

4. Autotrofie rostlinných buněk

- **Organely energetického metabolismu rostlinných buněk**

- **Mitochondrie a dýchání**

Původ a funkční struktura mitochondrií a její zvláštnosti u rostlin

- **Plastidy (chloroplasty) a fotosynthesa**

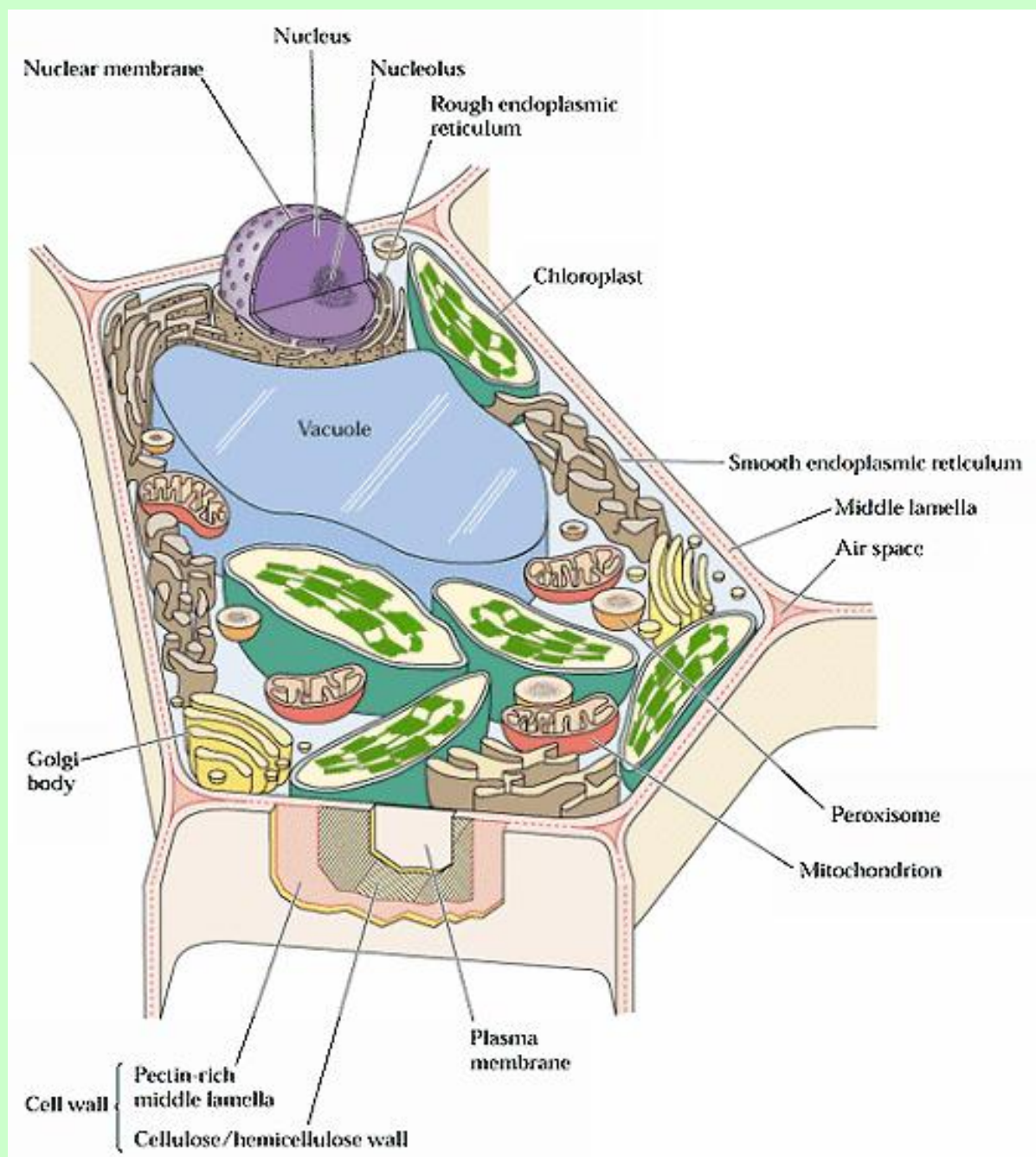
Původ plastidů

Funkční struktura chloroplastů a jejich význam pro biosféru a výživu lidstva,
biotechnologické využití chloroplastů

Vzájemné přeměny plastidů, nezelené plastidy

- **Důsledky autotrofie rostlin:**

Vakuolisace buněk, buněčné stěny, nepohyblivost (přisedlý způsob života)



Mitochondrie

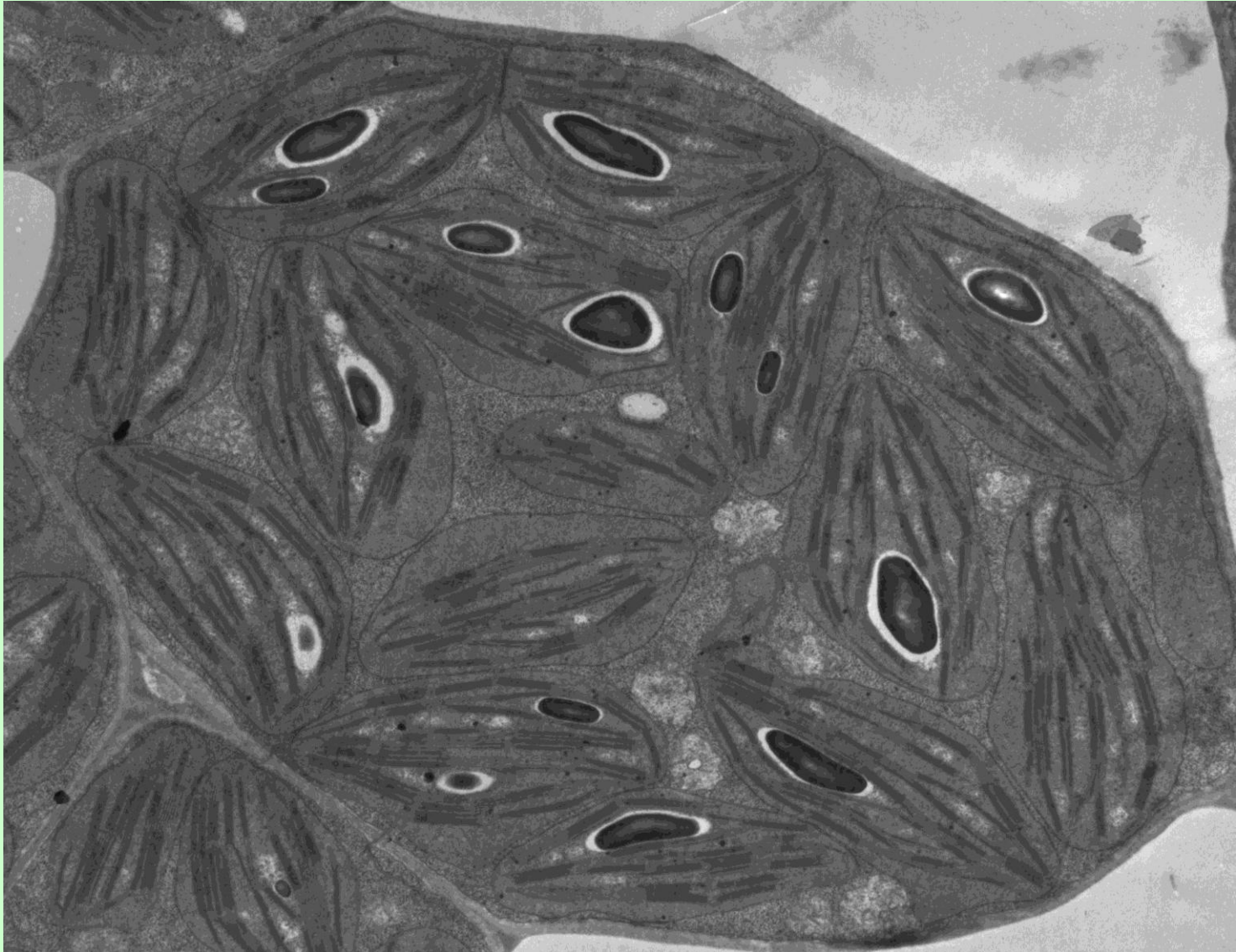
Mitochondrie jsou organely energetického metabolismu, tvořené vnější a vnitřní mitochondriální membránou a mitochondriální matrix, geneticky semiautonomní (obsahují vlastní DNA), množící se dělením, schopné aerobní respirace – buněčného dýchání. Mají je patrně všichni eukaryoti.

Chloroplasty (Plastidy)

Chloroplasty (plastidy) jsou organely energetického metabolismu, obalené dvěma membránami, geneticky semiautonomní (obsahují vlastní DNA), množící se dělením, schopné (alespoň potenciálně) fotosynthesy. Mají je pouze rostliny a rostlinám příbuzní jednobuněčné eukaryoti.



Chloroplasty a mitochondrie v buňce mladého listu fazolu



Krátká historie studia mitochondrií

Jako granulární struktury pozorovány v buňkách od poloviny 19. století

1886, Richard Altmann: popsal pozorování *bioblastů* a navrhl hypotézu, že se jedná o místo buněčné oxidace

1888, Albert von Kölliker: první jasná izolace a popis mitochondrií z hmyzího létacího svalu, popis membránového obalu

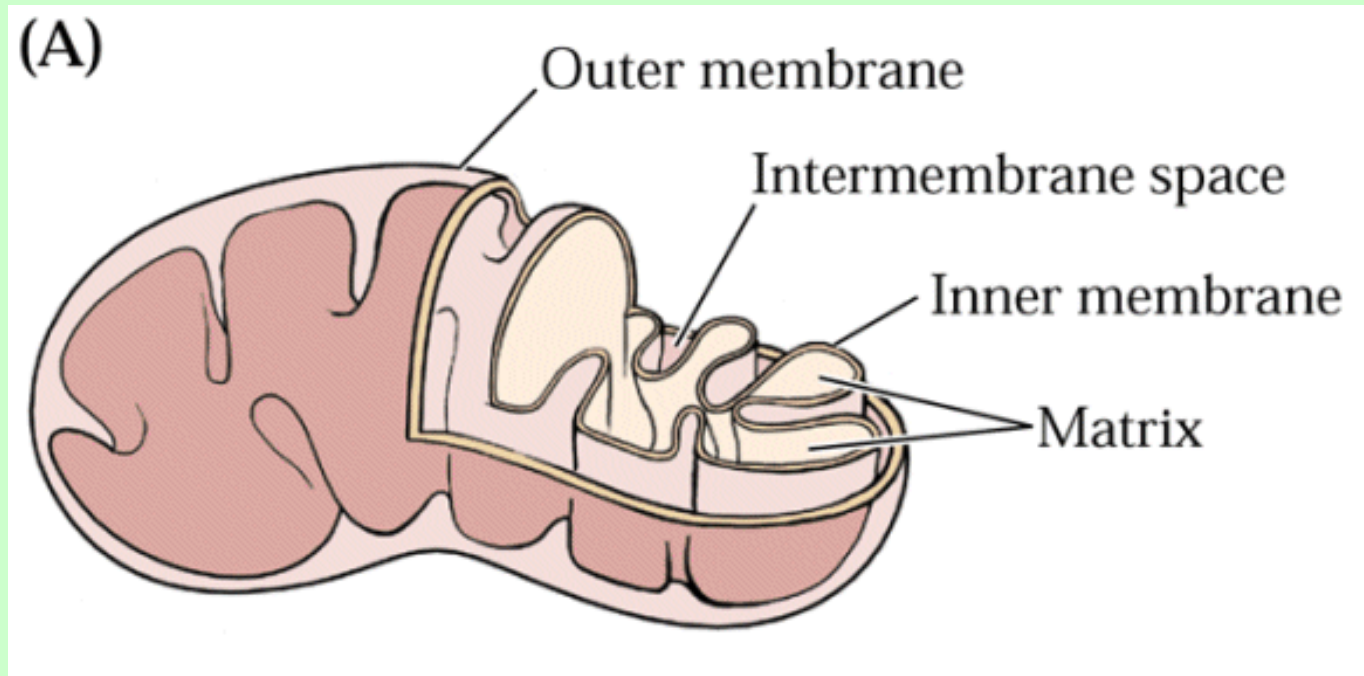
1898, Carl Benda: jméno **mitochondrion** – mitochondrie, tedy „**vláknozrno**“ (doposud se mitochondrie pojmenovávaly různě: *sarcosomes*, *bioblasts*, *chondriocents*)

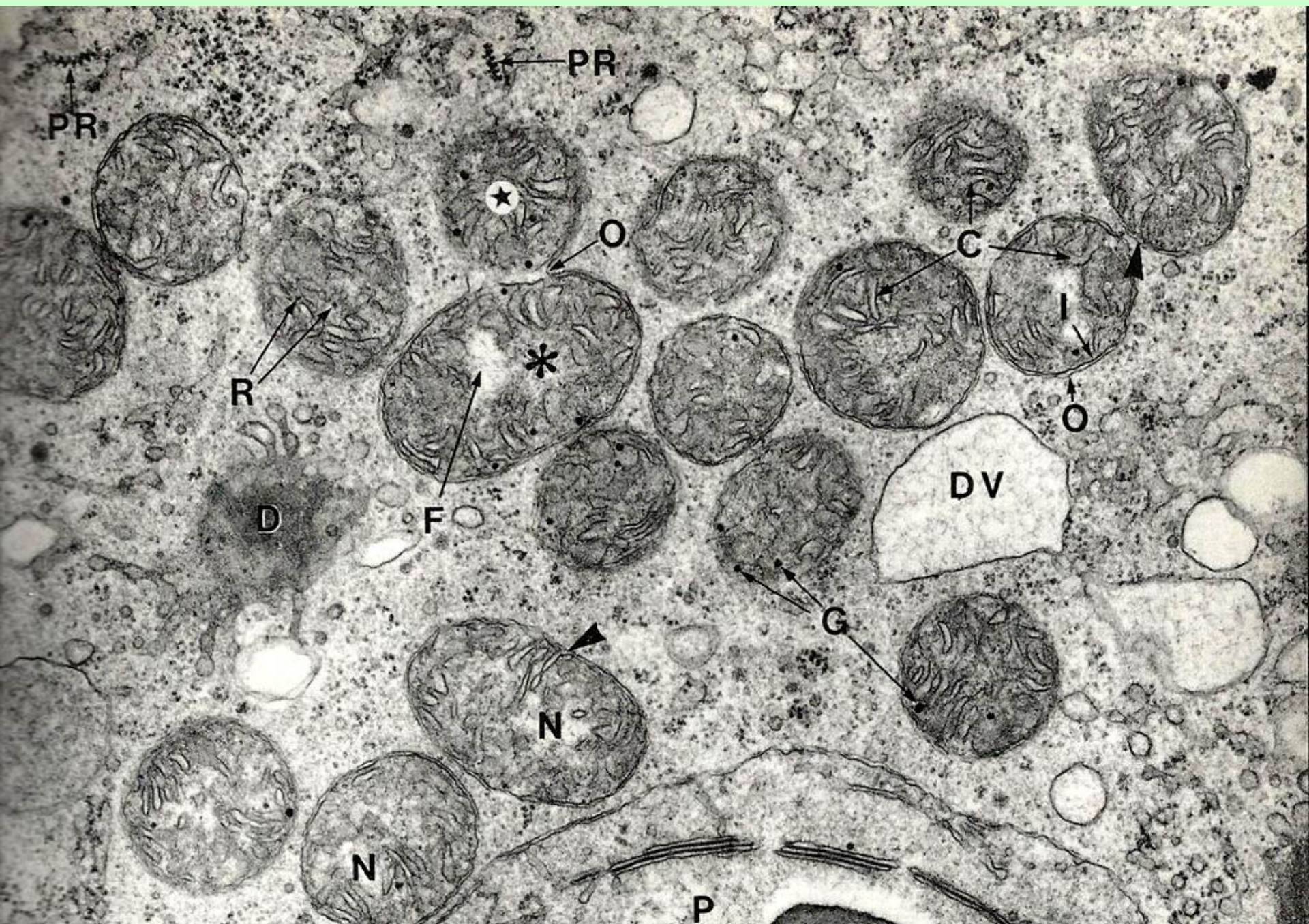
1898, Michaelis: oxidoredukční změny v mitochondriích

