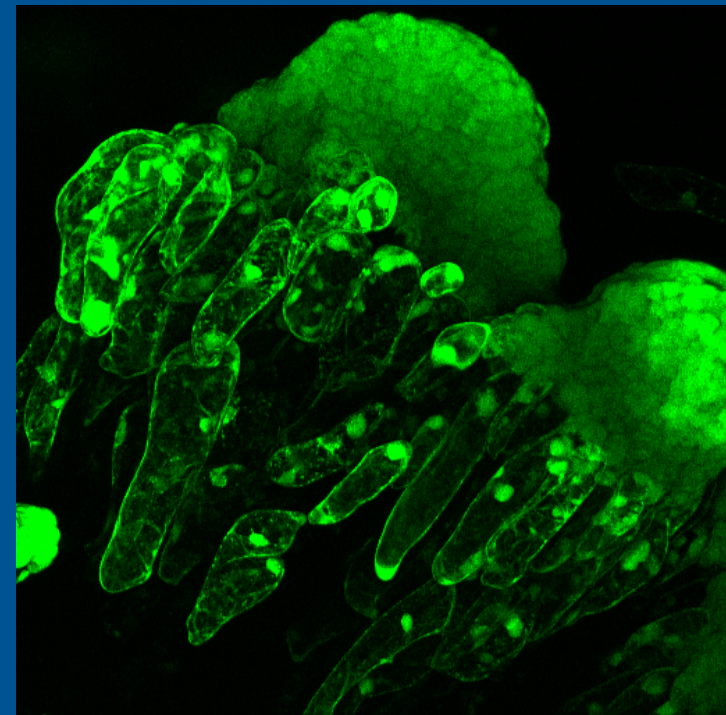


ROSTLINY a SMRT

mechanizmy a důsledky



Zdeněk OPATRNÝ

Katedra experimentální biologie rostlin

Přírodovědecká fakulta UK Praha

U3V 2013/14

ONTOGENEZE ROSTLINY:

- * fáze embryonální
- * fáze vegetativní
- * fáze generativní
- * fáze senescence a smrti

Na úrovni buněčné je však dialog
mezi životem a smrtí

průvodním jevem
celé „životní dráhy“ daného organismu –
ať živočišného
nebo rostlinného

Jak jednobuněčné, tak mnohobuněčné organizmy
se rodí, žijí, stárnou a umírají.

Bud' jako celek nebo po jednotlivých buňkách.

Někdy „náhodně“ – jindy „programovaně.“

PROGRAMOVANÁ BUNĚČNÁ SMRT
PROGRAMMED CELL DEATH ...PCD

- zajímavá pro - vědu
- klíčová pro život mikroorganismů
živočichů (včetně člověka)
ROSTLIN

Mají také byliny svého Metuzaléma ?

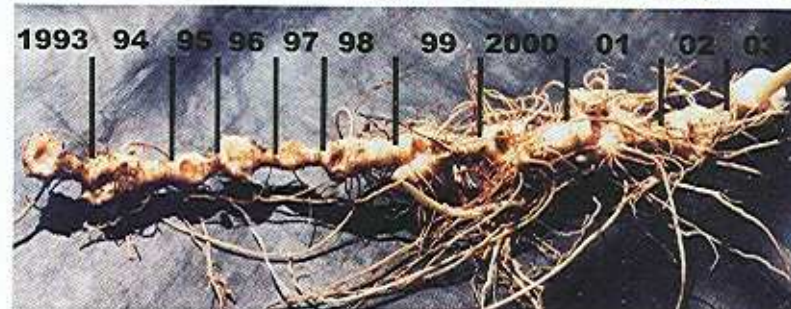
Klimešová J.

Křivánek M.

Vesmír 87, květen 2008



Kresba
© Jitka Klimešová.



1. Nahoře: Oddenek šťovíku alpského (*Rumex alpinus*) vykopaný v dolině Štiavnica v Nízkých Tatrách. Snímek © Petra Šťastná.

2. Oddenek kokoříku mnohokvětého (*Polygonatum multiflorum*) z doubravy u Přerova nad Labem. Snímek © M. Křivánek.

1) K. H. Borovský: Král Láva.

2) Výsledky studií E. Oinancena publikované v r. 1967, viz Harner J. L.: Plant population

Staříci mezi rostlinami



3-6 000 let: borovice štětinaté,
sekvojovce

10- 11 000 let (?):
← kreosotový keř (Arizona)

Kolik buněk ale „osobně“ žije tak dlouho ?

