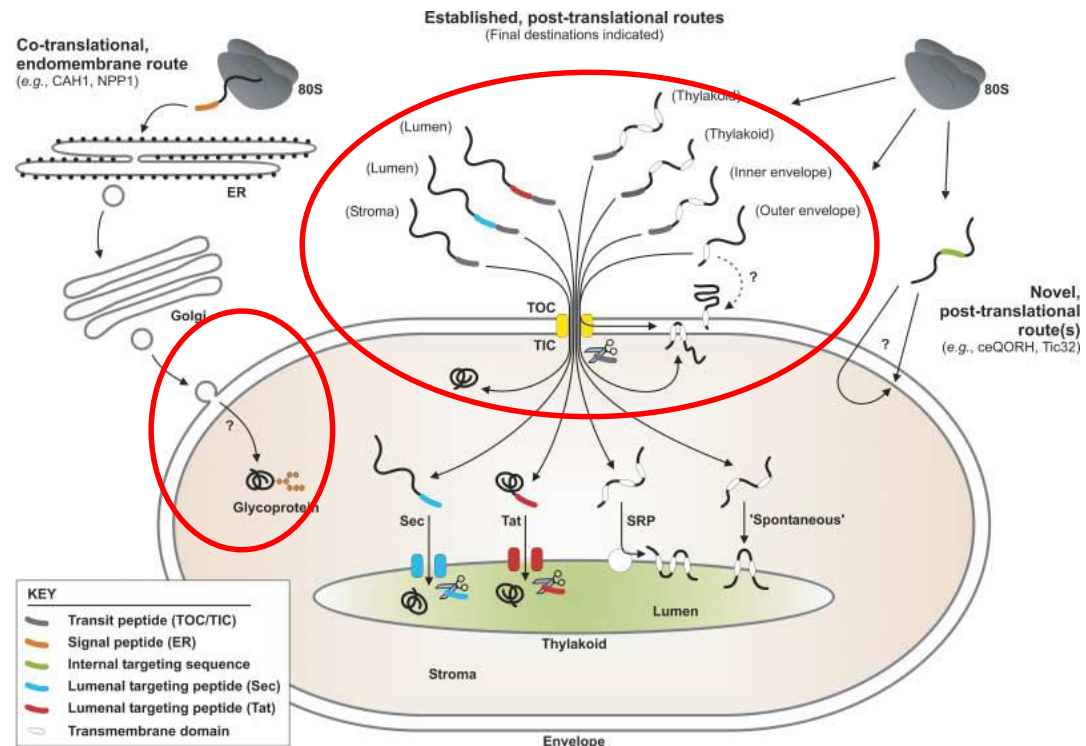
Transport proteinů uvnitř plastidu

3. Vnitřní membrána

- A. Hydrofobní signál „stop transfer“ zajistí laterální výstup proteinu z TIC kanálu do membrány.
- B. Protein je přenesen do stroma a pak vložen do vnitřní membrány ze strany stroma.

