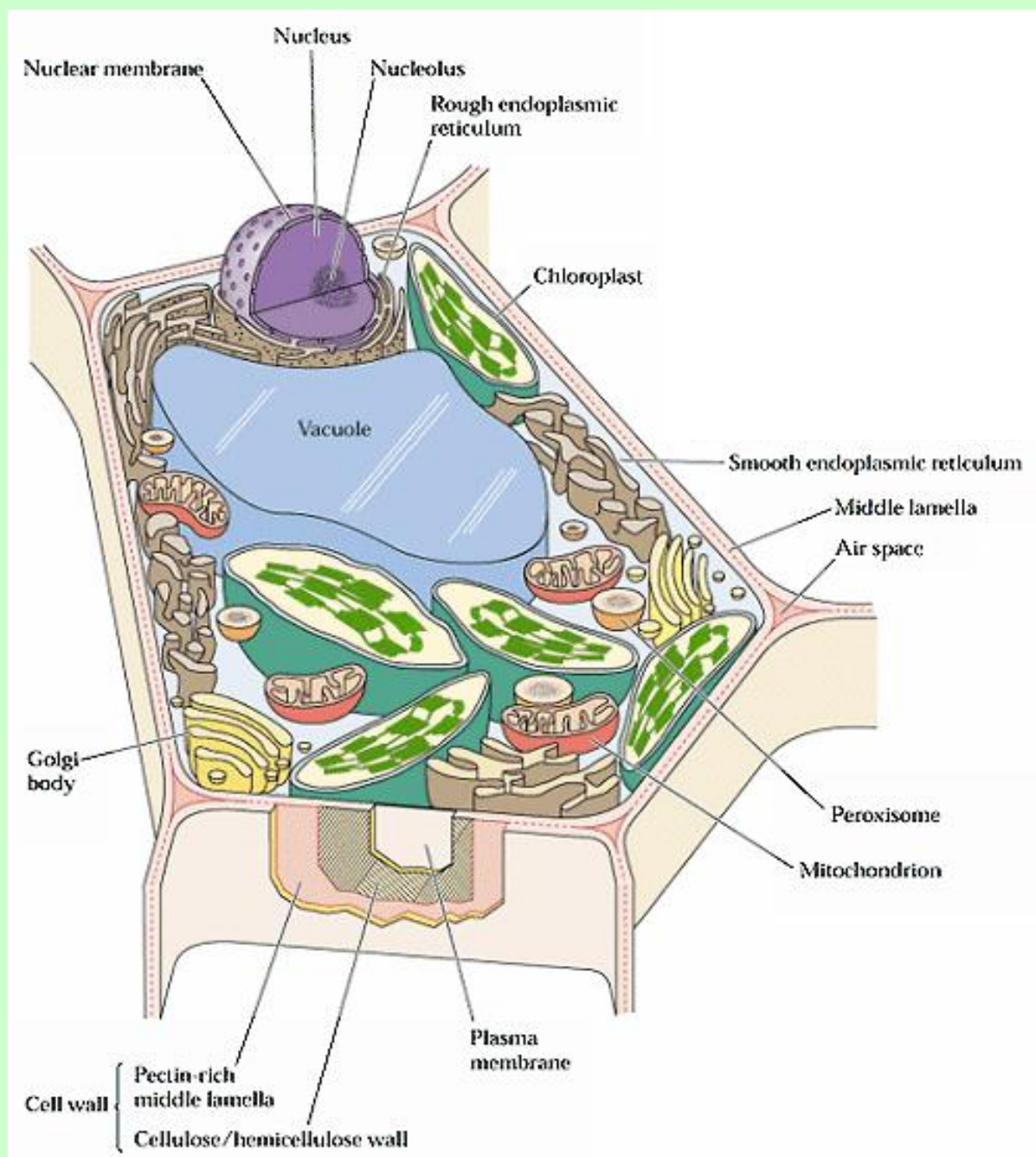
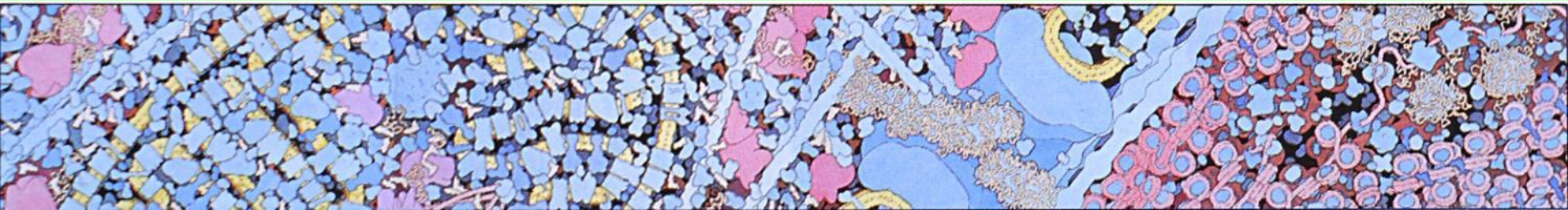


3. Nukleocytoplasmatický kompartment rostlinných buněk

- **Co je nukleocytoplasmatický kompartment a jak vypadá u typické rostlinné buňky**
- **Jádro buněčné**
Nositel naprosté většiny genetické informace buňky
Jak vzniklo buněčné jádro?
Jádro dělí se (mitosa, meiosa) a nedělí se (interkinetické, klidové, pracovní): funkční struktura
Odlišnost buněčného jádra u rostlin od buněčného jádra u živočichů (nepřítomnost laminy, dělení bez centriolů)
- **Základní cytoplasma (cytosol) – co se tam děje**
- **Cytoskelet rostlinných buněk a jeho úlohy: struktura a funkce mikrotubulů, intermediárních filamentů a mikrofilamentů (aktinových filamentů)**
- **Jaderný cyklus a buněčný cyklus**



Nukleocytoplasmatický kompartment rostlinné buňky



- Jako **nukleocytoplasmatický kompartment buňky** bývá u Eukaryot označováno **jádro buněčné**, hlavní nositel genetické informace buňky, zakódované v DNA, a **základní cytoplasma** (cytosol), kde mimo jiné dochází k překladu jaderné genetické informace - k proteosynthese. Cytoplasma obsahuje **cytoskelet**, „buněčnou kostru“, a ribosomy, na kterých se syntetisují bílkoviny.
- V **dospělé rostlinné buňce** bývá omezen na „**nástěnnou vrstvičku cytoplasmy**“ – většinu objemu buňky vyplňuje centrální vakuola.

Nukleocytoplasmatický kompartment rostlinné buňky



1632-1723



A. Van Leeuwenhoek

1804-1881



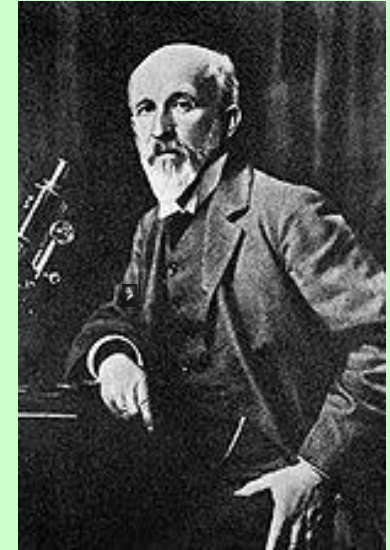
M. Schleiden
30. léta 19. st

1821-1902



R. Virchow

1849-1922



1876 O. Hertwig

1822-1884



50. léta 19. st G. Mendel

1866-1925

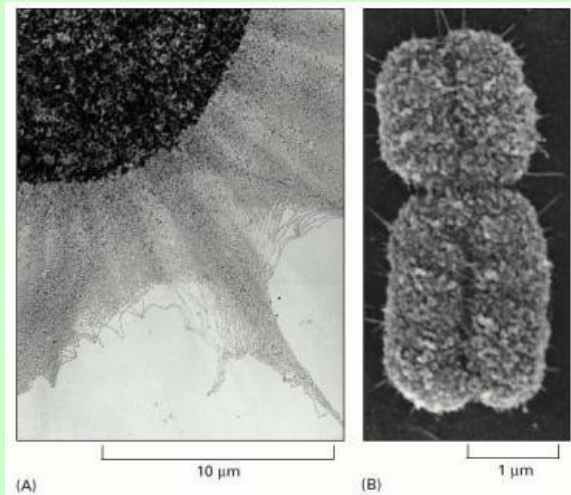
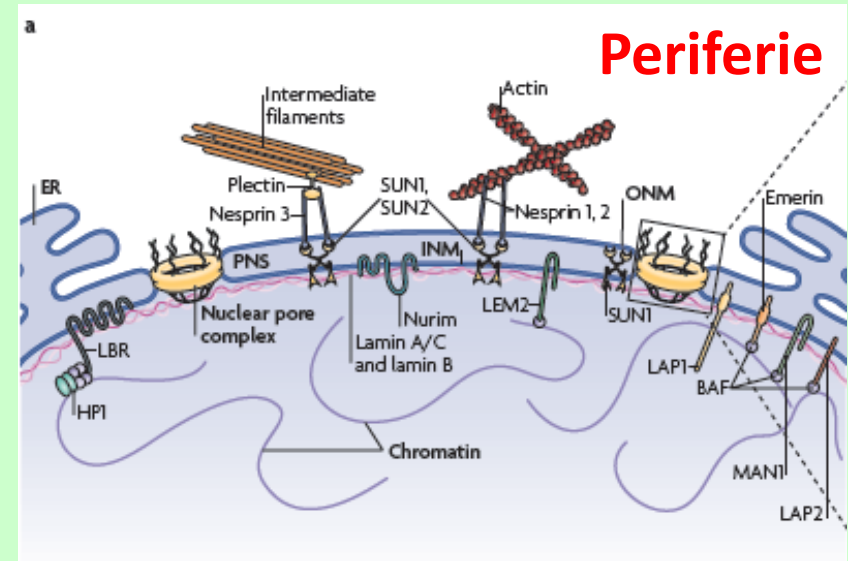
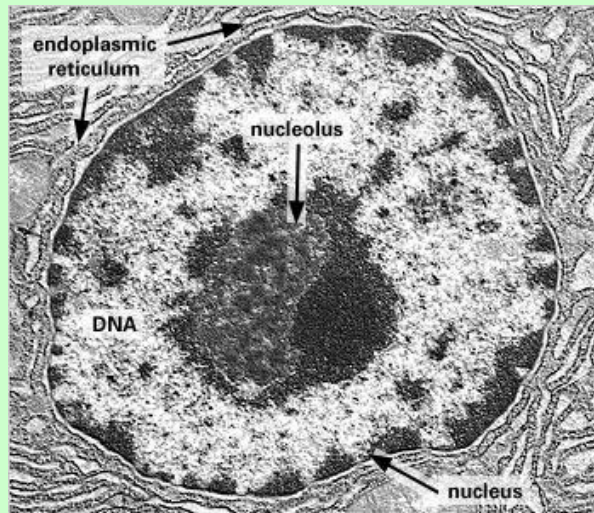


1900 T. H. Morgan

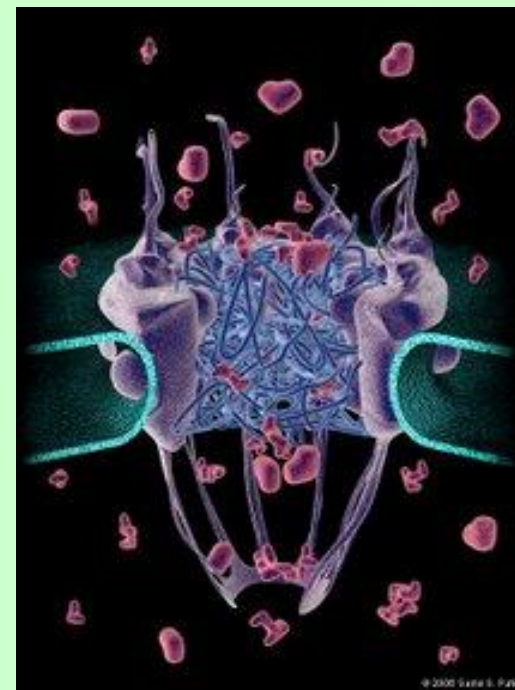


1953 Watson and Crick

JÁDRO BUNĚČNÉ - STRUKTURA, ORGANISACE, FUNKCE



Chromatin a chromosomy



Fungování nukleocytoplasmatického kompartmentu

- **Uchování a přenos (dělení jádra, replikace DNA) genetické informace v jádře buněčném – pořadí basí v DNA**
- **Přepis (transkripce) z DNA na RNA (synthesa mRNA, tRNA, rRNA) a její úpravy („sestřih“) rovněž v jádře**
- **Překlad (translace) genetické informace do pořadí aminokyselin v molekulách bílkovin –na ribosomech v cytoplasmě, volně nebo na membránách ER**

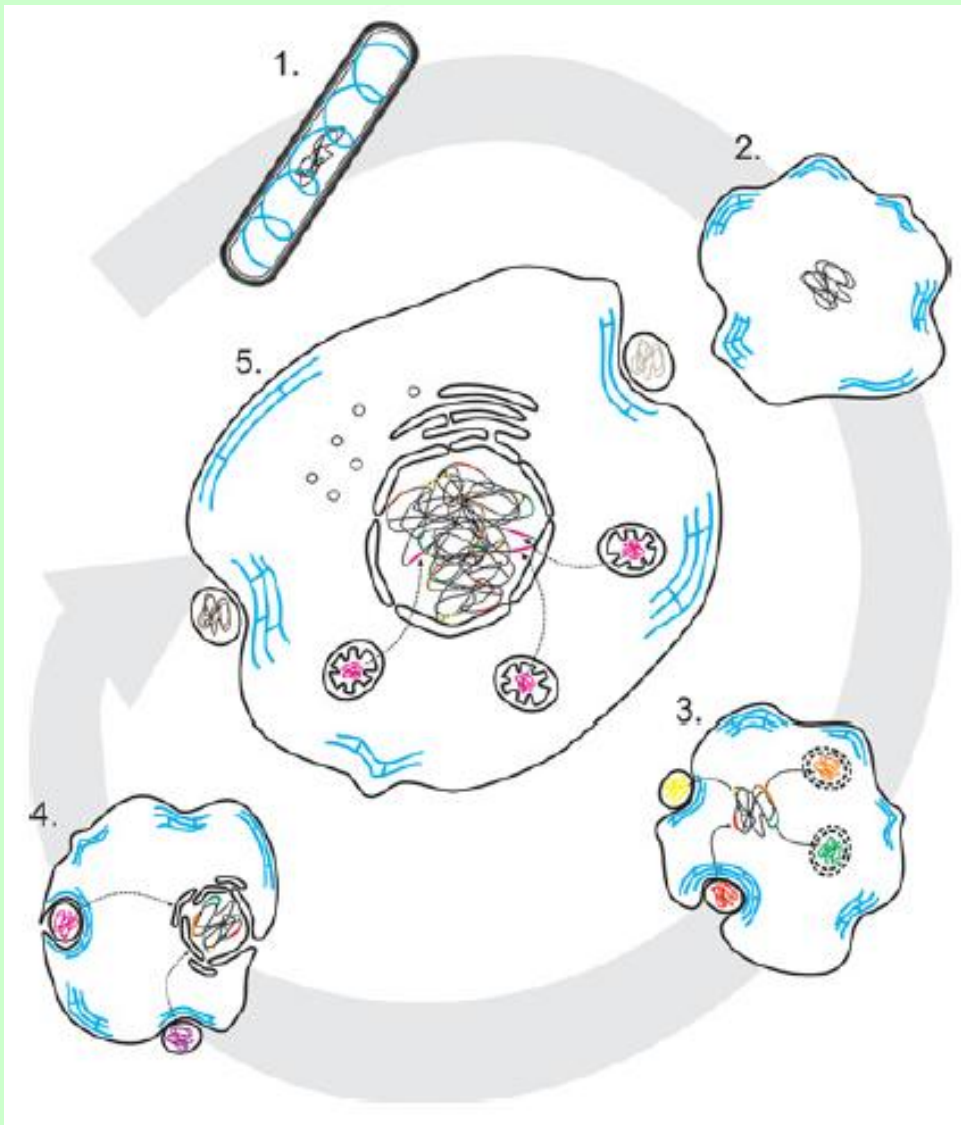
Organisace jaderného genomu

Gen – kompletní sekvence deoxyribonukleové kyseliny nezbytná k synthese funkčního produktu, nejčastěji bílkoviny (proteinu)

Lineární molekula DNA je rozvinutá 100x delší než buňka – bývá v jádře různou měrou sbalena, nejvíce v chromosomech při mitose.

