

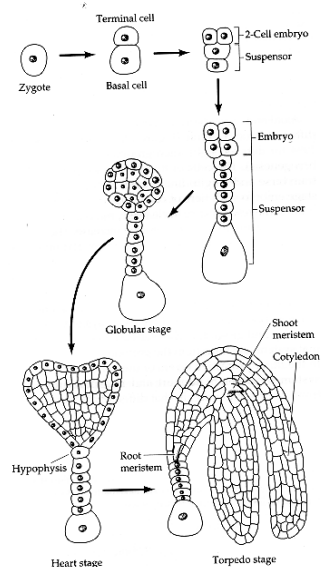
Signalizace

- bazální buňka dává *suspensoru; a termální buňka dává *embryu
- dělení regulovaným způsobem → *několik typů buněk (př. apikální b.dávají *dělohám; bazální b. dává *hypofýze atp.) = je dáno jaká buňka bude produkovat jaký typ buněk (u *Aradiopsis*)

→ intenzivní studium

→ pochopení morfogeneze rostlinného pletiva a rostlin celkově

X mutace „GNOM“ – embryoletální = rostlina dosáhne nějaké fáze embrya ve které embryo zahyne; mutace *gnom* má za následek špatnou lokalizaci membránových transportérů zprostředkovávajících transport auxinu = **PIN** proteinů. Transport auxinu mezi jednotlivými buňkami je zde narušen → narušeno i určení kde se bude auxin hromadit a kde naopak ne. Protože auxin je hlavním mechanismem určení polarity v rámci rostlinného pletiva, je tato mutace letální.



MERISTÉMY = místa schopná opakovatelného dělení

→ APIKÁLNÍ meristémy (vzrostlé vrcholy kořene a stonku)

= tvořeny buď buňkou nebo skupinou buněk; celý život rostliny jsou aktivní; dávají vzniknout orgánům; stále oddělují nové orgány (list ...); jsou složeny z buněk, které jsou „totipotentní“ dokáží *různým typům buněk.

- u semenných r. meristémy už složitější (*tunica a corpus* odlišené)

- „Klonální historie buněk“ – z jedné buňky *tuniky* *celá vrstva = laterální vznik buněk (ne ve spodních vrstvách) = periklinální chiméry

- pokud rostlině apikální meristém zničíte = tak okolní buňky dediferenciují a dají *novému meristému → rostlina bude dál růst!

→ **pozicní informace** (informace o pozici a tedy funkci buňky) získaná signalizací od okolních buněk je mnohem důležitější než klonální historie

PŘÍJEM A ZPRACOVÁNÍ SIGNÁLU

- nejprve stimulace (rozpoznání a příjem signálu) → pak je signál zesílen → přenášen buňkami do pletiva → na konci je odpověď:

- regulace genové exprese (většina genů trvale reprimována díky proteinovým represorům. Degradace proteinových represorů a následná exprese konkrétních genů je základ regulace genové exprese) – nejčastější způsob

- regulace metabolismu

Odpovědi mohou být rychlé (vteřiny) nebo mohou být pomalé (1-2hodiny až celé období)

Odpověď nemusí nutně proběhnout ve stejné buňce, ve které byl signál přijat!

Odpověď na stejný signál nemusí být stejná u různých buněk a rostlin

Příklad: **TROPISMUS** = orientovaný růst (fototropismus, gravitropismus)

→ **Positivní gravitropismus kořene** (hromadění auxinu inhibuje elongaci buněk v ohýbajícím se kořeni)

→ **Positivní fototropismus stonku** (hromadění auxinu stimuluje elongaci buněk v rostoucí části stonku při ohybu)

= příklad různé reakce buněk na stejný stimul

= tropismy zprostředkovány díky Auxinům!

- všechny signální dráhy spolu nějakým způsobem interagují = dost komplikované

- rostlina zajišťuje specifickou odpověď na širokou škálu signálů

RECEPTORY

→ **PROTEINY** – enzymová aktivita se může měnit; nebo to může být protein měnící konformaci

→ **BARVIVA** = pigmenty = schopné absorbovat světlo a pak měnit konformaci

→ **TRANSMEMBRÁNOVÝ POTENCIÁL** (iontový kanál)

= umístění na membránách, v cytosolu a v jádře!

= molekula odpovídající specificky na signál a *určitou reakci

1) G-PROTEINY

- spíše méně důležité pro rostliny; specifické
- váží GTP - proto G-proteiny (dělené na buněčné zapínače/vypínače monomerní, heteromerní = skládají se z více podjednotek); připojen na signální molekulu (receptorový protein); rozpad heterotrimeru (β , α , gama podjednotka)
- přenos signálu modrého a červeného světla; auxinového a gibberelinového signálu; regulace otevřenosti průduchů; stresové reakce vedoucí k PCD

2) PROTEINOVÉ KINÁZY A JEJICH KASKÁDY

- nejrozšířenější způsob regulace genové exprese!
- katalyzuje reverzibilní přenos gama-fosfátu z ATP na Ser, Thr nebo Tyr cílového proteinu → změna aktivity proteinu (možná i deaktivace), amplifikace signálu
- aktivita kináz je balancována aktivitou fosfatáz (ty fosfát z proteinů naopak odstraňují)
- rostlinně specifické kinázy = jejich aktivita je regulována vazbou **kalmodulinu**
- známo několik modulů využívajících kinázy jako signální molekuly.