4. Stroma

- A. TOC/TIC translokony
- B. ER-GA transportní dráha



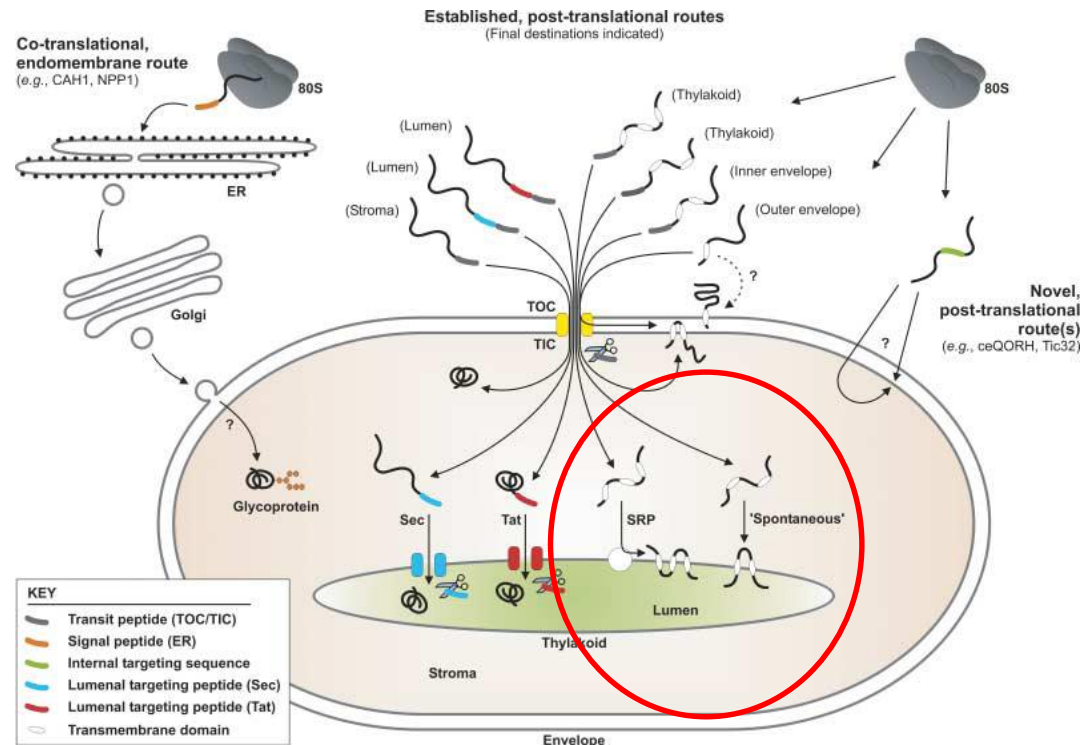
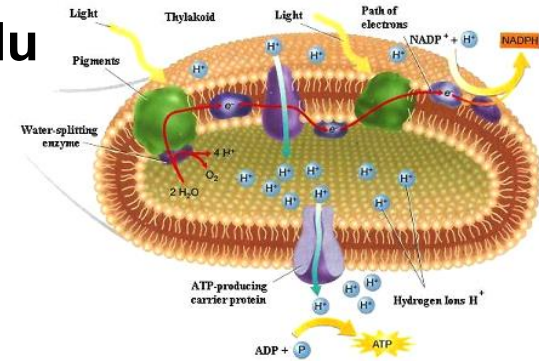
Transport proteinů uvnitř plastidu

5. Membrána thylakoidů

Známy minimálně 2 dráhy:

A. Signal recognition particle-dependent pathway ((cp)SRP)
(prokázána pro transport některých proteinů světlosběrných komplexů)

B. Spontánní vkládání
(např. některé podjednotky ATP syntázy)



Transport proteinů uvnitř plastidu

6. Lumen thylakoidů

Známy dvě dráhy; obě vyžadují aditivní signální presekvenční (odhalena po odštípnutí presekvenční pro transport translokony).

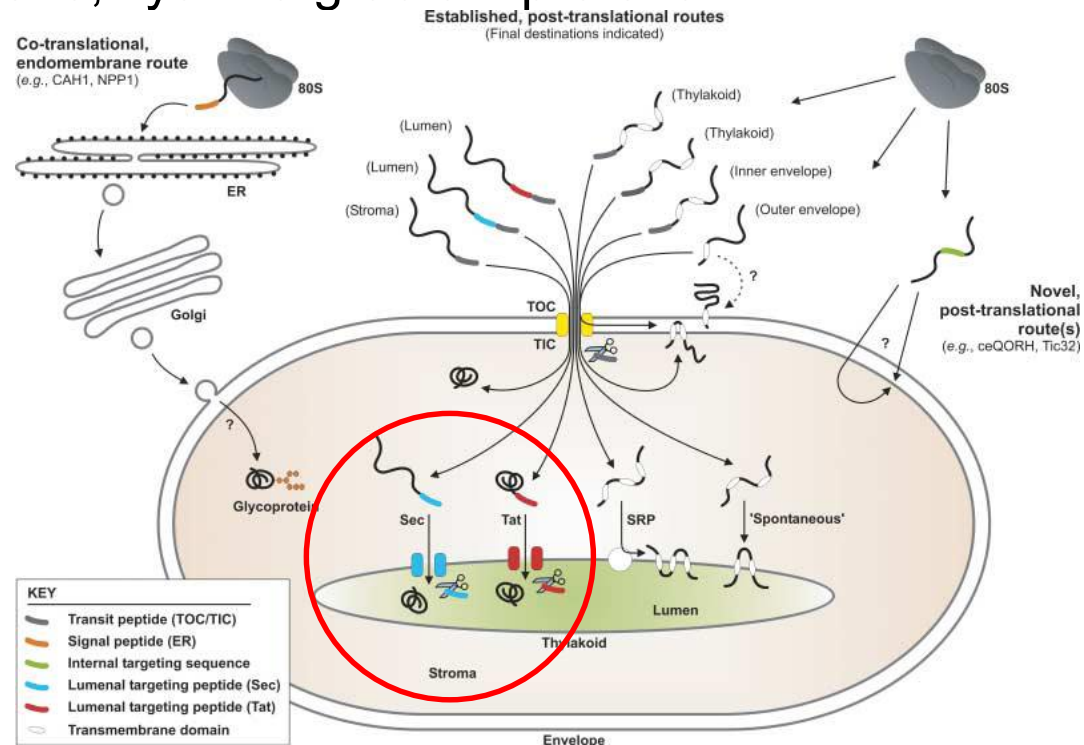
A. Dráha Tat (Twin-arginine translocase)