Odhad maximální životnosti rostlinné buňky „in vivo“ je
asi 80 let

Většinu té doby se už ale nedělí, jen metabolizuje

Místo, doba, směr buněčného dělení
i následná funkční diferenciaci
musejí být REGULOVANÉ

Jinak hrozí neorganizovaný „nádorový růst“
ohrožující vývoj jedince nebo i přímo jeho život

„RAKOVINA“

Rakovina u rostlin ?

Příčiny genetické - genetické tumory

hybridy tribů tabáku *Nicotiana glauca* x *N. langsdorfii*

Příčiny fyziologické - tvorba nádorů, hálek, crown gallů působením patogenů virových, bakteriálních, houbových, škůdců hmyzích (larvy), hád'átek

stabilní modifikace: N-fixující hlízky kořenové a stonkové



rakoviny houbové - *Synchytrium endobioticum*
(rakovinovec bramborový)

rakoviny virové - ovocné dřeviny, byliny

rakoviny bakteriální - *Nectria galligena*
jabloně

NÁDOROVÉ BUJENÍ ROSTLIN

je téměř běžnou součástí jejich života a je jimi většinou nejen tolerováno (hálky, čarověníky, crownally..), ale dokonce vítáno (hlízkové bakterie leguminóz fixující dusík)

- *nepohyblivé rostlinné buňky nemetastázuji
- *onkogenní signály, zvláště hormonální povahy mohou zasahovat různá cílová pletiva
- *onkogenní stav je často revertovatelný k normálu (epigenese, morfózy)
- *genetické tumory sice modifikují, ale nevylučují trvalý život rostliny i potomstva

Hádátka

- modely i nástroje studia
těchto jevů

Hádátka parazitická

...“ošklivý” škůdce, původce rostlinných nádorů,
ale také
nástroj výzkumu komunikací „hostitel-patogen“
včetně Horizontálního Genového Transferu

Hádátka „dravá“

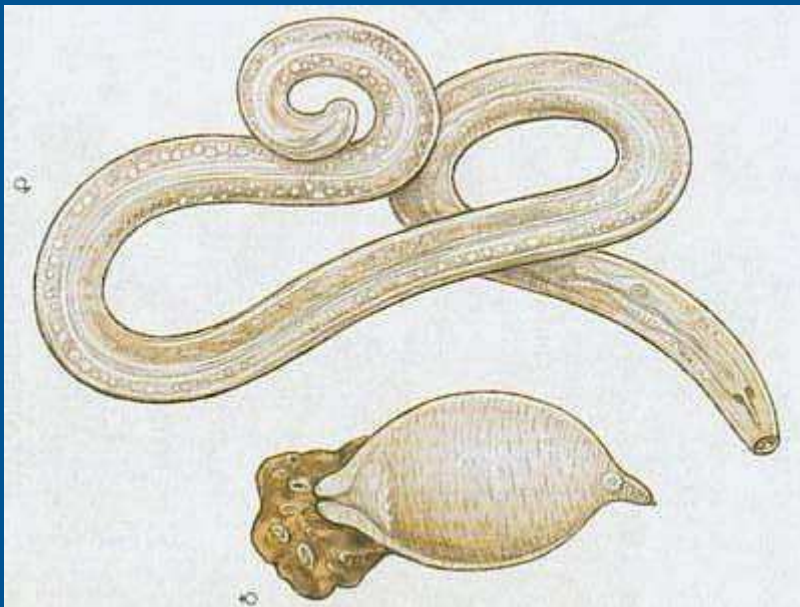
... skvělý model pro studium genetické regulace
života i smrti mnohobuněčných organismů
včetně mechanismů PCD