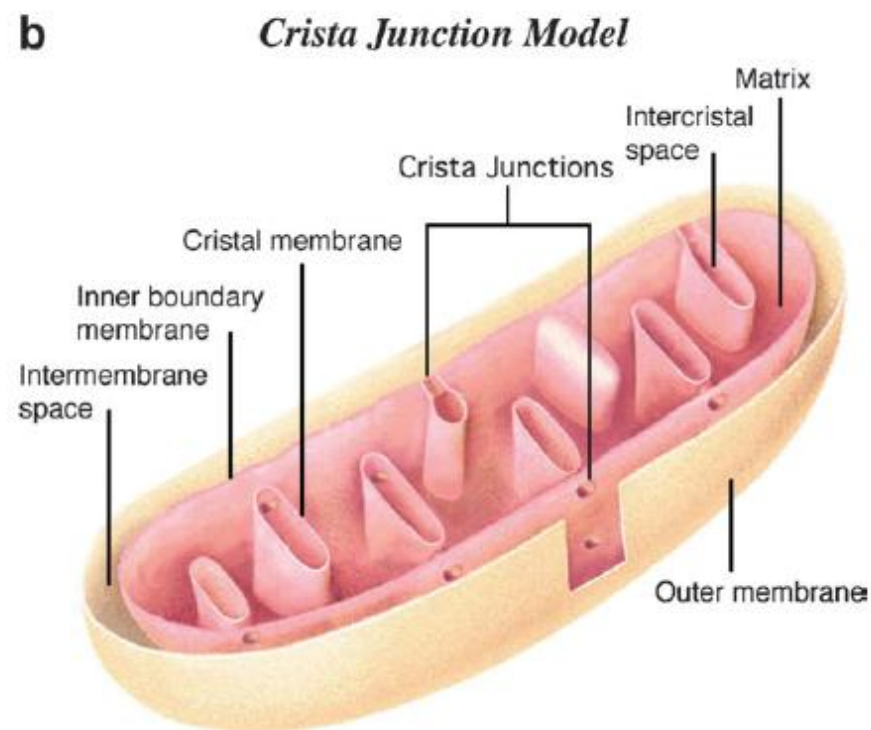
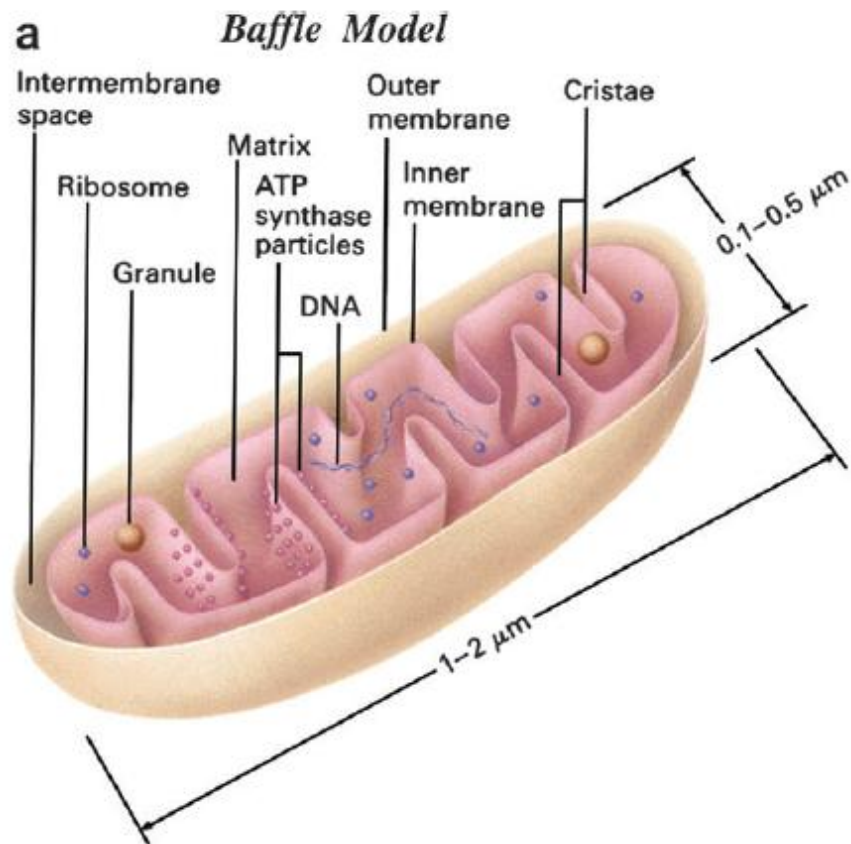
1949, Eugene Kennedy a Albert Lehninger: důkaz, že mitochondrie jsou místem oxidačního energetického metabolismu

Rozvoj fluorescenční mikroskopie asi od 80. let 20. století: pozorování dynamiky mitochondrií v buňkách

Ultrastruktura mitochondrií







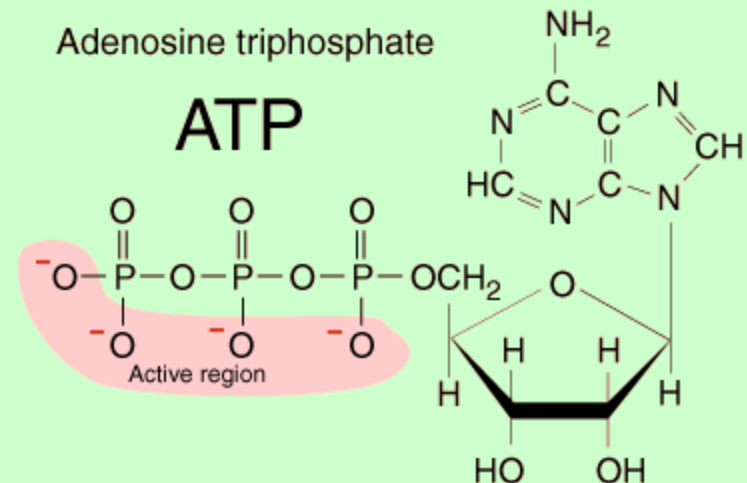
Journal of Experimental Botany, Vol. 57, No. 6, pp. 1225–1243, 2006

Aerobní respirace: hlavní funkce mitochondrií

Aerobní respirace: sled metabolických reakcí, ve kterém jsou oxidovány organické látky na CO_2 a H_2O , a uvolněná energie je uskladněna jako ATP. Hlavní produkty respirace jsou tedy: **CO_2 , H_2O a ATP.**

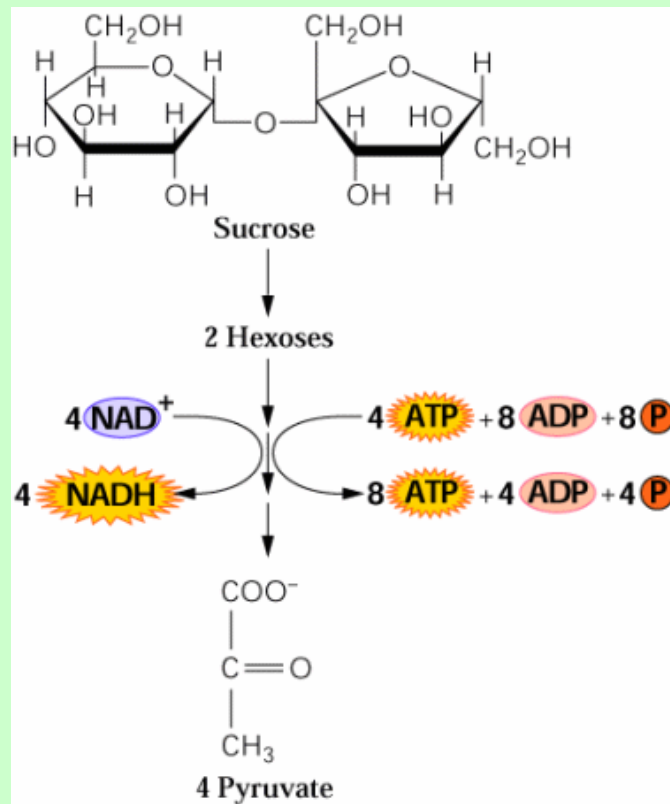
3 fáze aerobní respirace:

1. Glykolysa
2. Citrátový (Krebsův) cyklus
3. Oxidativní fosforylace



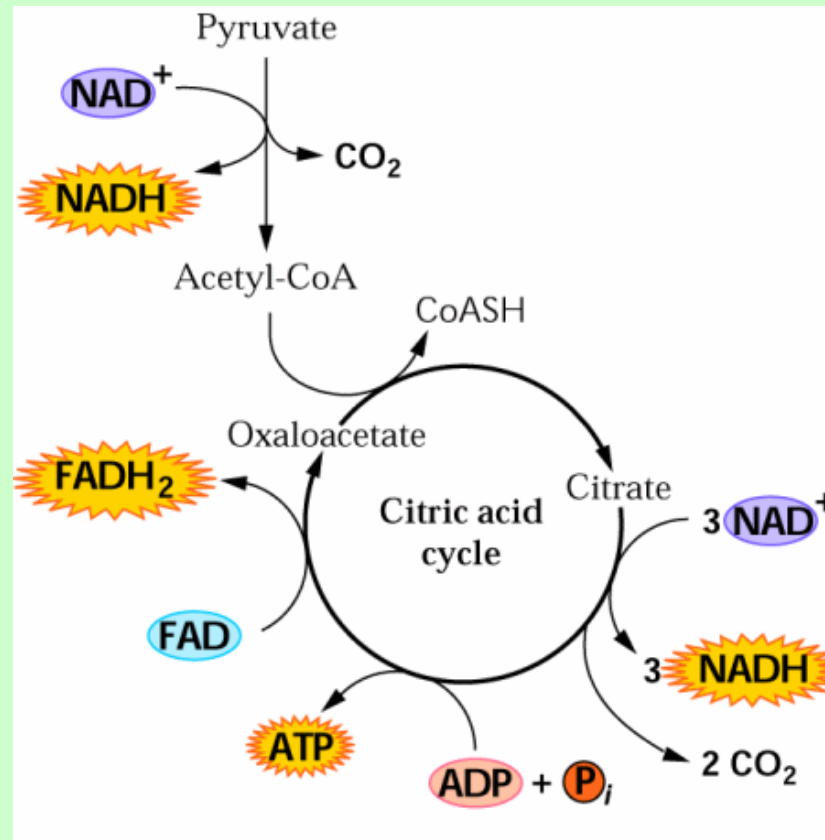
1. Glykolysa

- Probíhá v cytosolu (základní cytoplasmě)
- Zahrnuje enzymy, oxidující cukry na organické kyseliny, především pyruvát
- Organické kyseliny jsou transportovány do matrix mitochondrií



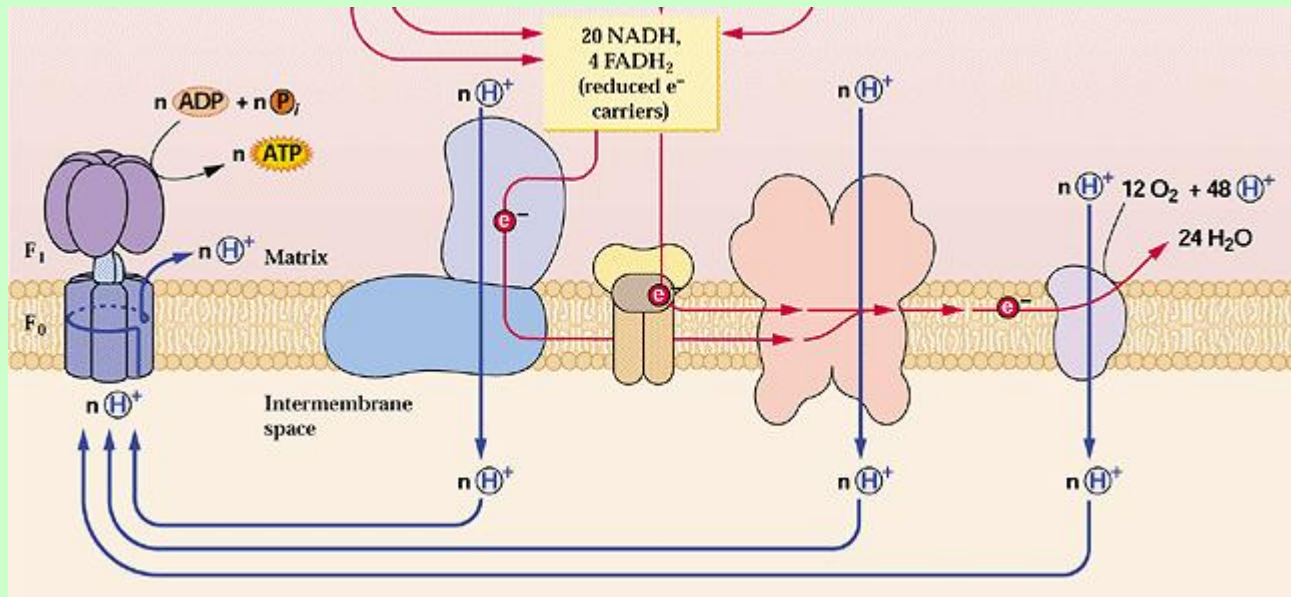
2. Citrátový cyklus (CC)

- Probíhá v matrix mitochondrií
- Do CC vstupuje pyruvát, metabolisovány mohou být ale také aminokyseliny či mastné kyseliny
- V CC je kompletně oxidován pyruvát na CO_2 za redukce NAD^+ a FAD a vzniku ATP