Translokují proteiny plně sbalené; využívá gradient protonů.

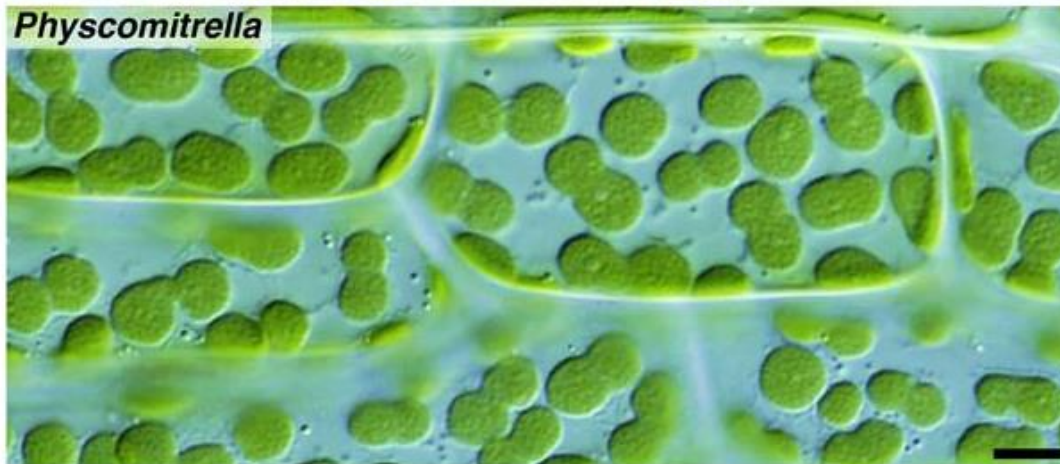
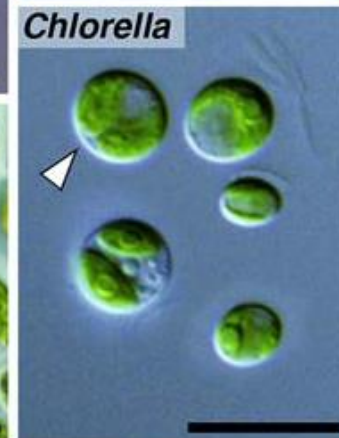
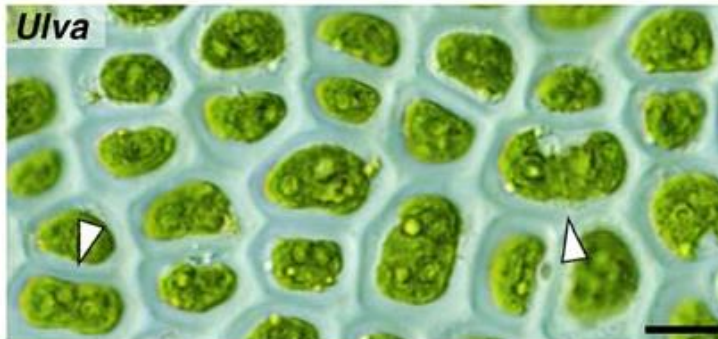
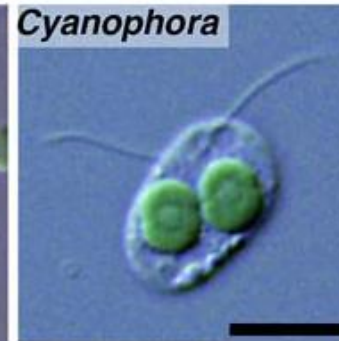
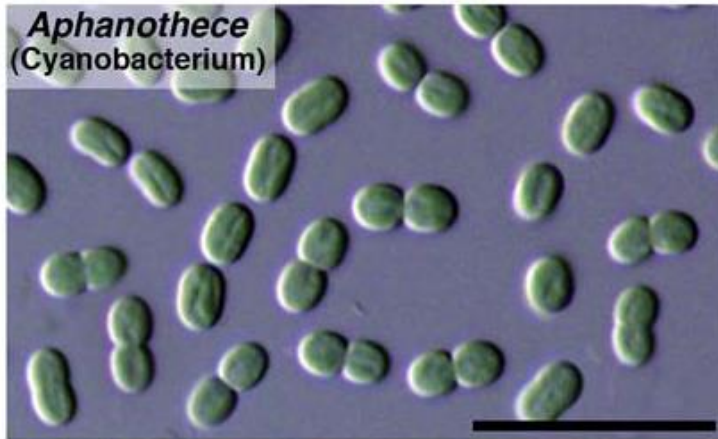
B. Dráha Sec

