

Rostlinná cytologie

MB130P30

Přednášející:

RNDr. Kateřina Schwarzerová, PhD.

RNDr. Jindřiška Fišerová, Ph.D.

Katedra experimentální biologie rostlin:

<https://www.natur.cuni.cz/biologie/biologie-rostlin>

Jsme na Facebooku!

Katedra experimentální biologie rostlin PFF UK
@KEBRPFFUK

Hlavní stránka
Přispívky
Hodnocení
Fotky
Skupiny
Komunita
Videa
Informace
Informace a reklamy

To se mi líbí · Sledovat · Sdílet · ...

Napište komentář...

Katedra experimentální biologie rostlin PFF UK
18. září v 13:45

Jak rozvíjet rostlinu. Mimochodem, genetická transformace rostlin na svítící může tvořit značnou část vaší diplomové práce na KEBRu.
<https://www.nytimes.com/.../03/13/science/plant-defenses.html>

100 mM Glu

NYTIMES.COM
Watch Plants Light Up When They Get Attacked
Scientists showed that plants are much less passive than they seem...

15 · 1 sdílení

Poslat zprávu

Katedra ekolog...
Community College

Přírodovědeck...
Vysoká škola a univerzita

Stránky, které se této stránce líbí

TS The Scientist

Věda je krásná

Přírodovedci.cz

Čeština · English (US) · Slovenčina · Español · Português (Brasil)

Informace o datech Přístavů stránky · Soutěže · Přístupní podmínky · Reklamy · Vždy reklamy (p) · Cookies · Další · Facebook & Web

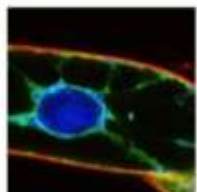
Přijďte se k nám podívat, a pokud hledáte téma bakalářské či diplomové práce, můžete:

1. Prozkoumat vypsaná témata v SIS
2. nebo se podívat na web, čím se zabývají výzkumné týmy
3. a zajít do laboratoře, která vás zaujala; nějaké další téma pro BP či DP si určitě v laboratoři domluvíte.

Studenty máme rádi a staráme se o ně. A ačkoliv **svítící rostliny** vytváříme v laboratoři každý den, jejich hlavním účelem je porozumět procesům v rostlinách. Protože rostliny jsou pro lidstvo to **NEJDŮLEŽITĚJŠÍ**.

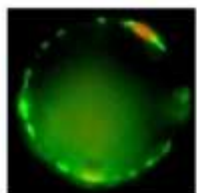
Týmy Katedry experimentální biologie rostlin

Buněčná biologie a biotechnologie rostlin,



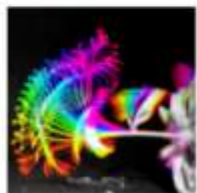
skupina pod vedením **dr. Kateřiny Schwarzerové** zkoumá na molekulární a buněčné úrovni cytoskelet rostlin, především pak jeho roli v morfogenezi a signalizaci. Skupina vedená **dr. Lukášem Fischerem** se věnuje výzkumu RNA interference (umlčování transgenů), G-proteinové signalizaci a roli manganstabilizujícího proteinu fotosystému II. Skupina vedená **dr. Janem Petráškem** se věnuje především transportu auxinu a roli cytoskeletu v auxinem řízeném vývoji rostlin.

Buněčná morfogeneze [i2](#),



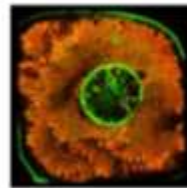
skupina se pod vedením **doc. Fatimy Cvrčkové** a **doc. Viktora Žárského** věnuje především molekulárním mechanismům buněčné polarity. Předmětem zkoumání jsou tedy proteiny a proteinové komplexy, které se účastní polarizované exocytózy a organizace cytoskeletu (především multiproteinový komplex Exocyst a cytoskeletární organizátory z rodiny forminů). Skupina studuje i signální dráhy, které zprostředkovávají koordinaci jednotlivých procesů určujících buněčnou polaritu. Část týmu se nachází na pracovišti Ústavu experimentální botaniky AV ČR, v. v. i. [i2](#).

Buněčný růst a diferenciacce,



laboratoř **Matyáše Fendrycha** [i2](#) se zaměřuje na pochopení molekulárních a fyziologických mechanismů, které řídí růst orgánů a buněk rostlin. V centru naší pozornosti leží fascinující rozhraní mezi buňkou a její stěnou, které je klíčové pro percepci a regulaci vlastností buněčné stěny. Zajímají nás také mechanismy regulace a koordinace růstu na supra-celulární úrovni během vývoje a diferenciacce orgánů. Naš modelový systém je *Arabidopsis thaliana* kde využíváme metod molekulární biologie v kombinaci s pokročilým live-cell imagingem, geneticky kódovanými fluorescencemi [i2](#) sensory, specializovanou vertikální [i2](#) mikroskopií [i2](#) a mikrofluidickými technikami.

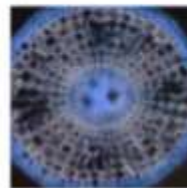
Ekofyziologie rostlin [i2](#),



laboratoř se pod vedením **prof. Jany Albrechtové** (lab 206 a 207) věnuje studiu fyziologických a strukturálních reakcí rostlin na biotické a abiotické faktory prostředí v laboratorních i terénních podmínkách. Výzkum se zaměřuje na: 1) *Ekologickou fyziologii rostlin* využívá široké spektrum metod mikroskopických, kvantitativně anatomických (stereologických a analýzy obrazů), histochemických a biochemických, až po spektrální analýzy listové využitelné v dálkovém průzkumu Země a je pod vedením **Zuzany Lhotákové**; 2) *Mycorrhizní symbiózy a další houbové asociace kořenů* rostlin jejich ekologi a ekofyziologii s použitím škály metod terénního výzkumu, molekulárních metod a bioinformatiky pod vedením **Petra Kohouta**.

- Řešená témata: *Optické vlastnosti listů*

Fyziologická anatomie [i2](#),



skupina se pod vedením **dr. Aleše Soukupa** soustředí především na kořenový systém, jeho vývoj, funkci a interakci s půdním prostředím. Výzkumné přístupy vychází z tradice „klasické“ rostlinné anatomie doplněné o vybrané metody cytologie, biochemické analýzy a molekulární biologie. Tato kombinace umožňuje propojovat strukturální a funkční parametry rostlinného těla, jež se mění během diferenciacce pletiv, v rámci ontogeneze rostliny či vlivem působení vnějších faktorů.

Studium regulačních faktorů morfogeneze rostlin [i2](#),



skupina se pod vedením **doc. Heleny Lipavské** zabývá zejména cukerním metabolismem rostlin v souvislosti s vývojovými změnami a působícím stresem těžkých kovů, sucha, chladu apod. Dalším zaměřením skupiny je studium vývojových změn u transgenických rostlin s cizorodým mitotickým aktivátorem a studium interakce rostlina – houbový symbiont v životním cyklu orchidejí. Mimo standardní kulturní postupy skupina hojně využívá kultivace rostlinných explantátů *in vitro*.

Buněčná biologie a biotechnologie rostlin,



skupina pod vedením **dr. Kateriny** se zabývá molekulární a buněčné úrovni cytoskeletu a morfogenezi a signalizaci. Širokým výzkumu RNA interference a roli manganu v transportu auxinu a roli cytoskeletu.

Buněčná a molekulární biologie

Buněčná morfologie,



skupina se pod vedením **doc. Viktora Žárského** věnuje především cytoskeletu a jeho polaritě. Předmětem výzkumu jsou cytoskeletové komplexy, které se účastní polarizace cytoskeletu (především aktinové) a buněčné polarizace. Zaujímají nás také membránní organizátory z rodiny transmembránových proteinů a dráhy, které zprostředkovávají komunikaci mezi orgányly určující buněčnou polaritu. Část týmu se zabývá také výstavou experimentální botaniky AV ČR, v. v. i.

Buněčná a molekulární biologie

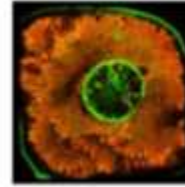
Buněčný růst a diferenciace,



laboratoř **Matyáše Fendrycha** se zabývá molekulárními a fyziologickými mechanismy buněčného růstu a diferenciace rostlin. V centru naší pozornosti je cytoskelet, který je klíčovým faktorem v buněčném růstu. Zaujímají nás také membránové supra-celulární úrovni během diferenciace. Modelový systém je *Arabidopsis thaliana*. Výzkum je prováděn v kombinaci s pokročilým live-cell mikroskopickým systémem, který umožňuje kódovanými fluorescenčními senzory, vertikálními mikroskopii a mikrofluidickými technikami.

Buněčná a molekulární biologie

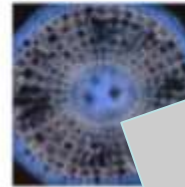
Ekofyziologie rostlin



laboratoř se pod vedením **prof. Jany Albrechtové** (lab 306 a 307) věnuje studiu fyziologických a strukturálních reakcí rostlin na biotické a abiotické faktory prostředí v laboratorních i terénních podmínkách. Výzkum se zaměřuje na: 1) ekofyziologii rostlin využívá široké spektrum metod mikroskopických, kvantitativně anatomických (stereologických a analýzy obrazů), histochemických a biochemických, až po spektrální analýzy listovní využitelné v dálkovém průzkumu Země a je pod vedením **Zuzany Lhotákové**; 2) Mykorrhizní symbiózy a dalších houbových asociací kořenů rostlin jejich ekologii a ekofyziologii s použitím škály metod terénního výzkumu, molekulárních metod a bioinformatiky pod vedením **Petra Kohouta**.

- Řešená témata: Optické vlastnosti listů

Fyziologická anatomie



skupina se pod vedením **dr. Jiřího** zabývá výzkumem kořenového systému, jeho morfologií a fyziologií v různých podmínkách. Výzkumné přístroje jsou vybaveny počítačovými programy pro analýzu o vybraných parametrech. Výzkum je prováděn v rámci spolupráce s odbornými biologičkami a funkční parametry kořenového systému a kořenevých pletí, v rámci ontogeneze kořenového systému.

Studium regulace faktorů morfogeneze rostlin



skupina se pod vedením **doc. Heleny Lipavské** zabývá zejména cukerním metabolismem rostlin v souvislosti s vývojovými změnami a působícím stresem těžkých kovů, sucha, chladu apod. Dalším zaměřením skupiny je studium vývojových změn u transgenických rostlin s cizorodým mitotickým aktivátorem a studium interakce rostlina – houbový symbiont v životním cyklu orchidejí. Mimo standardní kulivační postupy skupina hojně využívá kultivace rostlinných explantátů *in vitro*.

Buněčná a molekulární biologie

Struktura přednášek:

1. Úvod do eukaryotické buňky (kompartimentace, membrány, transport přes membrány)
2. Endomembránový systém rostlinné buňky: (ER, GA, vakuoly)
3. Jádro
4. Plastidy
5. Mitochondrie
6. Cytoplasma a cytoskelet
7. Buněčná stěna
8. Komunikace buněk
9. Morfogeneze rostlinné buňky, programovaná buněčná smrt.

Literatura:

Buchanan a kol. - Biochemistry and molecular biology of plants

O. Votrubová - Anatomie rostlin (skripta)

Alberts a kol. – Základy buněčné biologie

Taiz a Zeiger – Plant Physiology

Materiály k přednáškám:

<http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/schwarze/cytologie/cytol.htm>

(aktualizace po každé přednášce)

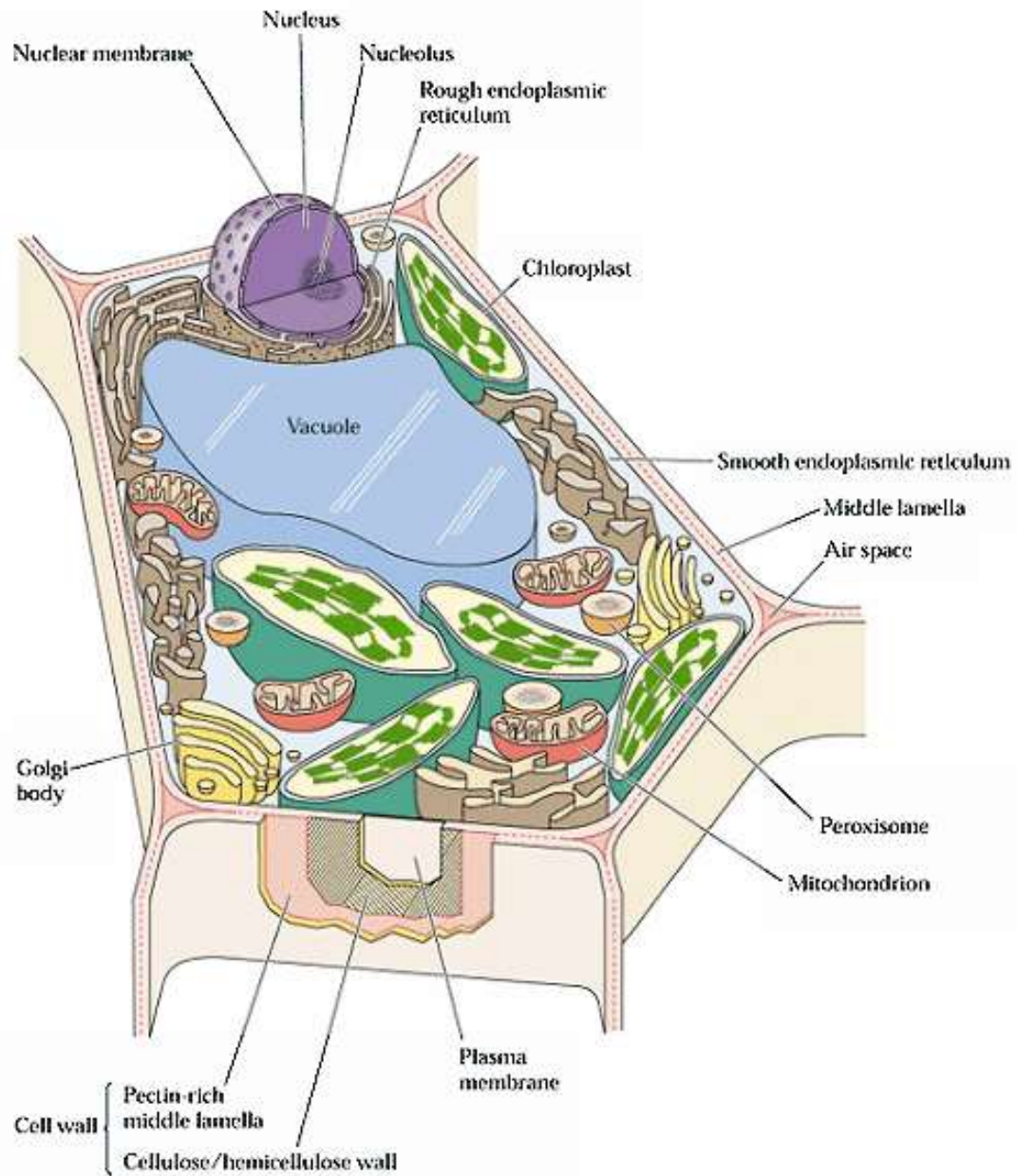
Další odkazy:

kfrserver.natur.cuni.cz: odkaz Slovník rostlinné anatomie:

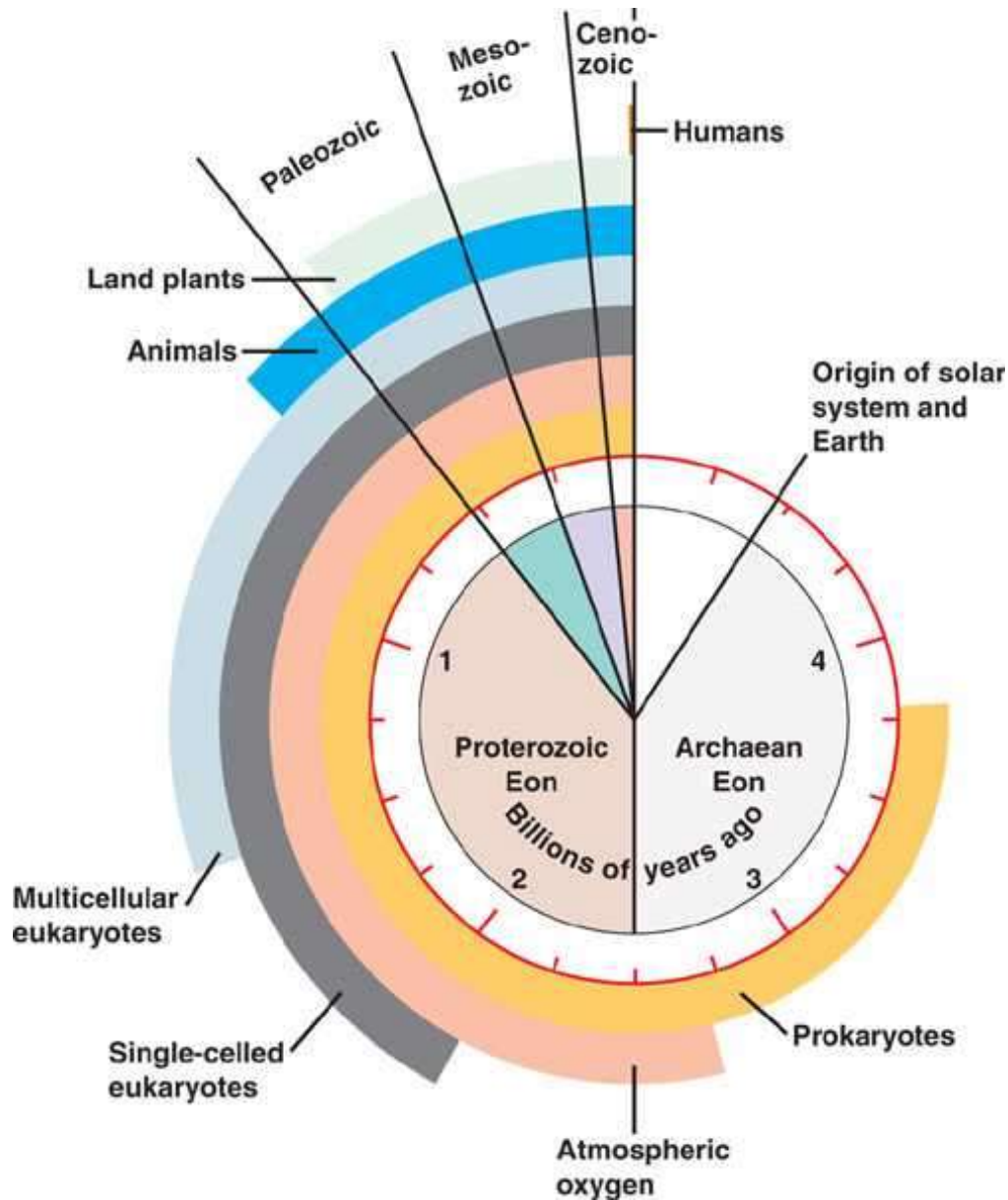
historie anatomie rostlin; anatomický atlas; základy mikroskopování
atd.

Cíl přednášky:

1. Definovat termín eukaryotická buňka
2. Pochopit význam biomembrán pro eukaryotickou buňku
3. Identifikovat nejdůležitější procesy probíhající na membránách



Vývoj života na Zemi



-3,5 miliard let: Vznik života.
(První organismy byly zřejmě prokaryotní, anareobní a heterotrofní.)

- cca 3,2 miliard let: Vznik fotosyntézy (velmi brzy v evoluci)

-2,5 miliard let: vznik oxygenní fotosyntézy.

-2,2 miliardy let: vznik aerobního dýchání.

kolem -2 miliard let: vznik eukarotických buněk.

-1,5 miliard let: vznik mitochondrií

> -1 miliarda let: vznik plastidu

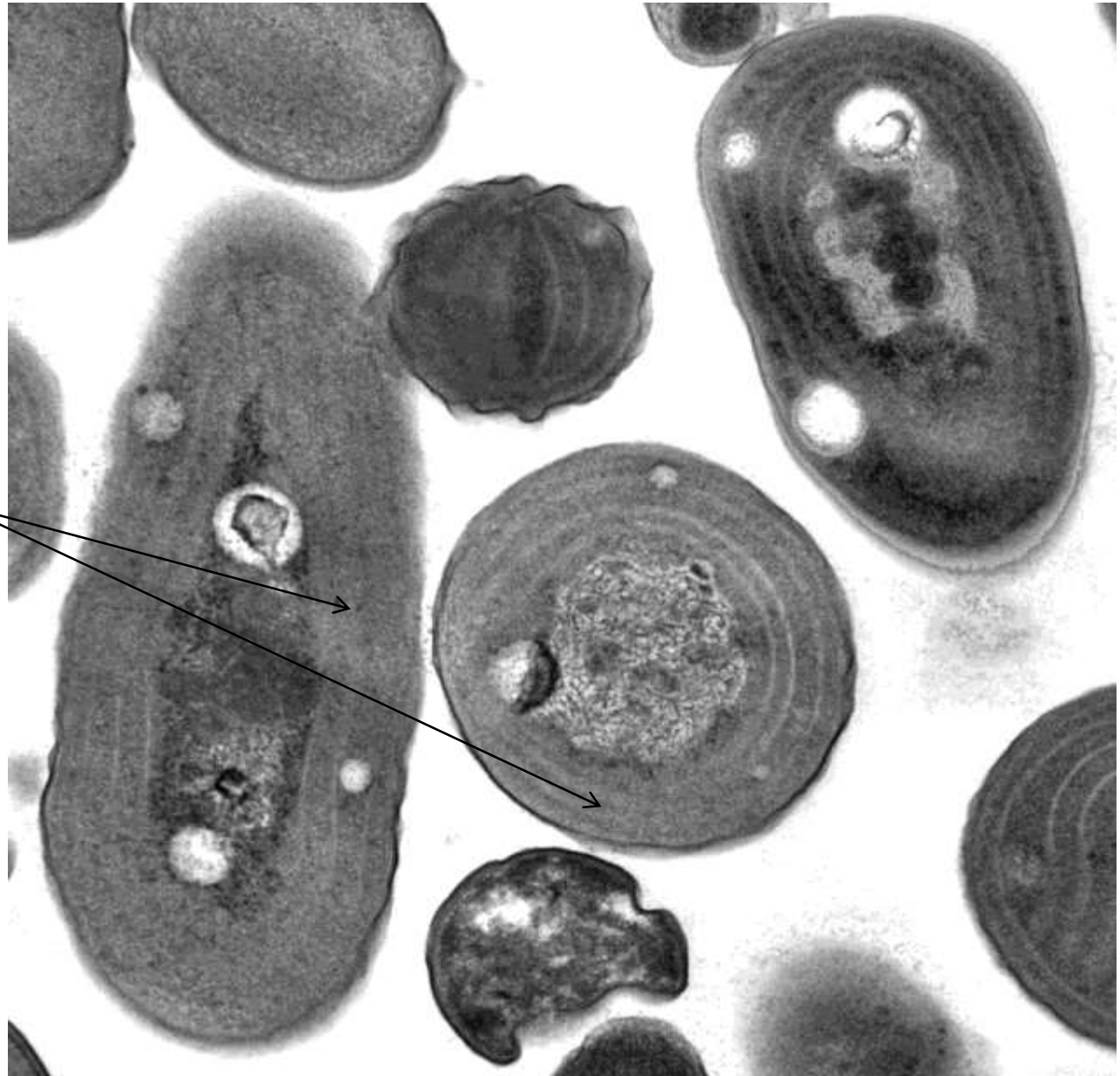
Prokaryotická x eukaryotická buňka

Kompartimentace – základní vlastnost eukaryotické buňky
(Eukaryota – česky „Jaderní“)

Umožnila:

- rozdělení prostoru buňky membránou na **kompartmenty**
- endosymbiózu**

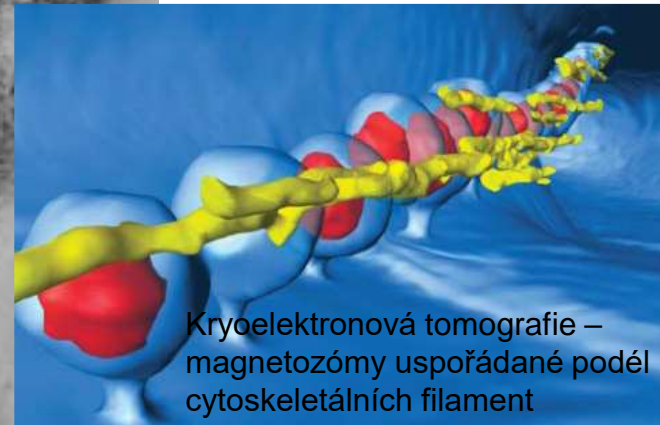
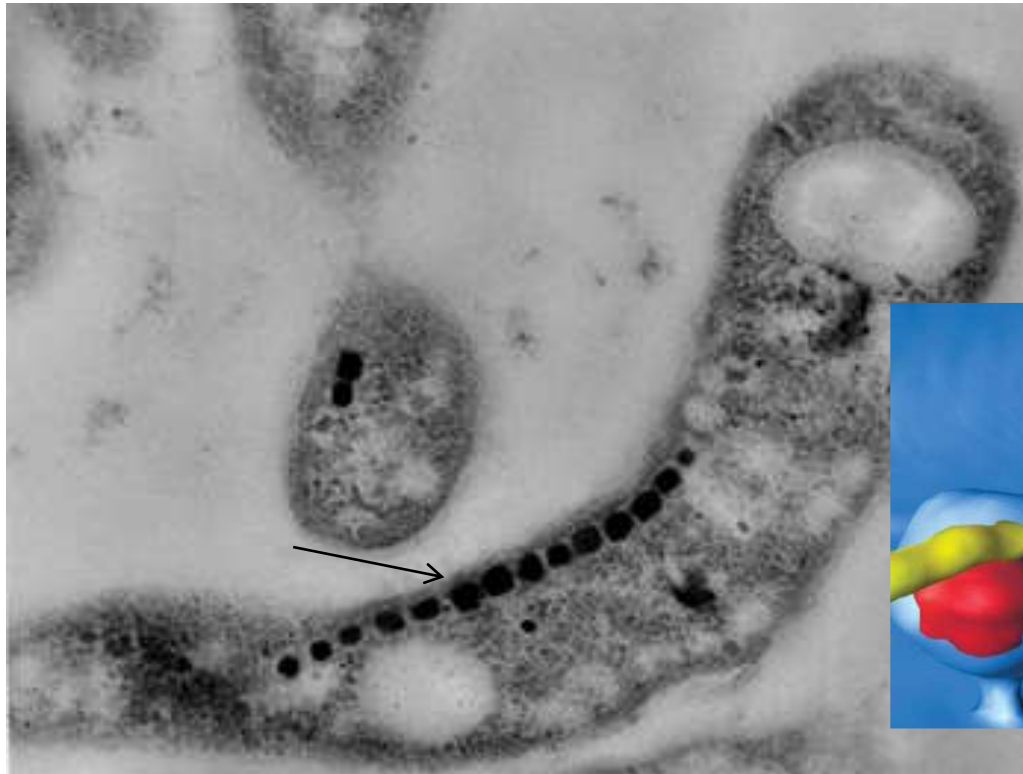
Prokaryotická fotosyntetizující membrána



Vchlípeniny PM s
obsahem
fotosyntetického
aparátu

Sinice *Synechococcus*

Magnetozóm magnetotaktických bakterií - příklad prokaryotické organely



Kryoelektronová tomografie –
magnetozomy uspořádané podél
cytoskeletálních filament

Magnetospirillum magneticum

Endosymbióza:

Vznik mitochondrií (pohlčením bakterie); vznik plastidů (pohlčením fotosyntetizující sinice).

Důkazy, svědčící pro endosymbiotickou teorii:

- Plastidy a mitochondrie mají vlastní DNA, jejíž organizace je podobná prokaryotům
- Obaleny dvěma nebo více membránami odlišného složení; vnitřní membrána podobná prokaryotům
- Nevznikají *de novo*, ale vždy dělením
- Dělení je podobné dělení prokaryotické buňky
- Mají vlastní proteosyntetický aparát prokaryotického typu
- rRNA a enzymy mitochondrií a plastidů jsou prokaryotického typu
- Recentní symbiózy (lišejníky, *Paramecium bursaria*) a endosymbiózy (*Paulinella* atd.)