Ploidie jaderného genomu (počet chromosomů) – pohlavní buňky (gamety) haploidní, jejich splynutím vzniklá zygota a další tělní buňky diploidní

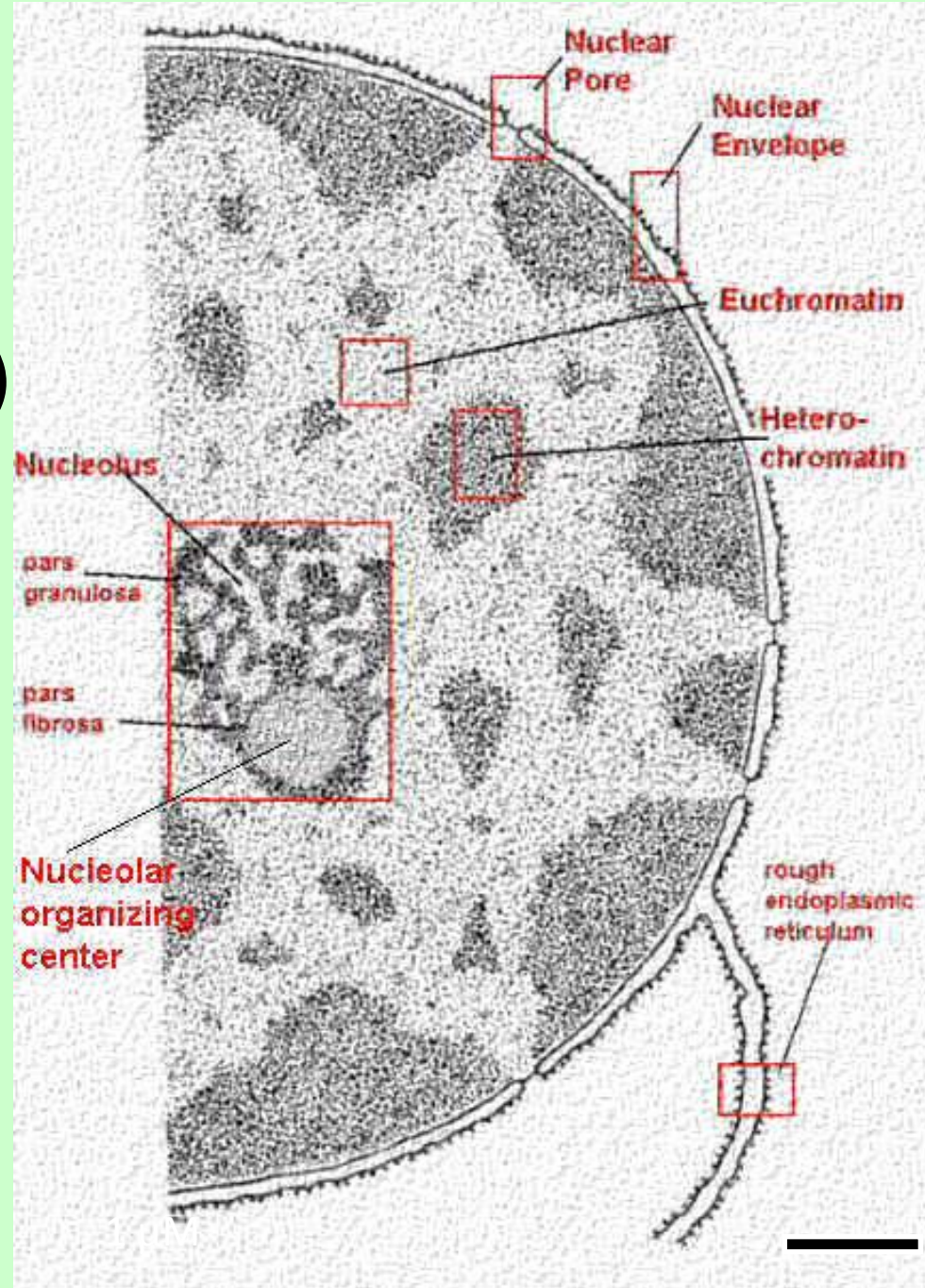
Možný vznik eukaryotické buňky



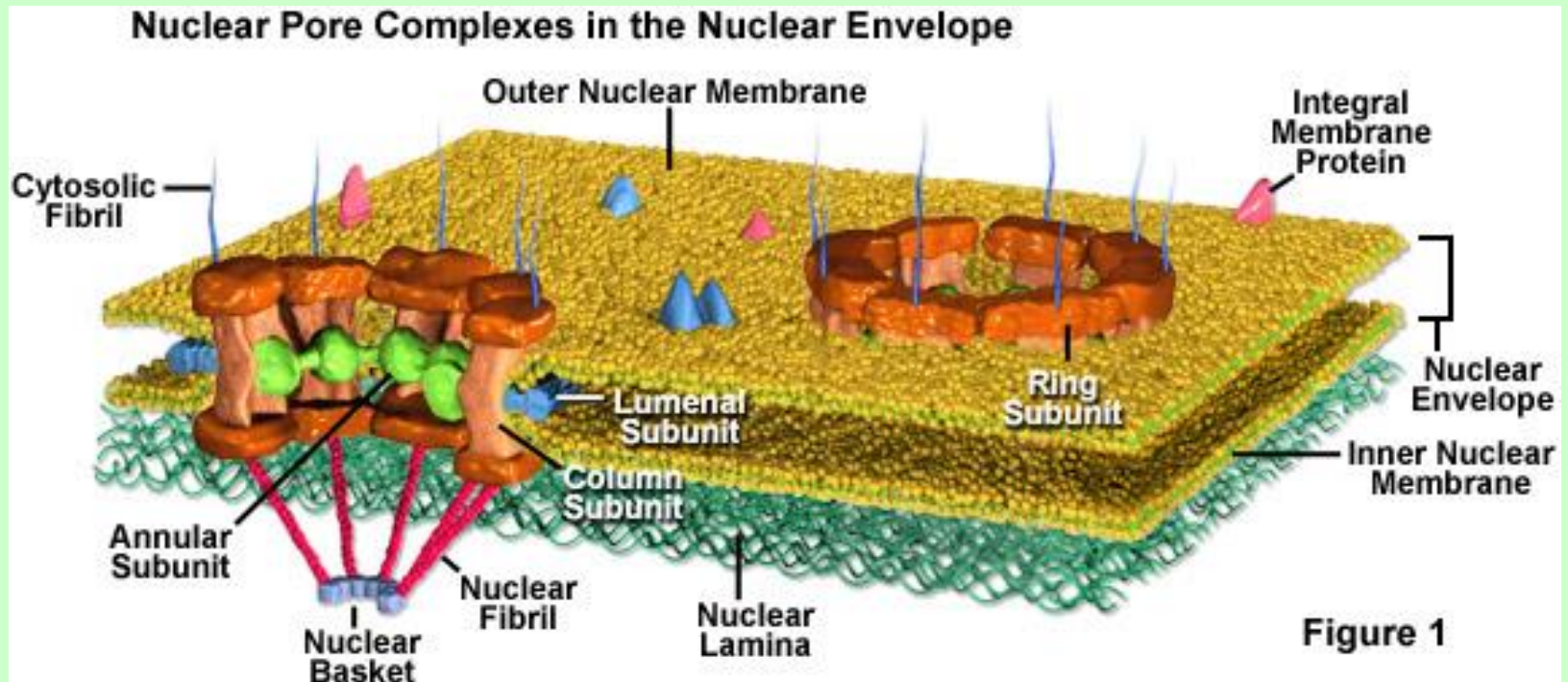
Martijn a Ettema (2013)

Struktura a organizace buněčného jádra (nedělícího se, „pracovního“)

Velikost 6-10 μm
Asi 10% buněčného objemu



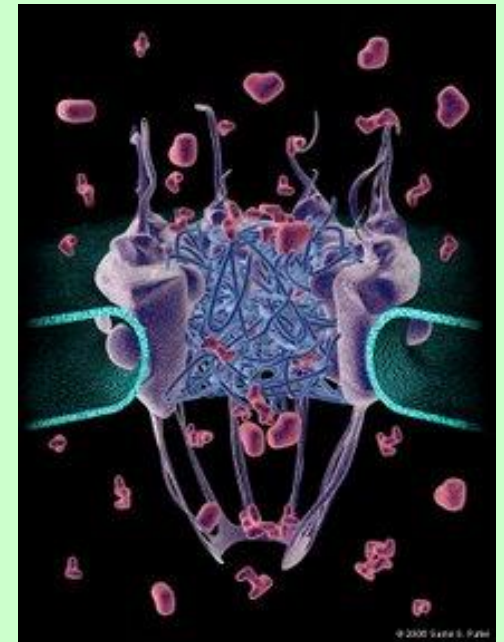
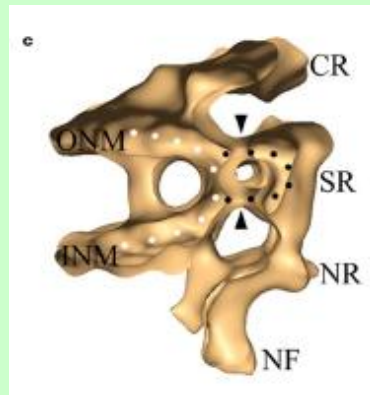
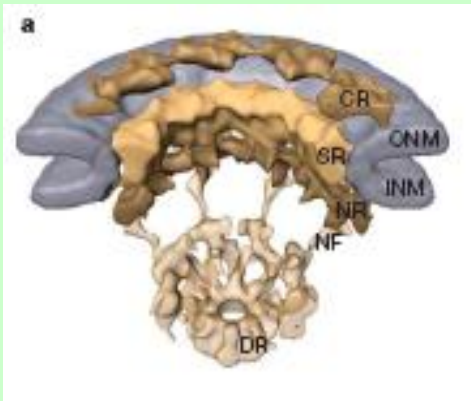
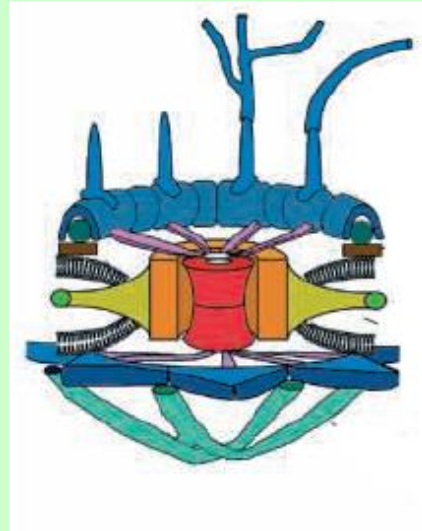
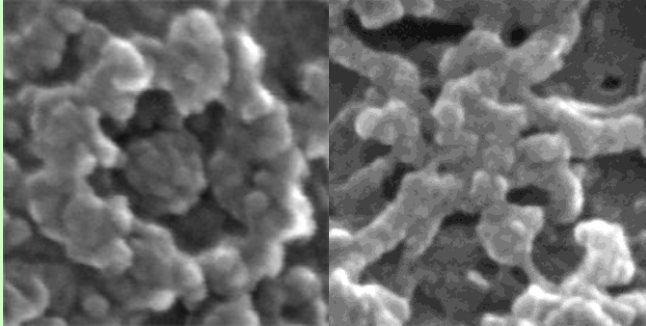
Periferie jádra