MAP kinázy – mapkinázová dráha = spouští mitózu + mnoho dalšího (přenos signálu dotykového, gibberelinu, ethylenu, osmotického stresu, biotického a abiotického stresu, poranění)
= soubor kináz aktivujících se v jedné signální dráze; dokáží velmi specificky odpovídat

Receptorové rodiny kináz (RLK receptor-like kinase) jsou membránové proteiny a zprostředkovávají přenos signálů do buňky.

= RLK jsou dimery – podstupují autofosforylaci = tím se aktivují

Příklad funkce RLK: „CLAVATA“

CLAVATA/WUSCHEL signalizace se podílí na udržení velikosti apikálního meristému-. Jde o negativní zpětnovazebnou smyčku. Cílem je udržet řádnou velikost meristému. Rostlinné mutanty proteinů (CLAVATA 1,2,3) – zvětšující se meristém. Absence proteinu WUSCHEL = neschopnost udržet meristém = zmenšování až úplné vymizení

Komponenty:

WUSCHEL = transkripční faktor vytvářený buňkami na bázi apikálního meristému, difunduje kolem do buněk apik. meristému plasmodesmy; v buňkách tuniky indukuje expresi genu CLAVATA 3 = malý signální polypeptid, který je sekretován a difunduje do okolních buněk apoplastem. Uprostřed meristému aktivuje v buňkách receptorovou kinázu CLAVATA 1,2 (CLV1,2), kde CLAVATA 3 funguje jako ligand → aktivace CLV1,2 a signalizace do buněk, kde inhibuje expresi WUSCHEL = „**NEGATIVNÍ ZPĚTNOVAZEBNÁ SMYČKA**“!!! = zajišťuje stabilní velikost a fci meristému

Hybridní dvoukomponentní systém

- dva komponenty = receptorová His-kináza (známá z bakterií)
- ethylen = plynná molekula = volně prochází PM; proto His-kináza (ETR1, receptor pro etylén) umístěna na membráně retikula → zde hybridní systém přítomen X pokud zde není ethylen tak je systém aktivní = stále fosforyluje druhou komponentu CTR1, ta fosforyluje protein EIN2, který je proto neustále degradován (je ho málo) X pokud je přítomen ethylen tak se naváže na systém a ten přestane fosforylovat (protein CTR1 neaktivní) → část molekuly EIN2 uvolněna k aktivaci genové exprese (genů aktivovaných etylénem).

3) IONTOVÝ KANÁL

4) FOSFOLIPIDOVÝ SIGNÁLNÍ SYSTÉM

- součástí = enzymy **fosfolipázy** schopné štěpit membránové lipidy = rychle indukuje odpověď
- = *specifické produkty štěpení = různé fce; u rostlin velmi specifické díky specifickým fosfolipázám!
- u rostlin = **fosfolipázy A, C, D**
 - produkty štěpení = může jich být mnoho – **PA** (kyselina fosfatidová = *funkcí enzymů PLD), **DAG** (diacidglycerol), **IP₃** fosfát

SEKUNDÁRNÍ POSLOVÉ

- rychle mobilizován a rychle a specificky degradován; malinká molekula s rychlým pohybem; specifická lokalizace faktorů indukujících signál jsou dobře lokalizované; přenášení a zesílení signálu

- hydrofobní (DAG, PIs)
- hydrofilní (cAMP, cGMP, Ca^{2+})
- plyny (NO, CO)

- **cAMP, cGMP** = nejrozšířenější malé molekuly

- aktivovány nukleotidyl cyklázou

- degradovány nukleotid fosfodiesterázou

-cGMP důležité v rostlinách

- pro přenos signálu červeného světla, přijímaného fytochromem → **cGMP** (= důležitější než cAMP)

- **oxid dusnatý NO** – přesně nevíme jak je syntetizován; reaktivní molekula – nitrace a nitrosylace cílových molekul/proteinů – změna jejich aktivity.

- **Cyklická ADP ribóza** = aktivuje kanály pro vápník; signální dráha signalizuje pomocí kys. abscisové

- **Ca^{2+}**

nízká koncentrace v cytoplasmě (100-200 nM); udržováno Ca^{2+} - ATPázami. Vysoké koncentrace Ca^{2+} v ER, mitochondrii, vakuolách, buněčné stěně (až 1 mM).