Primární x sekundární endosymbióza

Primární endosymbióza plastidů: pohlcení fotosyntetizující bakterie eukaryotní buňkou = vznik **primárního plastidu** (dnes jej obsahují všechny organismy říše *Archaeplastida*; všechny primární plastidy jsou monofyletické)

Sekundární endosymbióza: pohlcení fotosyntetizující řasy heterotrofní eukaryotní buňkou = vznik **sekundárního plastidu** (sekundární plastid dnes obsahují všechny fotosyntetizující organismy, které nejsou součástí říše *Archaeplastida*)

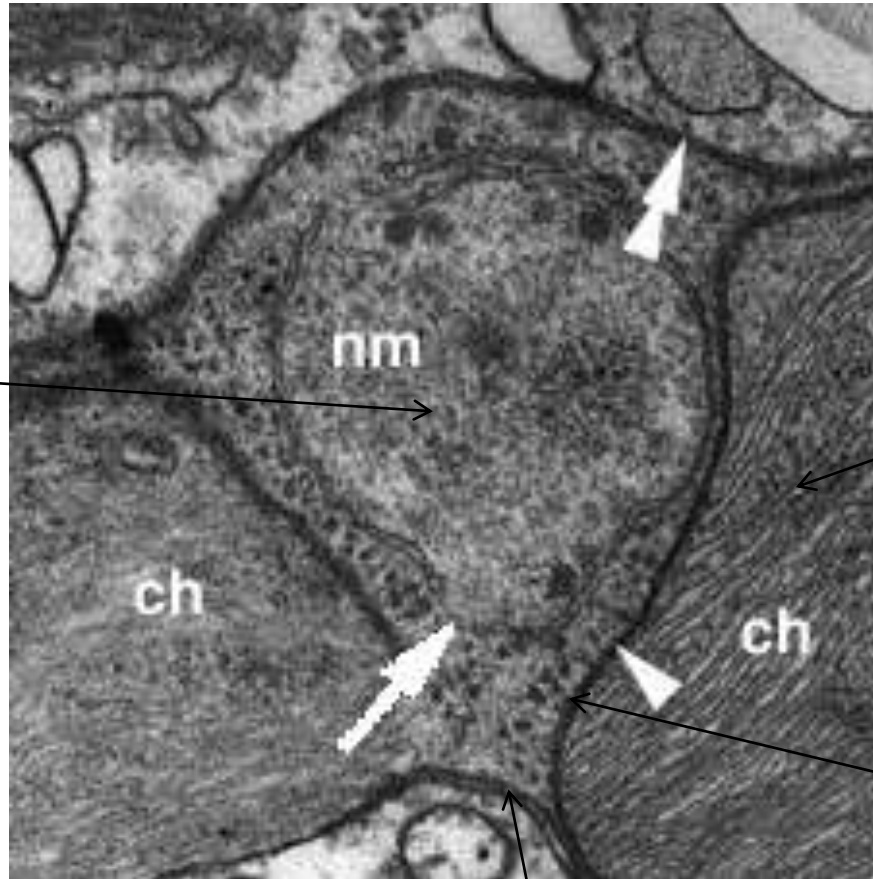
Důkazy sekundární endosymbiózy plastidů:

- tři až čtyři membrány plastidů nezelených řas
- Identifikace rezidua jádra endosymbionta (nukleomorf)

Mitochondrie vznikly zřejmě v rámci jediné endosymbiotické události a při sekundárních endosymbiózách se ztrácejí.

Nukleomorf (nucleomorph)

Nukleomorf
(reziduum jádra
eukaryotického
endosymbionta)



Chloroplast

Dvojitý obal
chloroplastu

Další dvě obalové
membrány
sekundárního
endosymbionta

Kompartmentace

-Základem jsou biomembrány

-Kompartmenty: vnitřní prostory eukaryotické buňky oddělené membránou

-Hlavní kompartmenty a membrány v eukaryotické rostlinné buňce:

Cytoplasmatická membrána (plasmalema, plazmatická membrána)

Cytoplasma

Jádro

Endoplazmatické retikulum

Golgiho aparát

Vesikuly, endozóm

Lytický kompartment

Peroxisomy

Mitochondrie a jejich kompartmenty

Plastidy a jejich kompartmenty

Buněčná stěna

Organela vs kompartment?

Kompartentační pravidla (Schnepf 1965):

Biologické membrány oddělují protoplazmatické a neprotoplazmatické fáze v buňce; membrány mají cytosolickou (protoplazmatickou) a extracelulární (neprotoplazmatickou) stranu; membrány jsou strukturně i funkčně asymetrické.

Neprotoplazmatické fáze:

Extracelulární prostor, cisterny ER a GA, vakuoly, perinukleární prostor, mezimembránový prostor plastidů a mitochondrií, vnitřek thylakoidů.

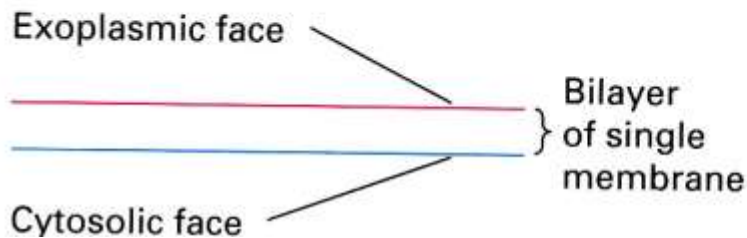
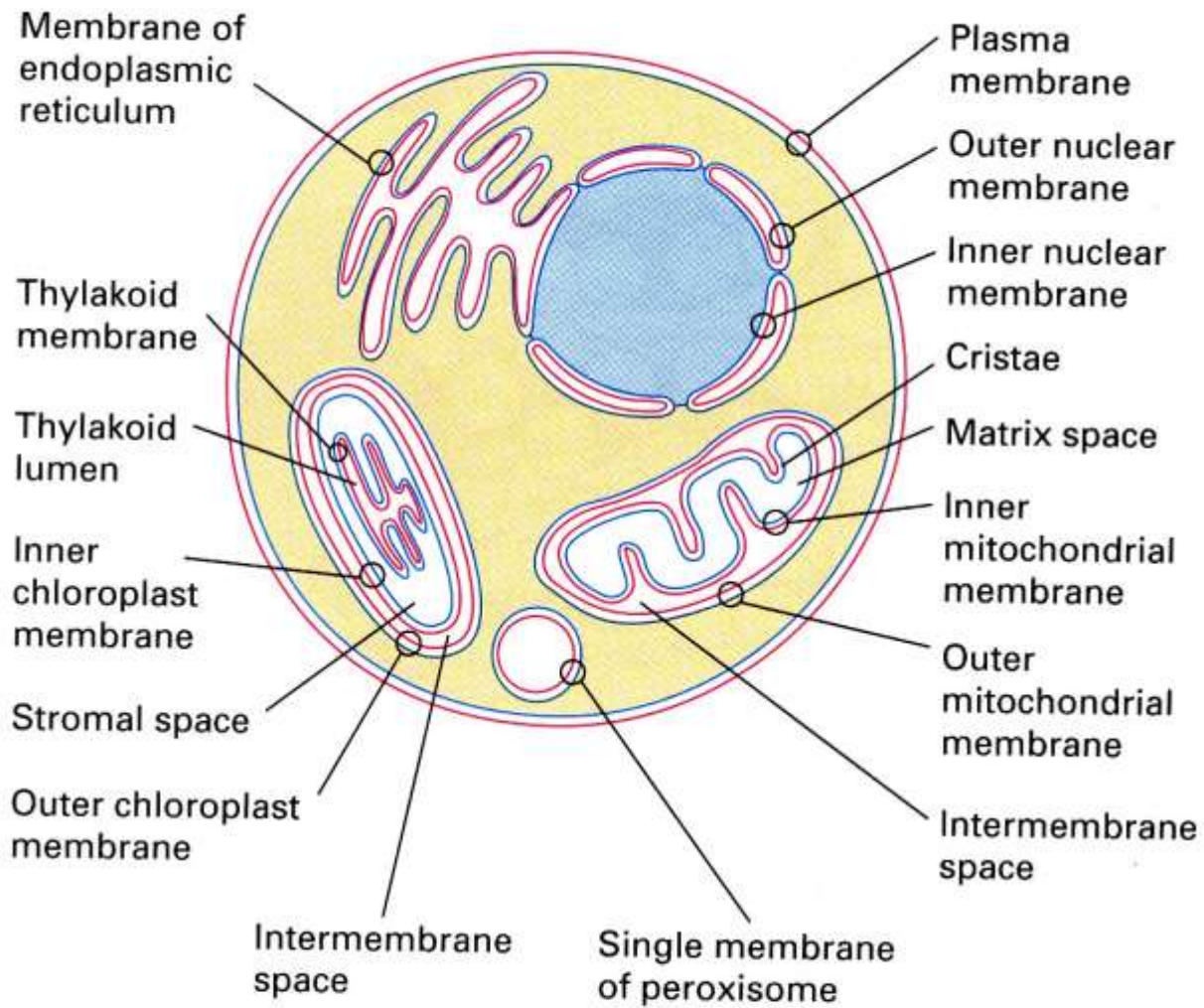
Protoplazmatické fáze:

Cytoplazma, karyoplazma, chondrioplazma (mitoplazma/matrix) uvnitř mitochondrií, u rostlin navíc plastidoplazma (stroma).

Nukleové kyseliny se vyskytují vždy jen v protoplazmatických fázích.

Mezi protoplazmatickými a neprotoplazmatickými kompartmenty probíhá transport přes membránu.

Mezi kompartmenty neprotoplazmatickými probíhá transport pomocí váčků.



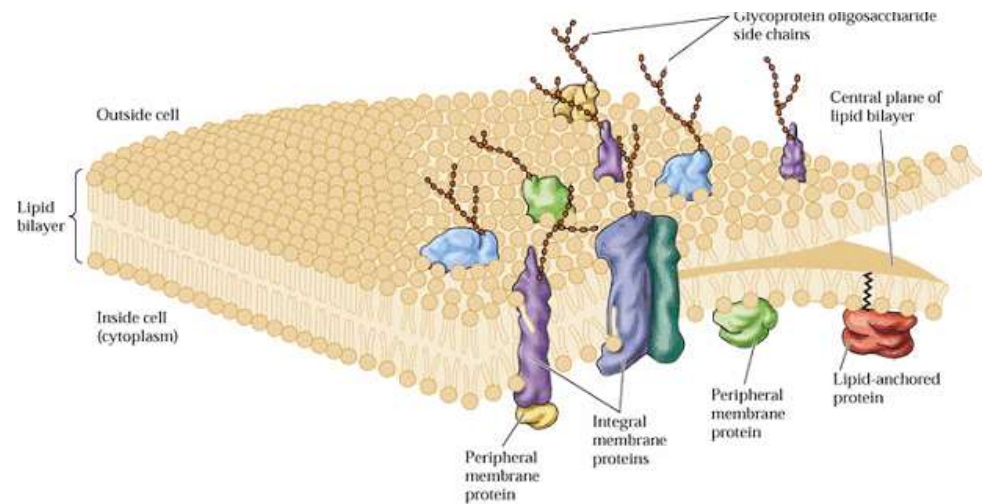
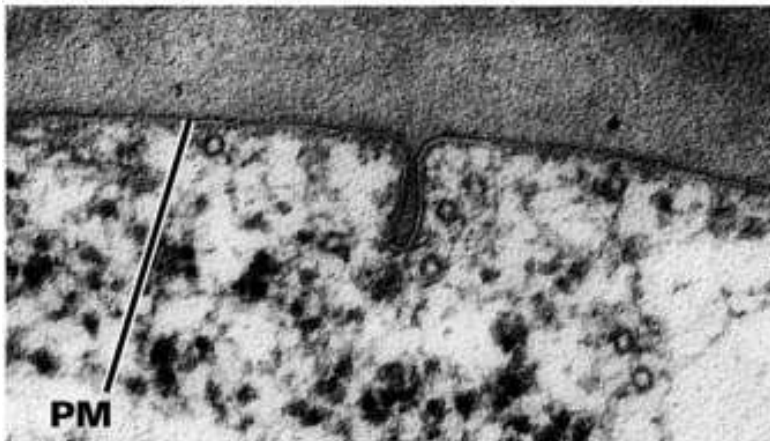
Membrány

5-10 nm tlustá lipidová dvojvrstva

Nevznikají *de novo*, ale dědí se

Semipermeabilita

Plasticita



Membrány

- hlavní funkce

- **tvoří hranice mezi důležitými oblastmi buňky**
- **regulují transport** (semipermeabilita – transport solutů; různé transportní systémy; možnosti přenosu váčků)
- **fungují v přenosech signálů** (receptory, změny membránového potenciálu aj.)
- **účastní se komunikace mezi buňkami** (např. plasmodesmy a kontinuita plazmatické membrány a ER)
- **mají další specifické funkce** díky enzymům apod., které se v nich nacházejí – např. vnitřní membrány organel obsahující elektrontransportní řetězce (dýchání, fotosyntéza), syntéza ATP

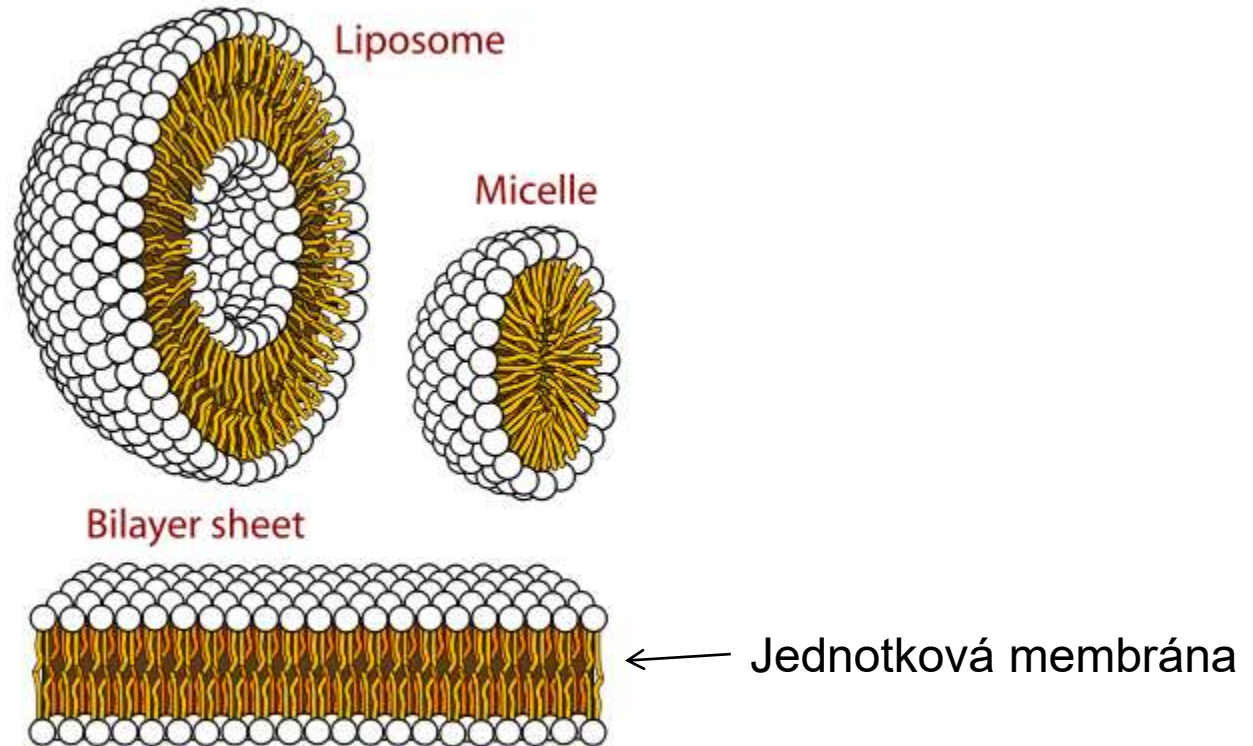
Membrány

- typy membránových lipidů

Hydrofilní část: nejčastěji odvozena od glycerolu.

Hydrofóbní část: nejčastěji masná kyselina o 14-24 uhlících.