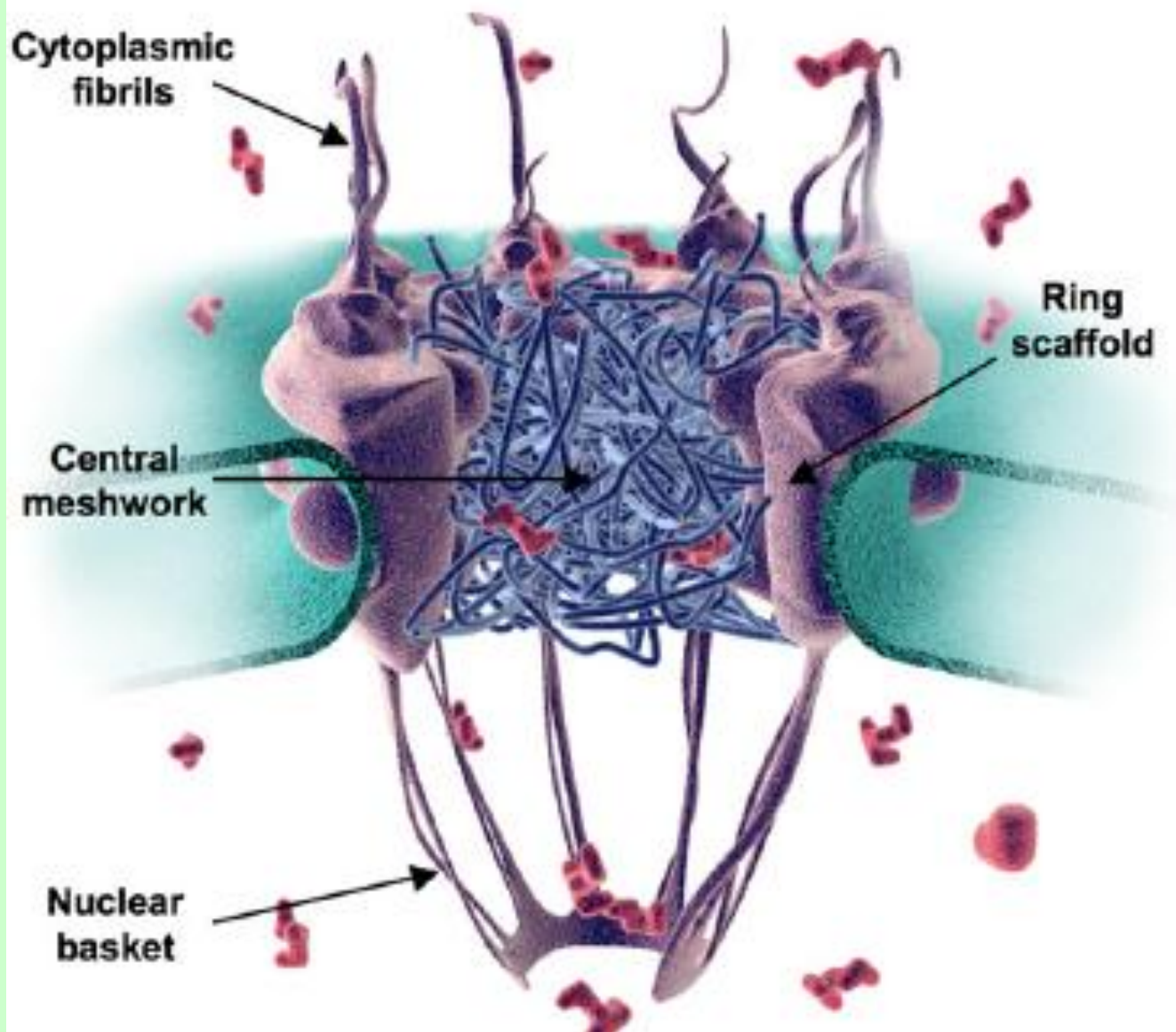


- Velmi heterogenní
- Mikrodomény různé funkce a složení
- Oblasti heterochromatinu, ztišených genů – radiální organizace jádra

Jaderné póry

slouží spojení mezi buněčným jádrem a cytoplasmou

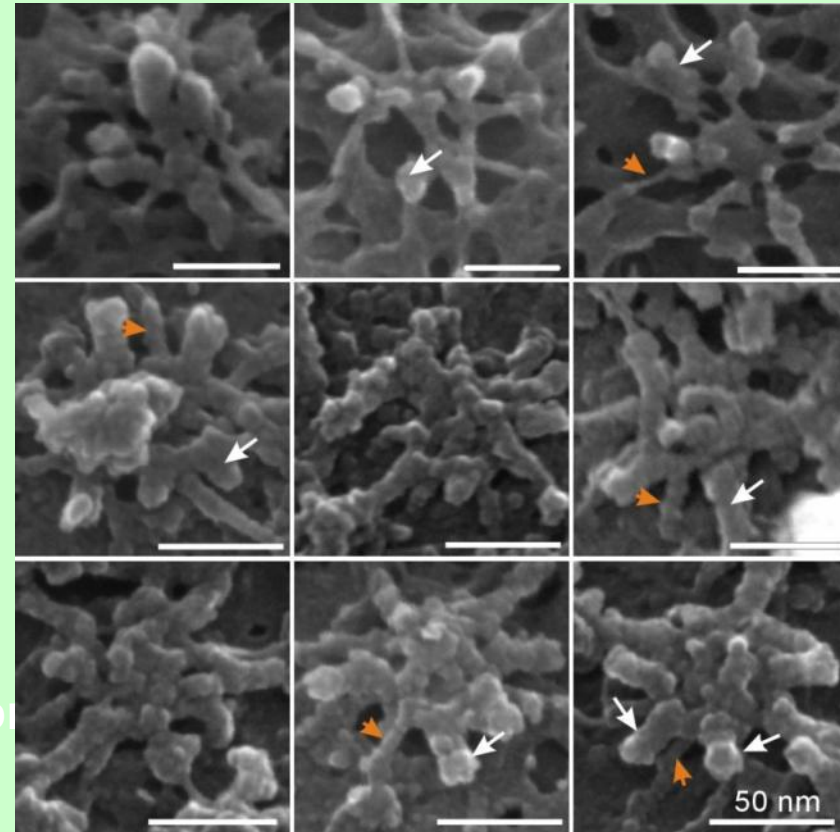
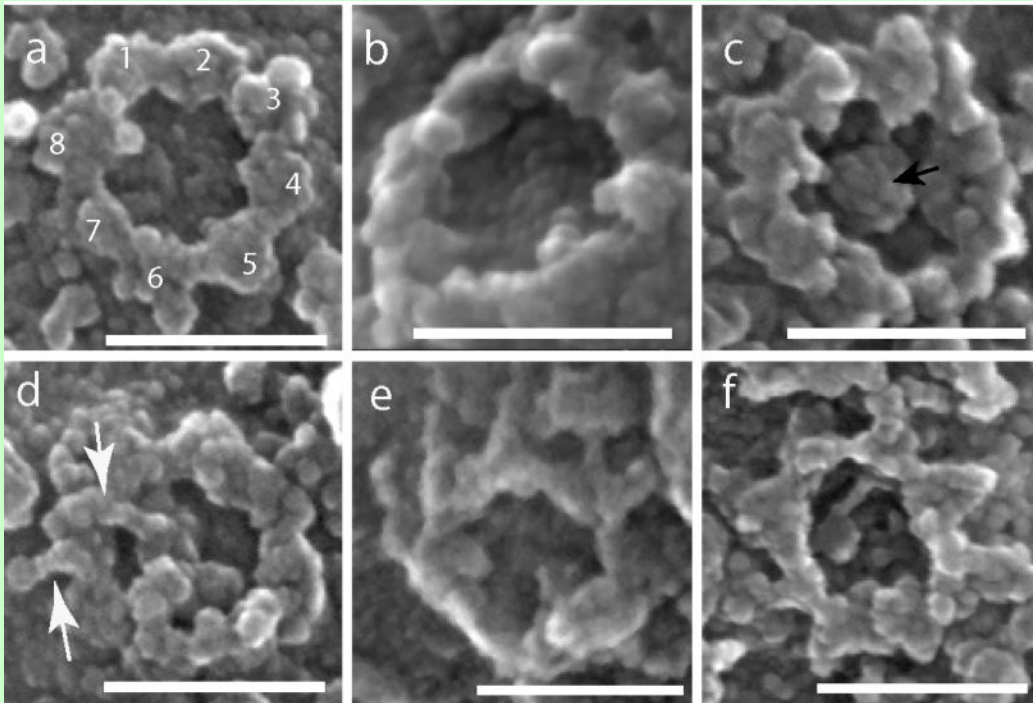




Jaderné póry v buňkách BY-2

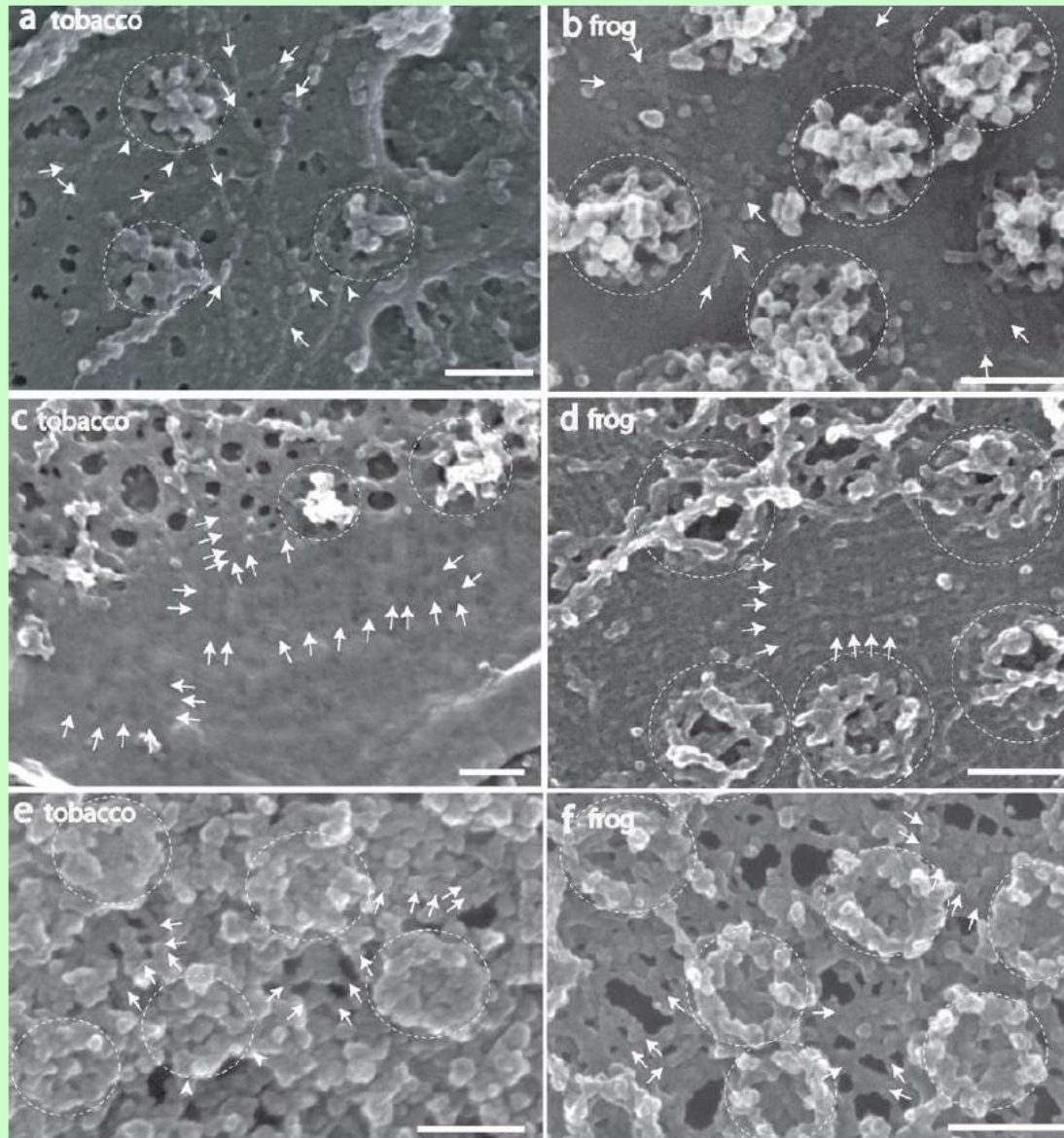
Pohled z cytoplasmy

Pohled z jádra



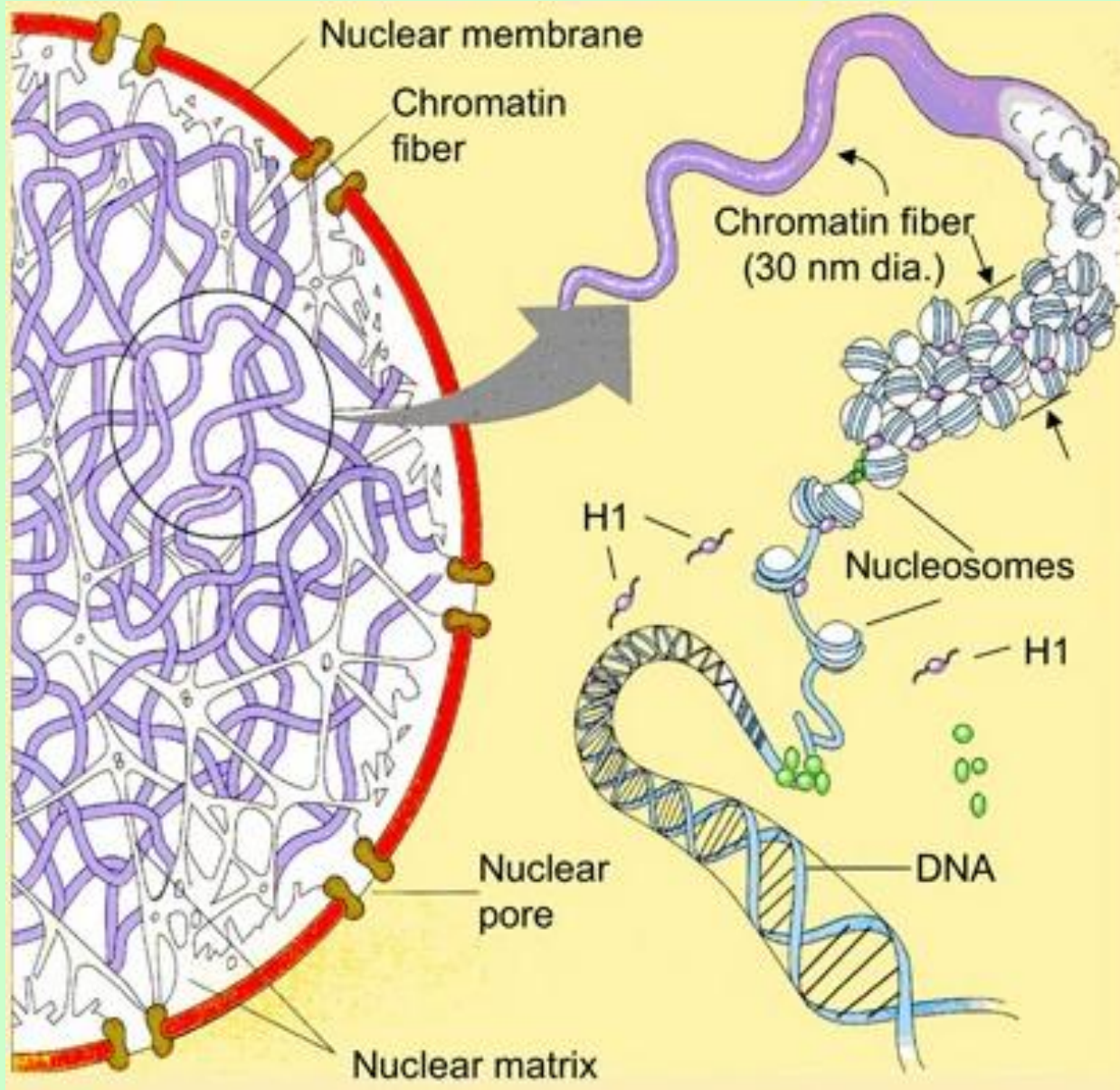
Fišerová et al. (2009), Plant J.