Hád'átko bramborové - *Globodera rostochiensis*

„zralé“ samičky se mění v cystu s vajíčky



Hád'átko řepné – *Heterodera schachtii*



Hád'átko kořenové *Meloidogyne incognita*

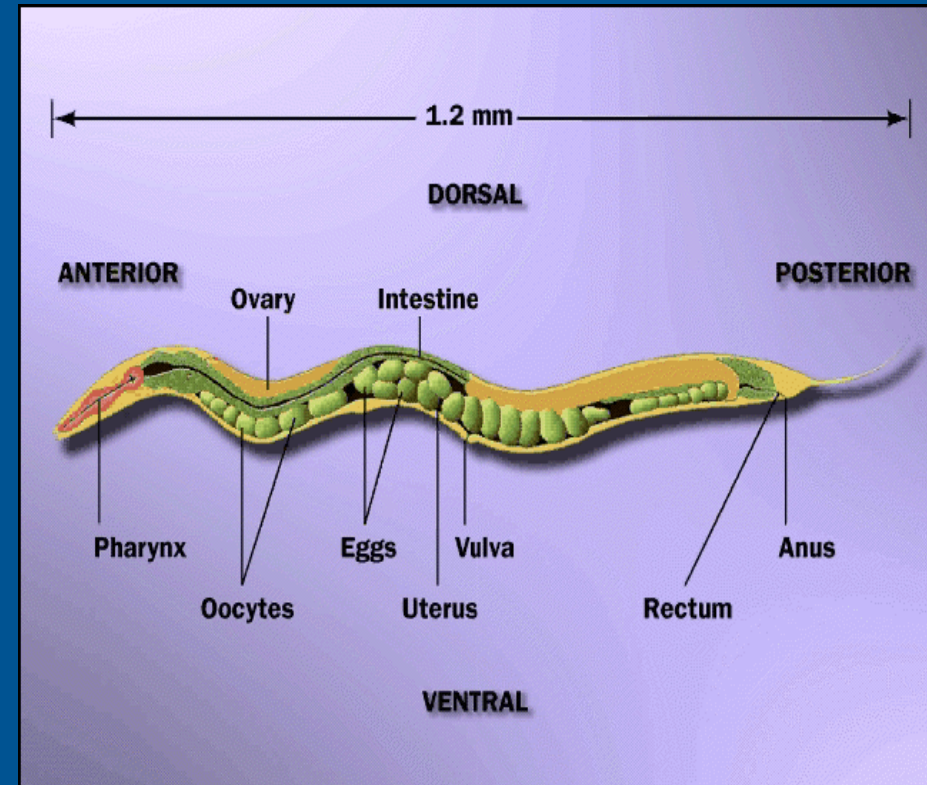


Hád'átko *Coenorhabditis elegans*

neparazitický žrout půdních mikroorganismů



C. elegans –
rastrovací elektronový mikroskop



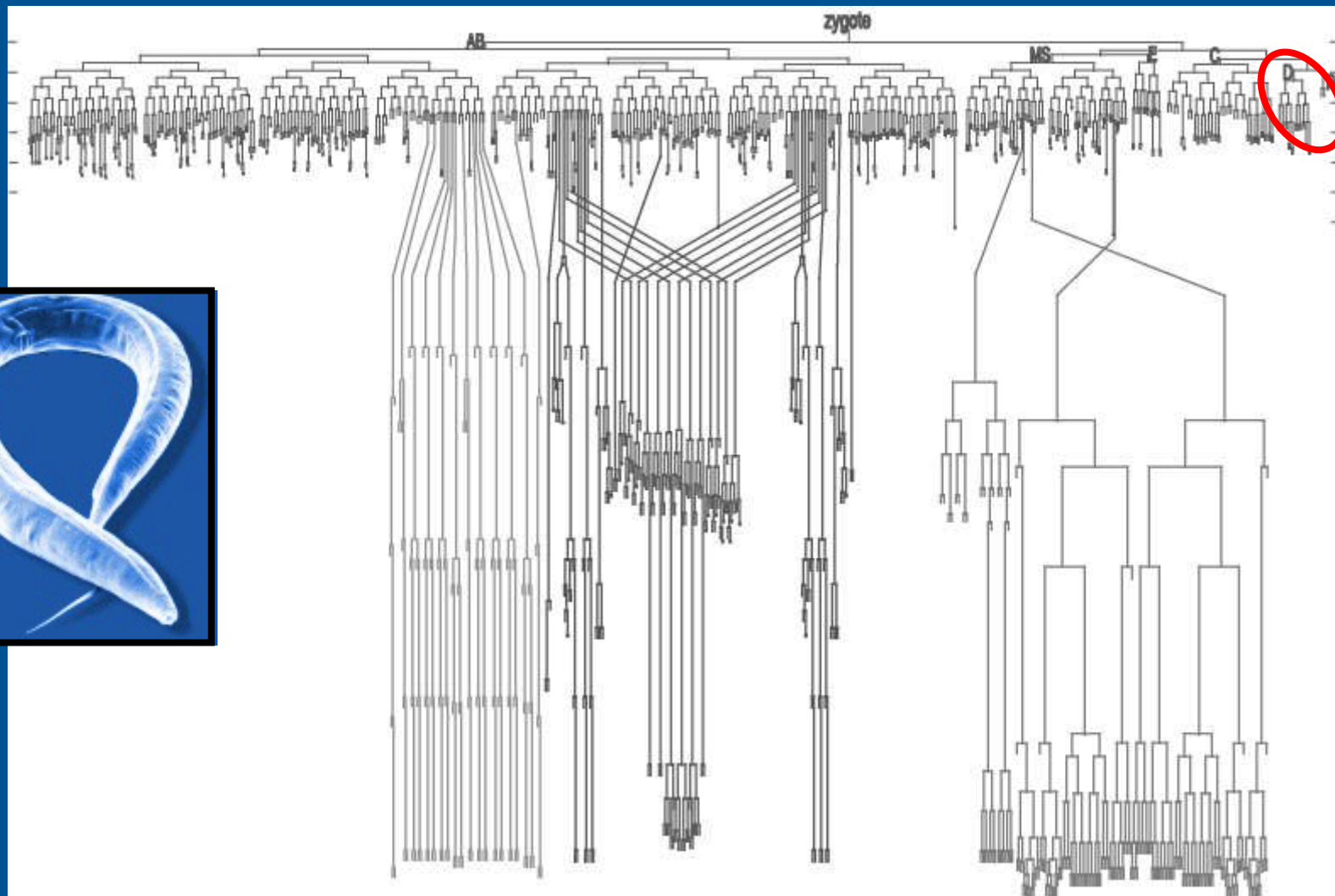
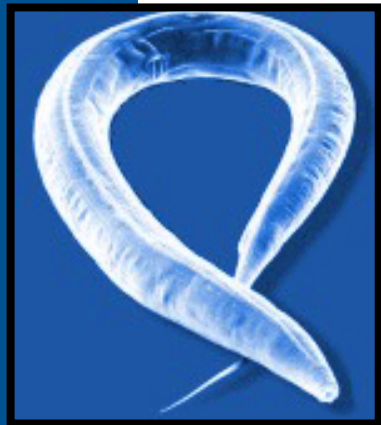
stavba těla