Signál indukovan otevřením kanálů na membráně

- Ca^{2+} se primárně váže na Kalmulin = receptor pro vápenaté ionty (1mol kalm/4ionty Ca^{2+})

-též vazba dalšími proteiny a jejich regulace

- účastní se mnoha drah protože má velkou specifitu = každá buňka jiný druh proteinů řízených Ca^{2+} , jiný druh signálu

SPECIFICKÉ ROSTLINNÉ RECEPTORY

1) **SVĚTLO**

- rostliny detekují kvalitu, množství, směr a délku světla

- receptory : **FYTOCHROMY** (červené světlo), **KRYPTOCHROMY** (modré), **FOTOTROPINY** (modré), **UVR8** (UV-B světlo), **ZTL** (modré) → funkčně interagují (poskytují rostliny info o kvalitě světla)

FOTOMORFOGENEZE = závislost růstu rostliny na světle

→ **FYTOCHROMY** = receptory červeného světla; v cytoplasmě jako rozpustné proteiny; neaktivní forma **Pr** se přeměňuje na aktivní formu (díky ozáření červeným světlem) **Pfr** po této aktivaci je transportován do jádra; X po ozáření dalekým červeným světlem se mění zpět na neaktivní Pr formu. Poměr Pr a Pfr poskytuje informace o kvalitě světla.

- fytochrom **PHYA** = syntetizován ve tmě, po ozáření *forma Pfr = vysoce nestabilní

- fytochrom **PHYB-E** = je stabilní v obou formách

- tvoří homodimer! = každá podjednotka je protein s navázaným pigmentem = **chromofor** (fytochromobilin); po záření světla mění konformaci = aktivace receptoru = dochází k autofosforylaci molekuly dimeru = fytochrom je kináza!

→ **KRYPTOCHROMY** = receptor modrého světla (UV-A); 2 chromofory (**flavin + pterin**); pro aktivitu je nutná dimerizace = ozáření = dimerizuje; převážně jaderné proteiny = regulují genovou expresi; regulace **fotoperiodismu a cirkadiální rytmicity**

→ **FOTOTROPINY** = podílí se hlavně na fototropické reakci; regulace otevírání průduchů; 2 **flavinové chromofory** vázané na domény LOV1 a LOV2 a doménu Ser/Thr kinázovou aktivitou! = jsou to kinázy!

→ **RODINA ZEITLUPE (ZTP)** = regulují cirkadiální rytmicitu; receptory modrého světla. F-box proteiny (zajišťují degradaci proteinů fungujících v cirkadiální rytmicitě a fotoperiodismu)

→ **UVR8** = lokalizovány v cytoplasmě a jádře; UV receptor; je to dimer ale po aktivaci se rozpadá na aktivní monomer (ozáření UV světlem = aktivace); fce = indukce změn genové exprese, kontrola aklimace, tolerance vůči UV-B světlu, inhibice růstu hypokotylu

2) ROSTLINNÉ HORMONY A RŮSTOVÉ REGULÁTORY

= FYTOHORMONY (auxiny, gibereliny)

→ **AUXIN** = první známý hormon; ovlivňuje genovou expresi u stovek proteinů!; malinká molekula; reguluje hodně procesů;

Mechanismus účinku: v buňce jsou AUX/IAA transkripční inhibitory (inhibují expresi genů jejichž exprese je aktivována auxinem); auxin je jako „molekulární lepidlo“ – naváže se na receptor TIR1 a tím aktivuje degradaci represorů genové exprese = aktivace genové exprese

→ **GIBERELINY** = indukují expresi GA-aktivovaných genů. Mechanismus: giberelin se váže na receptor (=GID1) – pak může *komplex navázaných proteinů DELLA (inhibitorů genové exprese giberelinem kontrolovaných genů) = komplex GID1-GA-DELLA tím umožněna jejich degradace.

+ **DETEKCE DLOUHÉHO/KRÁTKÉHO DNE** (týká se kvetení) = příklad, kdy signál je vnímán v nějaké části rostliny X odpověď je v jiné části rostliny = signál u kterého příjem a zpracování probíhá v odlišných buňkách. Mechanismus:

- **protein CONSTANCE** (CO) syntetizován v listech pouze během dne a v noci je degradován → pouze když se prodlouží den může být protein stabilizován = stoupne koncentrace CO tak, že může indukovat syntézu proteinu FT (flowering locus T, též nazýván florigen) = malinký protein (20 kDa) = dobře prochází plasmodesmy = unášen floémovým tokem celou rostlinou až do vzrostlého vrcholu tam interaguje s proteinem FT a *heterodimer **FT/FD** a aktivuje přeměnu vzrostlého vrcholu na květ ☺

Florigenu tedy vzniká v listech a jako mobilní signál je transportovaný do vzrostlého vrcholu, kde indukuje přestavbu na květní meristém

+ **VNÍMÁNÍ GEOTROPICKÉHO SIGNÁLU** – **statocyt** (=buňka vnímající geotropický signál) **X statolit** (reaguje na změnu gravitropického vektoru, plastidy, „přesýpavý škrob“); ve rhizoidu jsou amyloplasty = jsou udržovány v určité vzdálenosti od apikální části, obaleny aktinem ten pokud depolymeruje tak amyloplasty sednou na dno

- **statocyty** = buňky čepičky (*collumela*) a endodermis (u *Aradiopsis*) = na 2 místech v rostlině; v *collumele* je vnímána v jednom typu buněk X projeví se v jiném!

X neznáme molekulární mechanismus!