Amfifilní charakter



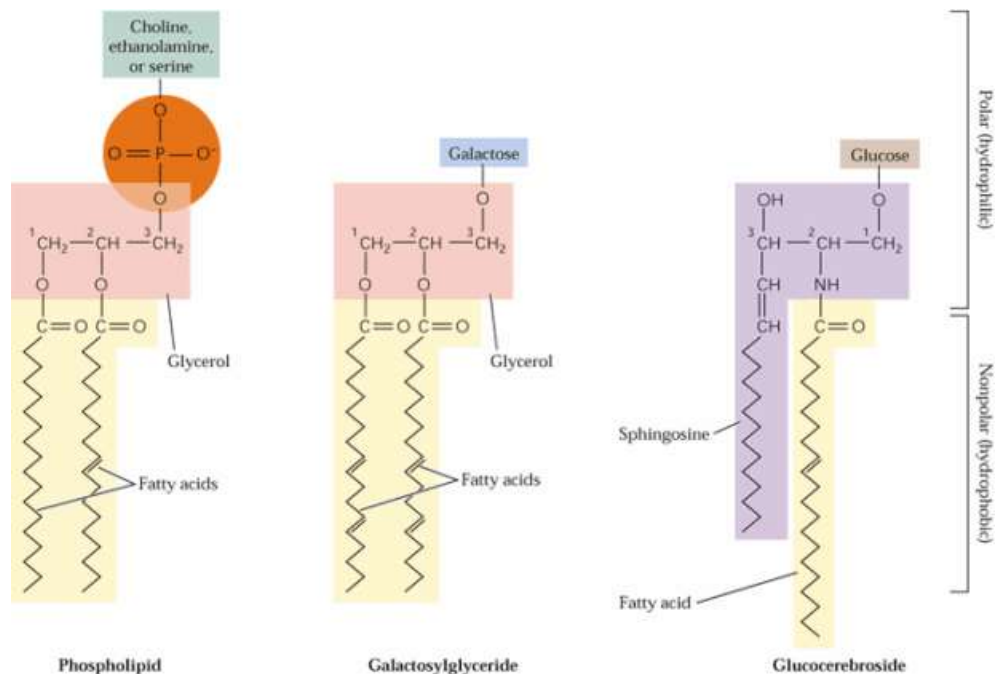
Membrány

- typy membránových lipidů

Fosfolipidy – deriváty kyseliny fosfatidové (fosfatidyletanolamin, fosfatidylcholin, fosfatidylserin, fosfatidylinositol).

Glykolipidy – u rostlin téměř výhradně odvozeny od glycerolu, cukrem je nejčastěji galaktóza. Glykolipidy jsou majoritní složkou plastidových membrán.

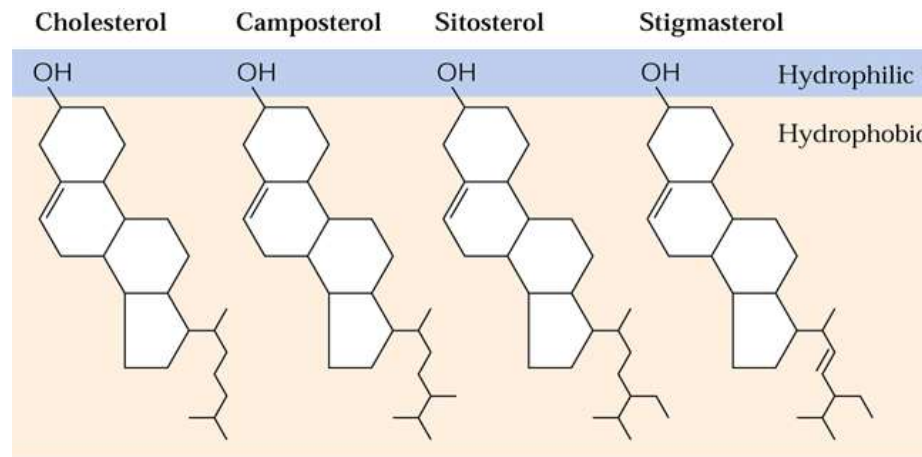
Sfingolipidy – obsahují sfingosin, s mastnou kyselinou vázán nejčastěji amidovou vazbou. Substituent sfingosinu např.: fosfocholin (sfingomyelin; u rostlin chybí); cukr (glykosfingolipidy).



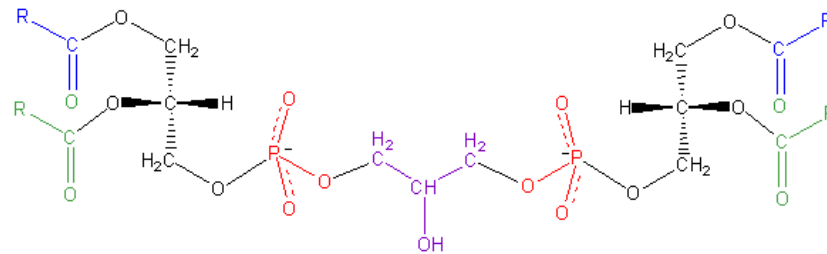
Membrány

- další složky

Steroly – cholesterol; fytosteroly (kamposterol, sitosterol, stigmasterol). Glykosylované steroly jsou unikátní pro rostlinné membrány.



Kardiolipin - bifosfatidylglycerol (vnitřní membrána mitochondrií)



Sulfolipidy, glykosylglyceridy – komponenty thylakoidních membrán

Specializované membrány – chlorofyly, karotenoidy, plastochinon, ubichinon atp.

TABLE 1.3 Lipid composition of plasma membranes from various non-cold-acclimated species and tissues (mole %).

Lipid type	Barley root	Barley leaf	<i>Arabidopsis</i> leaf	Spinach leaf
Phospholipids	26	44	47	64
Free sterols	57	35	38	7
Steryl glucosides	7	–	5	–
Acylated steryl glycosides	–	–	3	13
Glucocerebrosides	9	16	7	14

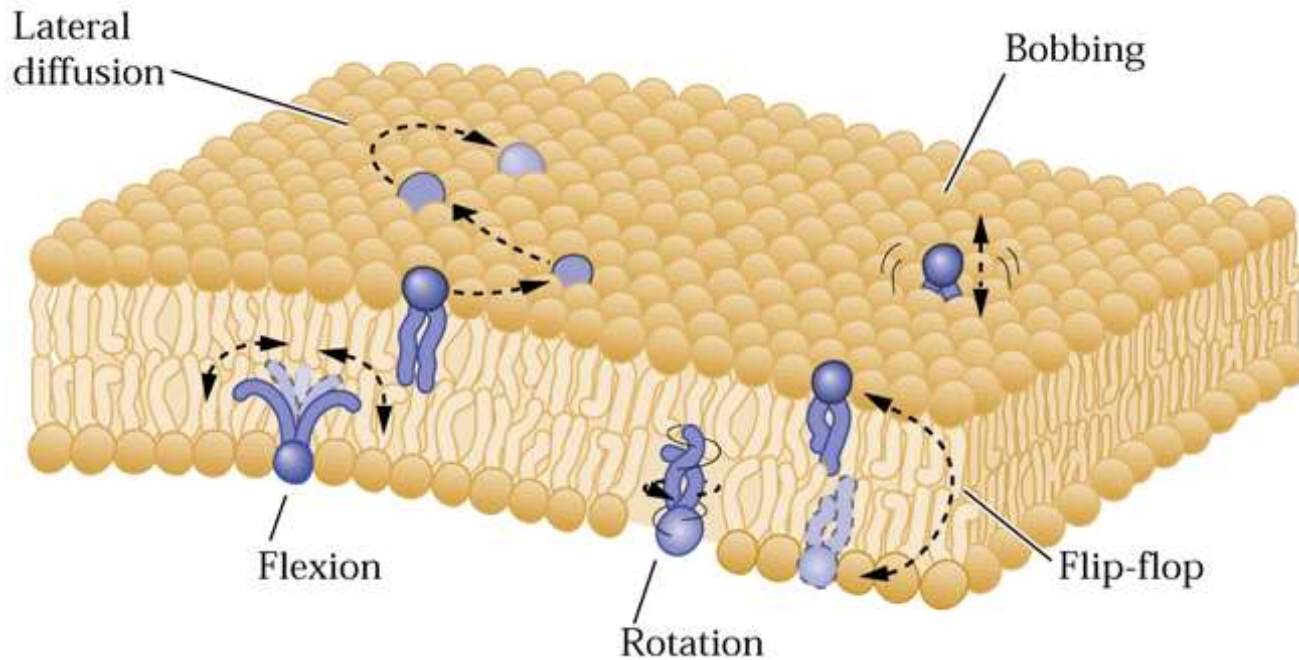
cbb3142742d8475b78bbfeaba35145f

Membrány

- Koncept tekuté mozaiky lipidů a proteinů

Model tekuté mozaiky (navrhli Singer a Nicholson, 70. léta minulého století):

Membrána umožňuje laterální pohyb lipidových molekul i proteinů.



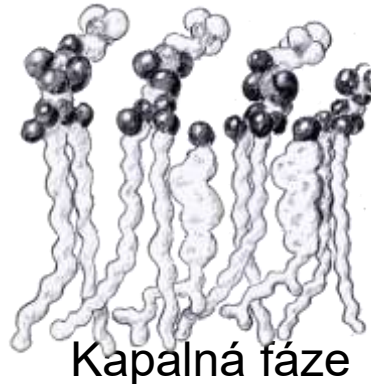
Membrány

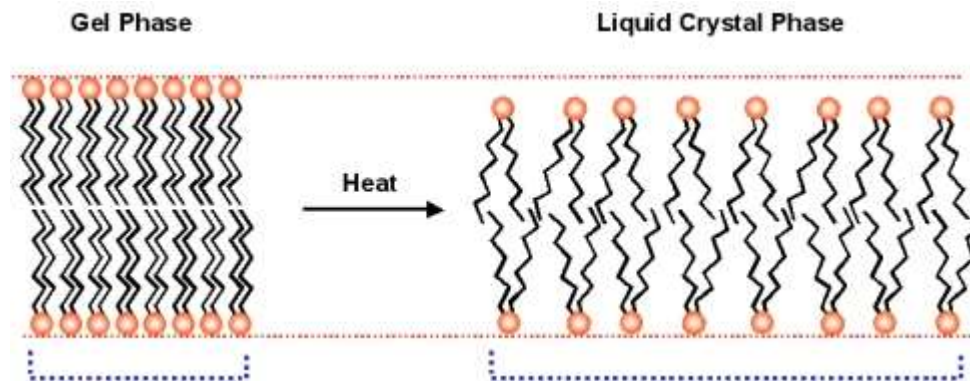
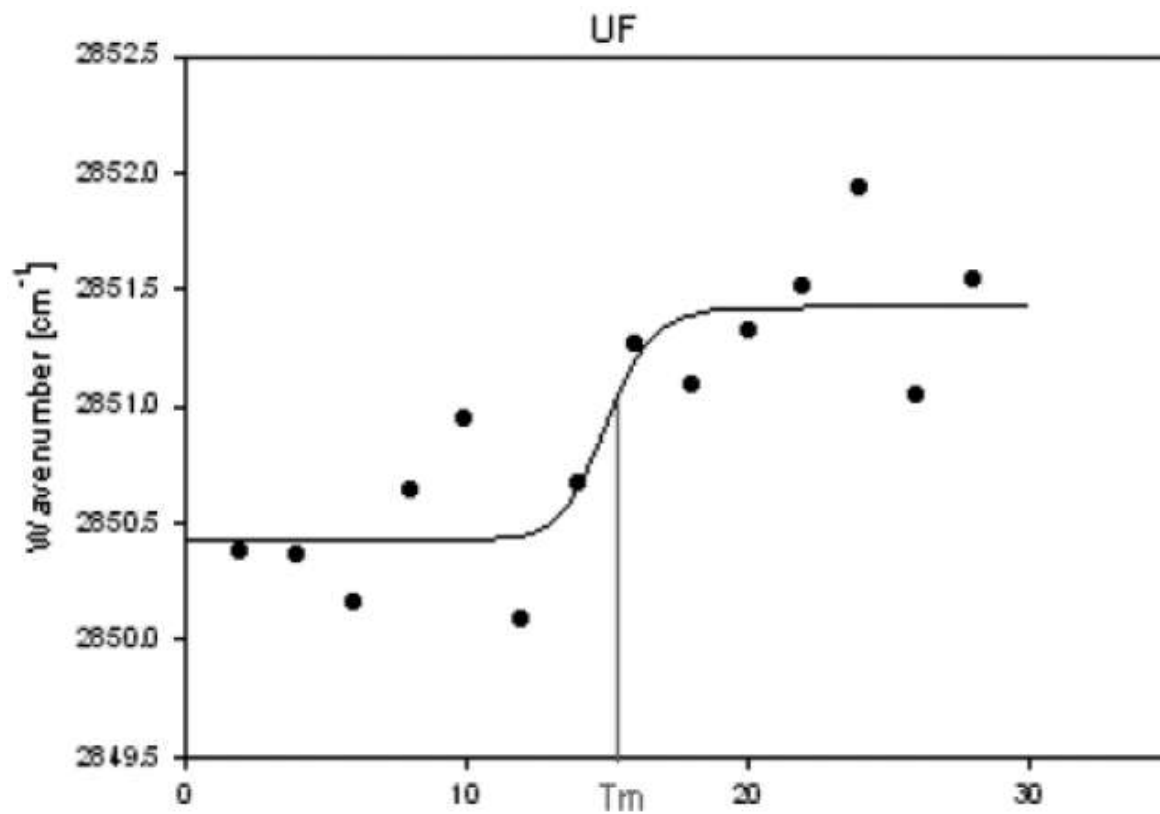
- Tekutost a tuhost

Optimální viskozita membrány je důležitá pro **fúze membrán**, **laterální difúzi** a **rovnoměrnou distribuci** molekul, správnou **separaci membrán** během dělení, optimální **aktivitu enzymů**, optimální **semipermeabilitu**.