Hád'átko (*C. elegans*)

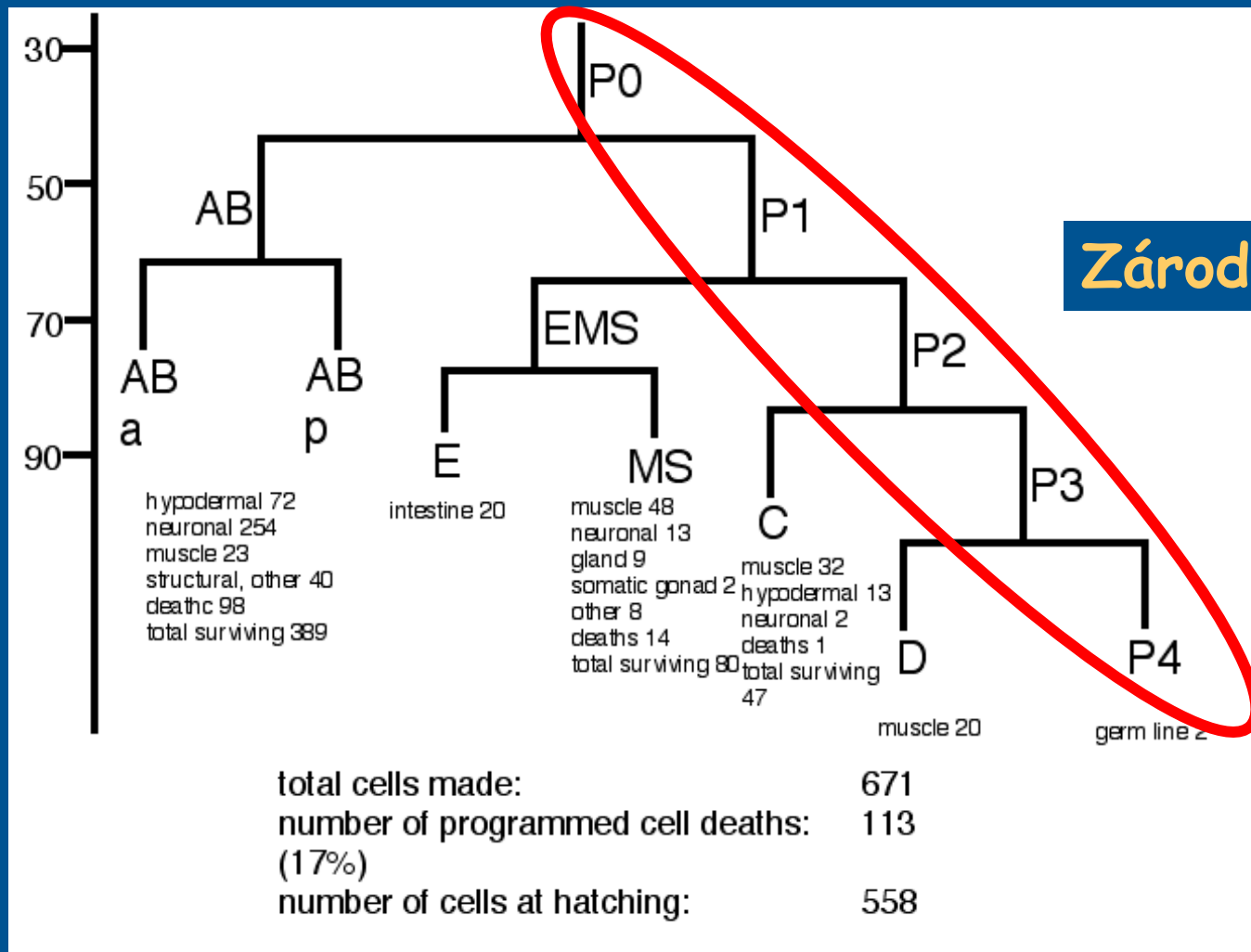
- počet buněk - 959 buněk v dospělosti
- pohlaví - hermafrodit nebo samec
- potrava - bakterie (*E.coli*)
- životní cyklus - 2-3 týdny
- kompletně osekvenovaný genom - 1998