(Secretory pathway)

Transportuje nesbalené proteiny. Vyžaduje hydrolýzu ATP.



Dělení plastidů



Dělení plastidů

Plastidy se dělí pomocí **PD (plastid division)** prstence.

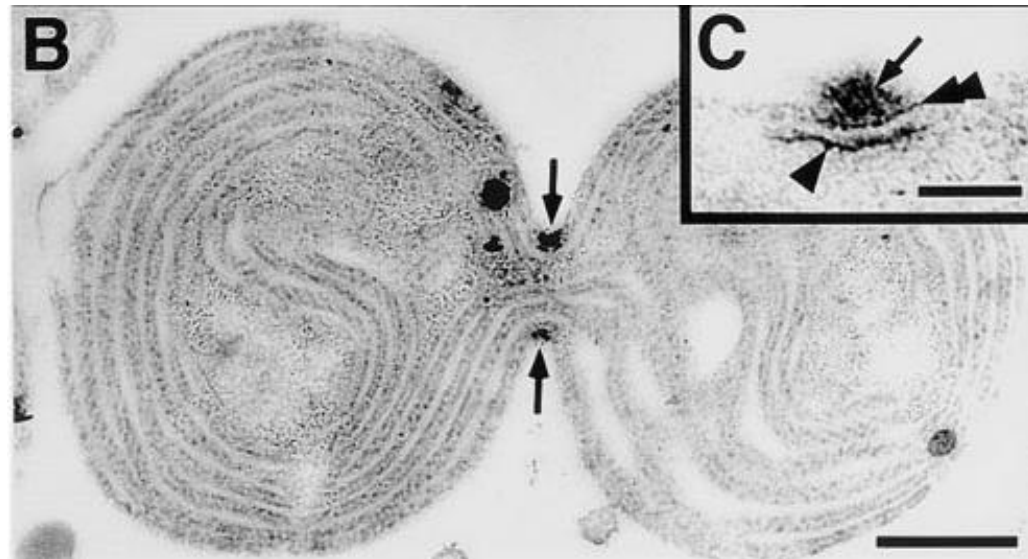
PD se skládá ze dvou prstenců
(terestrické rostliny):

-**Vnitřní prstenec** (přikládá se k
vnitřní membráně ze strany stroma)

-**Vnější prstenec** (přikládá se k
vnější membráně z cytosolické
strany)

Některé řasy obsahují i střední
prstenec v mezimembránovém
prostoru.

Složení prstenců – víceméně neznámé.