Tekutost a tuhost membrány je **regulována**:

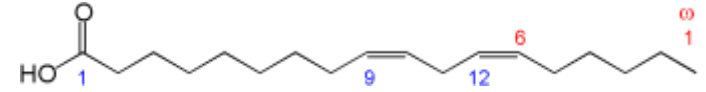
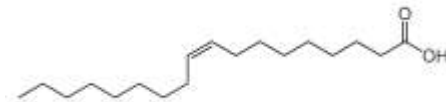
- Délkou řetězců mastných kyselin (čím delší, tím vyšší teplota tání)
- Nasyceností řetězců mastných kyselin (dvojně vazby = nižší teplota tání; rostlinné oleje)
- Obsahem sterolů (působí různě dle teploty)





Olivový olej:

<u>Saturated fats</u>	<p><u>Palmitic acid</u>: 7.5–20.0%</p> <p><u>Stearic acid</u>: 0.5–5.0%</p> <p><u>Arachidic acid</u>: <0.8%</p> <p><u>Behenic acid</u>: <0.3%</p> <p><u>Myristic acid</u>: <0.1%</p> <p><u>Lignoceric acid</u>: <1.0%</p>
<u>Monounsaturated fats</u>	<p><u>Oleic acid</u>: 55.0–83.0%</p> <p><u>Palmitoleic acid</u>: 0.3–3.5%</p>
<u>Polyunsaturated fats</u>	<p><u>Linoleic acid</u>: 3.5–21.0 %</p> <p><u>Linolenic acid</u>: <1.5%</p>



Teplota tání: -6°C

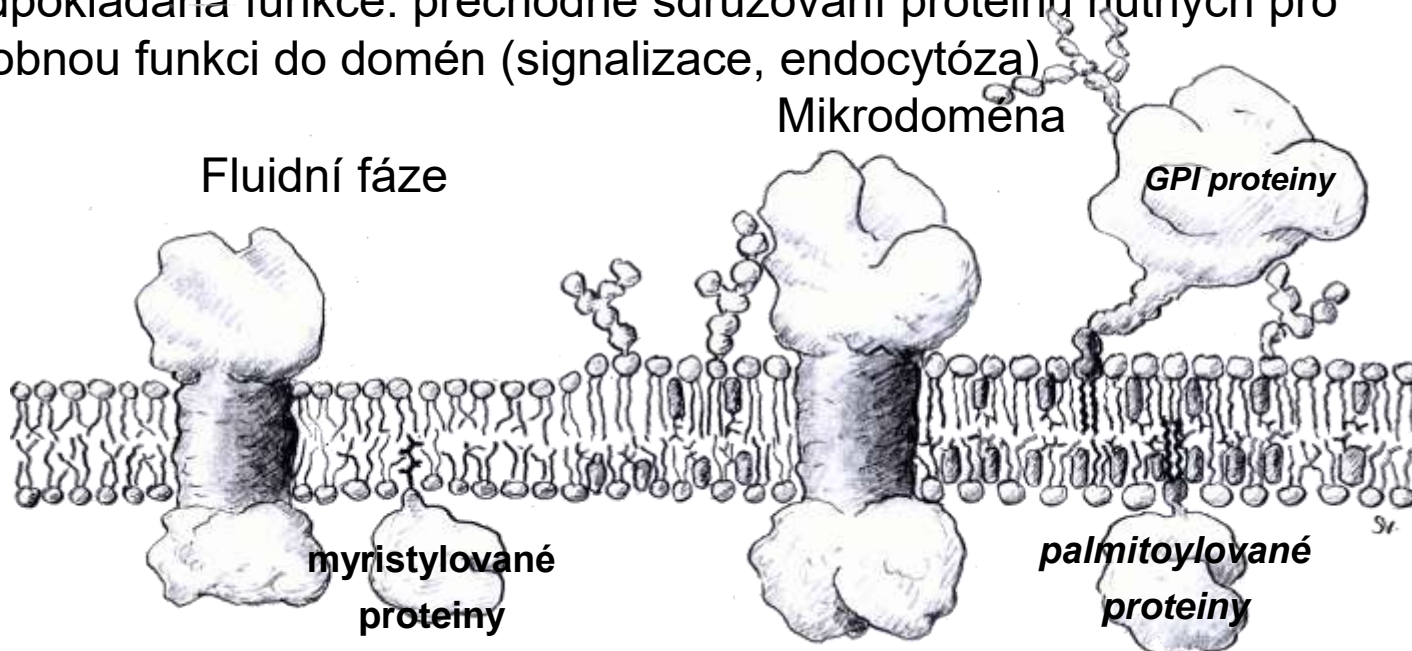
Membrány

- Koncept membránových mikrodomén

Hypotéza vyslovena koncem 80. let 20. století

Předpokládá existenci mikrodomén v membráně, vyznačující se jinou tekutostí a specifickým složením (lipidy s nasycenými mastnými kyselinami, sfingolipidy s cukernými složkami, steroly, GPI-kotvené proteiny) = **membránové mikrodomény**.

Předpokládaná funkce: přechodné sdružování proteinů nutných pro podobnou funkci do domén (signalizace, endocytóza)



© Stanislav Vosolsobě

Str.

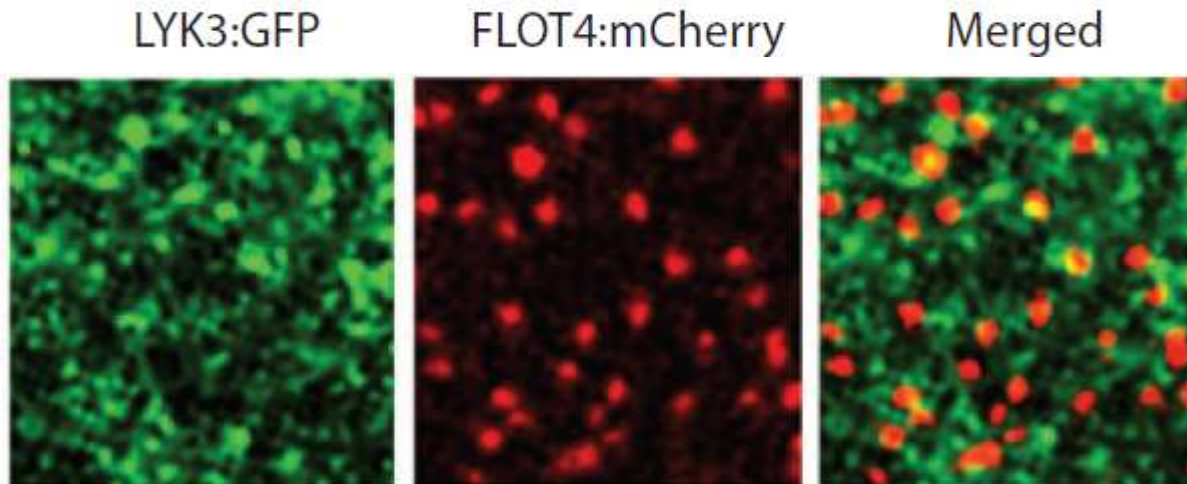
Membrány

- Koncept membránových mikrodomén

Vizualizace membránových mikrodomén v živé buňce: vysoce rozlišující mikroskopie

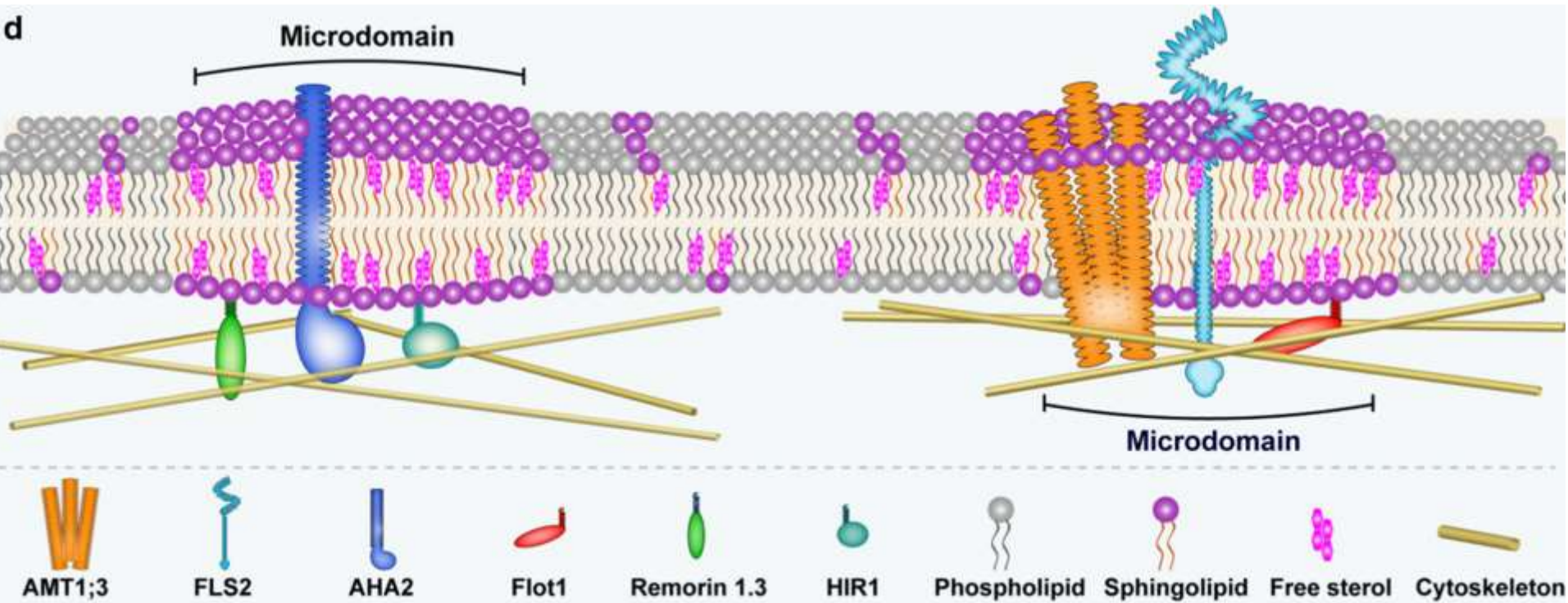
Vysoké zastoupení **proteinů** v membráně

Membránové mikrodomény rostlin a kvasinek jsou pravděpodobně velké a jsou poměrně stabilní (x označení raft)



Membrány

- Koncept membránových mikrodomén

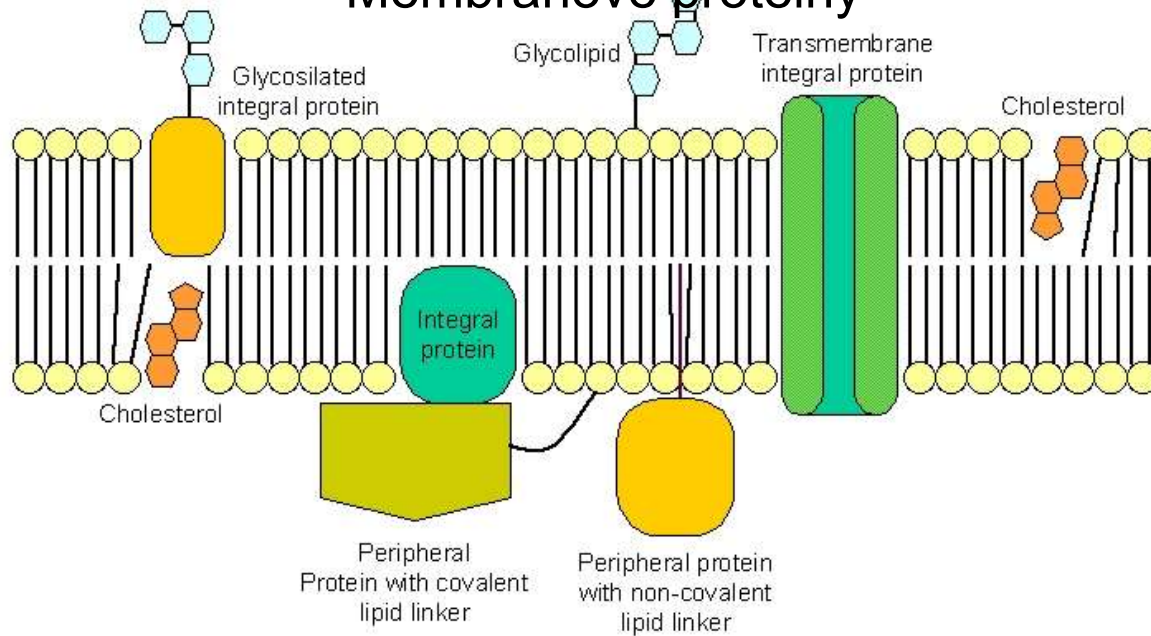


Struktura a dynamika membránových mikrodomén je ovlivňována:

- Složením mikrodomény
- Interakcí s s cytosolickými strukturami (např. cytoskelet)
- Interakcí s extracelulárními strukturami (buněčná stěna)

Membrány

- Membránové proteiny



Periferní membránové proteiny – bez hydrofóbních interakcí, často vazby k polárním částem lipidů (např. H-můstky, elektrostatické síly), nebo vazba k integrálním membránovým proteinům.

Integrální membránové proteiny – procházejí částí molekuly membránou – transmembránová doména, tvořena hydrofóbními AK

Proteiny kotvené v lipidové dvojvrstvě

Membrány

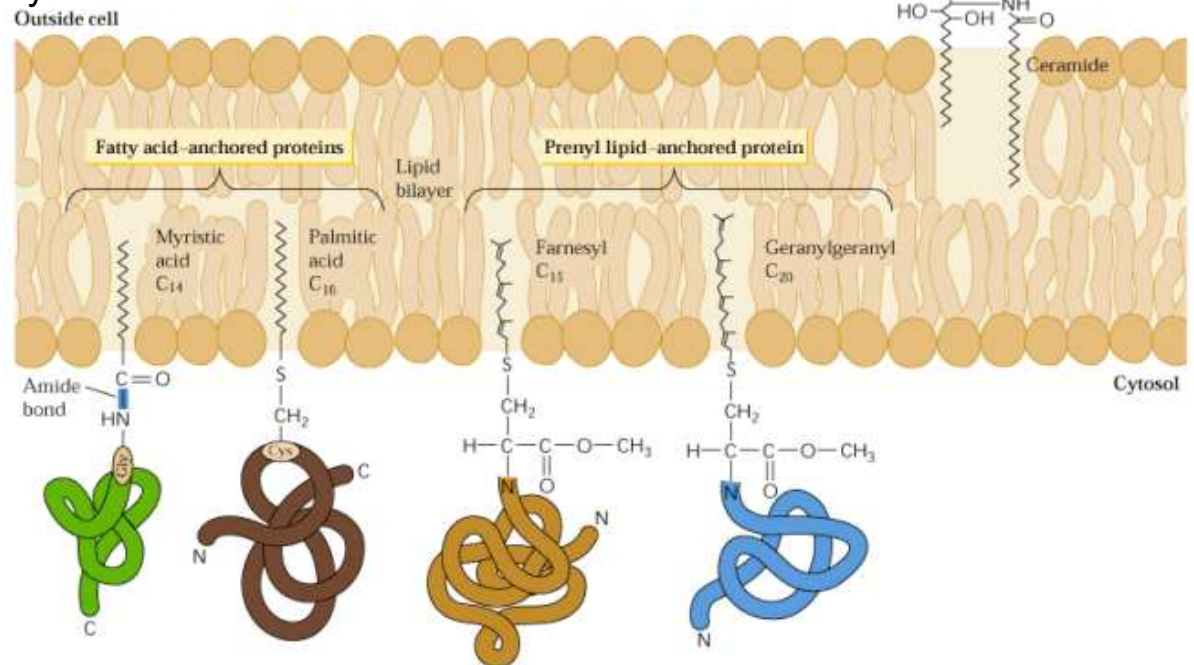
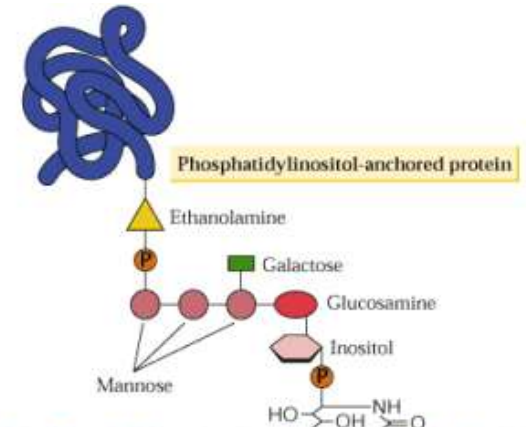
- Membránové proteiny