Hád'átko (*C. elegans*)

determinační mapa všech 959 buněk



Bez Programované Buněčné Smrti vybraných buněk Programmed Cell Death PCD se vývoj hád'átka ZHROUTÍ



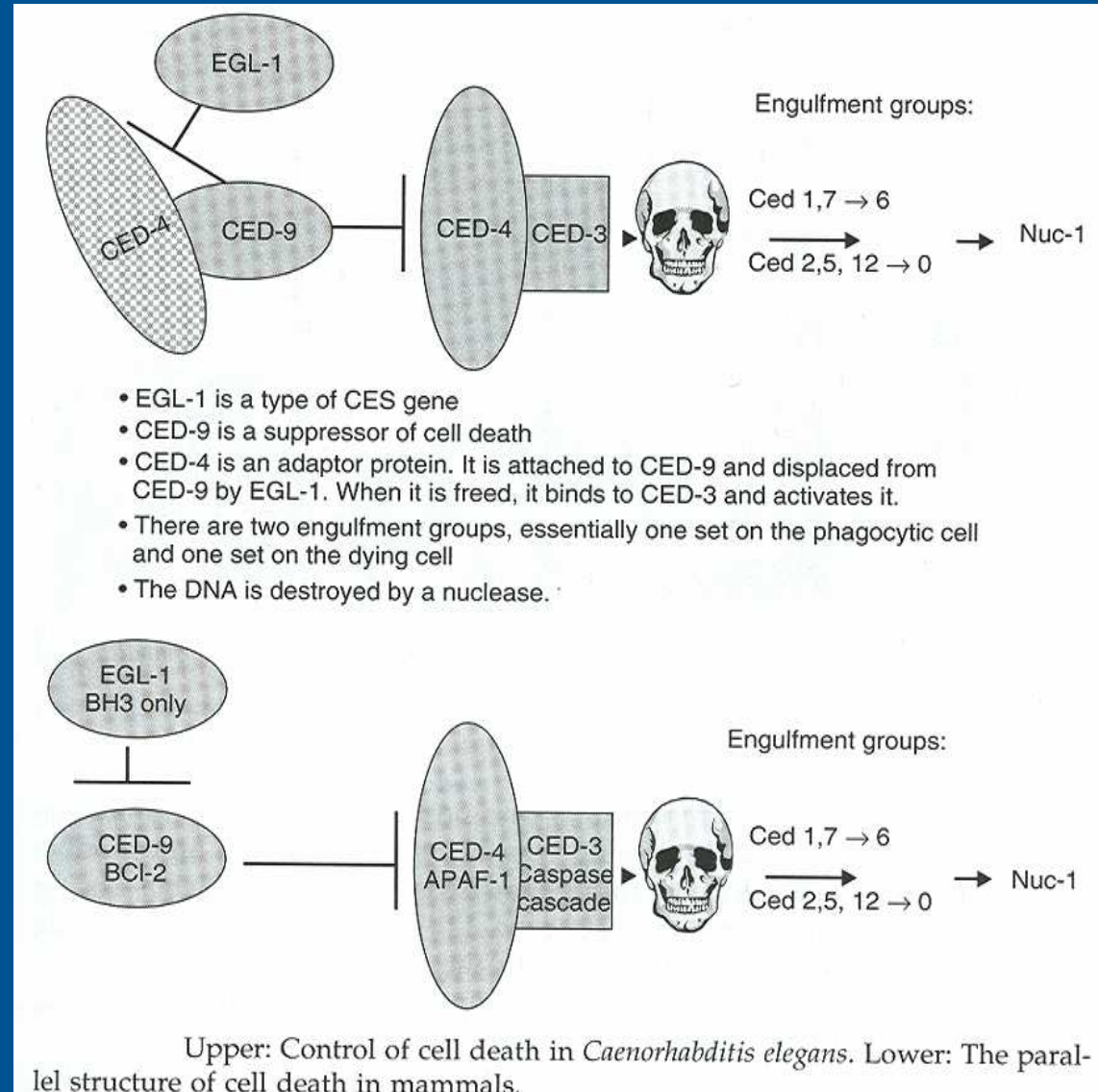
Zárodečná linie

GENY kodující mechanismus PCD u hád'átka *Coenorhabditis elegans*

Nobelova cena za 2002
a dvě další poté
však nezískána
jen kvůli hád'átku -

Genové zázemí jeho PCD
je homologní s genomem
saviců a do různé míry
všech eukaryot

sporné u kvasinek
chybějící homologie u rostlin



Následně po studiu hád'átka