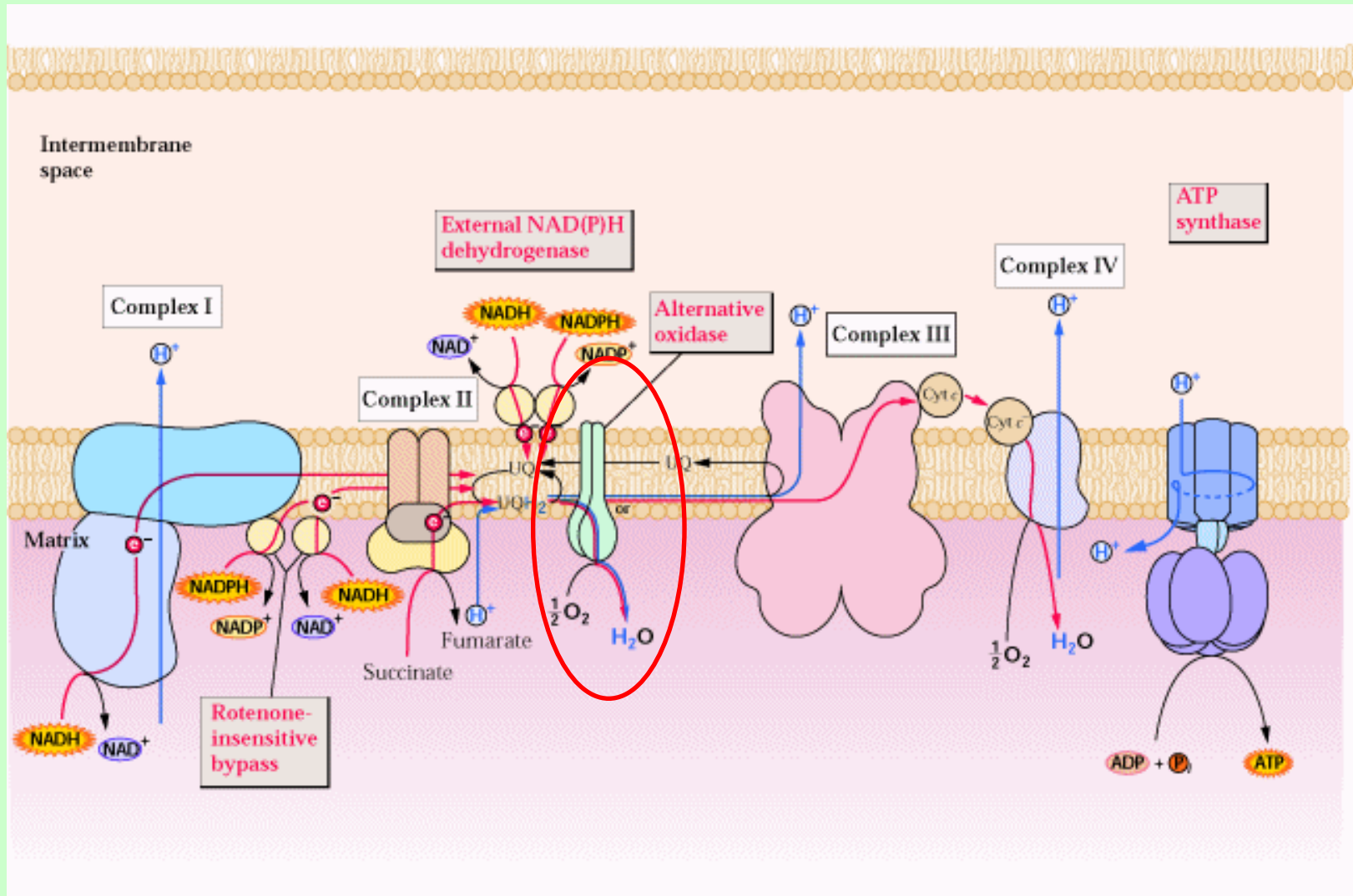


3. Oxidativní fosforylace (pomocí elektrontransportního řetězce)

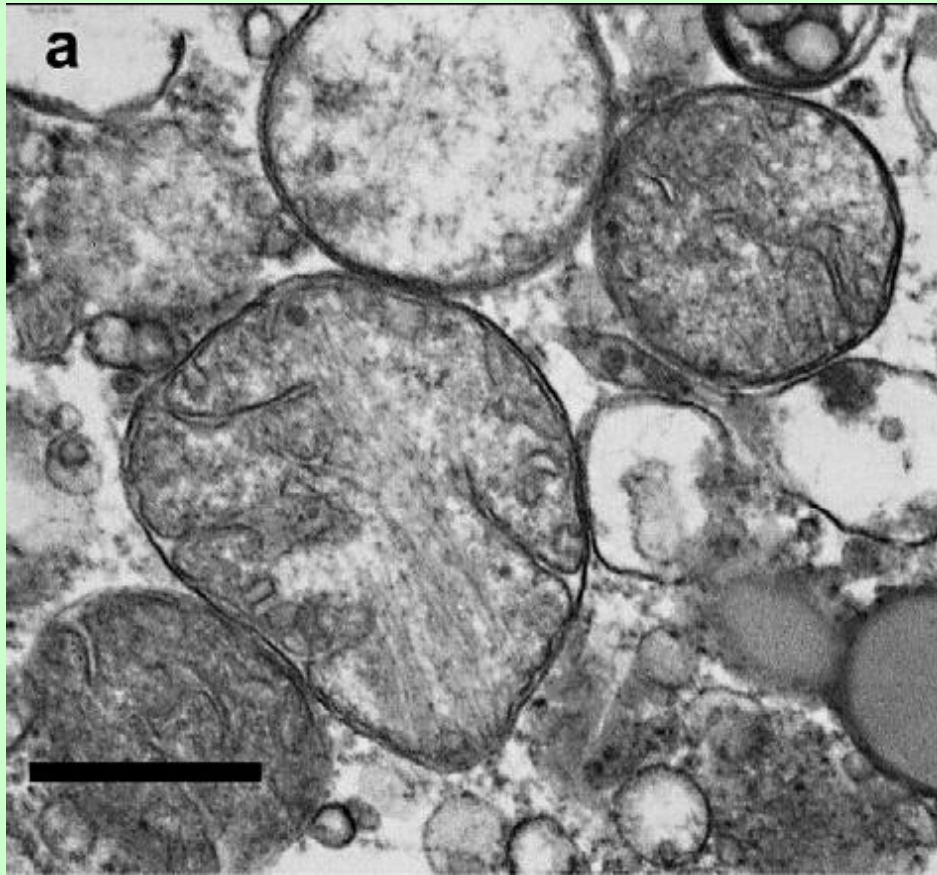
- Probíhá na vnitřní membráně mitochondrií
- Redukované NADH a FADH_2 jsou oxidovány složkami řetězce
- Konečným akceptorem elektronů je molekula kyslíku za vzniku vody
- **Volná energie, uvolněná při oxidaci, je využívána na tvorbu elektrochemického gradientu na vnitřní membráně (H^+ ionty se hromadí v mezimembránovém prostoru)**
- **Gradient využívá ATP synthasa na tvorbu ATP (translokace protonů po koncentračním spádu)**



3. Oxidativní fosforylace (elektrontransportní řetězec) - - Alternativní oxidasa u rostlin

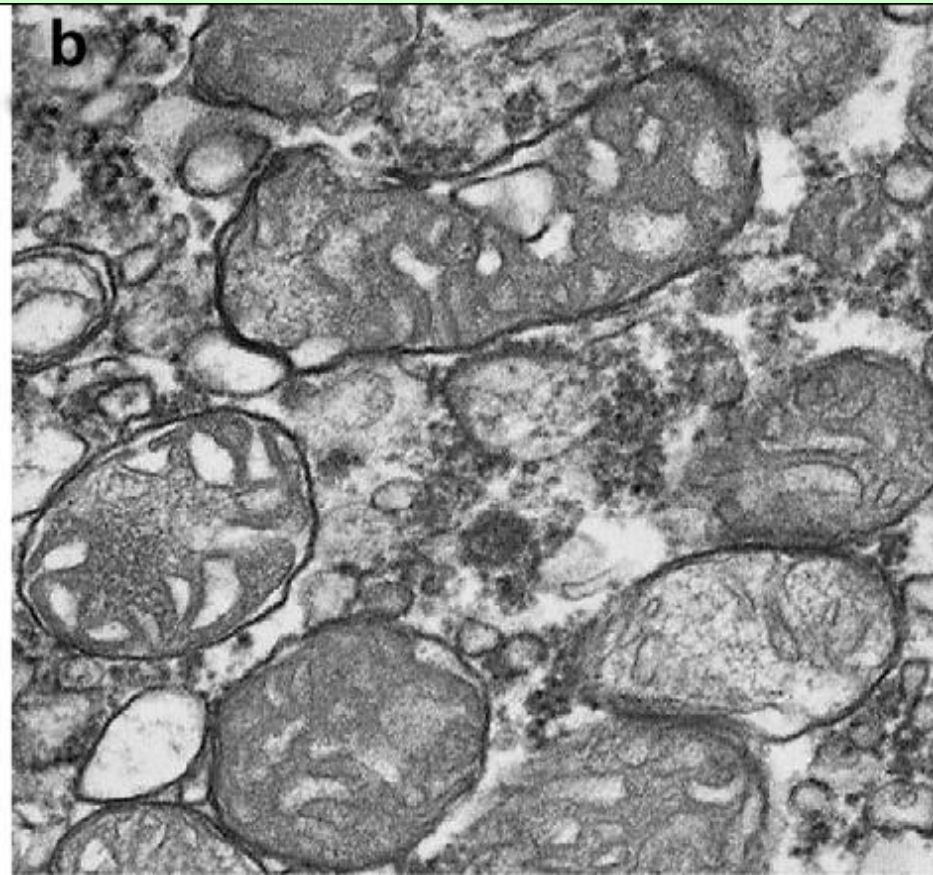


Vliv metabolické aktivity na morfologii mitochondrií



Orthodoxní stav

(zvětšený prostor matrix a málo krist)



Kondensovaný stav

(zvětšený prostor krist)

Journal of Experimental Botany, Vol. 57, No. 6, pp. 1225–1243, 2006

Rostlinná buňka, Katedra experimentální biologie rostlin PŘF UK

Transport proteinů do mitochondrií

DNA rostlinných mitochondrií kóduje 3-67 proteinů.

Odhadem 1000 proteinů musí být transportováno z cytoplasmy.

Transportované proteiny obsahují signální presekveni. (Transport do matrix – nutné dvě presekvence.)

Transport - v nesbaleném nebo velmi volně sbaleném stavu.

Translokasy - proteinové komplexy zajišťující transport skrze mitochondriální membrány:

TOM komplex (Translocase of the **O**uter **M**embrane)

TIM komplex (Translocase of the **I**nnner **M**embrane)

Genom rostlinných mitochondrií

Mitochondriální genom:

Velikost:

Buněk živočichů

14-42 kb

Buněk hub

18-176 kb

Buněk rostlin

200 (*Brassica*) -2400kb (meloun)

Plastidový genom:

120-200 kb

Proteiny kódované mitochondriálním genomem:

Živočichové

cca 13 proteinů + komponenty pro translaci

Rostliny

57 proteinů + další předpokládané ORF

geny pro: tRNA; rRNA pro malou a velkou ribosomální podjednotku;
proteiny energetického metabolismu; několik ribosomálních proteinů;
proteiny neznámé funkce

Dělení mitochondrií

Mitochondrie nevznikají de novo, ale pouze dělením.

FtsZ (Filamentous temperature-sensitive line **Z**) protein se podílí na dělení téměř všech prokaryot

Role FtsZ v dělení **plastidů** – podílí se na tvorbě PD prstence

X

Hlavní prokaryotní komponenty dělicího aparátu se v mitochondriích vyšších eukaryot nedochovaly (geny nenalezeny v *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans* ani *Arabidopsis*).

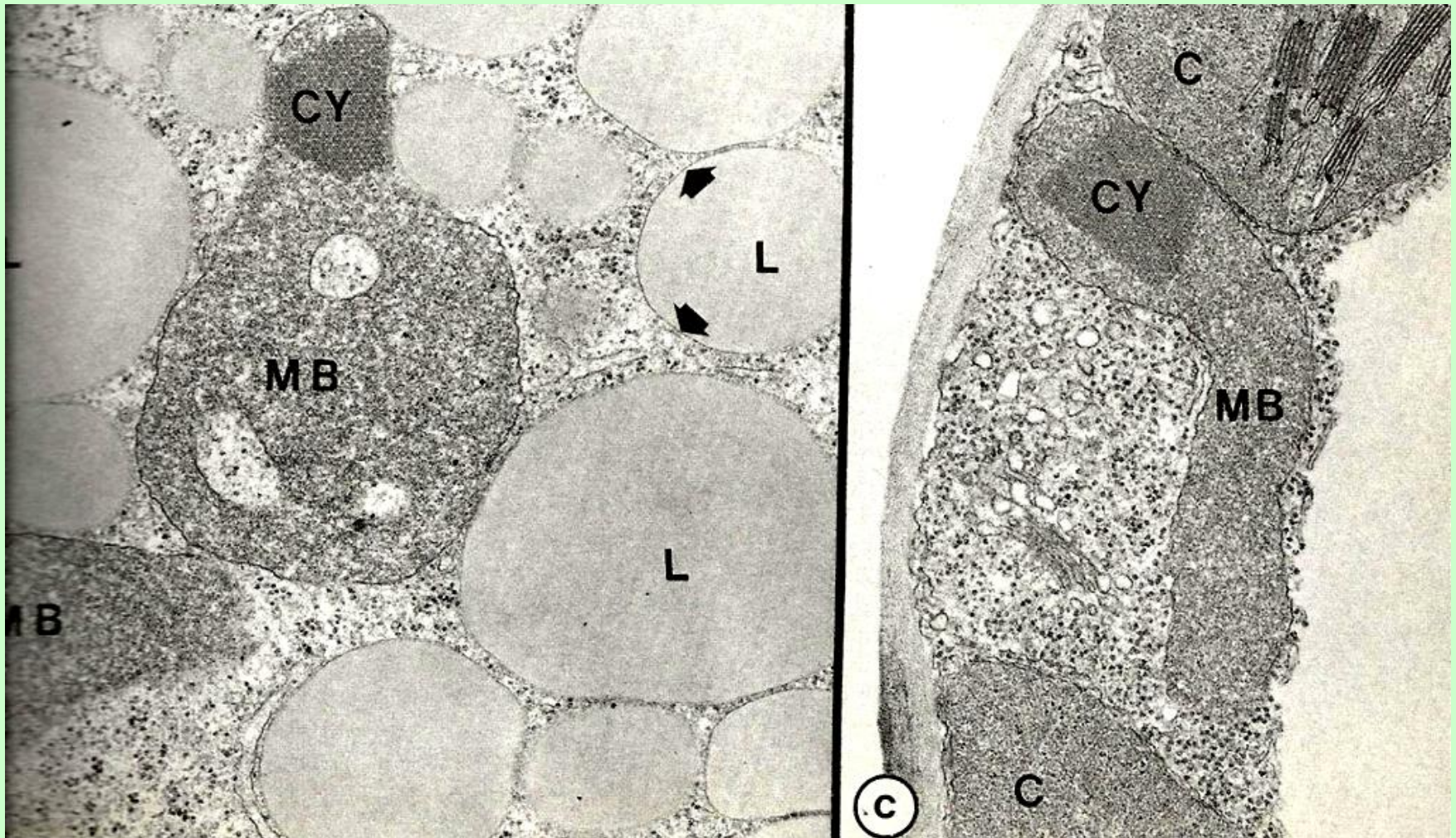
→ **Nahrazeny byly eukaryotními proteiny – dynaminy**

Peroxisomy

(též microbodies)

- Zpravidla sférické organely o průměru 0,2-1,7 mikrometru
- Obalené jednou membránou
- Někdy tubulární propojení
- Nalezeny ve všech eukaryotických buňkách
- Rostlinné peroxisomy mají specifické složení enzymů:
 - oxidoreduktasy
 - katalasy
 - enzymy beta-oxidace mastných kyselin
 - enzymy pro biosyntesu některých fytohormonů

Peroxisomy (MB)



Peroxisomy

Typy rostlinných peroxisomů:

Peroxisomy listových buněk (role ve fotorespiraci)

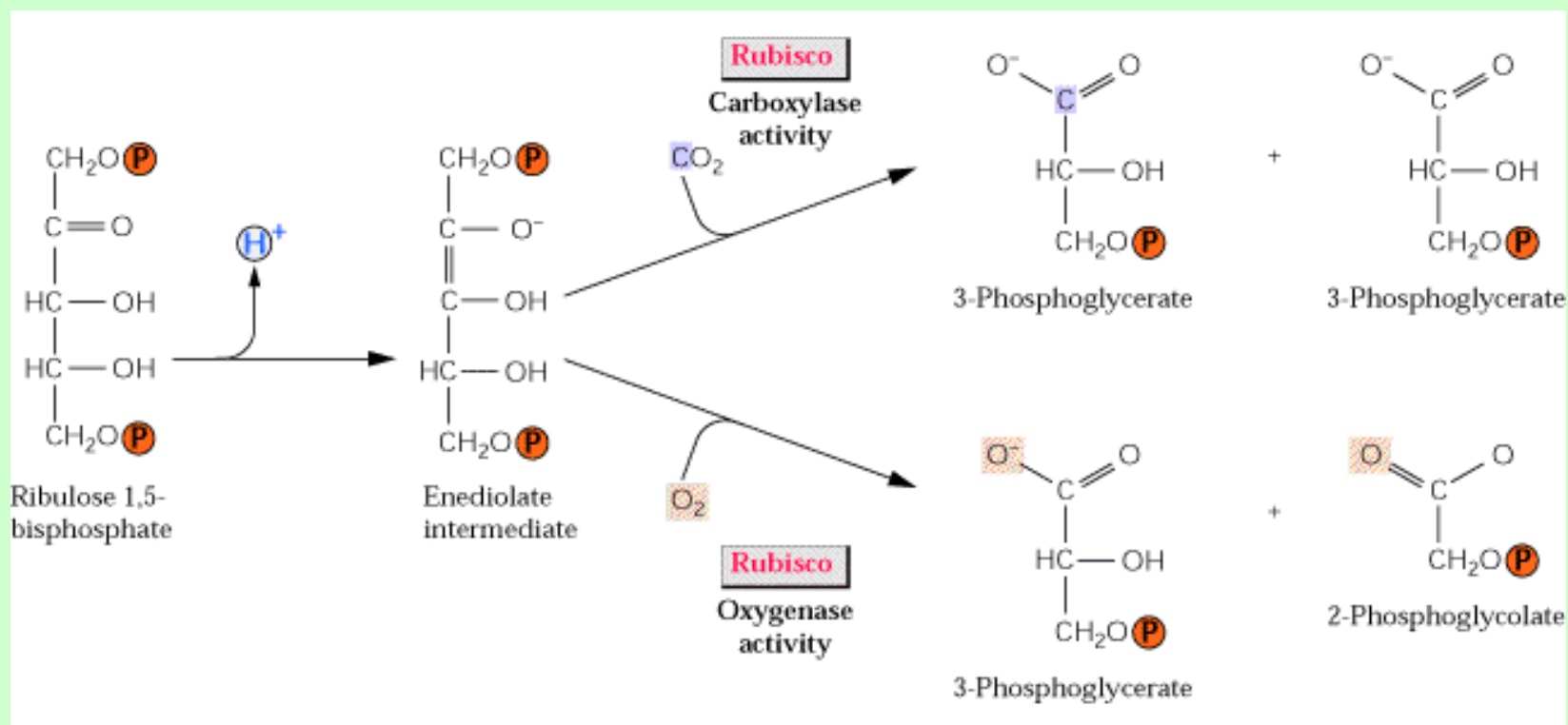
Glyoxysomy (semena bohatá na tuky jako zásobní látky, tuky mobilisovány β -oxidací mastných kyselin v peroxisomech)