Plant lamina – PLAMINA?

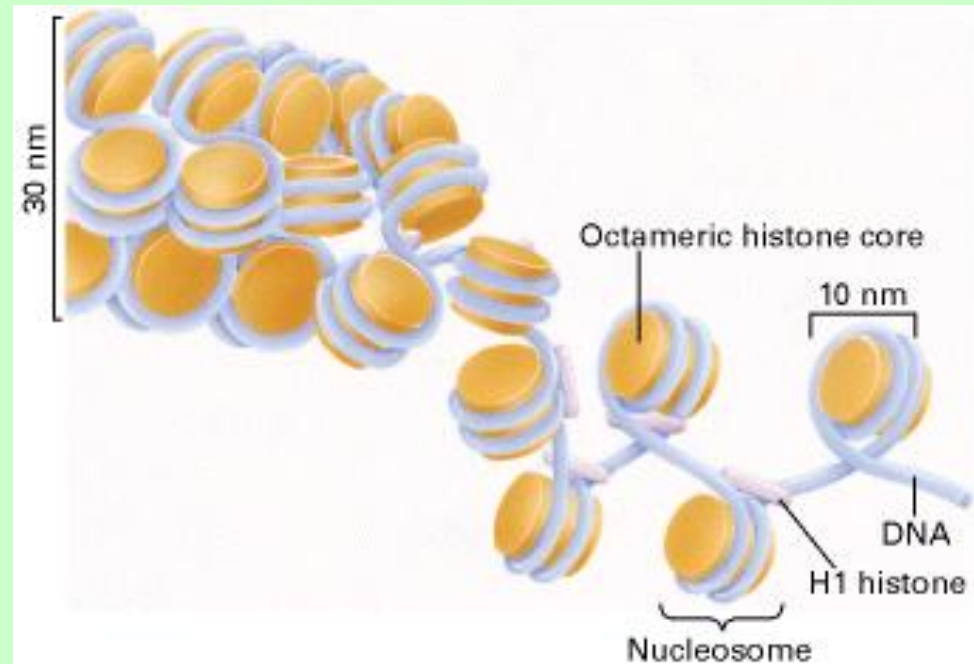
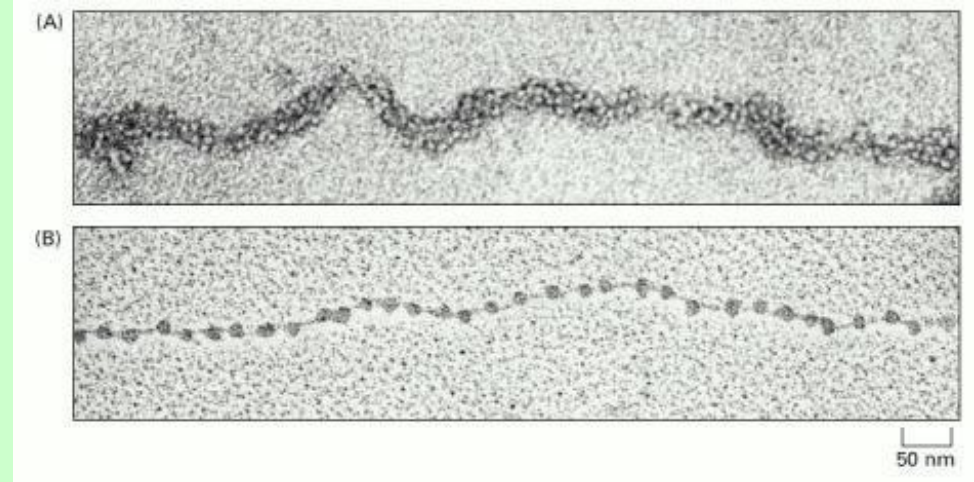
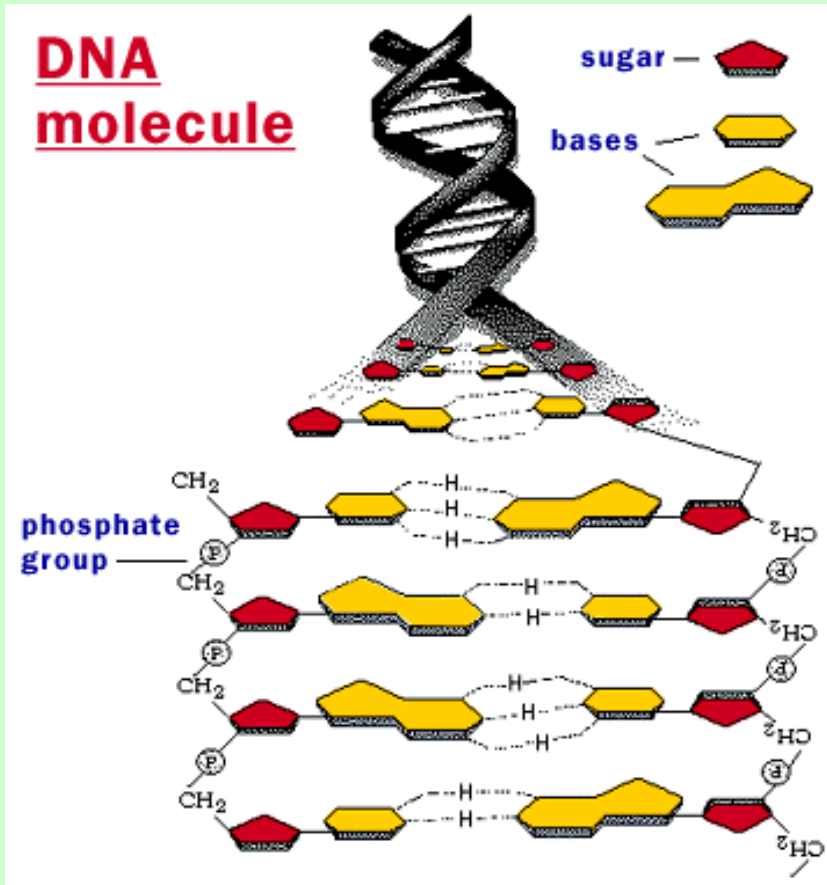


Fiserova et al. (2009), Plant J.

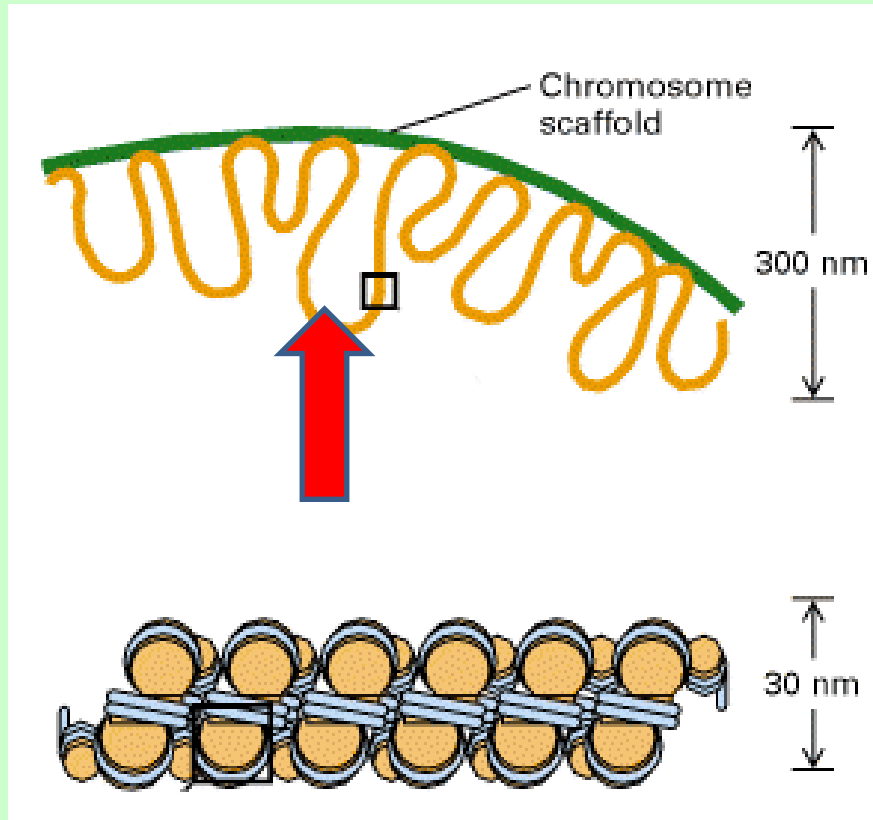
Chromatin, chromosomy



Struktura DNA – deoxyribonukleové kyseliny

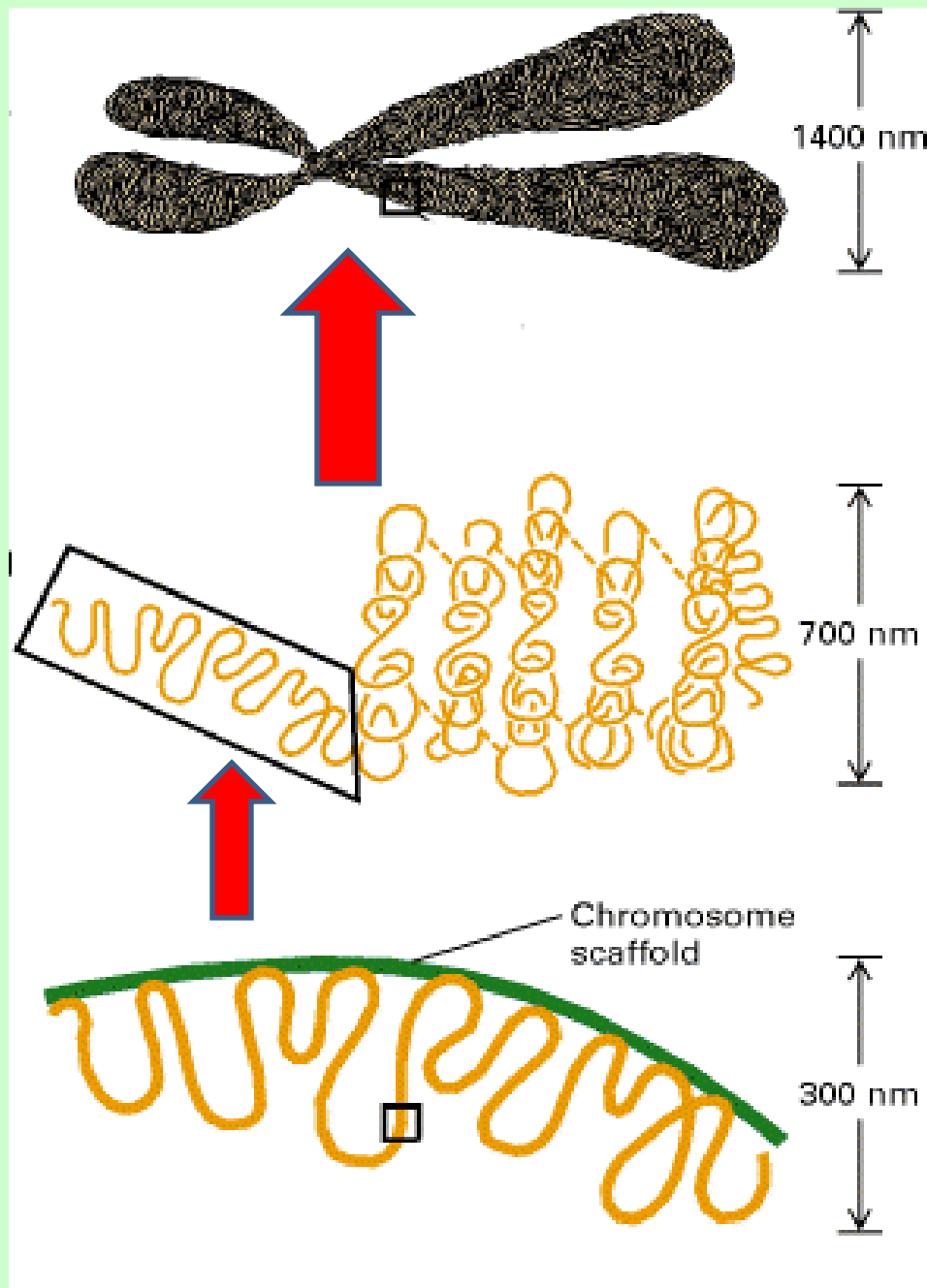


Vyšší struktury chromatinu



Nehistonové proteiny – lešení + integrita DNA

Chromosomální teritoria – chromosom není ani v rozbaleném stavu rozložen v jádře náhodně



SMC proteiny

(structure maintenance of chromosome proteins)

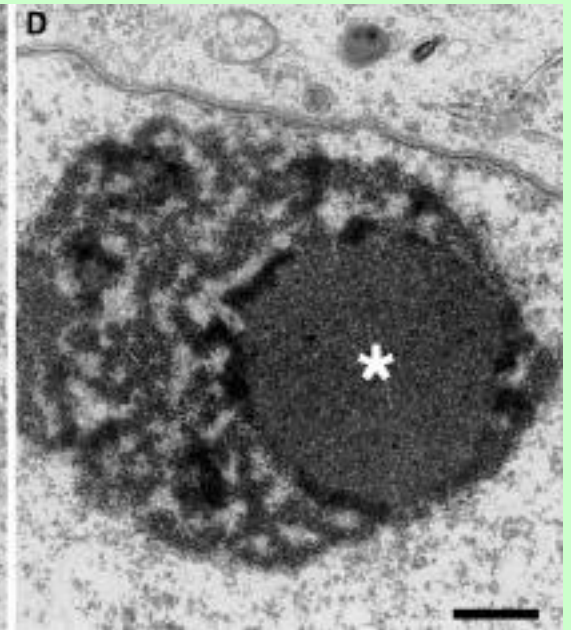
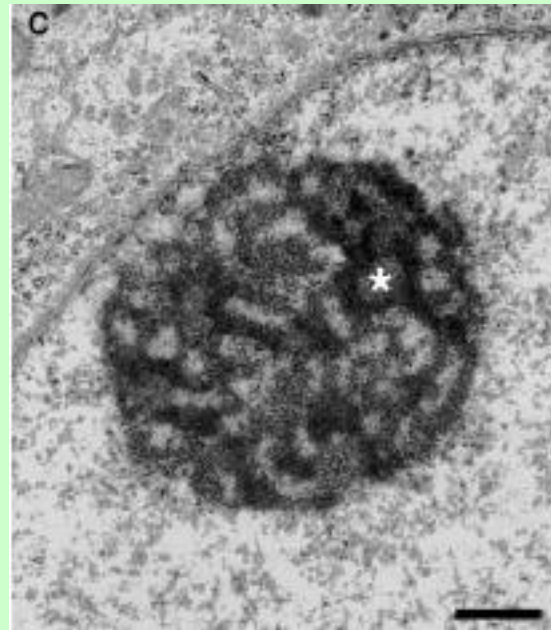
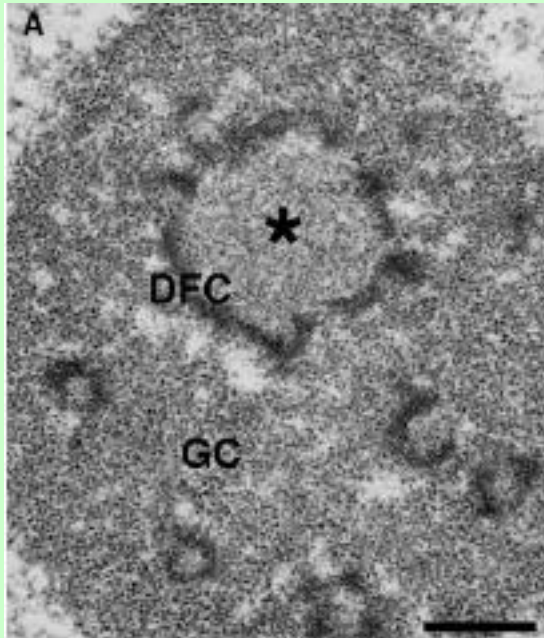


Mohou svázat dvě 30nm vlákna dohromady, asociují s chromatinem mezi geny.