i v buňkách dalších živočišných druhů nalezeny:

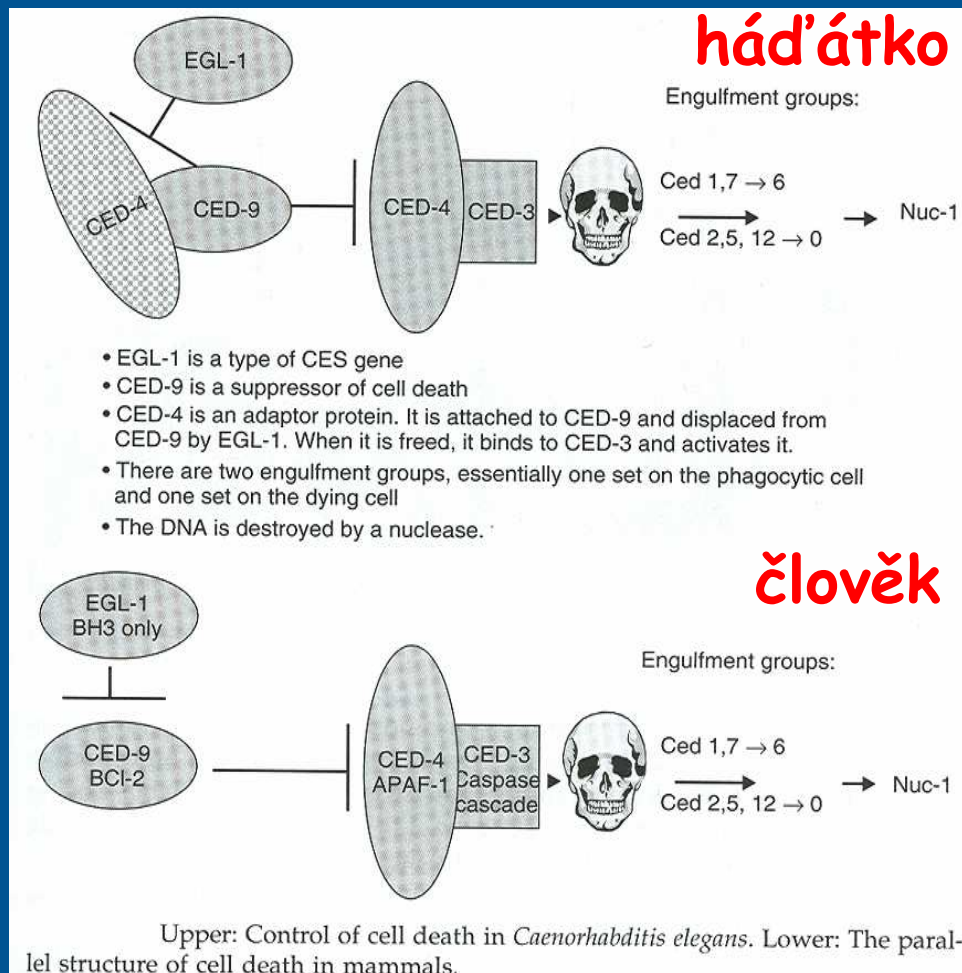
* **proapoptotické** geny kodující proteiny s funkcí „navozující buněčnou smrt“ - tedy „**protirakovinné**“ (Bax,Bak,Bid,Bad..)

* **protiapoptotické** geny kodující proteiny s funkcí „blokující buněčnou smrt“ - tedy „**prorakovinné**“ (Bcl-2,Bcl-xl,Bcl-w..)

HOMOLOGY nalezeny u kvasinek,
nepotvrzeny u rostlin

v **rostlinách** ALE paradoxně kodována tvorba **specifických inhibitorů** (ku př Bax inhibitor 1).