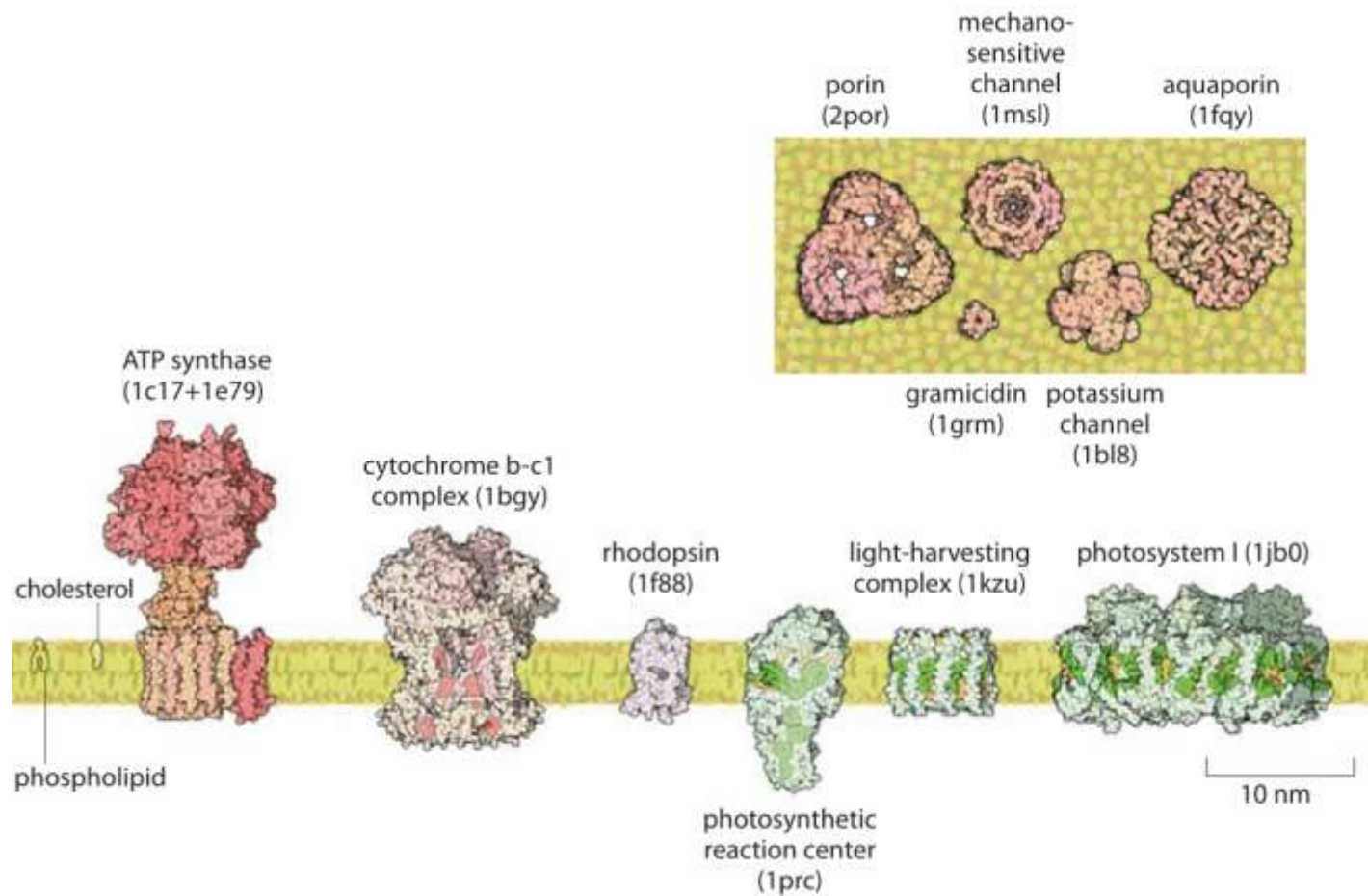
Proteiny kotvené v lipidové dvojvrstvě:

-Kotvení díky mastné kyselině - např. myristová, palmitová

-Kotvení díky prenylové kotvě – farnesyl, geranylgeranyl.

-Kotvení díky GPI kotvě (GPI = glycosylfosfatidylinositolová kotva; pouze kotvení v extracelulární nebo lumenální straně membrány. Lipidové mikrodomény.





Membrána s některými významnými proteiny a proteinovými komplexy. Nakresleno se zachováním velikostních poměrů, včetně částí proteinových struktur zasahujících mimo membránu.

<http://book.bionumbers.org/what-is-the-thickness-of-the-cell-membrane/>

Membránový transport

Volnou difúzí prochází
membránou:

- malé nepolární molekuly (O_2 , CO_2 , benzen)
- velmi malé polární molekuly (voda, močovina)

Pasivní transport:

- ve směru gradientu elektrochemického potenciálu
- nespotřebovává energii

Transportní systémy se
využívají pro:

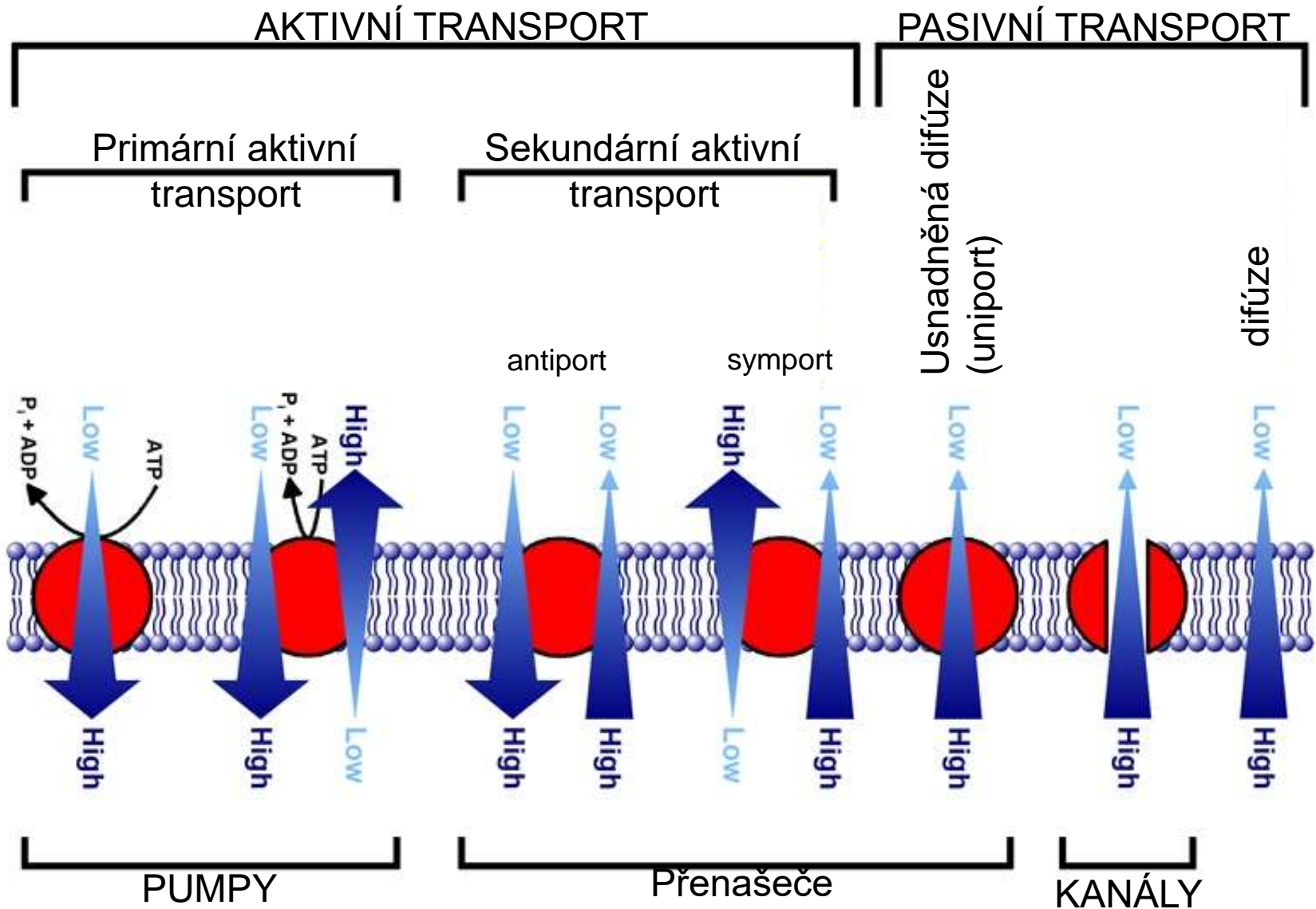
ostatní látky

Aktivní transport

- proti směru gradientu elektrochemického potenciálu
- spotřebovává energii (ATP)

Membránový transport

-transportní systémy



Membránový transport

-role

- **Tvorba energie** (vznik ATP v mitochondriích a chloroplastech)
- **Přenos signálů** (zvýšení koncentrace Ca^{2+} a opětovné ustavení gradientu).
- **Ustavení turgoru** (akumulace solí v cytosolu – především K^+).
- **Akumulace minerálů** pro biosyntézu organických molekul (NH_4^+ , NO_3^- , H_2PO_4^- , SO_4^{2-} , bor, zinek, měď, železo atp.)
- **Vylučování odpadních produktů**
- **Distribuce metabolitů** (organické látky jsou transportovány z asimilujících pletiv do celé rostliny).
- **Kompartmentace** (umožňuje probíhání několika metabolických dějů v jedné buňce najednou)

Membránový transport

-typy transportérů

-
- | | |
|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| 1. PUMPY - primární aktivní transport. | Relativně pomalý transport
10^2 molekul s^{-1} ; |
|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
-
- | | |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------|
| 2. KANÁLY - pasivní transport. | Rychlý transport 10^6 - 10^7
molekul s^{-1} |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------|
-
3. **PŘENAŠEČE** - přenos má charakteristiky odpovídající enzymové kinetice; pasivní; specifické. Usnadněná difúze.
-
- | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| 4. PŘENAŠEČE spojené s transportem protonů
- sekundární aktivní transport; symport nebo antiport. | 10^3 - 10^6 molekul s^{-1} |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
-
5. **Aquaporiny** - usnadňují průchod vody membránou
-

Membránový transport

PUMPY

- Transport látek s využitím energie štěpením ATP
- Syntéza ATP
- Generování transmembránového potenciálu (primární aktivní transport)

1. ATPázy P-typu (H^+ -ATPázy na plazmatické membráně; Ca^{2+} ATPázy na PM a endomembránách; Na^+/K^+ ATPázy na PM živočišných buněk)

2. ATPázy V-typu (přenos H^+ do vakuol, okyselování lumina endomembránových organel)

3. ATPázy F-typu (syntéza ATP v mitochondriích a chloroplastech)

4. H^+ -PPázy (přenos H^+ do vakuol; hydrolýza anorganického pyrofosfátu)

5. ABC pumpy (ATP-binding cassette transporters; přenos látek za hydrolýzy ATP)

ATPázy P-typy

- Během transportu dochází k fosforylaci katalytické podjednotky.
- Na⁺/K⁺ pumpa živočišných buněk; některé Ca²⁺-pumpy na PM a endomembránách; **roslinné H⁺-ATPázy**

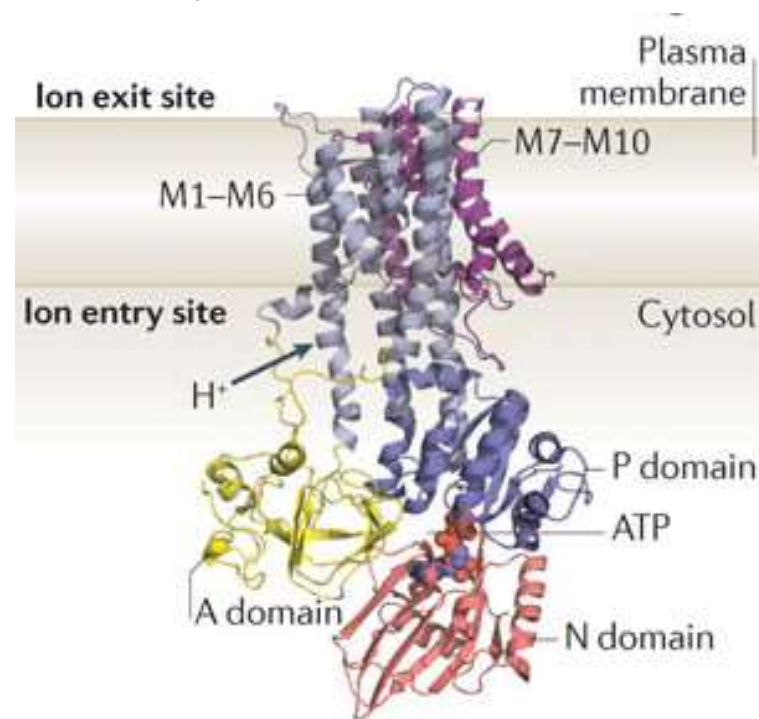
Rostlinné H⁺-ATPázy:

-100 kDa polypeptid pumpující H⁺ ven z buňky za hydrolýzy ATP (H⁺/ATP 1:1)

-Primární aktivní transportní systém rostlinné buňky: generuje **membránový potenciál**

-Kontrola pH cytoplazmy (aktivace za nízkého pH cytoplazmy)

-Okyseluje prostor buněčné stěny



Nature Reviews | **Molecular Cell Biology**

Nature Reviews Molecular Cell Biology 12, 60-70 (January 2011)

Ca²⁺ ATPázy

ATPázy P-typu

Nacházejí se v plazmatické membráně, endomembránách, membránách chloroplastů a ve vakuolární membráně.

Aktivní (hydrolýza ATP) přenos Ca²⁺ iontů z cytoplazmy – význam pro přenos signálů

ATPázy V- a F-typu

- Strukturní podobnost V- a F-typu ATPáz
- Transport H^+
- Během transportu nedochází k fosforylaci pumpy
- Komplex pumpy tvořen alespoň 3 druhy membránových a 5 druhy cytosolických proteinů

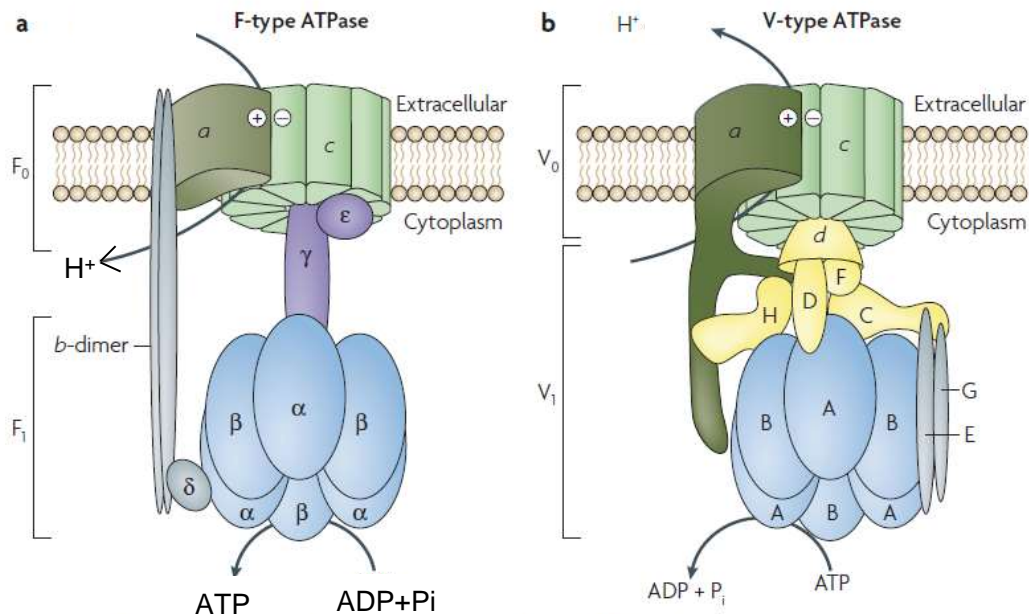


Figure 1 | Structure of the F- and V-type membrane ATPases. Orthologous subunits are shown in the same colour and shape, and unrelated but functionally analogous subunits of the central stalk are indicated by different colours and shapes. The a -subunits, which show structural analogy but might not be homologous, are indicated by similar shapes and colours. The minimal, prokaryotic sets of subunits of the F- and V-type ATPases are shown. The number of peripheral stalks in V-type ATPases is uncertain^{2,8,15}.