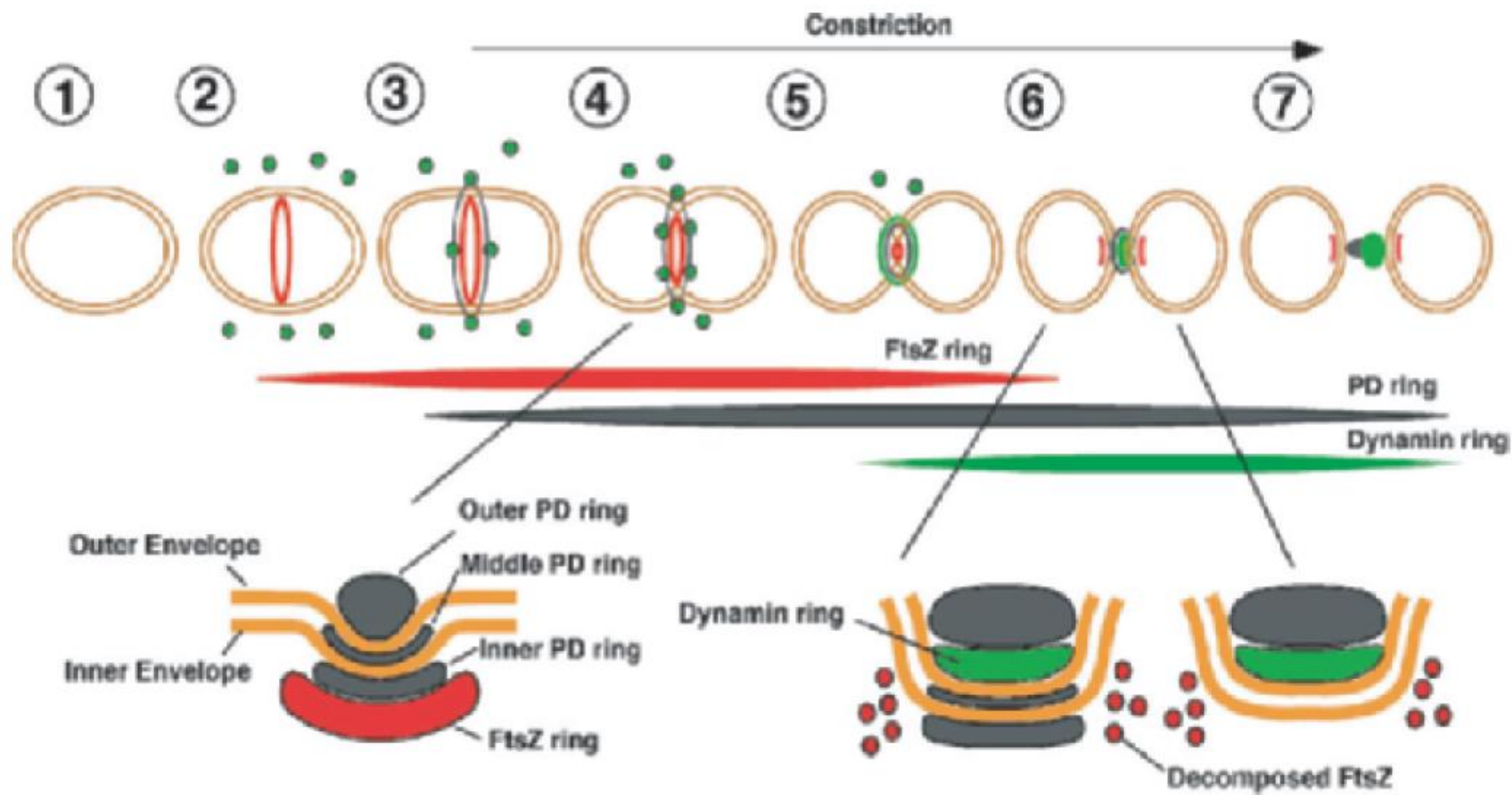


Dělení plastidů

Postup dělení plastidů:

1. Na vnitřní stranu vnitřní membrány se přikládá protein FtsZ
2. Posléze jsou do místa dělení rekrutovány další proteiny – vnitřní prstenec. *Složení vnitřního prstence neznáme.*
3. Posléze se vytváří vnější (střední) prstenec.
4. Na vnější stranu PD prstence se přikládá dynamin (*není totožný s vnějším PD prstencem*).
5. Během zaškrcování vnější prstenec tloustne, zatímco vnitřní ne (depolymerace?)
6. Těsně před dokončením dělení mizí vnitřní a střední prstenec, zůstává vnější, který dokončuje dělení.