Sofistikovaný systém „pro-“ a „anti-“ **CELL DEATH** genů a jejich různých modulátorů, supresorů, aktivátorů



PCD **aktivátory**
geny BAX

PCD **supresory** =
Onkogeny
geny BCL

Jinak: pro - či anti-
apoptotické

APOPTÓZA
vlastně opad listů
tady „opad“ buněk

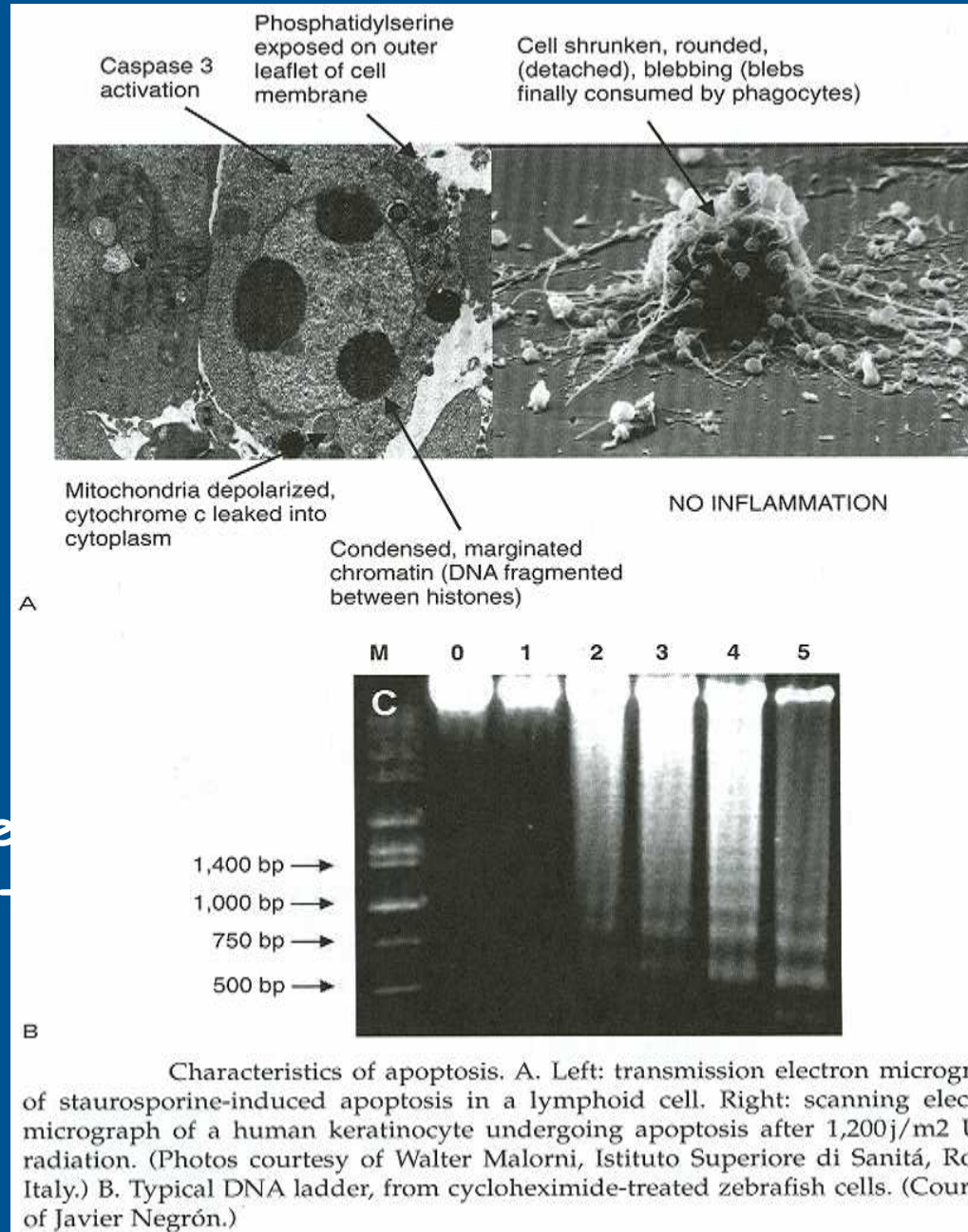
Apoptóza **nebo nekróza** u živočichů:

Předem vytipované buňky umírají z různých důvodů ve prospěch celku :

- **odstraňování neopravitelných genetických poruch**
- **ukončení dělení v „hotových“ pletivech či orgánech**
- **příklad vývojové poruchy : novorozenci s plovacími blánami**