Upraveno dle Nature Reviews Microbiology 5, 892–899 (1 November 2007)

ATPázy V- a F-typu

- Strukturní podobnost V- a F-typu ATPáz
- Transport H^+
- Během transportu nedochází k fosforylaci pumpy
- Komplex pumpy tvořen alespoň 3 druhy membránových a 5 druhy cytosolických proteinů

V-typ:

Lokalizován ve **vakuolární membráně a endomembránách**; transport H^+ do vakuoly za hydrolýzy ATP; udržuje nízké pH vakuoly a dalších endomembránových organel.

F-typ:

Lokalizace v bakteriálních membránách, v mitochondriích a chloroplastech. Syntéza ATP během transportu H^+ po koncentračním spádu.

H⁺-PPázy - pyrofosfatázy

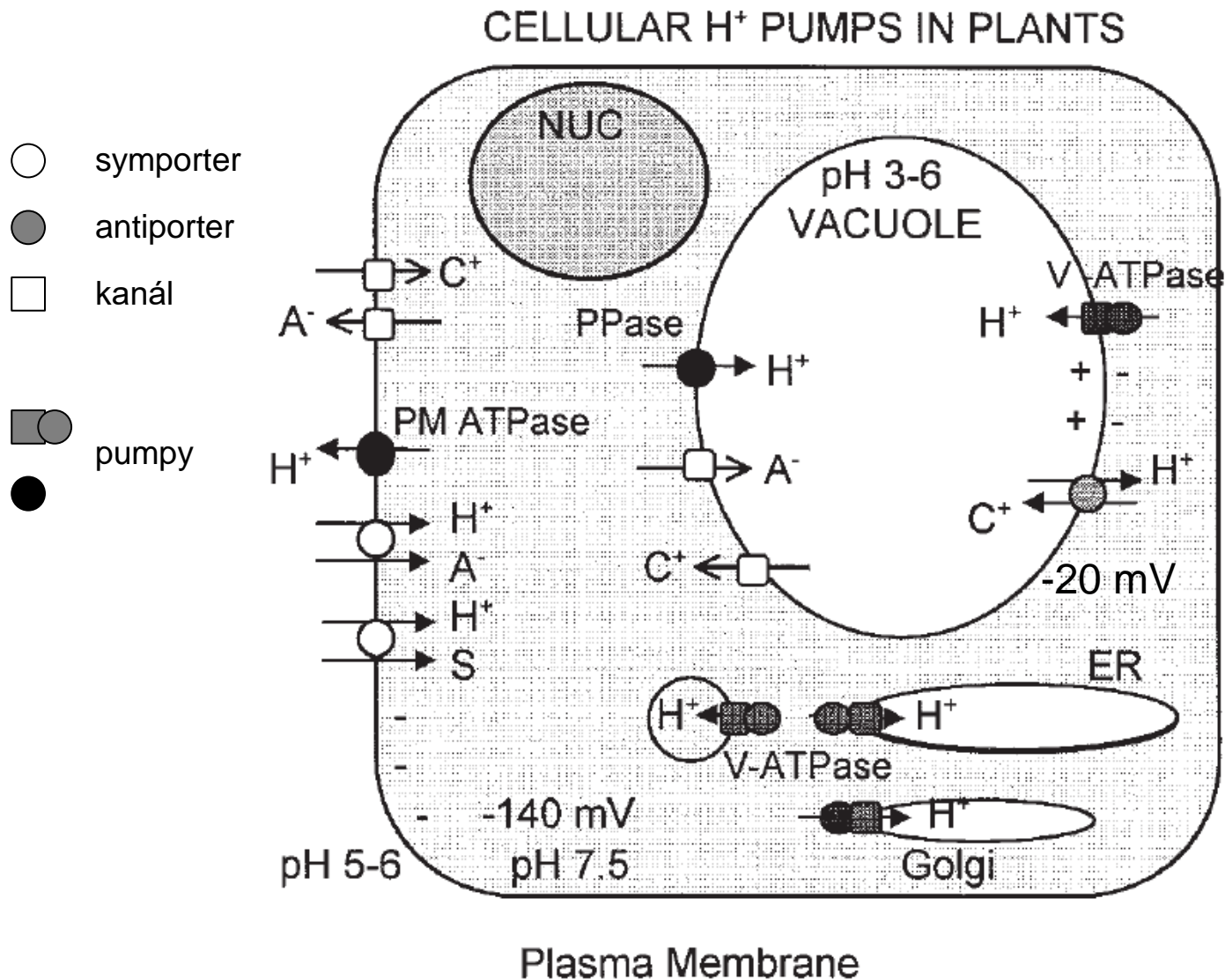
Vakuolární transportér protonů unikátní pro rostliny.

Štěpením anorganického pyrofosfátu katalyzuje přenos H⁺ do vakuoly.

Odlišné regulace (např. inhibice Ca ionty).

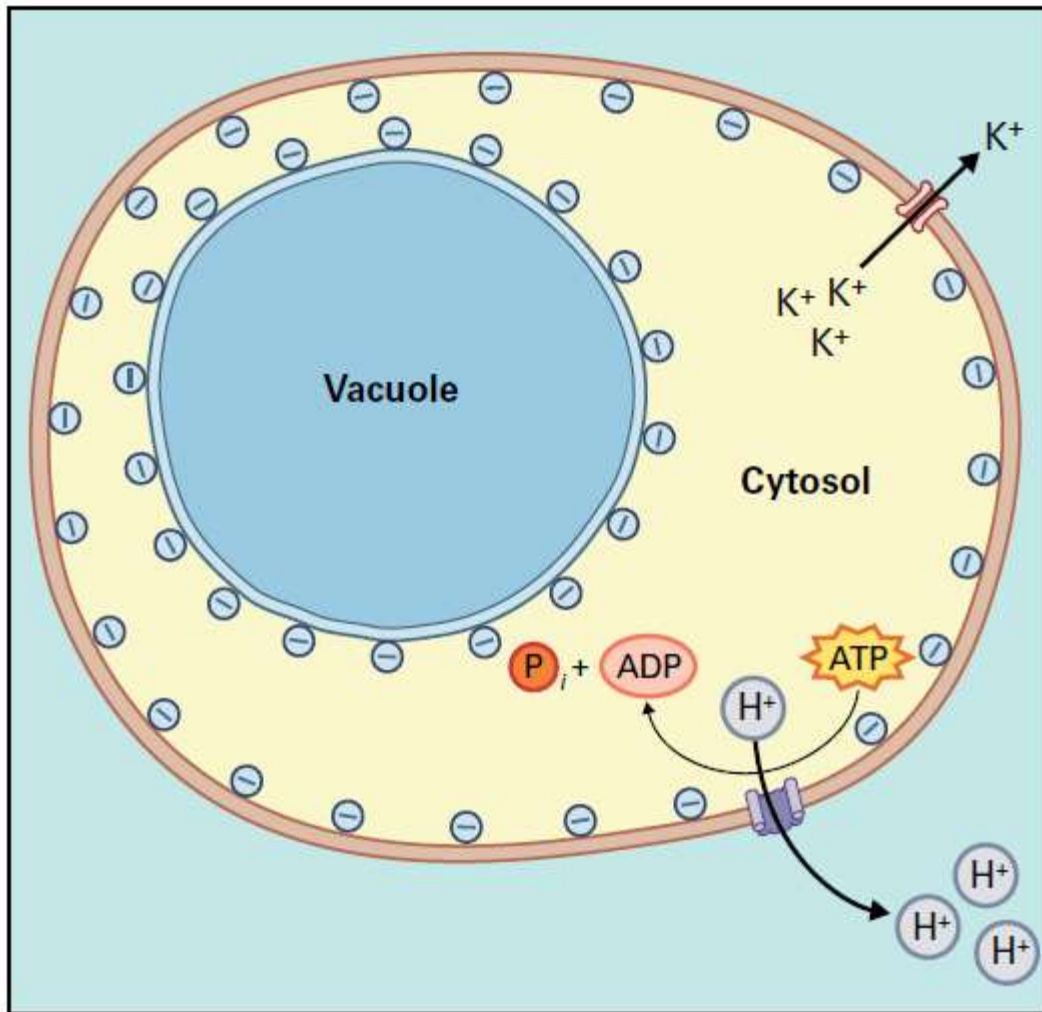
Membránový potenciál:

Rozdíl elektrických potenciálů mezi dvěma vodními prostředími oddělenými membránou.



Membránový potenciál:

H⁺ pumpy a K⁺ kanály jsou hlavními mechanismy udržení membránového potenciálu rostlinných buněk



H⁺ ATPázy transportují H⁺ ionty ven z buňky:

- udržení negativního membránového potenciálu
- soustavná činnost kompenzuje pohyb náboje přes membránu dalších transportních systémů

Gradient K⁺: koncentrace K⁺ v buňce cca 150 mM, vně buňky 0,1-5 mM

- malé množství K⁺ pomalu vytéká otevřenými kanály → udržování záporného náboje uvnitř buňky
- kanály se uzavírají při přílišném snížení náboje

Další transporty přispívají k přesunu náboje

ABC transportéry

ABC=**A**TP-**B**inding **C**assette transporters

Velká rodina proteinů (>100 genů), strukturní podobnost

Aktivní transport různých organických látek za štěpení ATP

V rostlinách lokalizace často v tonoplastu, transportují např.

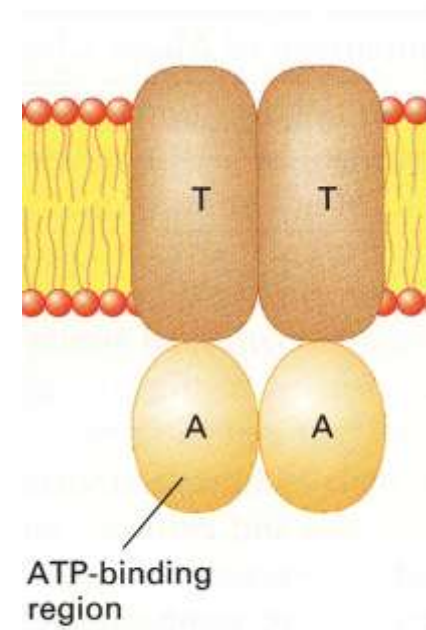
-Sekundární metabolity (flavonoidy, antokyany, degradační produktv chlorofvu)

-Xenobiotika

-Fytochelatiny

ABC transportér na PM: transport monolignolů

do buněčné stěny



ABC superfamily

Membránový transport

KANÁLY

Transmembránové proteiny vytvářející póry v membráně

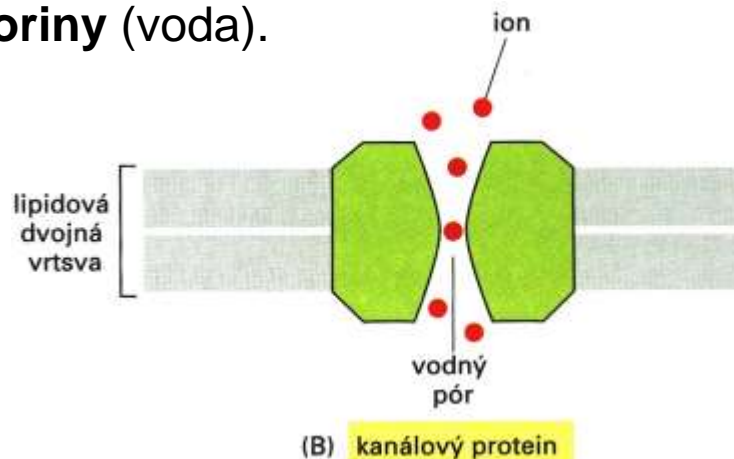
Selektivní (velikost póru, náboj)

Výhradně pasivní transport

Regulace otevření/uzavření pomocí napětí, vazby ligandu nebo mechanicky

Kanály významné pro rostlinné buňky:

Kationtové (K^+ , Ca^{2+}); **aniontové** (Cl^- ; NO_3^-); kanály pro **organické kyseliny** (malátový kanál na vakuolární membráně; kanály na plazmatické membráně); **aquaporiny** (voda).



K⁺ kanály

Kanály transportující dovnitř nebo ven

Velké genové rodiny

Ven transportující K⁺ kanály:

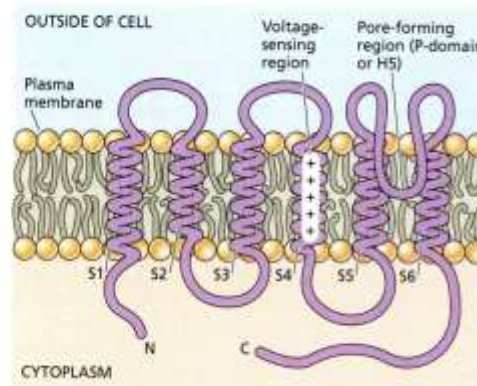
-otevření při depolarizaci
membrány = vyrovnávání V_m .

Funkce např. při zavírání
průduchů, udržování
membránového potenciálu.

Dovnitř transportující K⁺ kanály:

-příjem K⁺ z apoplastu
-aktivují se při negativním potenciálu -
hyperpolarizací

Funkce např. při otevírání průduchů,
generují turgor



Ca²⁺ kanály

Přenos **signálu** (dočasné zvýšení koncentrace Ca²⁺ v cytosolu)

Řízeny **napětově**, **vazbou ligandu** nebo **mechanicky**.