Plastidový dělicí aparát se skládá částečně z proteinů prokaryotického (FtsZ) a eukaryotického (dynamin) původu.

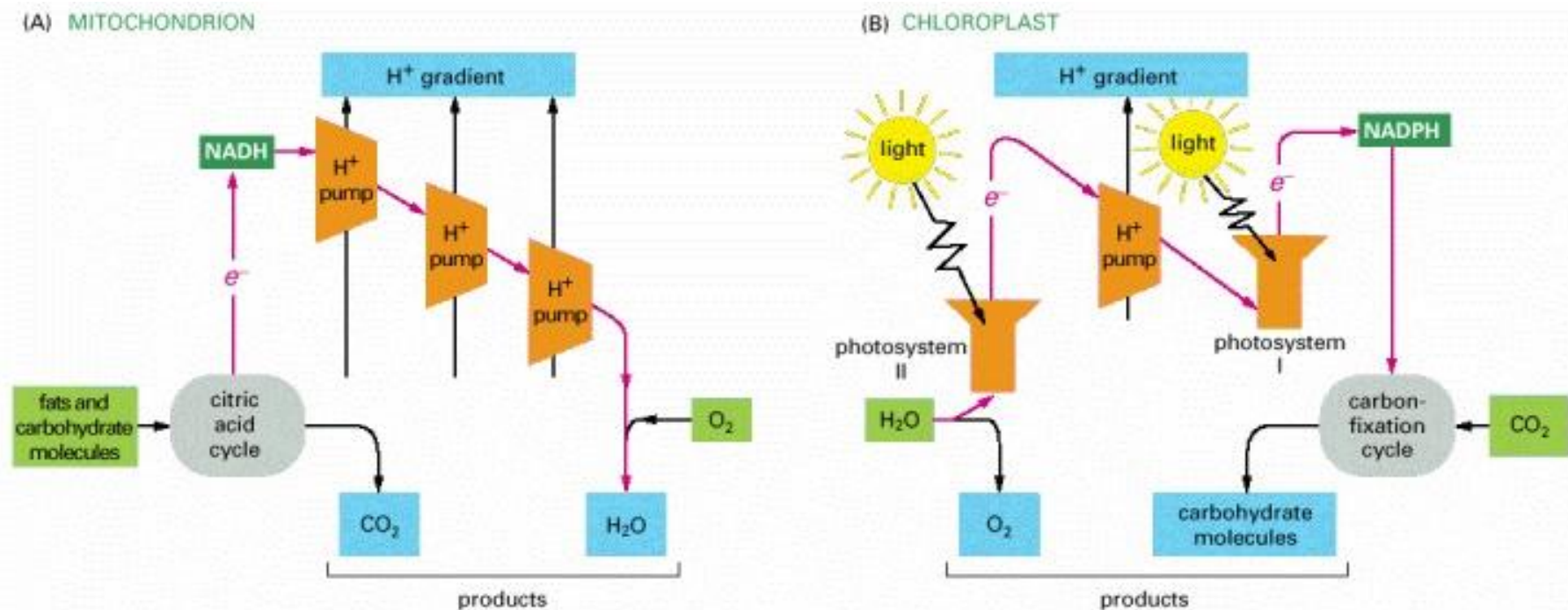


Zajímavosti ohledně sdílení funkce plastidů mezi organismy:
Axolotl skvrnitý a řasa *Oophila amblystomatis*

<https://plus.rozhlas.cz/mlok-na-slunecni-pohon-6630599>

Rozdíly a společné znaky fotosyntetického a dýchacího elektrontransportního řetězce:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21063/>



Shrnutí:

Historie objevu plastidů

Endosymbiotický vznik, primární, sekundární a terciární plastidy

Struktura primárních plastidů. Glaucophyta, Rhodophyta, zelené rostliny

Kompartmenty plastidu a jejich význam

Přehled fotosyntézy

Princip C3, C4 a CAM fotosyntézy

Vývojové typy plastidů vyšších rostlin

Plastidový genom; přesuny genů, velikost a struktura plastidového genomu

Transport proteinů do plastidu

Dělení plastidu