Peroxisomy **ve specialisovaných buňkách kořenů bobovitých rostlin** (role ve fixaci vzdušného dusíku)

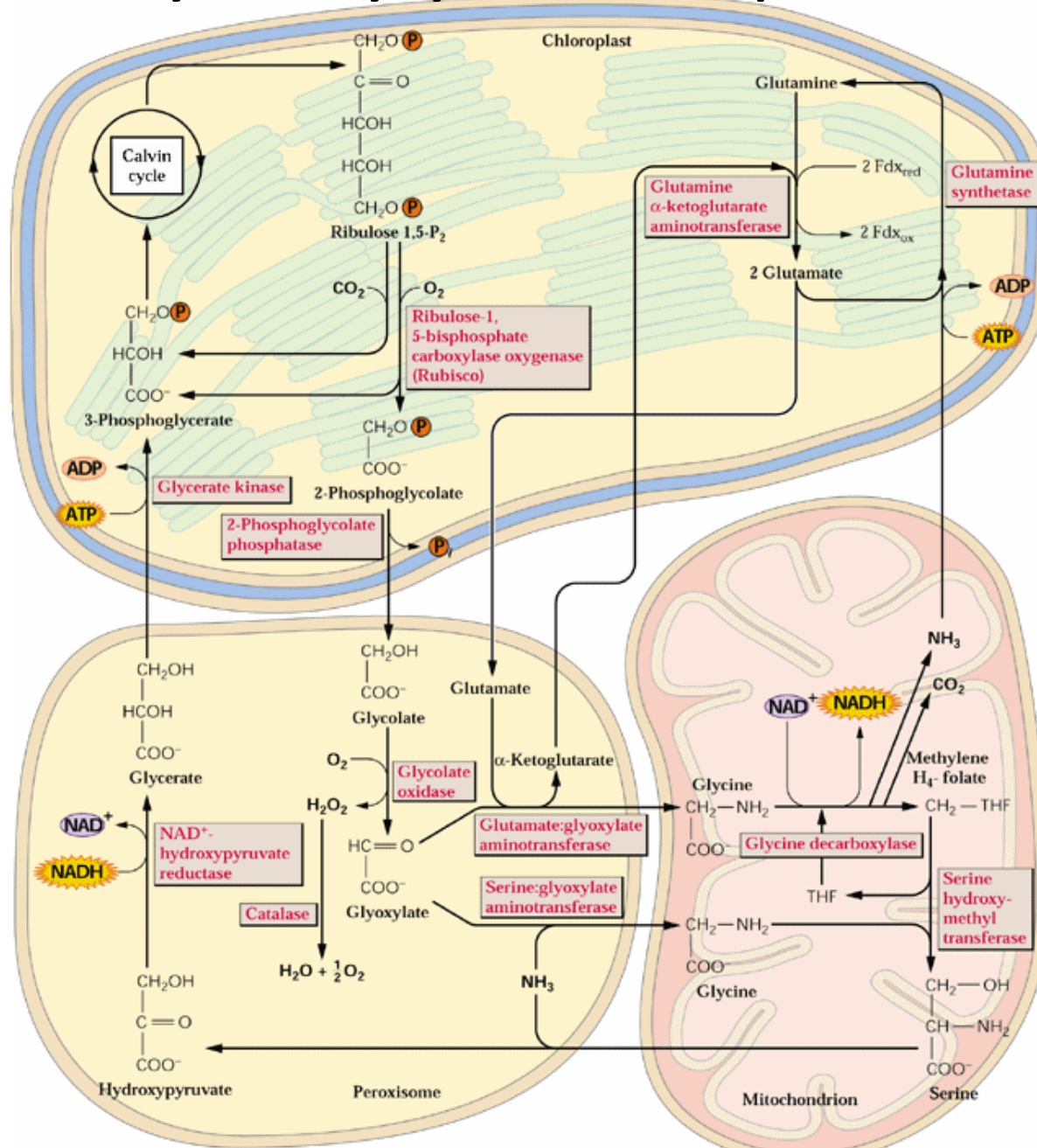
Role peroxisomů ve fotorespiraci

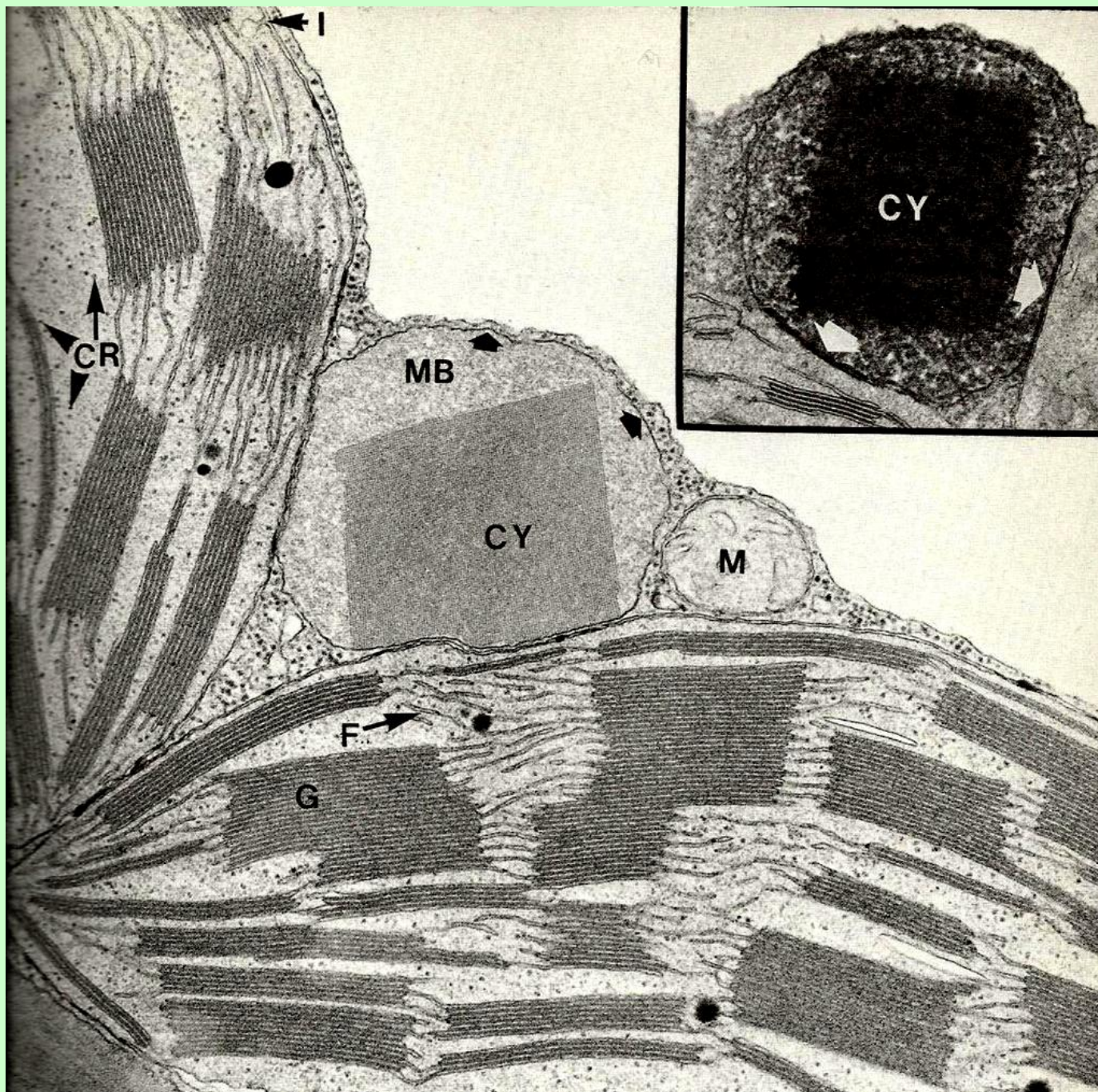
Fotorespirace je výsledkem vlastností centrálního fotosyntetického enzymu **Rubisco** v chloroplastech:

karboxylasová x oxygenasová aktivita enzymu Rubisco



Glykolátový cyklus - fotorespirace





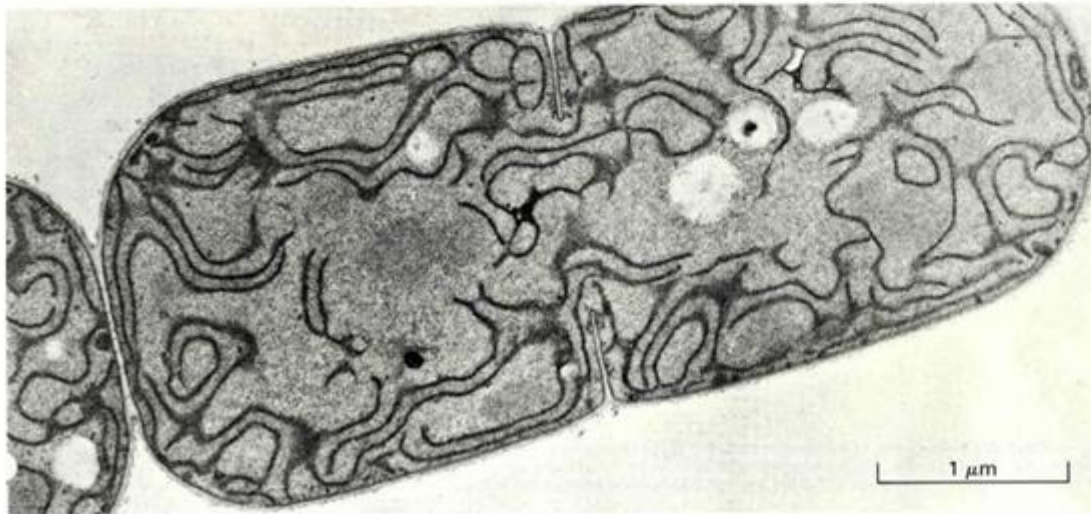
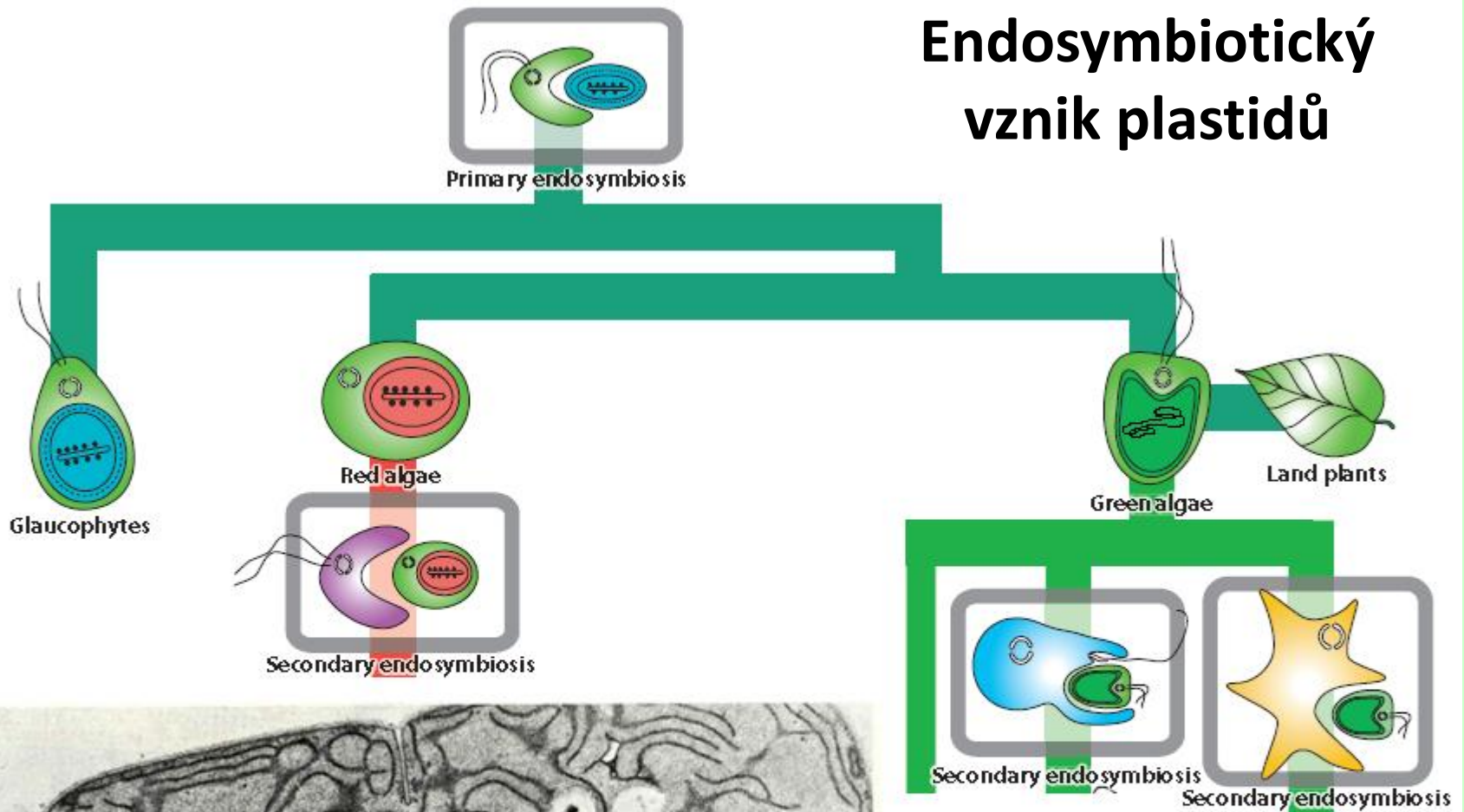
Plastidy



Krátká historie studia plastidů (chloroplastů)

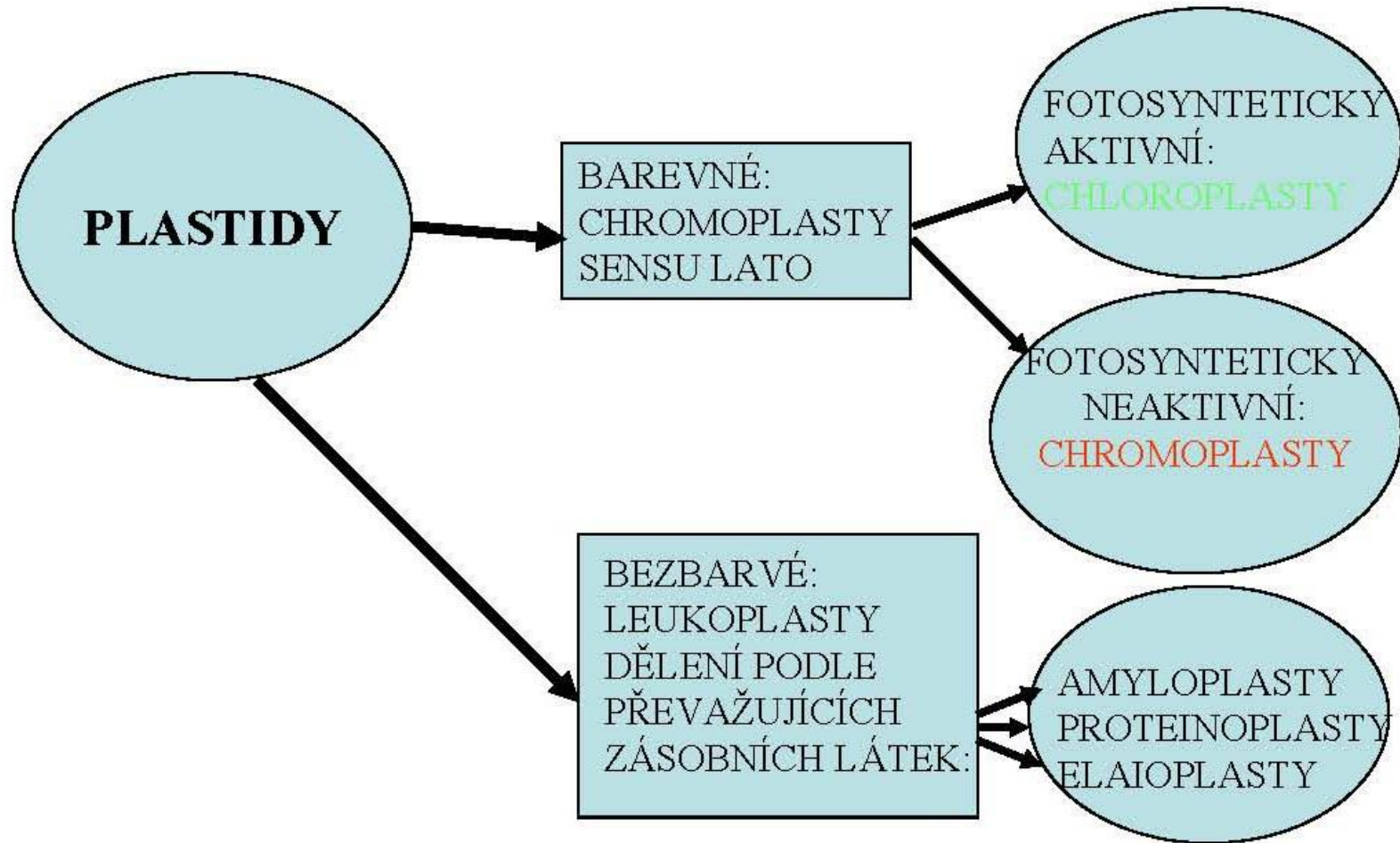
- Antonius van Leeuwenhoek pozoroval koncem 17. století zelené partikule v listech
- Hugo von Mohl a Carl Naegeli v polovině 19. století popsali složení těchto částic (chlorofyl, bílkoviny, škrob) a jejich dělení
- A.F.W. Schimper (1883) popsal a pojmenoval plastidy a **chloroplasty** – „zelené útvary“ jako jednu jejich skupinu
- K.S. Merežkovskij (1905): chloroplasty jsou symbioticky žijící řasy - endosymbiosa
- 1909, Carl Correns popsal maternální dědičnost některých charakteristik plastidů
- 1938, S. Granick a W. Menke poprvé isolovali chloroplasty, W. Menke později popsal jejich lamelární strukturu – thylakoidy
- 1954, D.I. Arnon: ve chloroplastech probíhá celá fotosynthesa
- 1962, Hans Ris a Walter Plaut poprvé prokázali ve chloroplastech DNA
- Od 80. let 20. století byl osekvenován chloroplastový genom mnoha druhů rostlin
- Na přelomu 20. a 21. století byla popsána molekulární stavba bílkovinných komplexů thylakoidních membrán, na kterých probíhají primární, světelné reakce fotosynthesy