„Paradox hodnoty C (C-value)“

- **C-value: kompletní množství DNA v haploidním genomu před replikací** udávané v párech basí nebo v pikogramech (biliontinách gramu)
- **Zvyšující se komplexita organismu nutně neznamená větší genom!**
- **Tulipán, pšenice, žito - 10x více DNA než člověk** (zvyšování ploidie – např. pěstovaná pšenice a žito jsou hexaploidní)
- **Převážná část DNA v jádře je nekódující.**

Jadérko – „továrna na ribosomy“

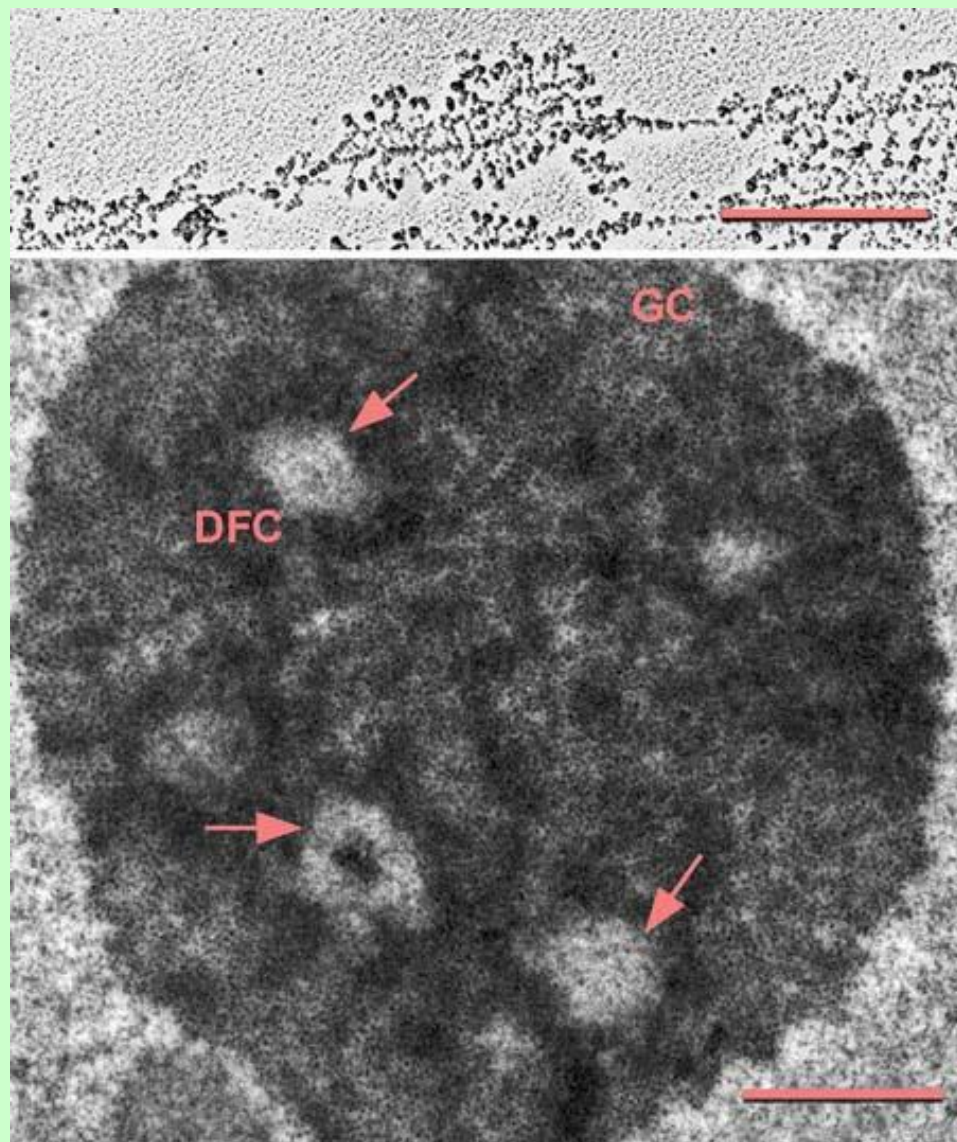
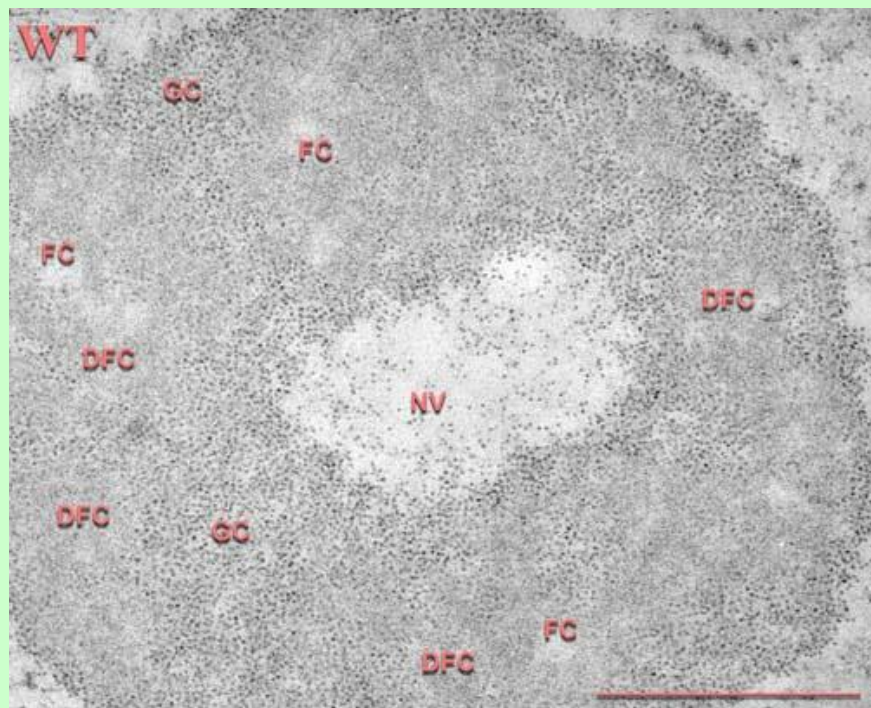


(Sirri et al. 2008, Histochem. Cell Biol.)

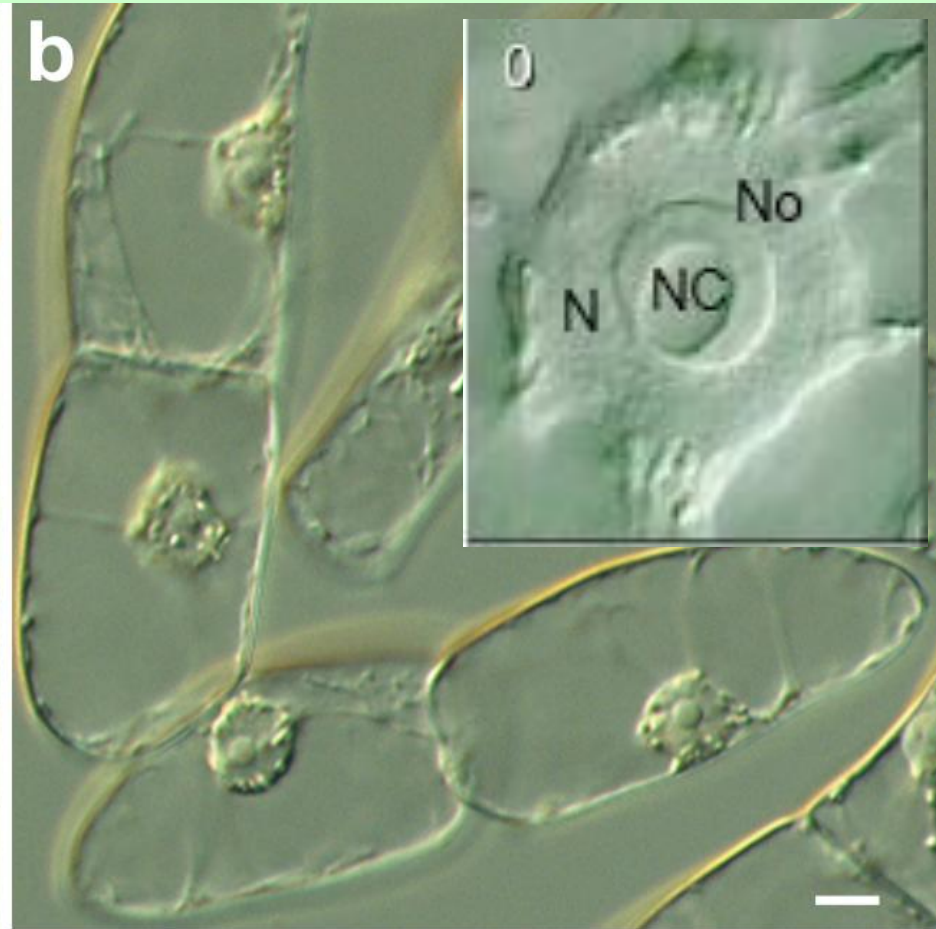
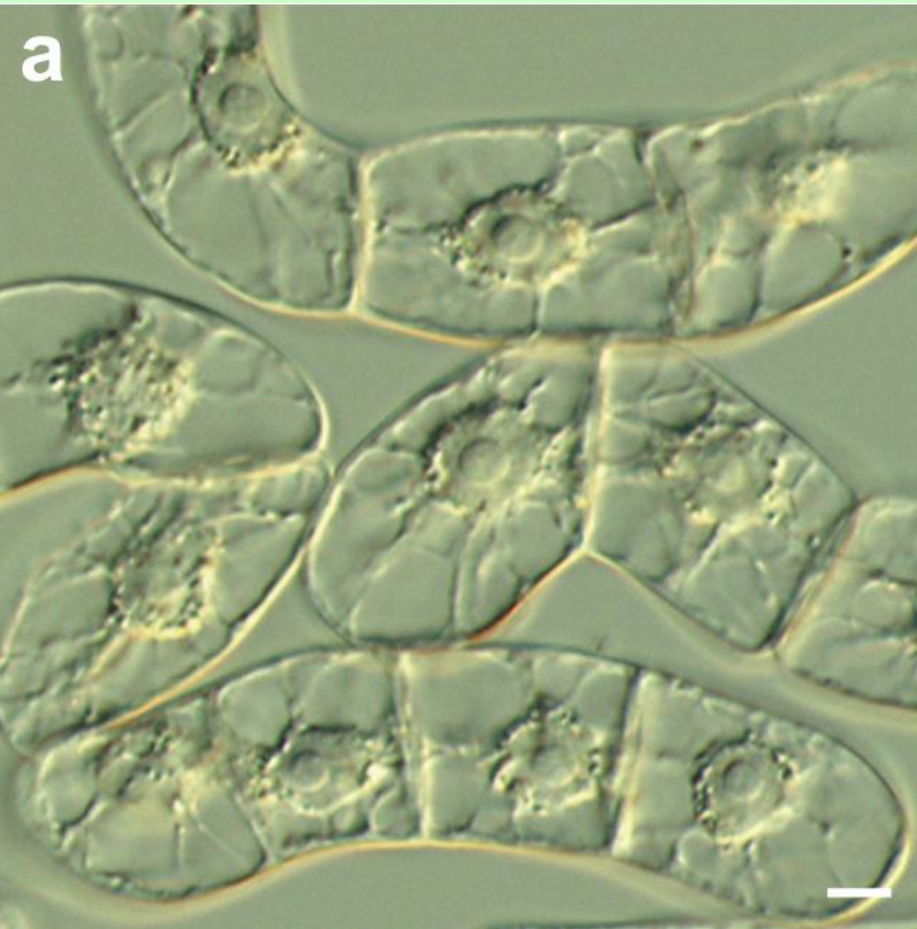
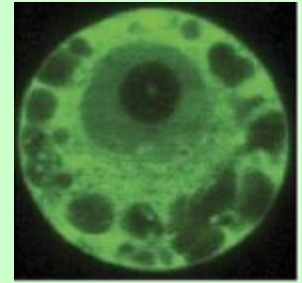
Tvořeno rDNA několika chromosomů
Podléhá buněčnému (jadernému) cyklu