Ca²⁺ kanály v rostlinné buňce:

mechanosenzitivní kanály

ligandem otevírané kanály (cADP-ribózou, glutamátem)

napětově otevírané kanály (hyperpolarizací a depolarizací)

Aniontové kanály

Chloridové kanály:

- Kontrola transmembránového potenciálu
- Vyrovnávání náboje při transportu solí

Kanály pro organické kyseliny:

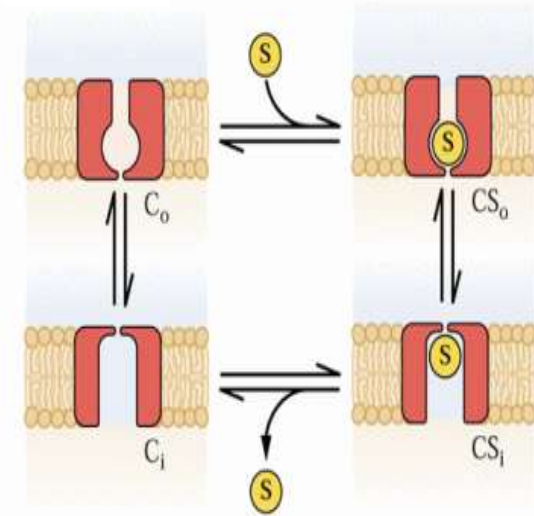
- Malátový kanál ve vakuolární membráně
- Aniontové kanály pro organické kyseliny v plazmatické membráně (např. chelatace těžkých kovů v rhizosféře)

Membránový transport

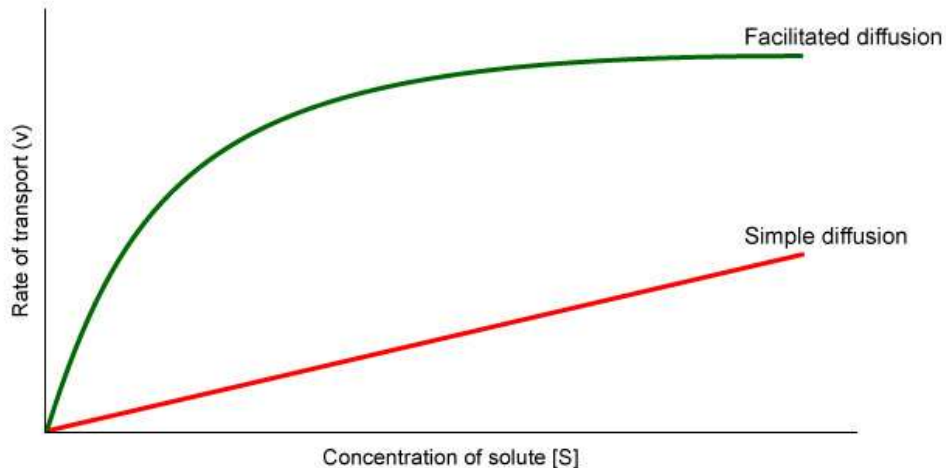
PŘENAŠEČE (usnadněná difúze)

PŘENAŠEČE:

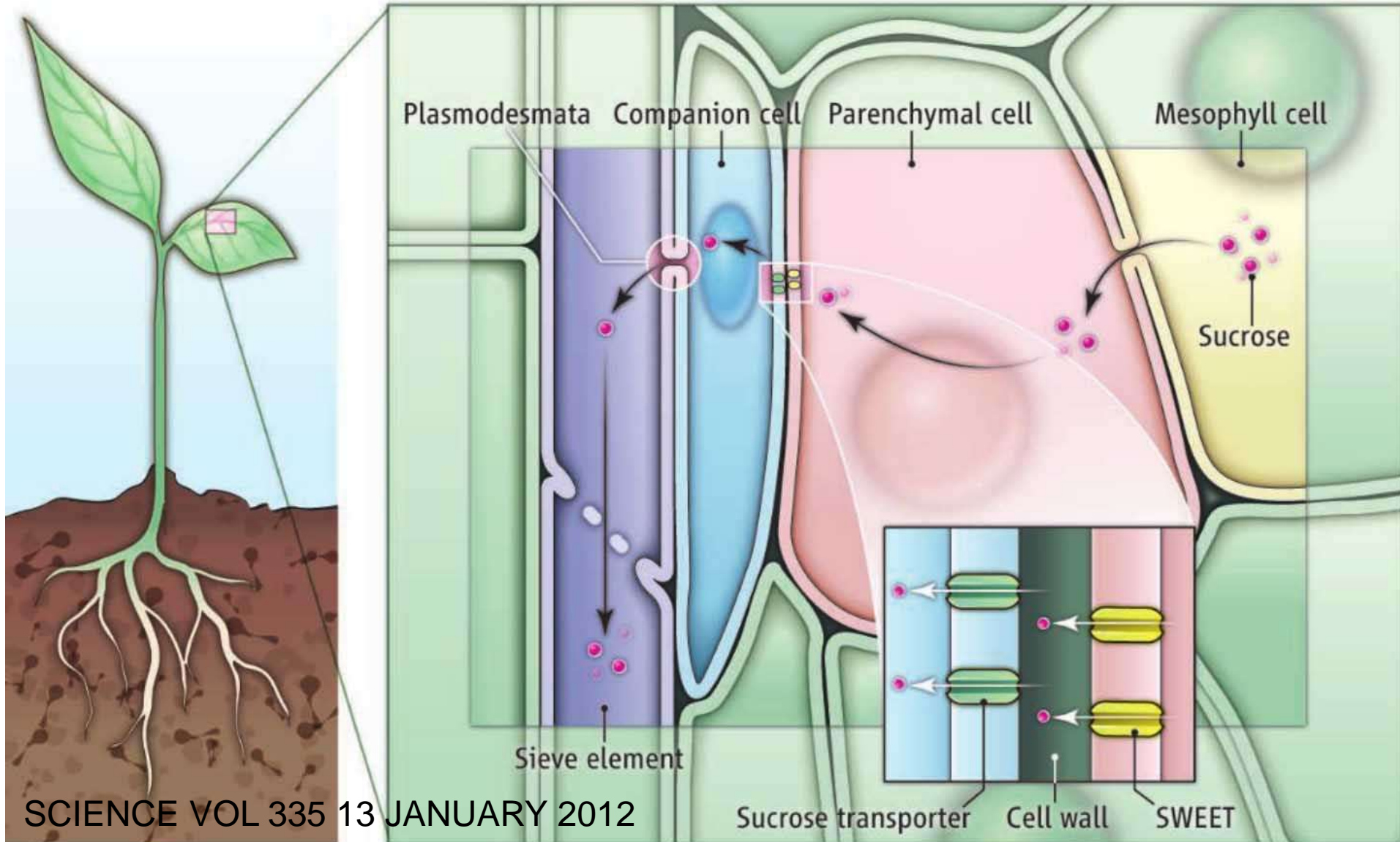
- Pasivní transport
- Pomalý transport (10^2 až 10^3 molekul/s)
- Při přenosu mění konformaci
- Enzymová kinetika přenosu látek



Kinetics of Simple and Facilitated Diffusion



Membránový transport PŘENAŠEČE (usnadněná difúze)



SCIENCE VOL 335 13 JANUARY 2012

Membránový transport

PŘENAŠEČE SPOJENÉ S TRANSPORTEM PROTONŮ

-kotransportéry

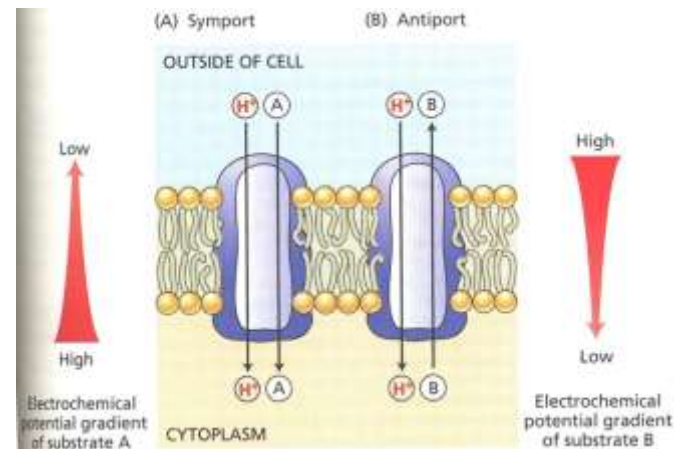
PŘENAŠEČE SPOJENÉ S TRANSPORTEM PROTONŮ:

-Přenos spojen s transportem H^+ (využití protonového gradientu)

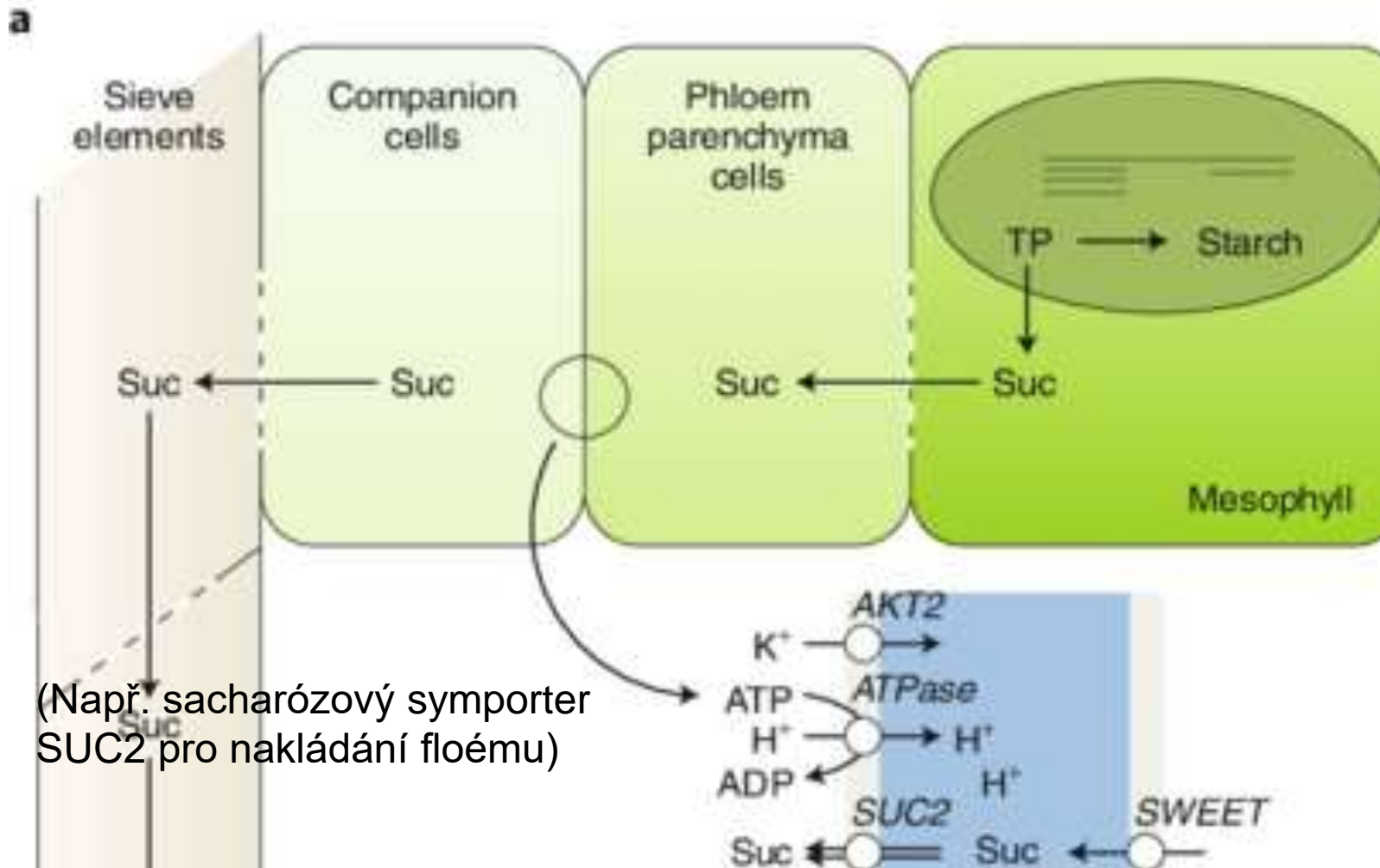
-**Sekundární aktivní transport**

-Symport nebo antiport

(Např. sacharózový symporter SUC2 pro nakládání floému)



Membránový transport PŘENAŠEČE SPOJENÉ S TRANSPORTEM PROTONŮ -kotransportéry



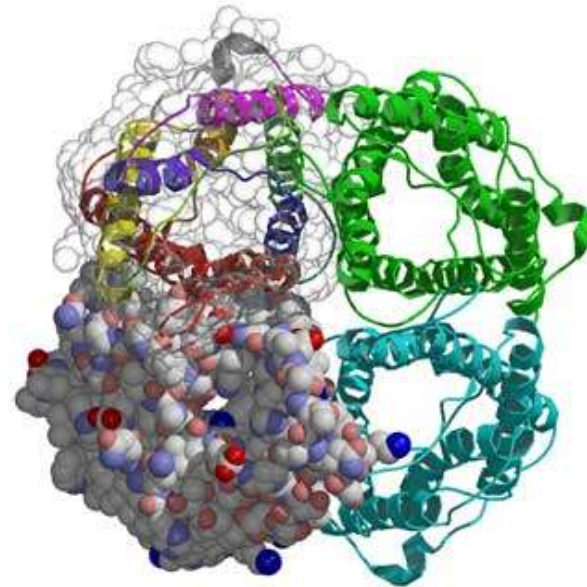
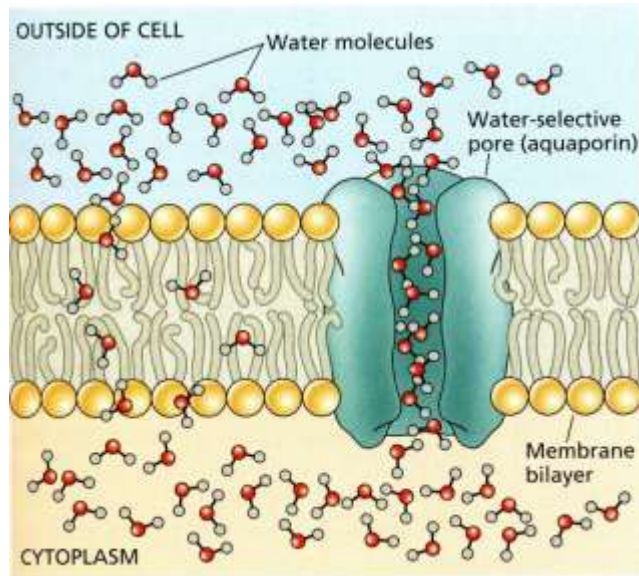
Membránový transport

AQUAPORINY

Malé integrální membránové proteiny (25-30kDa), tvořící póry

Usnadňují transport vody přes membránu

Rostliny kódují mnoho izoform; exprese je pletivově-specifická



Shrnutí

Definice eukaryotické buňky (vznik, kompartmentace, endosymbióza)

Biologické membrány: složení, struktura, vlastnosti (BMBP 2-13)

Transport na membránách: aktivní x pasivní transport; typy přenašečů, jejich hlavní role a membrány, kde je najdeme (BMBP 111-150)

Membránový potenciál

K dalšímu čtení:

<https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/2017/cislo-2/kyslikova-odysea.html>

BMBP: Biochemistry and
Molecular Biology of Plants,
Buchanan & col, 2015