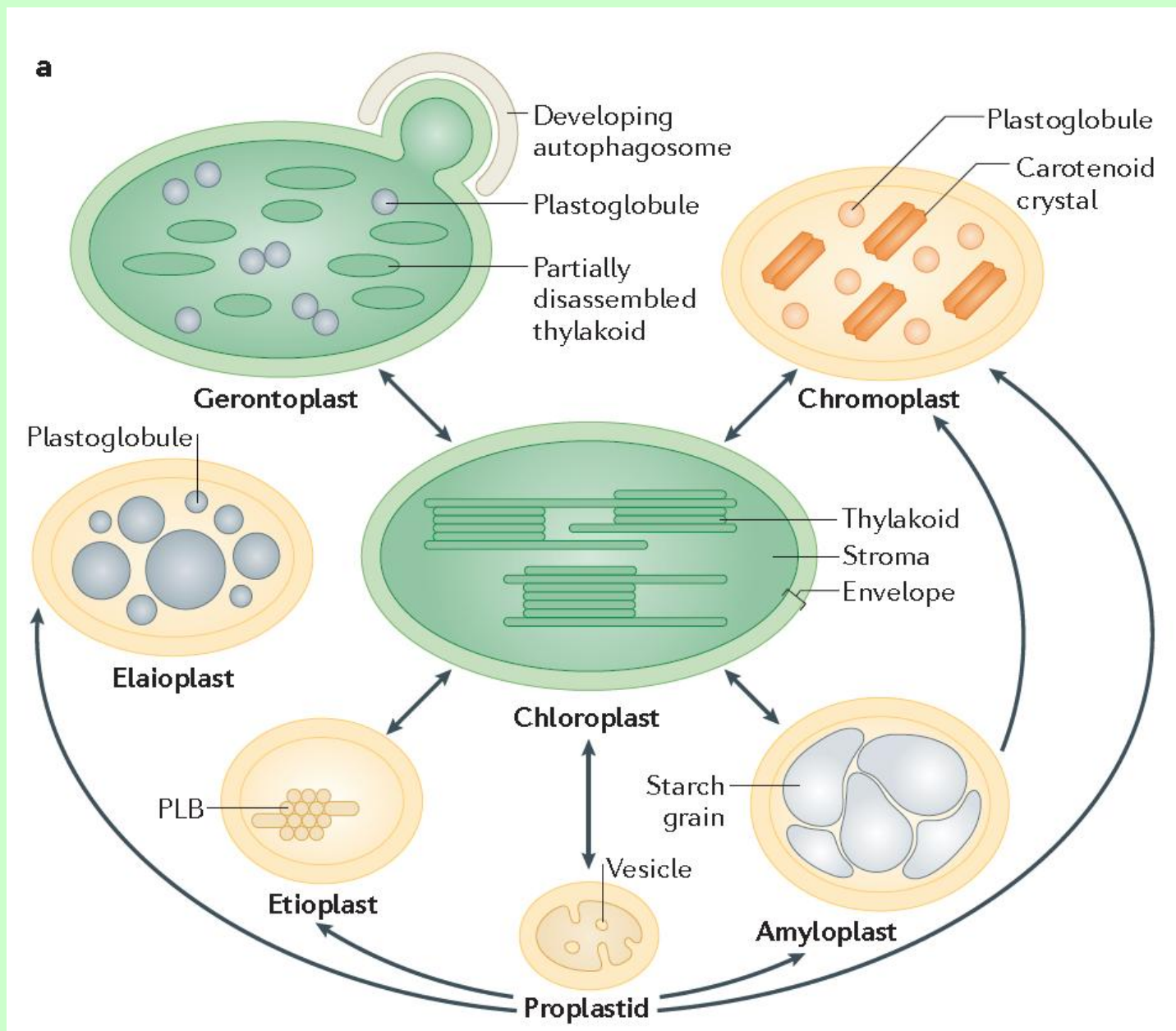
Endosymbiotický vznik plastidů



buňka sinice

Základní klasifikace plně vyvinutých plastidů vyšších rostlin





Vzájemné přeměny (metamorfosy) plastidů v buňkách vyšších rostlin.

Plastidové stromuly (zde snímek Gray et al. 2001) jsou trubicovité výběžky plastidů, obsahující jejich stroma. Lze je nejlépe zviditelnit za živa pomocí fluoreskující bílkoviny (např. GFP), směřované při genetické transformaci buněk do stromatu plastidů. Průkaz jejich existence v posledním desetiletí značně změnil představy o tvaru a metabolismu plastidů.

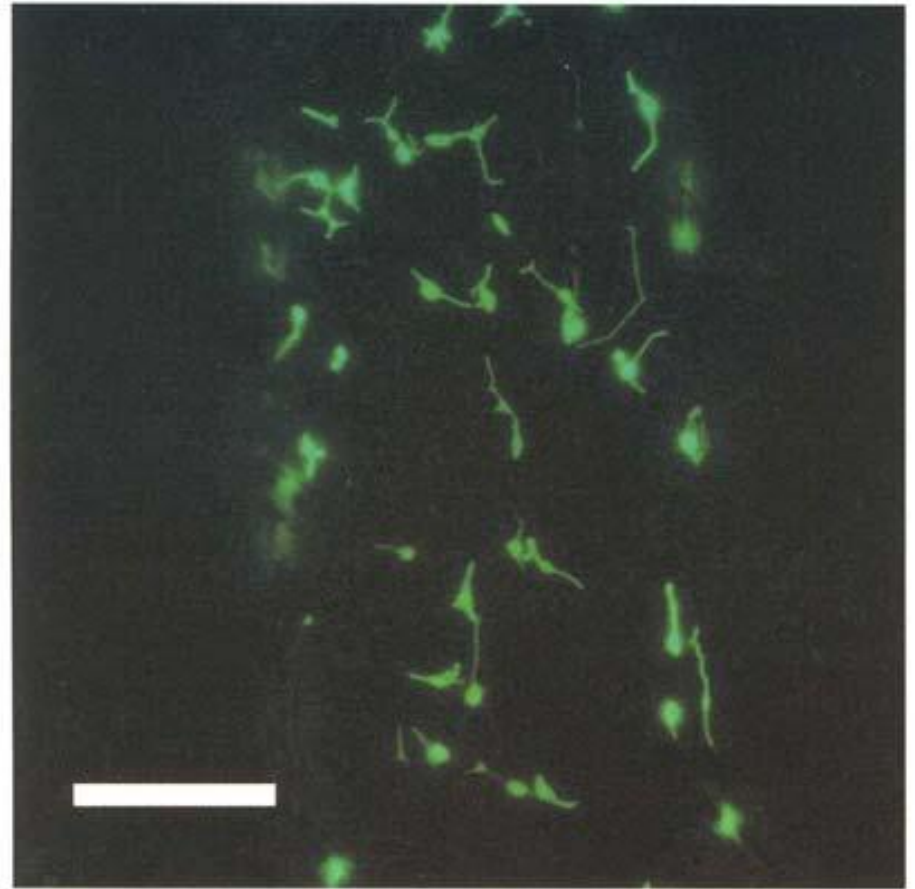
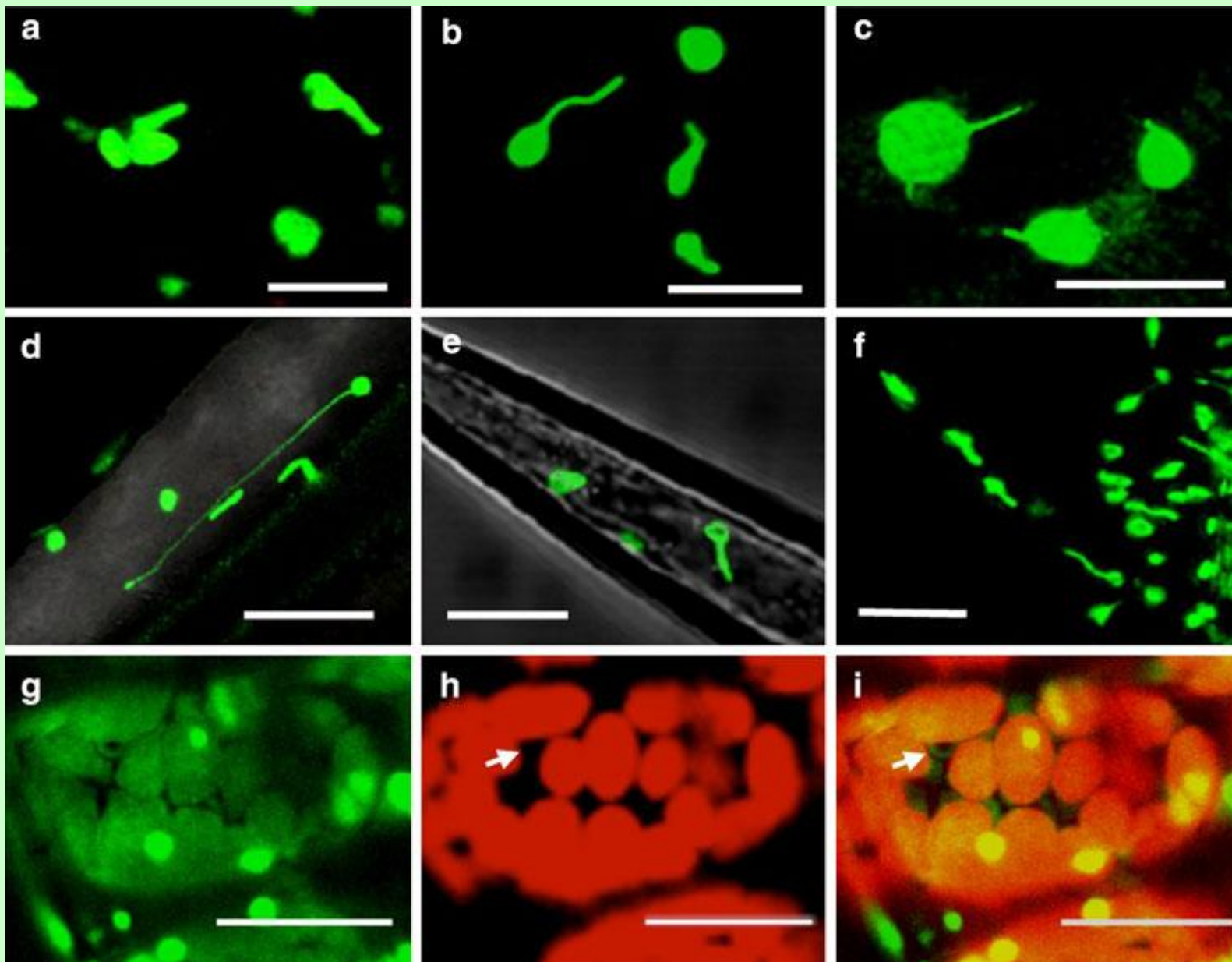


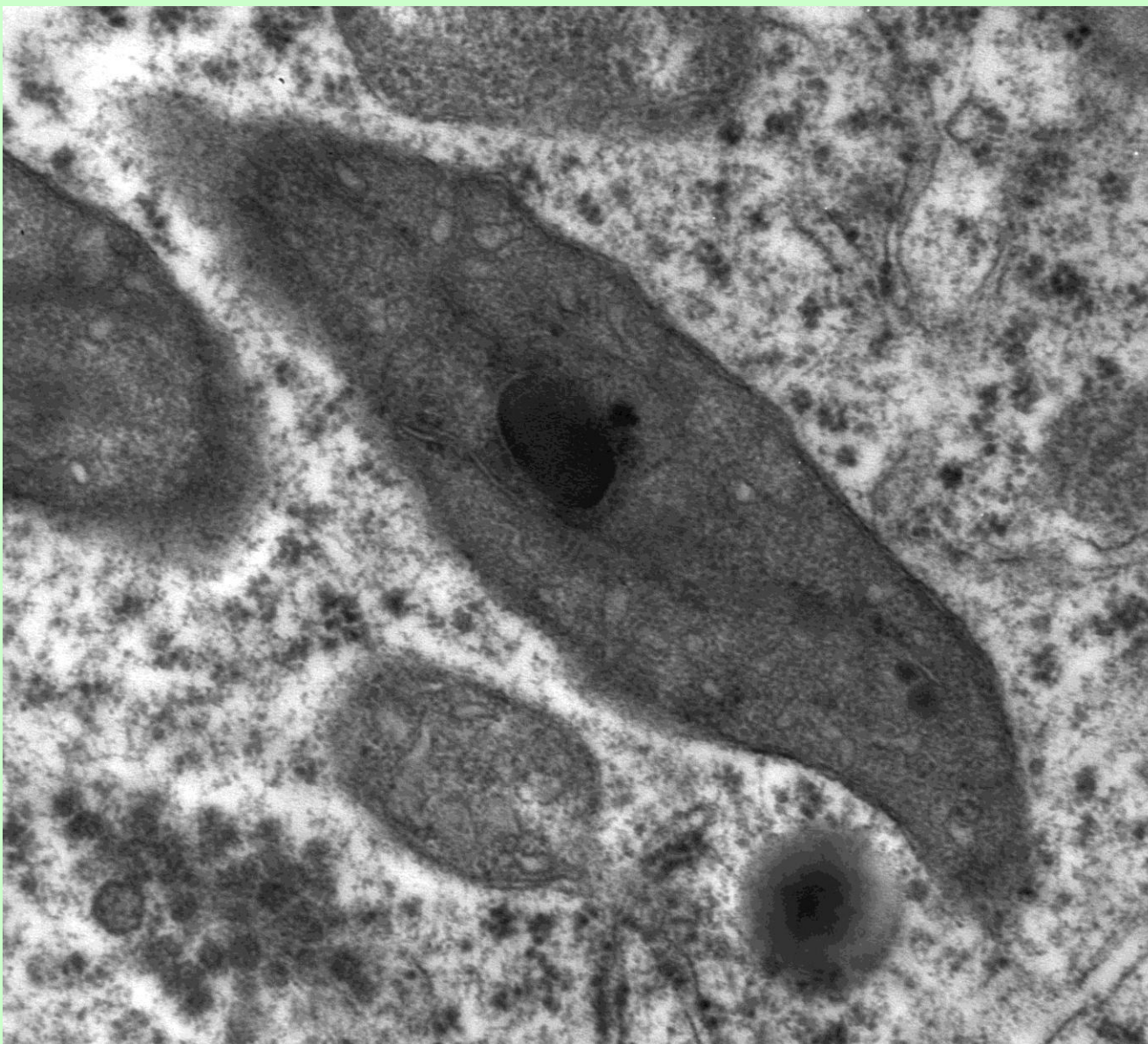
Fig.3 Confocal microscope image of plastid-targeted GFP in an onion bulb epidermal cell. Epidermal peels of onion bulb tissue were bombarded with tungsten particles coated with a plasmid encoding GFP fused to the RbcS transit peptide, under the control of the CaMV 35S promoter, and GFP fluorescence examined after 24 h. Stromules showing branches and interconnecting plastids are clearly visible. Scale bar = 25 μ m.