FC Fibrilar Component
DFC Dense Fibrilar Component
GC Granular Component

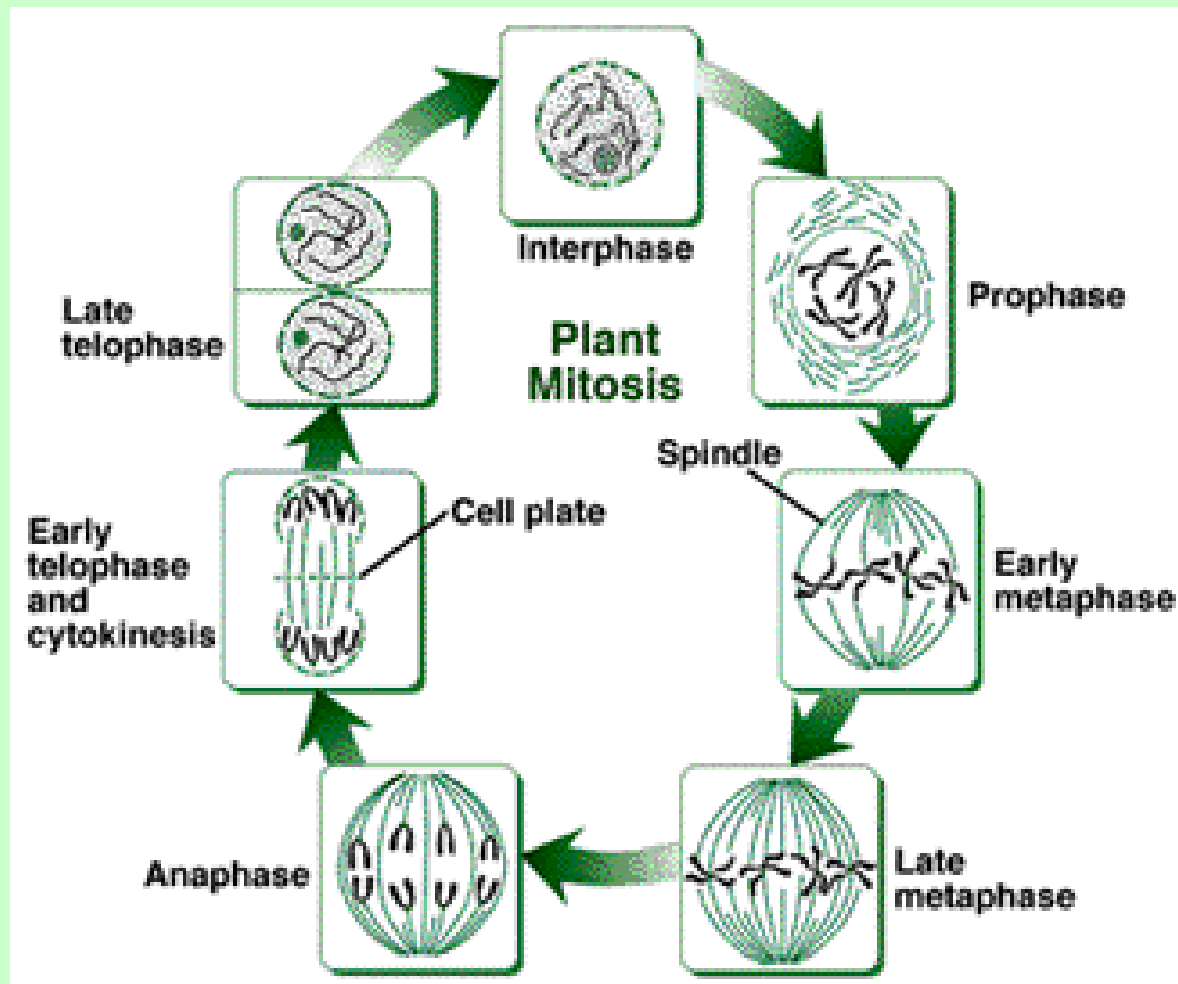
Arabidopsis nucleoli



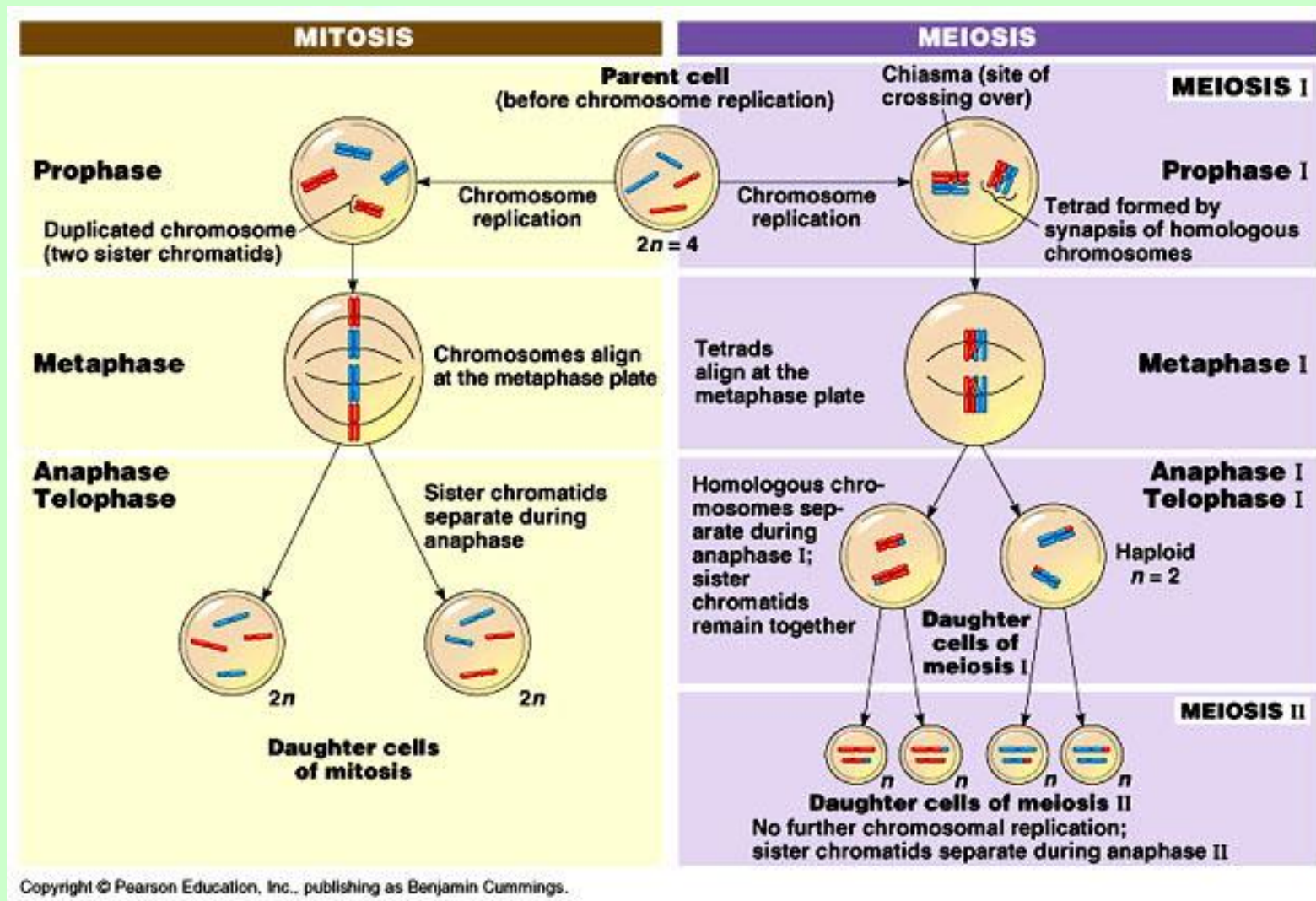
Tobacco BY-2 nucleoli



Mitosa



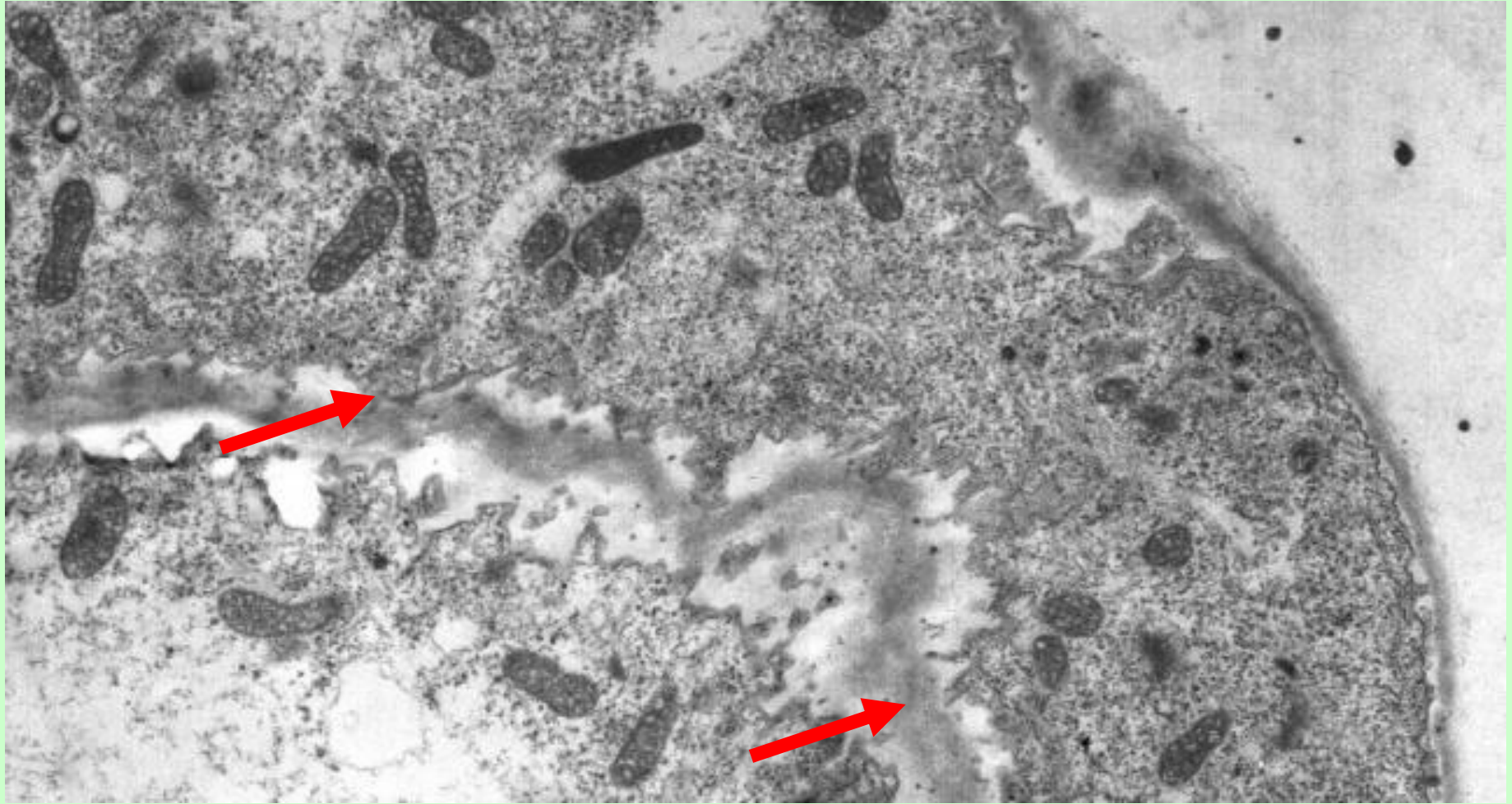
Mitosa a meiosa



Cytoplasma:

- **Prostor mezi organelami, inklusemi, ribosomy a jádrem**
- **Viskosní až gelový charakter**
- **Prostředí pro mnohé metabolické děje: např. translace (překlad) genetické informace, glykolysa, synthesisa sacharosy, pentosová cesta, počátky redukce nitrátu, tvorba četných sekundárních metabolitů**
- **Většina prostorových, fyzikálních i biochemických vlastností cytoplasmy je dána existencí cytoskeletu** (viskosní charakter, rozvrstvení cytoplasmy v buňkách, pohyb organel, kompartmentace na metabolické oddíly).
- **Základní cytoplasma (bez cytoskeletu) bývá označována cytosol.**

Základní cytoplasma s mikrotubuly



Cytoskelet:

- **Trojrozměrná síť proteinových vláken a tubulů eukaryotické buňky**
- Nejde o pevnou strukturu, ale o vysoce dynamický systém.
- Charakteristická je vysoká konservovanost cytoskeletálních složek v rámci Eukaryot.
- FtsZ, vzdálený příbuzný tubulinů, se podílí na dělení bakterií – počátky cytoskeletu již u Prokaryot.

Cytoskeletální princip je dalším organizačním principem buňky vedle principu membránového.

Základní funkce cytoskeletu

- **Udržení tvaru buněk**
- **Udržení vnitřní architektury buněk**
- **Udržení polohy organel** a dalších buněčných struktur
- **Pohyb organel** a dalších buněčných struktur
- **Transport vesikulů**
- Pohyby bičíků a brv (u rostlin nejsou běžné)
- **Připojení ribosomů** – kompartmentace proteosynthesy.
- **Připojení enzymů** – kompartmentace metabolických procesů
- **Účast v přenosu signálů**
- **Účast v jaderném a buněčném dělení**

Základní složky a vlastnosti cytoskeletu

Intermediární filamenta (IF):

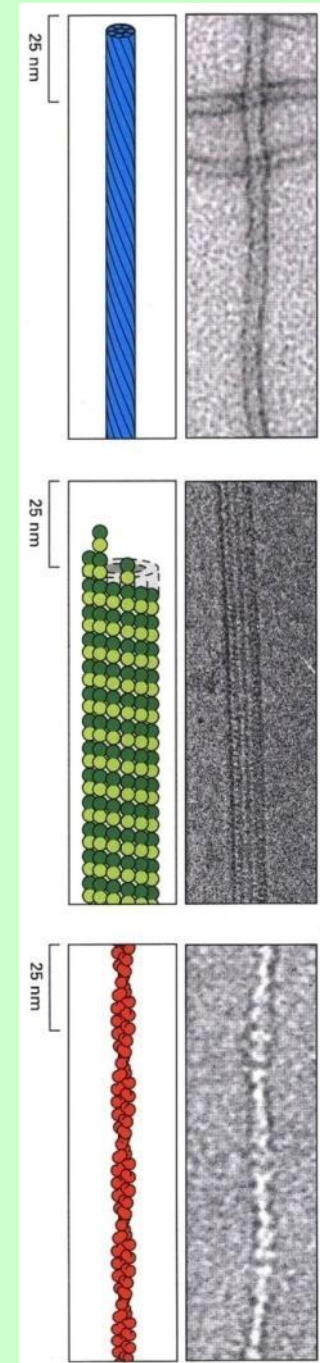
- vlákna o průměru 10 nm
- klasické „živočišné“ proteiny IF u rostlin nebyly identifikovány

Mikrotubulární cytoskelet (MT, mikrotubuly):

- podjednotka heterodimer alfa a beta tubulinu
- tubuly (trubice) o průměru 25 nm

Aktinový cytoskelet (AF, aktinová filamenta):

- podjednotka aktin
- vlákna o průměru 6-9 nm



Základní složky a vlastnosti cytoskeletu

Společné vlastnosti mikrotubulů a aktinových filamentů:

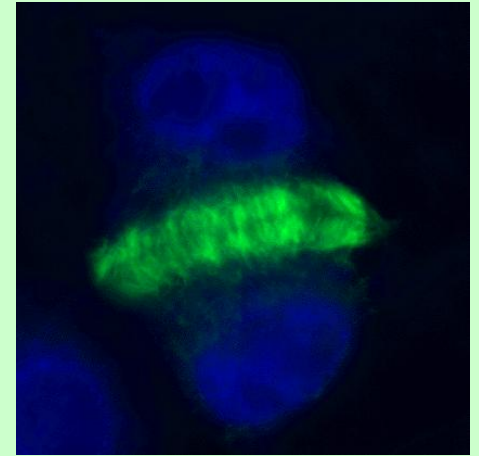
- vláknité polymery vznikají **polymerací** globulárních bílkovinných podjednotek
- schopnost rychlé polymerace a depolymerace – **dynamická síť**
- vlákna jsou **polarisovaná** (+ a – konec)
- monomery vážou NTP (ATP u AF a GTP u MT), které jsou hydrolysovány po připojení monomeru k vláknu
- jejich interakce s okolím v buňce a funkci zajišťují **asociované proteiny**

Metody studia cytoskeletu

Fluorescenční mikroskopie

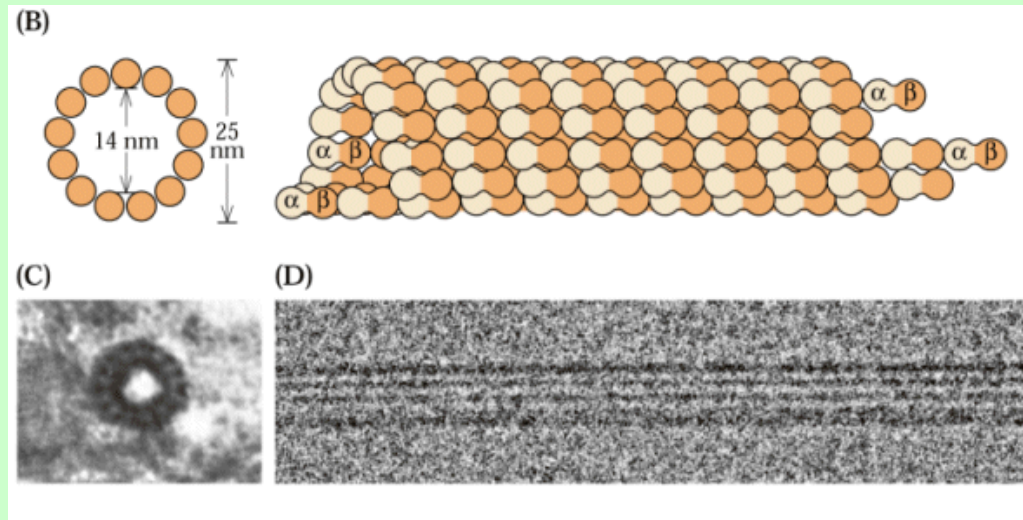
Fluorescenční značku mohou nést:

- protilátky - fixované buňky
- látky s afinitou k CSK podjednotkám (cytoskeletální drogy) – fixované buňky
- monomery (aktin nebo tubulin) s kovalentně připojenou fluorescenční značkou (mikroinjekce) – pozorování *in vivo*
- monomery nebo asociované proteiny s molekulární značkou (GFP, RFP atd., exprese fusučních proteinů přímo v buňce) – pozorování *in vivo*



Fluorescenční mikroskopie; fluorescenční konfokální mikroskopie;
Time-lapse microscopy; další specialisované metody.

Mikrotubuly



Mikrotubulus:

Základní stavební jednotka mikrotubulů je **heterodimer alfa a beta-tubulinu**.

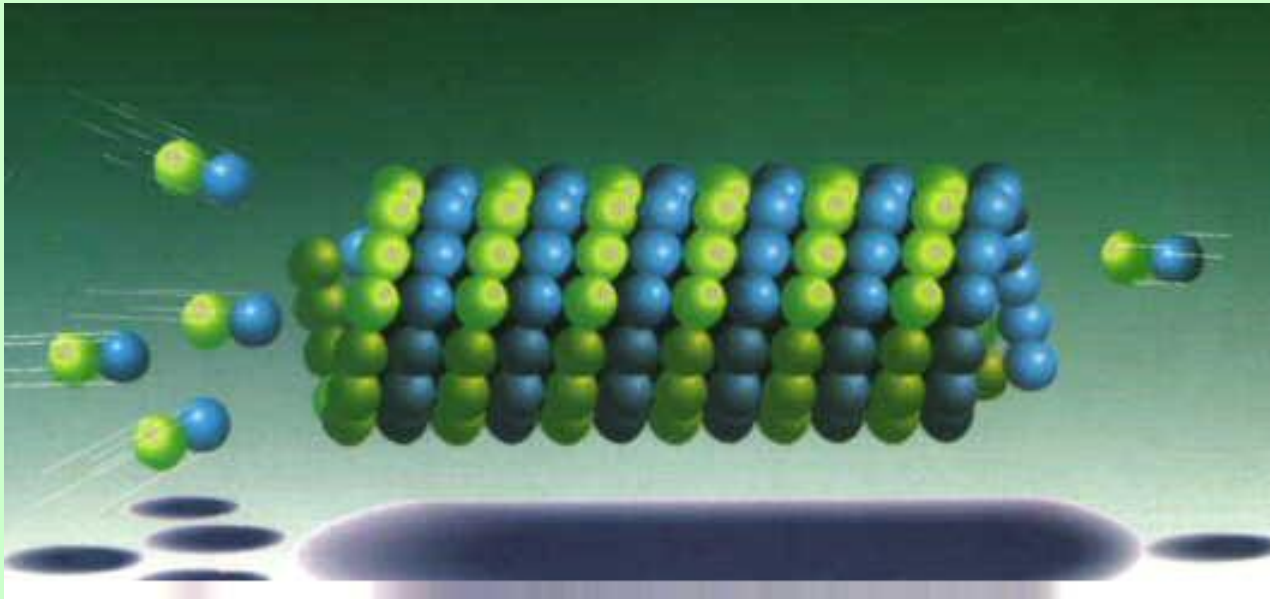
Heterodimery polymerují do trubicovité struktury mikrotubulu o vnějším průměru cca 25 nm.

Vazby v mikrotubulu seřazené od nejsilnější k nejslabší jsou: vazba v heterodimeru; vazba longitudiální v protofilamentu; vazba laterální mezi protofilamenty.

Mikrotubulus je polarisovaná a vysoce dynamická struktura.

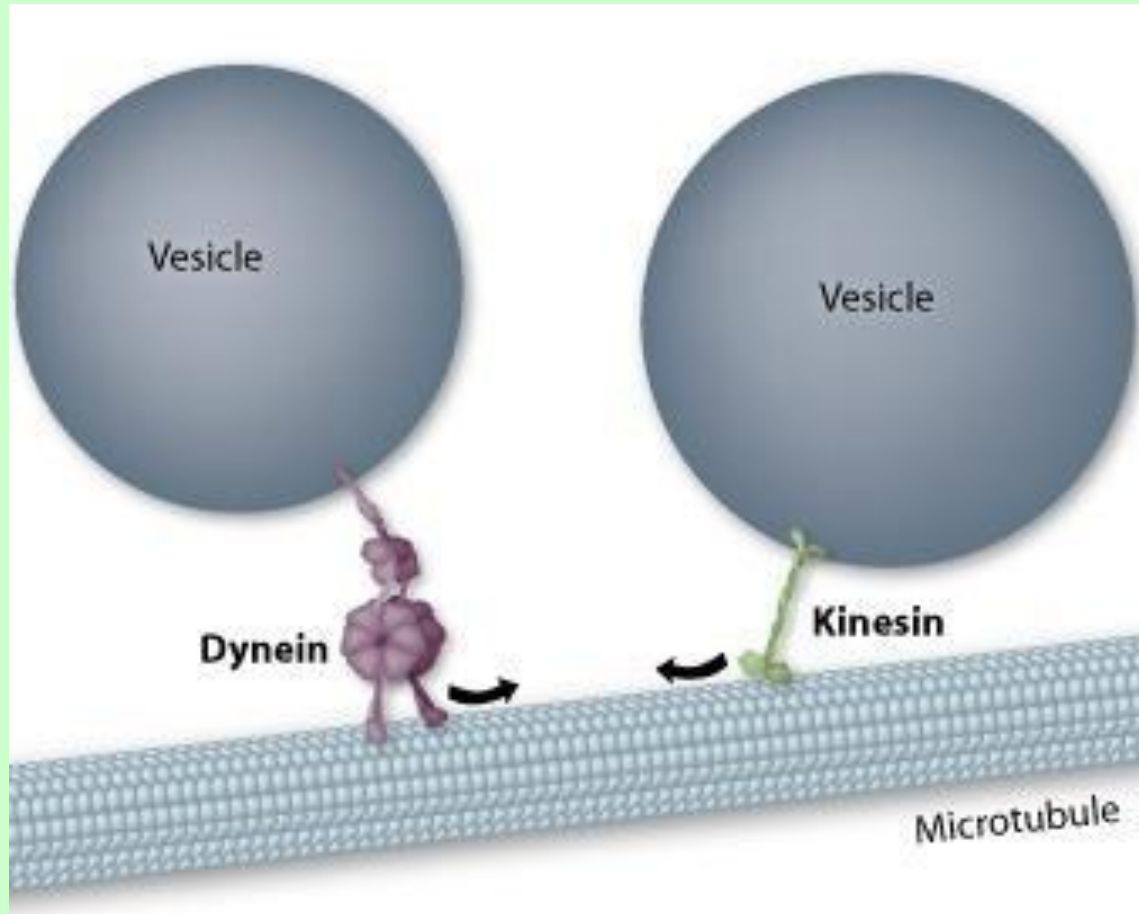
Mikrotubulus

+

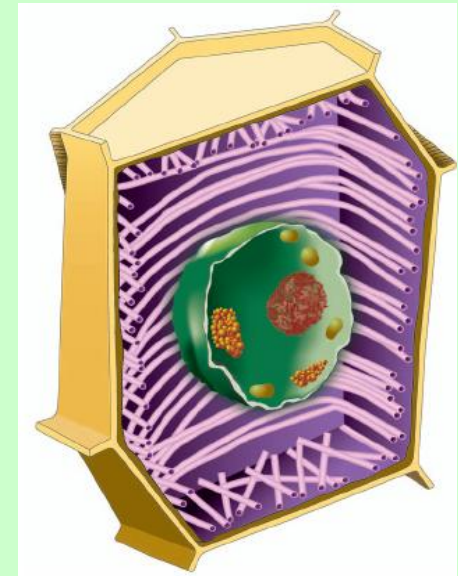
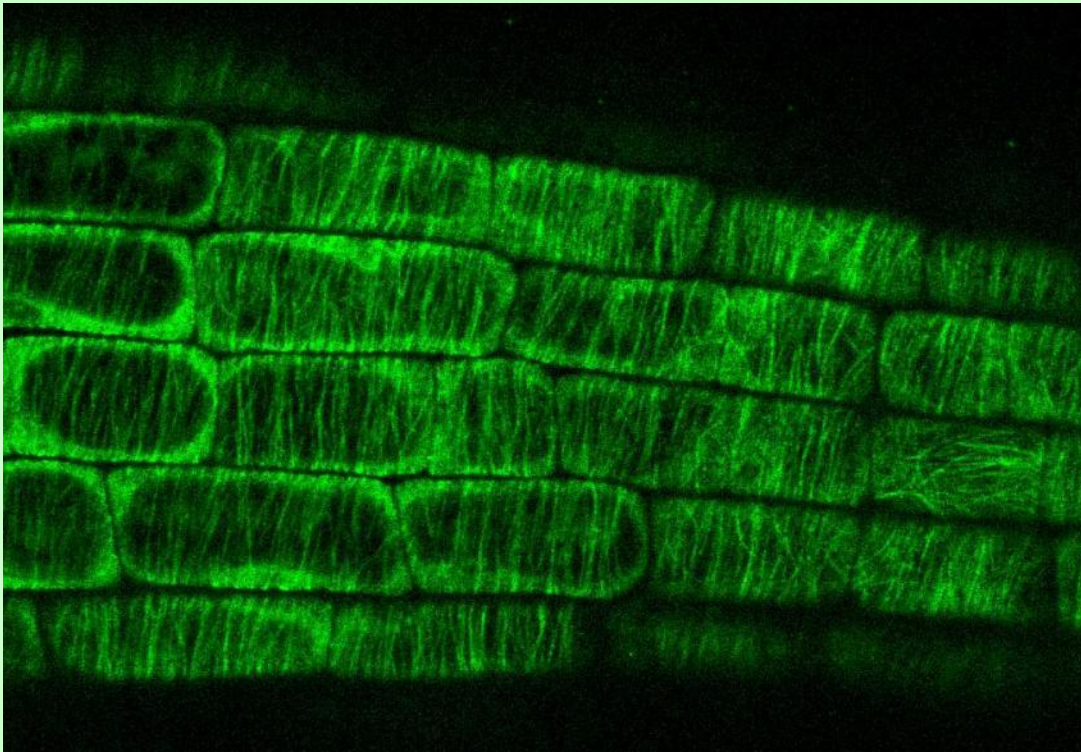