Plant Biology 3:223-233, 2001



Shaw and Gray, *Planta* 233: 961–970, 2011

Proplastid v mladém listu lípy



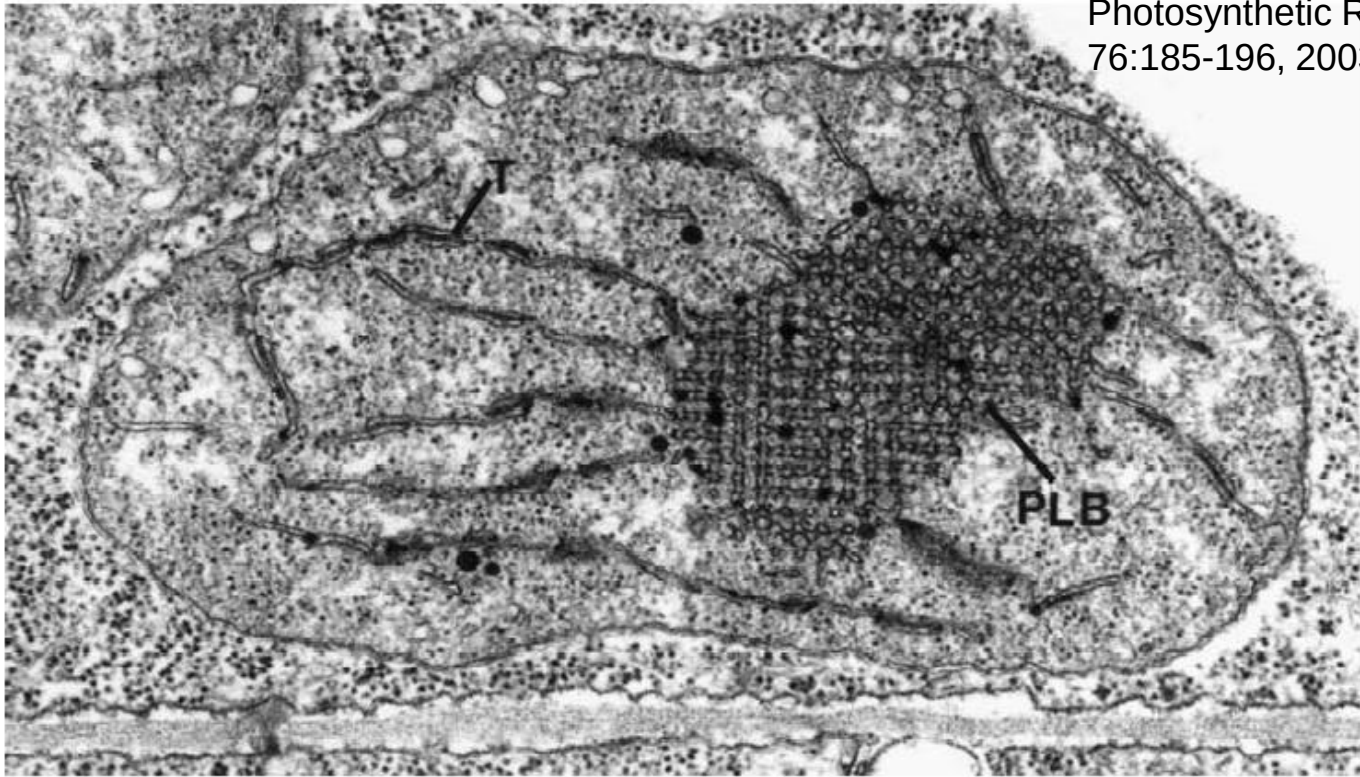
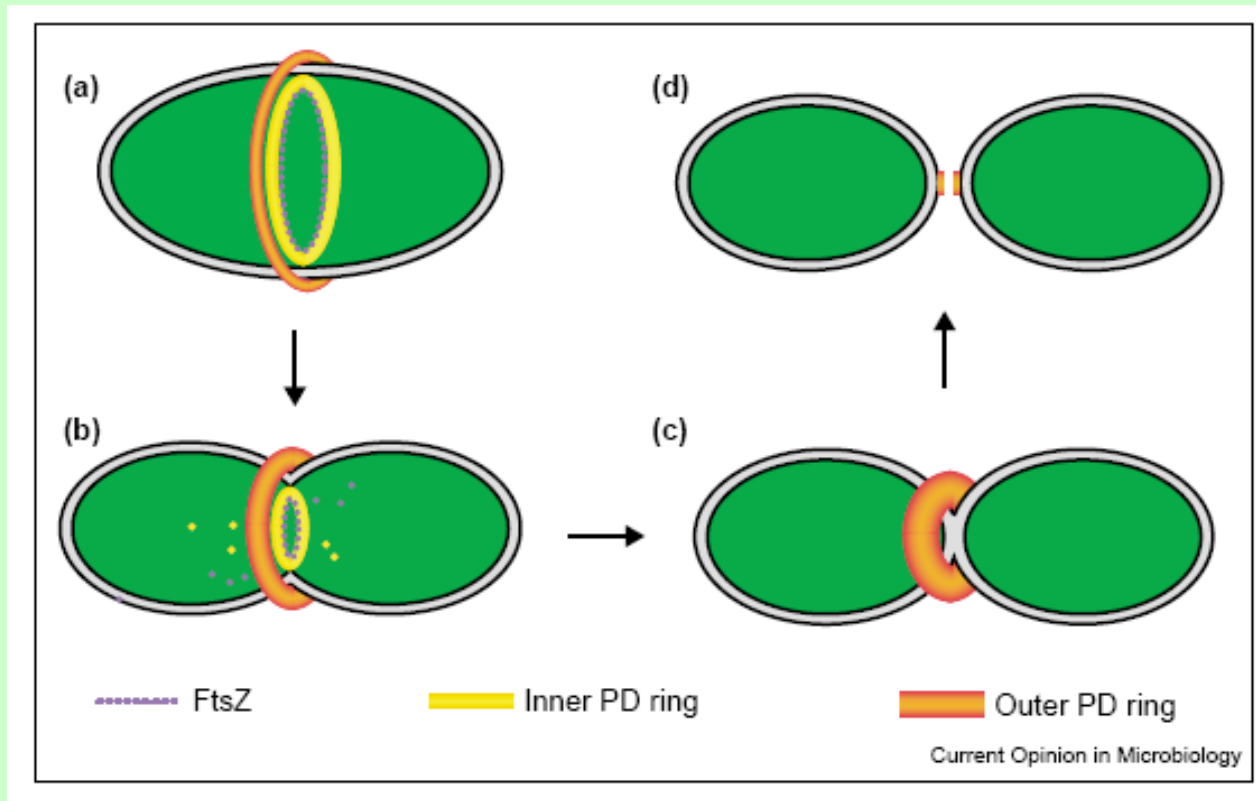


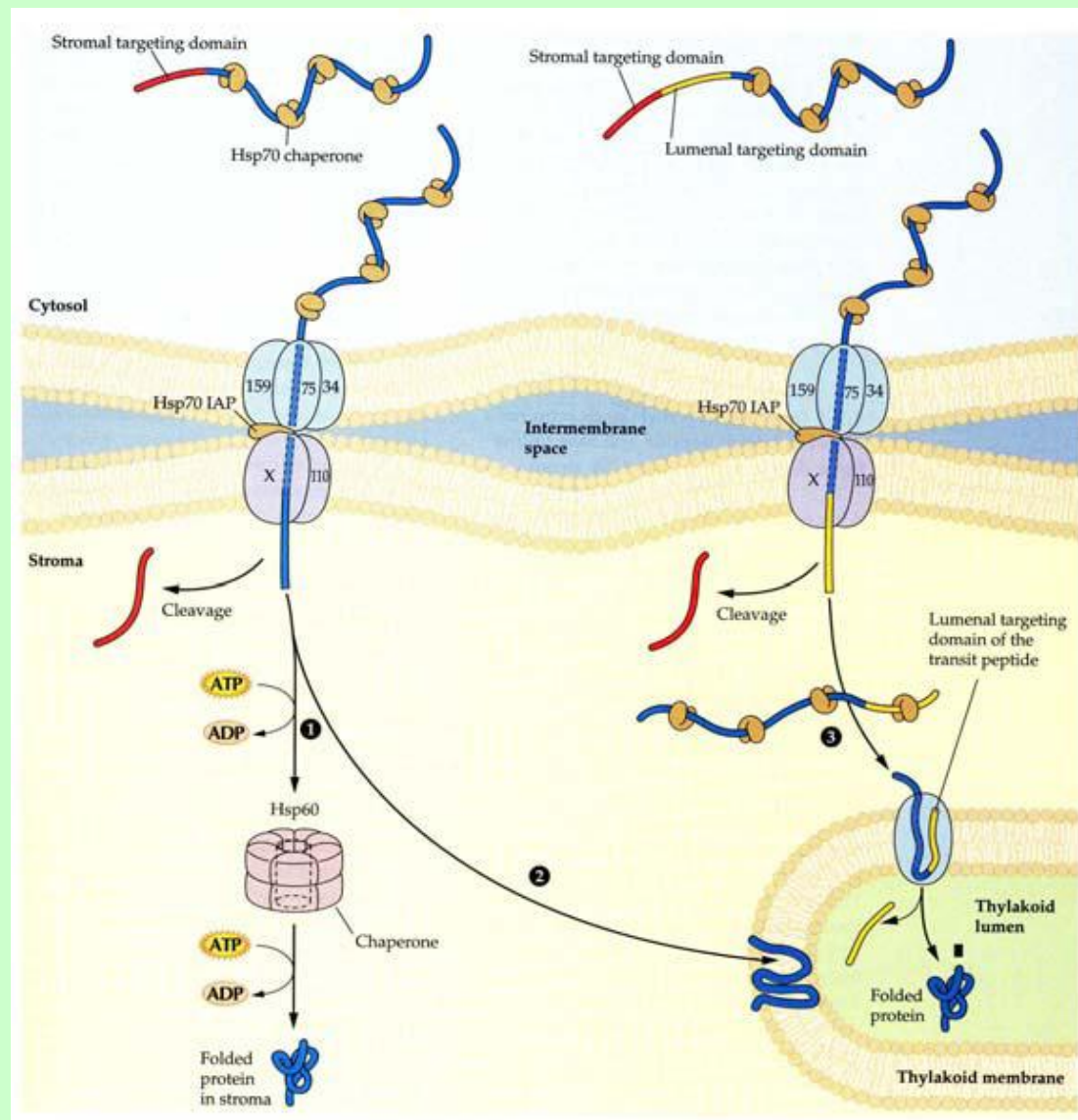
Figure 5. Thin section electron micrograph of a pea etioplast during a very early stage of light-induced conversion into a chloroplast. Thylakoid (T), prolamellar body (PLB).

Etioplast na začátku přeměny ve chloroplast po ozáření,
nápadné je prolamelární těleso, PLB (Staehelein 2003)



Current Opinion in Microbiology
4:639-646, 2001

Model dělení plastidů (Osteryoung 2001): zúčastní se ho postupně bílkovinné prstence prokaryotického původu (FtsZ) i eukaryotického původu (vnitřní a vnější PD prstenec).



Zjednodušený model přenosu buněčným jádrem kódovaných bílkovin do plastidů (chloroplastů) a jejich kompartmentů z učebnice Buchanan et al. (2000)

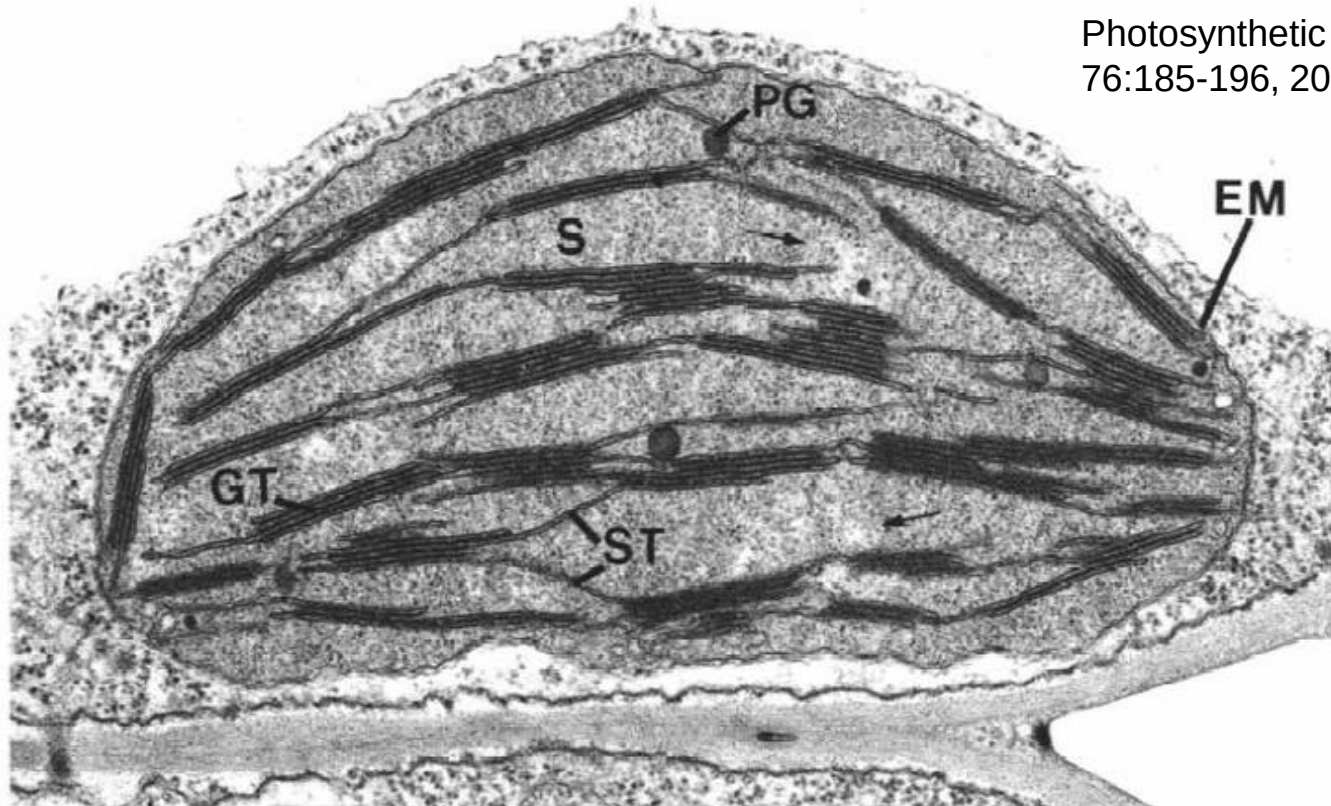


Figure 2. Thin section electron micrograph of a young tobacco chloroplast. Two envelope membranes (EM) surround the chloroplast stroma (S), within which stacked grana thylakoids (GT) and unstacked stroma thylakoids (ST) can be recognized. Plastoglobuli (PG) and DNA-containing regions (arrows) are also seen. Reproduced from Staehelin (1986).

Elektronmikroskopický snímek ultratenkého řezu chloroplastem

Světlejší oblasti ve stromatu (šipky) jsou chloroplastové nukleoidy s DNA.