-

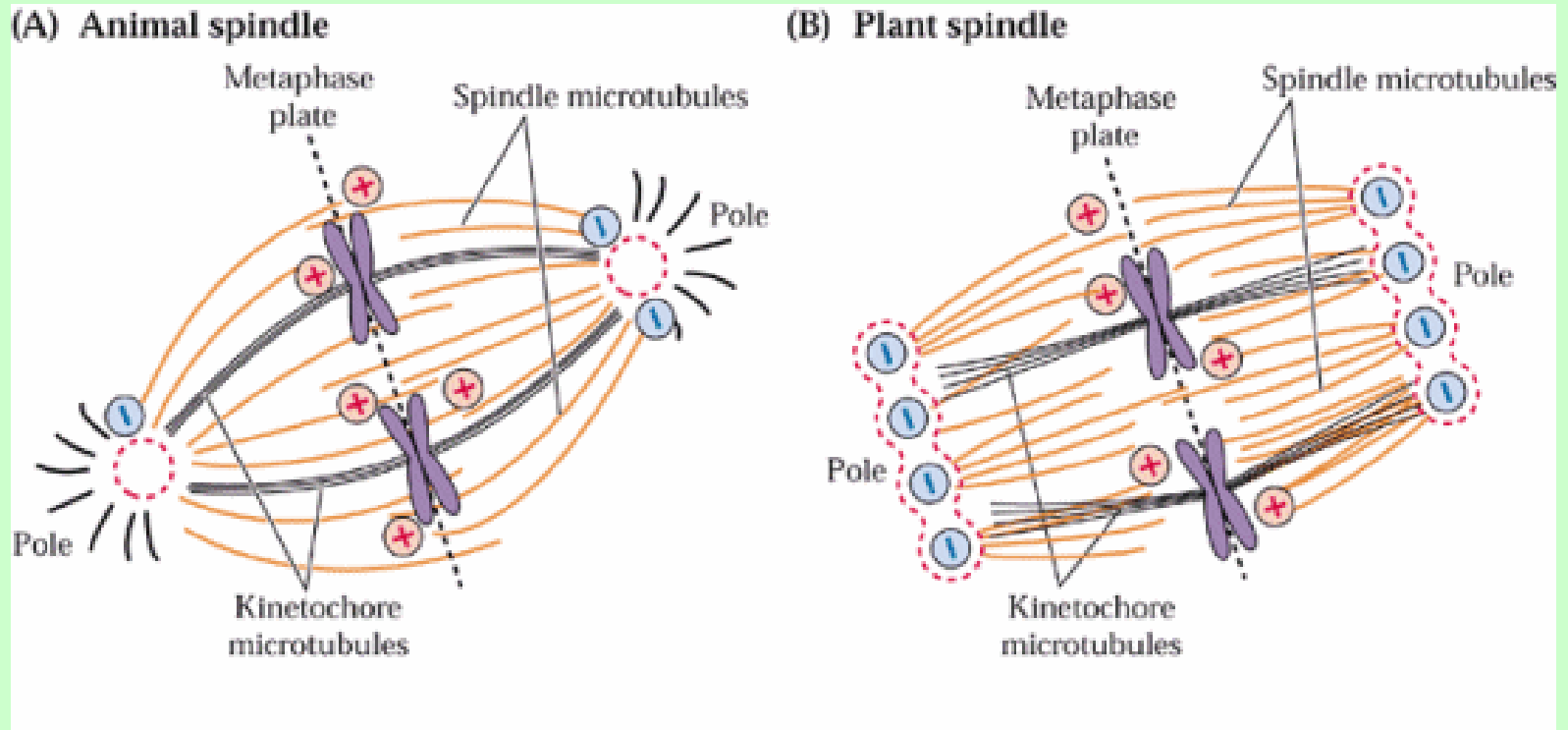
Proteiny asociované s mikrotubuly umožňují transport podél mikrotubulů (molekulární motory)



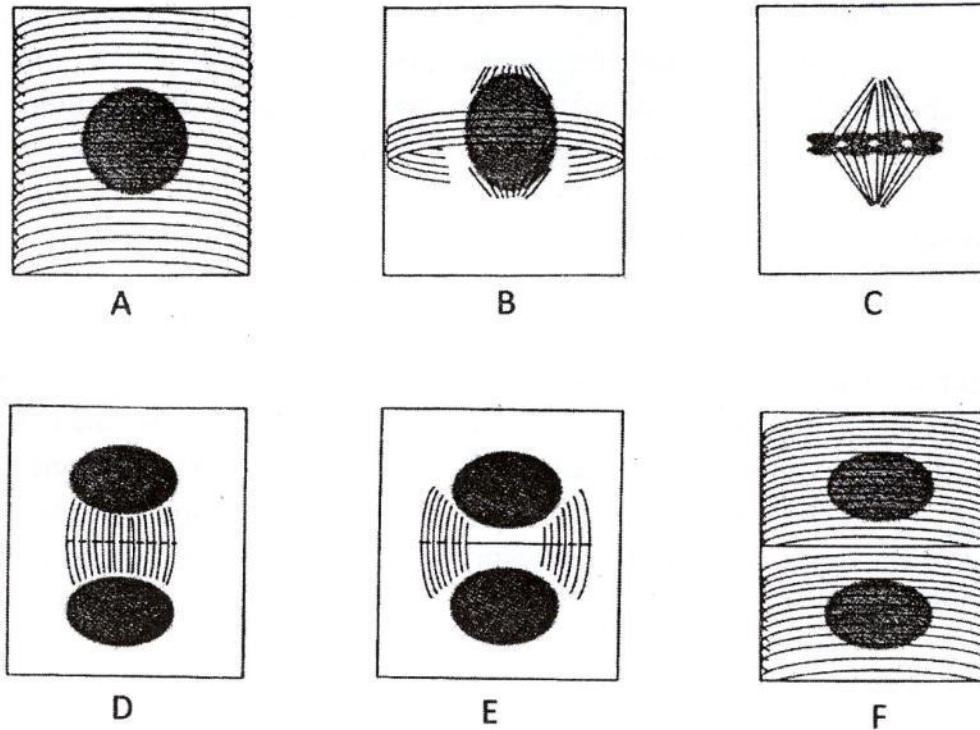
Kortikální mikrotubuly v rostlinných buňkách



Mitotické vřeténko u živočichů a rostlin



Změny v uspořádání mikrotubulů během buněčného cyklu u rostlin



Obr.42 Změny v uspořádání mikrotubulů v průběhu buněčného cyklu

A – interfáze, kortikální mikrotubuly uspořádané v cytoplasmě pod plasmalemou,

B – konec G_2 fáze, mikrotubuly tvoří preprofázový prstenec,

C – metafáze, mikrotubuly tvoří mitotické vřeténko,

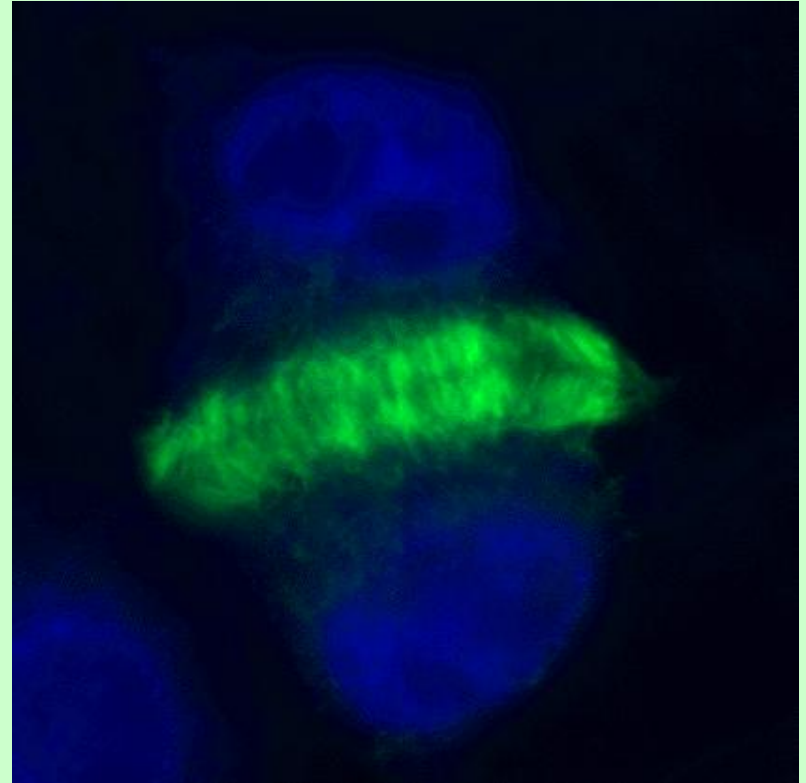
D – počátek telofáze, mikrotubuly tvoří soudečkovitý fragmoplast mezi dceřinými jádry, uvnitř fragmoplastu začíná vznikat přepážka,

E – pokročilá telofáze, mikrotubuly tvoří prstencovitý fragmoplast, mezi jádry vzniká přepážka,

F – dvě dceřiné buňky v interfázi s kortikálními mikrotubuly

Fragmoplast

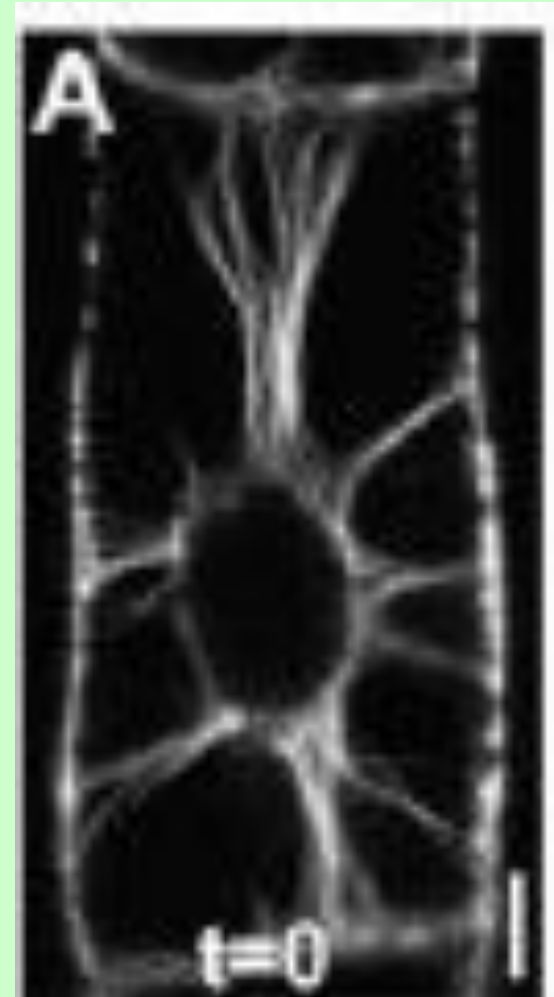
- dvě antiparalelní řady mikrotubulů, tvořící prstenec rostoucí centrifugálně (odstředivě)
- „lešení“ pro tvorbu buněčné přepážky (buněčné desky)
- Kromě MT je tvořen aktinem, váčky GA, ER, a mnohými proteiny (např. motorové proteiny).
- Po fusi nové přepážky s mateřskou buněčnou stěnou fragmoplast mizí.



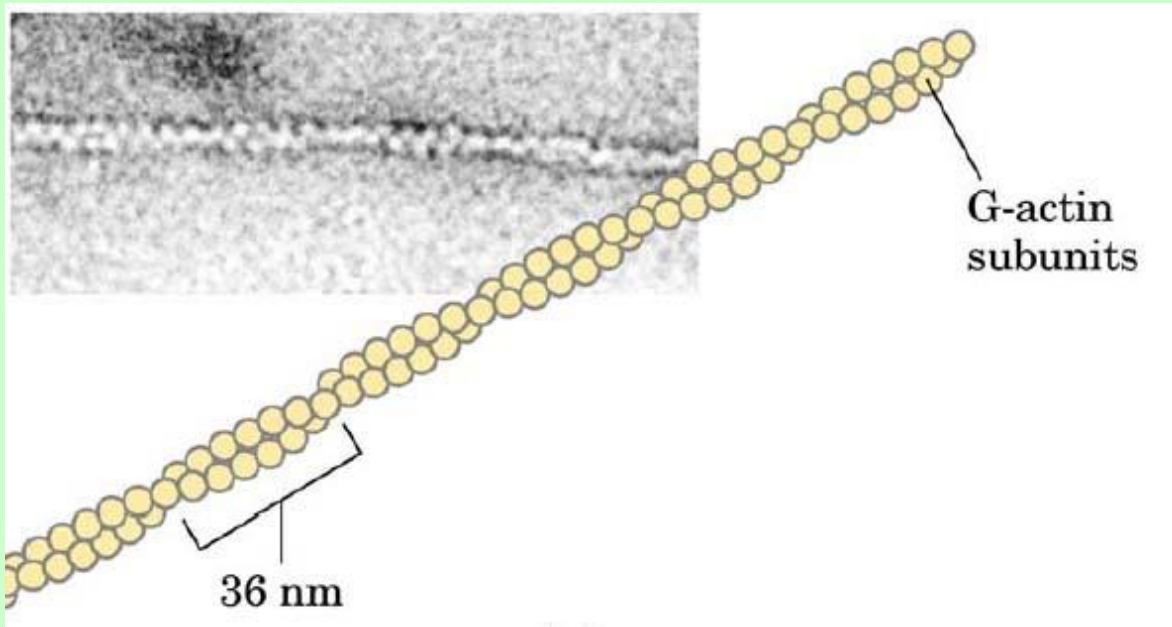
Endoplasmatické mikrotubuly

- nukleace MT na jaderném obalu

- Mikrotubuly nukleované na jaderné membráně
- Lze pozorovat v G2 fasi a přechodu do mitosy (kontrola posice jádra)
- Těsně po obnovení jaderné membrány v telofasi, při přechodu od fragmoplastu ke kortikálnímu uspořádání MT
- Jaderná membrána je „silným nukleátorem“ MT též:
 1. Ve stresových situacích, kdy došlo k dočasné depolymeraci MT (chlad)
 2. V okamžicích, kdy není vytvořena BS



Aktinová filamenta (vlákna)



Aktinová filamenta:

Základní stavební jednotka aktinových vláken je globulární protein aktin.

Aktin polymeruje do vlákna: dvě pravotočivé šroubovice o průměru cca 8 nm.

Také aktinové filamentum je polarisovaná a vysoce dynamická struktura.

Role aktinu

Proudění cytoplasmy – hlavní silou je aktomyosinem hnaný pohyb organel

Struktura cytoplasmy – architektura cytoplasmatických provazců a vakuoly

Posice organel – jádro, chloroplasty, mitochondrie, ER

Kontrola expanse buňky – především pylová láčka a kořenové vlásky

Zprostředkování **gravitropické reakce**

Pohyb chloroplastů v buňce je řízen aktinovým cytoskeletem



Apikální růst

Příklady apikálního růstu: kořenové vlásky a pylové láčky, rhizoidy řas

Pro apikální růst je nezbytný funkční aktinový cytoskelet a funkční sekrece Golgiho váčků.

Signalisace směrovanými toky Ca^{2+} iontů

Regulace pomocí enzymů Rop GTPas