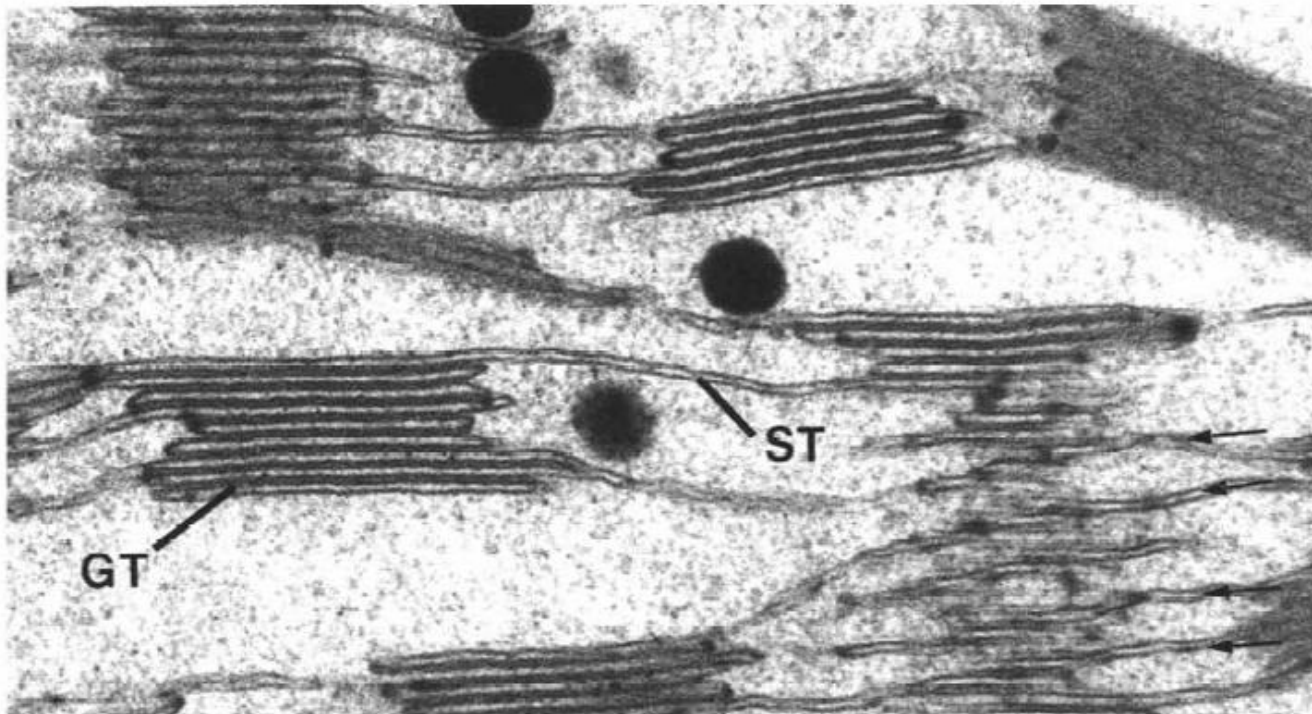


Figure 3. Higher magnification view of thin sectioned grana (GT) and stoma (ST) thylakoids of a spinach chloroplast. Reproduced from Staehelin (1986).

Při vysokém zvětšení transmisního elektronového mikroskopu je pěkně vidět **detaily systému chloroplastových thylakoidů.**

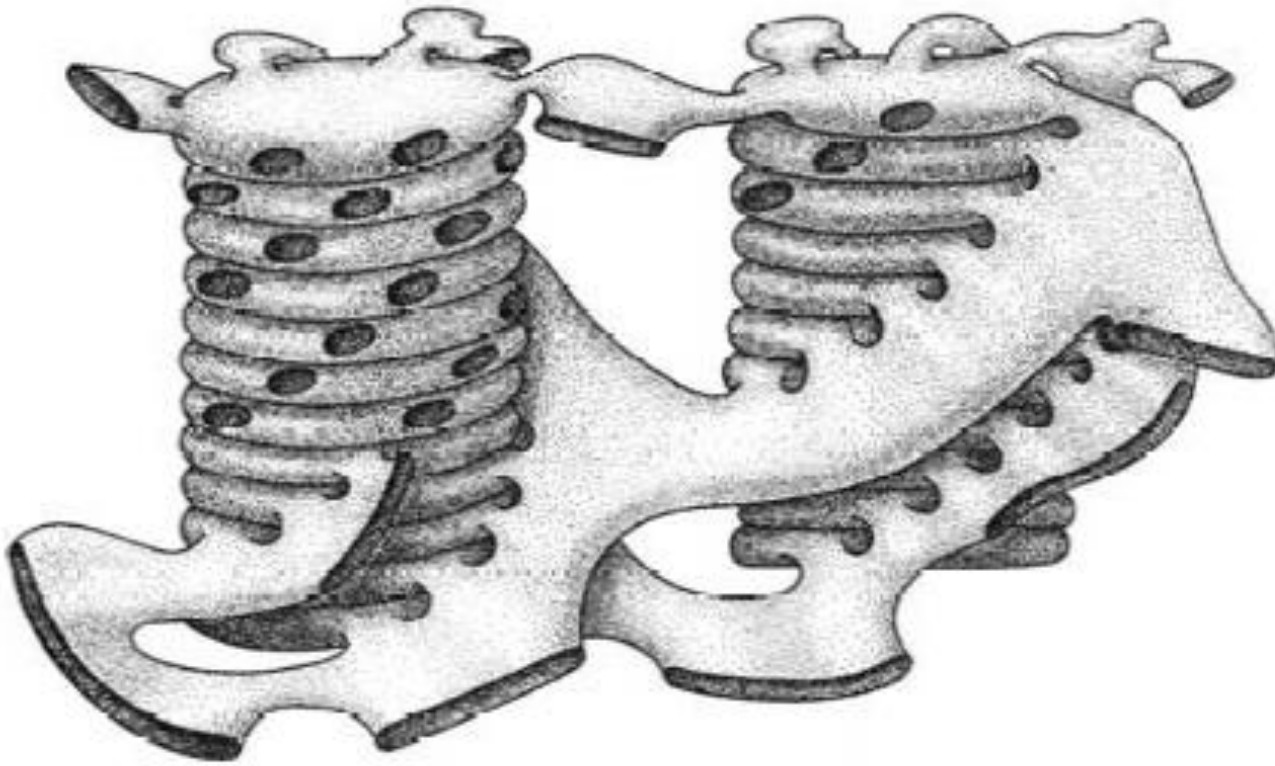
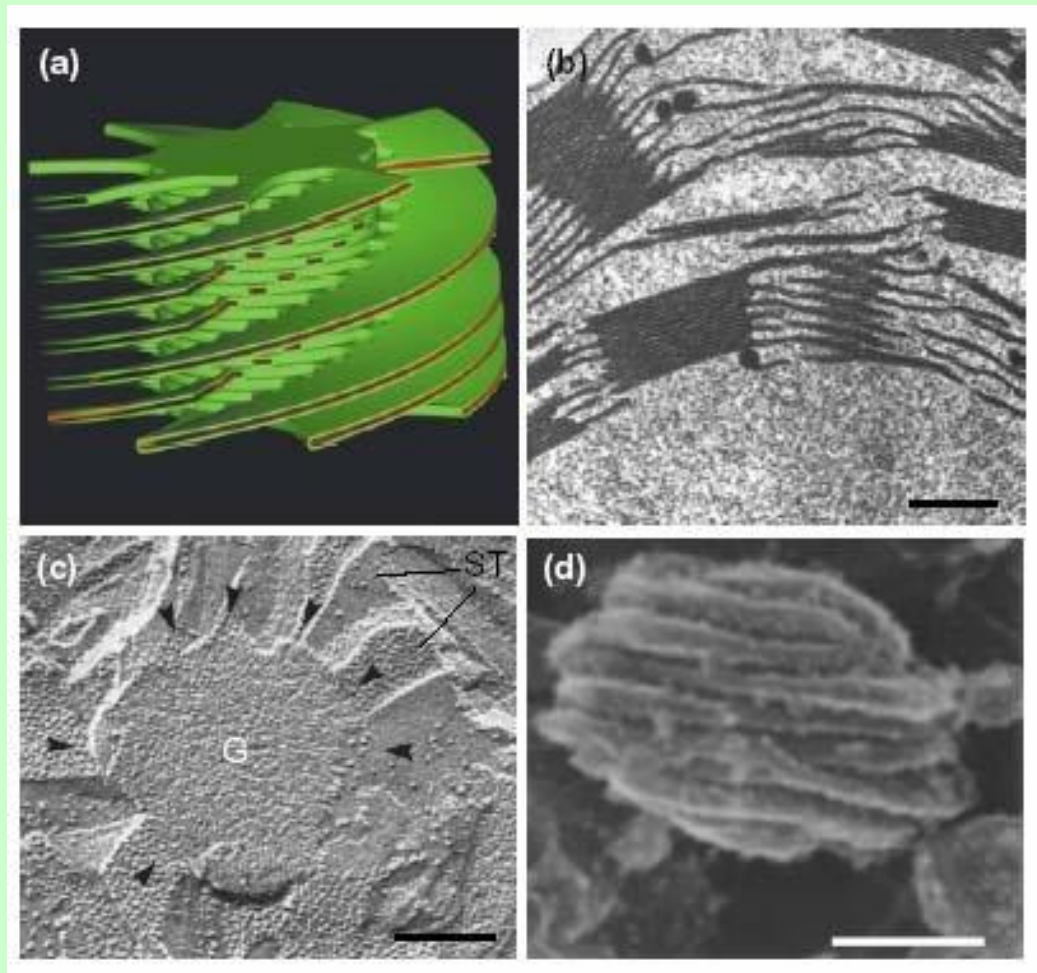


Figure 4. Diagram illustrating the spatial relationship between stacked grana and interconnecting stroma thylakoids. This model is based on the analysis of serial thin sections through chloroplasts and micrographs of freeze-fractured chloroplasts. Reproduced from Staehelin and van der Staay (1996).

Prostorový model části systému thylakoidů ve chloroplastu



Stavba chloroplastového grana: (b), (c) a (d) snímky grana z elektronového mikroskopu získané pomocí techniky ultratenkých řezů, mrazového lámání a rastrovací EM, (a) počítačem vytvořený model (Mustárdy a Garab 2003)

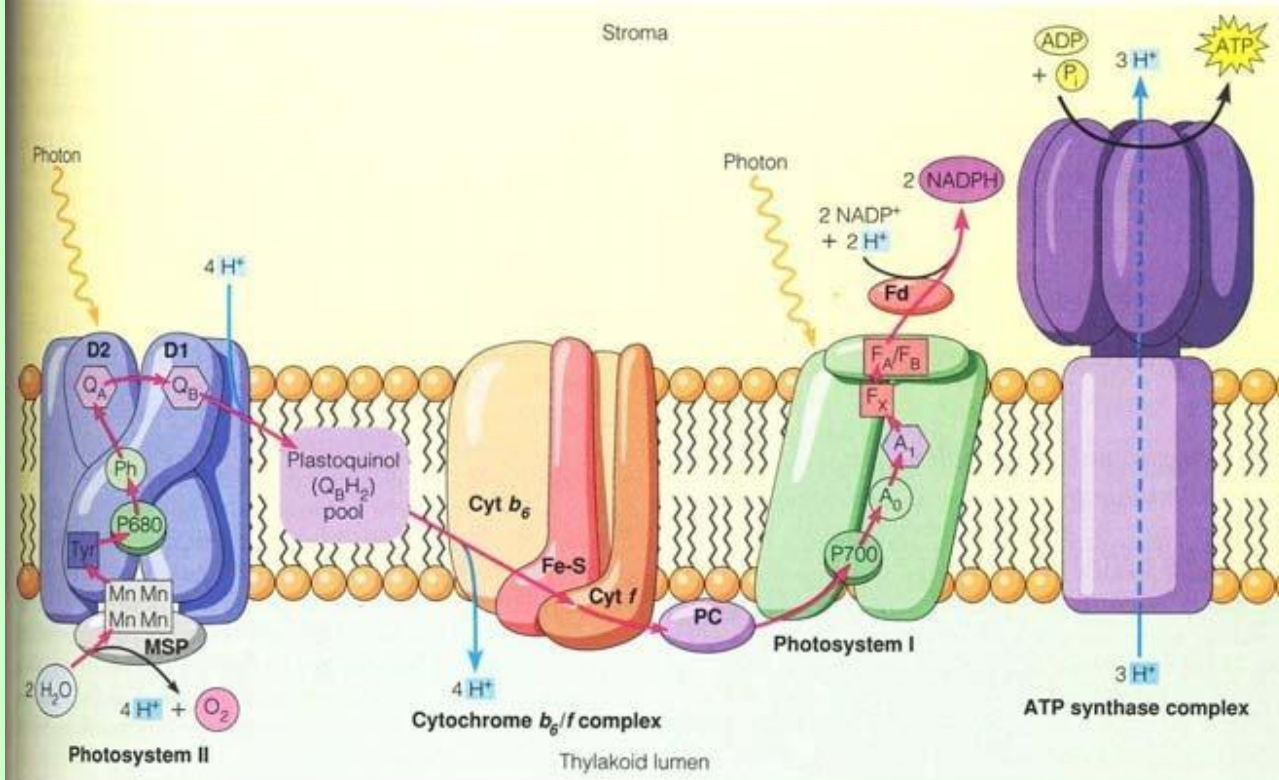


Figure 13-11 A Model of the Orientation of the Major Energy Transduction Complexes Within the Thylakoid Membrane. This diagram shows the possible arrangement of PS II, the cytochrome b_6/f complex, PS I, and the ATP synthase complex within the thylakoid membrane. The path highlighted in pink depicts the probable flow of electrons from H_2O to NADP^+ . PS II includes at least two major

proteins, D1 and D2, that bind components of the electron transport system. The cluster of four manganese atoms at the base of PS II are part of the water-splitting complex. The cytochrome b_6/f complex includes two cytochromes (b_6 and f) and an iron-sulfur protein (Fe-S). (See Figure 13-9 for a general key to symbols.) The stoichiometry shown is for the passage of four electrons from H_2O to NADPH.

Schema lokalise jednotlivých kroků přeměny zářivé energie na chemickou na thylakoidní membráně. Vzniká makroergický NADPH a vytvořený protonový gradient je využíván k synthese ATP.

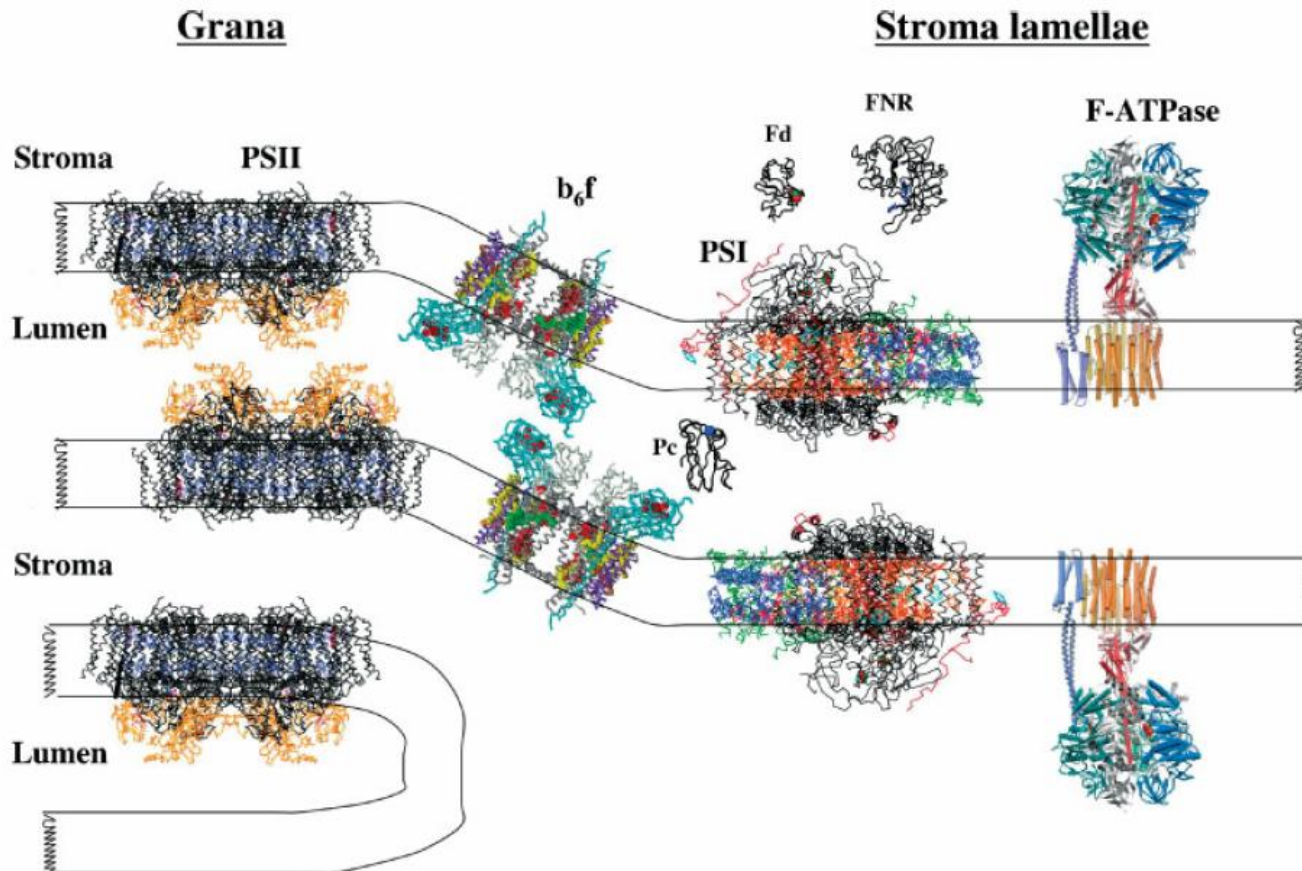
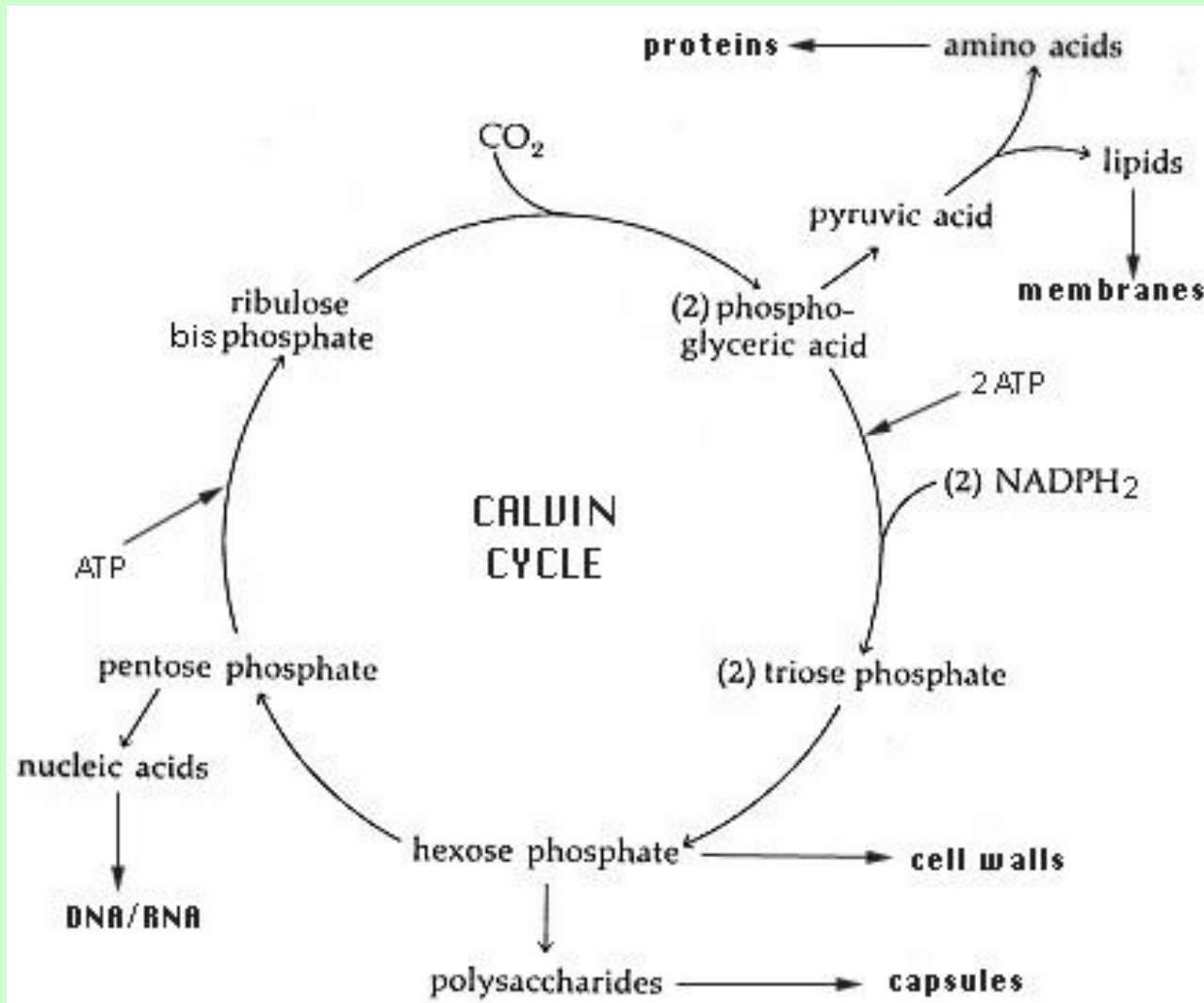


Figure 1. The architecture of thylakoid membranes and the structure of membrane–protein complexes and soluble proteins that drive oxygenic photosynthesis. The structure of the complexes and the electron carriers plastocyanin (Pc) PDB 1AG6, ferredoxin (Fd) PDB 1A70 and ferredoxin-NADP-reductase (FNR) PDB 1FNB were adjusted to the relative size of plant photosystem I (PSI) PDB 1QZV. The structure of cyanobacterial (*Thermosynechococcus elongatus*) photosystem II (PSII) from PDB 1S5L,⁽⁴⁸⁾ cytochrome b_6f complex (b_6f) from *Chlamydomonas Reinhardtii* PDB 1Q90⁽⁶⁵⁾ and a structural model of F-ATPase that was created from various related structural data by W. Frasch (Arizona State University).

Architektura bílkovinných komplexů thylakoidních membrán a přidružených rozpustných bílkovin oxygenní fotosynthesy podle soudobých představ (Nelson a Ben Shem 2005)

Schéma Calvinova cyklu fixace oxidu uhličitého ve fotosyntéze



http://www.textbookofbacteriology.net/metabolism_7.html



Dimorfní chloroplasty kukuřice, typické pro rostliny s NADP-ME typem C4 fotosynthesy na snímku ze světelného (a) a elektronového (b) mikroskopu. V mesofylových buňkách, kde jsou chloroplasty s dobře vyvinutými grany, je prefixován oxid uhličitý a vzniklá kyselina jablečná (malát, ME) je transportována do téměř agranálních chloroplastů buněk parenchymatických pochev cévních svazků, kde je dekarboxylována a za zvýšené koncentrace oxidu uhličitého je při jeho fixaci potlačena fotorespirace (ukládá se zde škrob, inkluse označené G).

Gerontoplast ve stárnoucím listu fazolu



Biotechnologické využití chloroplastů

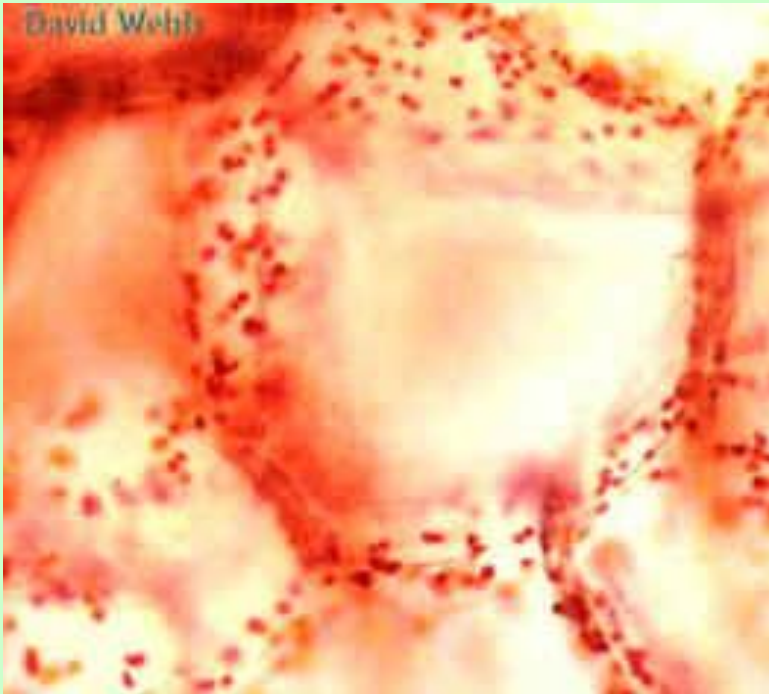
Chloroplasty - především místo tvorby asimilátů – produktů fotosynthesy: v posledních desetiletích snaha o zvýšení produkce potravin přenesením genů pro produktivnější „C4 fotosynthesu“ do „C3“ plodin, zejména rýže a pšenice; „fotosynthesa ve zkumavce“ zatím v nedohlednu; v 60. letech 20. století Československo průkopníkem **produkce biomasy kulturami jednobuněčných řas**

Netradiční využití chloroplastů:

Geneticky manipulované chloroplasty v rostlinách tvoří požadované bílkoviny – zejména „jedlé vakciny“

Velký význam – v nedaleké budoucnosti možná **produkce vodíku jako paliva** (zejména pro automobily) **systemy založenými na chloroplastech**

Chromoplasty



- **neobsahují chlorofylové pigmenty, jsou to fotosyntheticky neaktivní plastidy**
- **obsahují karotenoidy**
- **membránový systém mají slabě vyvinutý**

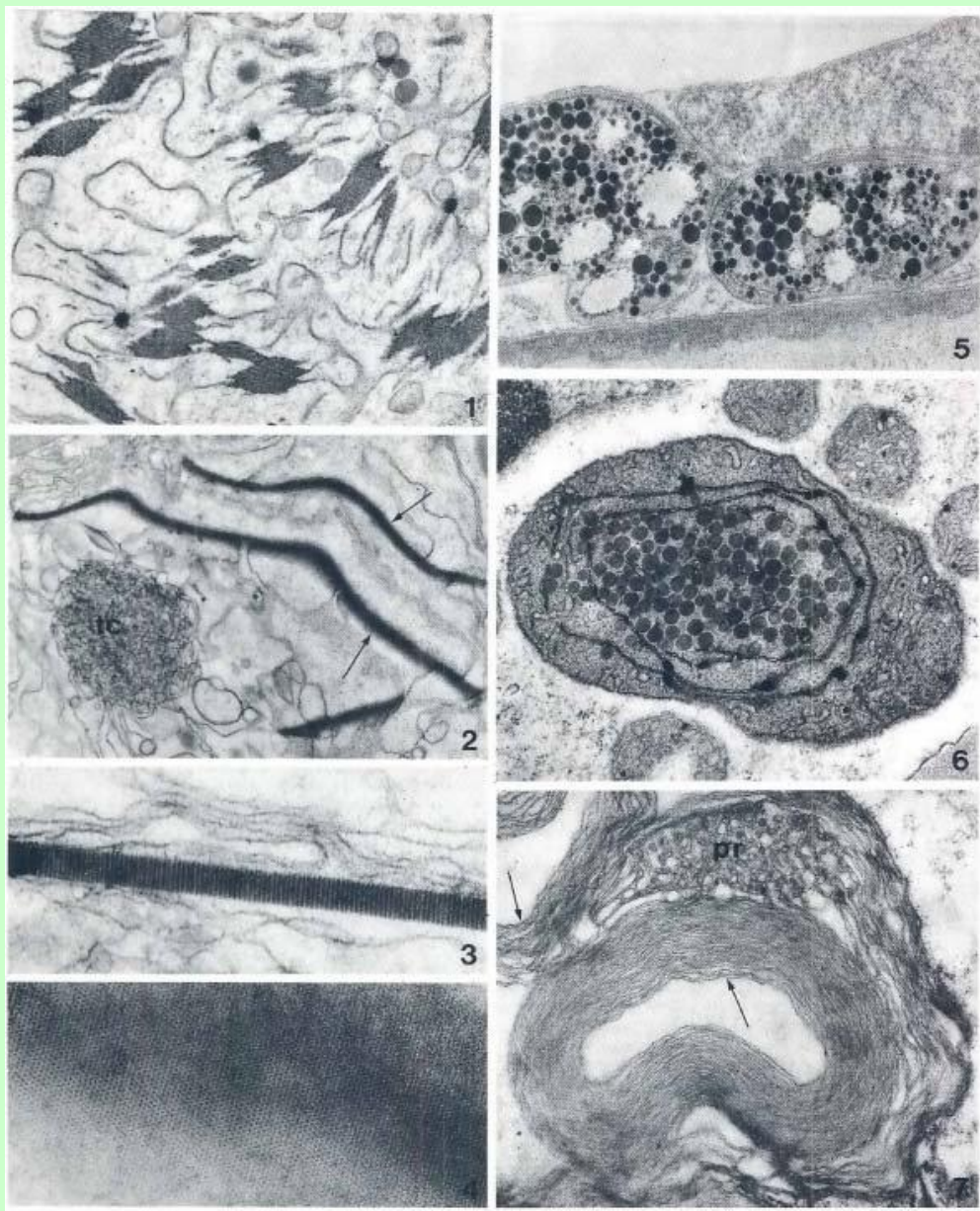
Výskyt:

- květy, zralé plody, některé kořeny (mrkev)

Funkce:

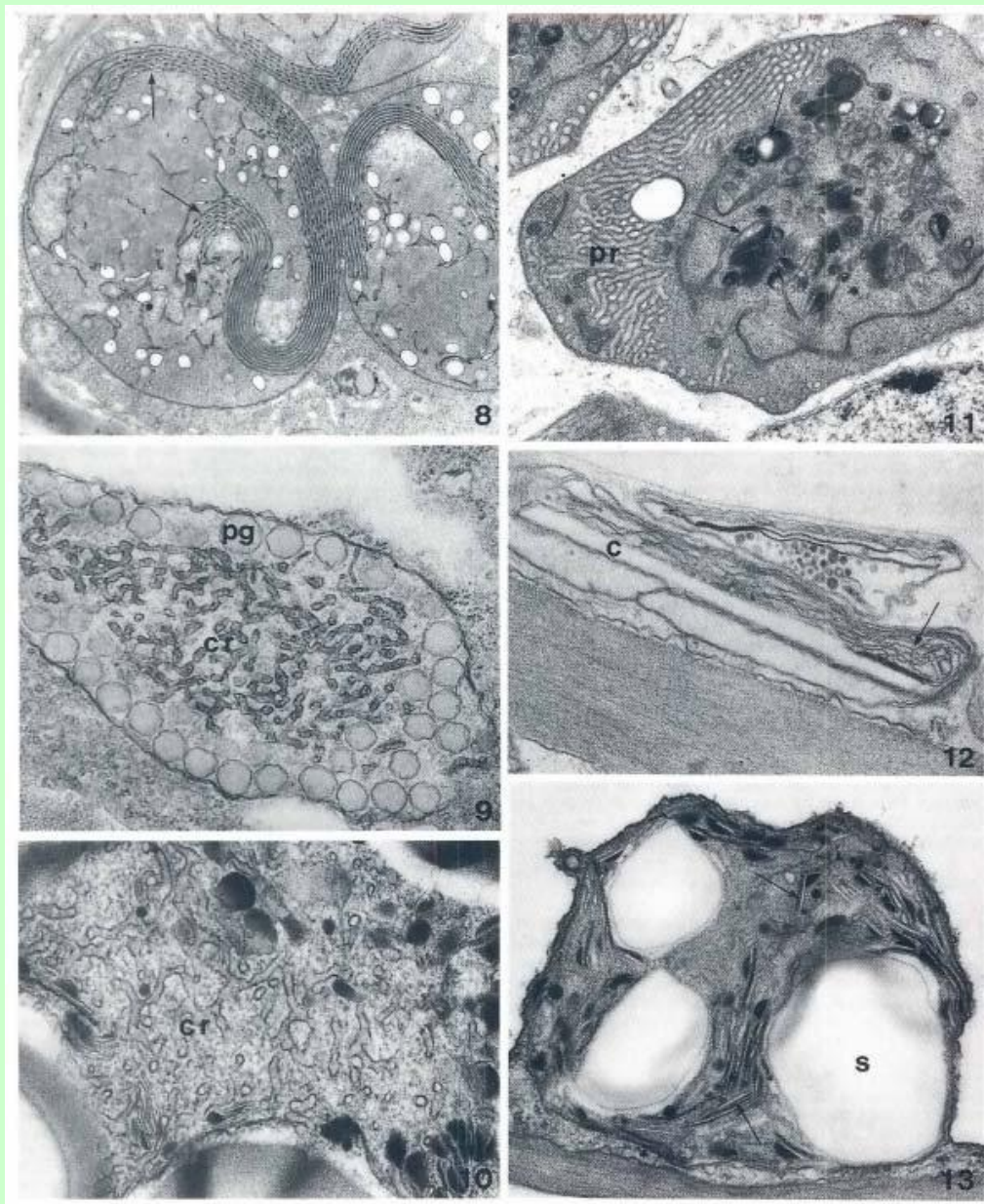
- pomáhají lákat hmyz a ptáky při opylování a šíření semen

http://www.infovek.sk/predmety/biologia/diplomky/biologia_bunky/chromoplasty.htm



Ultrastruktura různých typů chromoplastů (Ljubešič et al. 1991), nejrozšířenější jsou asi chromoplasty globulárního typu (5, 6).

The International Journal of Developmental Biology 35:251-258, 1991



Pokračování předchozího slidu
(13 je chromoamyloplast).

The International Journal of Developmental
Biology 35:251-258, 1991