„KULTOVNÍ“ fenomenologie lidské APOPTÓZY dle Kerr et al. 1974:

umírající buňka se postupně „propadá do sebe“, depolarizací mitochondriálních membrán uvolněn cytochrom C, spuštěna syntéza kaspáz, repolarizace plasmalemy – fosfatidylserin vně, kondensuje chromatin, DNA štěpena internukleosomálně: žebřík, „blebs“ na buněčném povrchu, nakonec fagocytovány



ALTRUISMUS

dílčích sebevražd ve prospěch celku
není jen vlastností **mnohobuněčných** organizmů :

- * hospodaření s metabolity
- * zachování kmenové genové linie

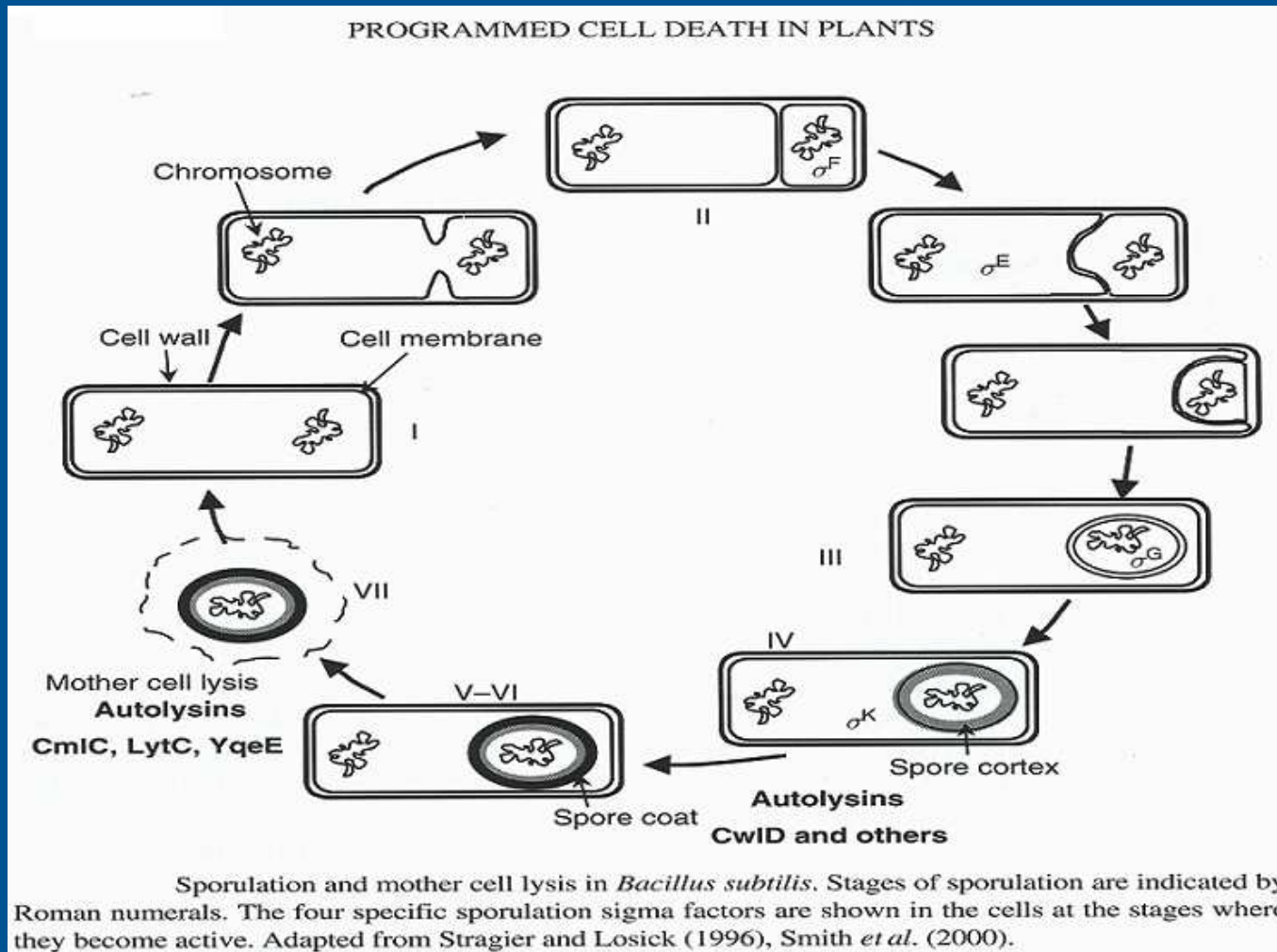
Odras „**populační inteligence**“
bakteriálních či kvasinkových kolonií

Baluška et al
Palková et al

PCD u bakterií jako stresová reakce ?

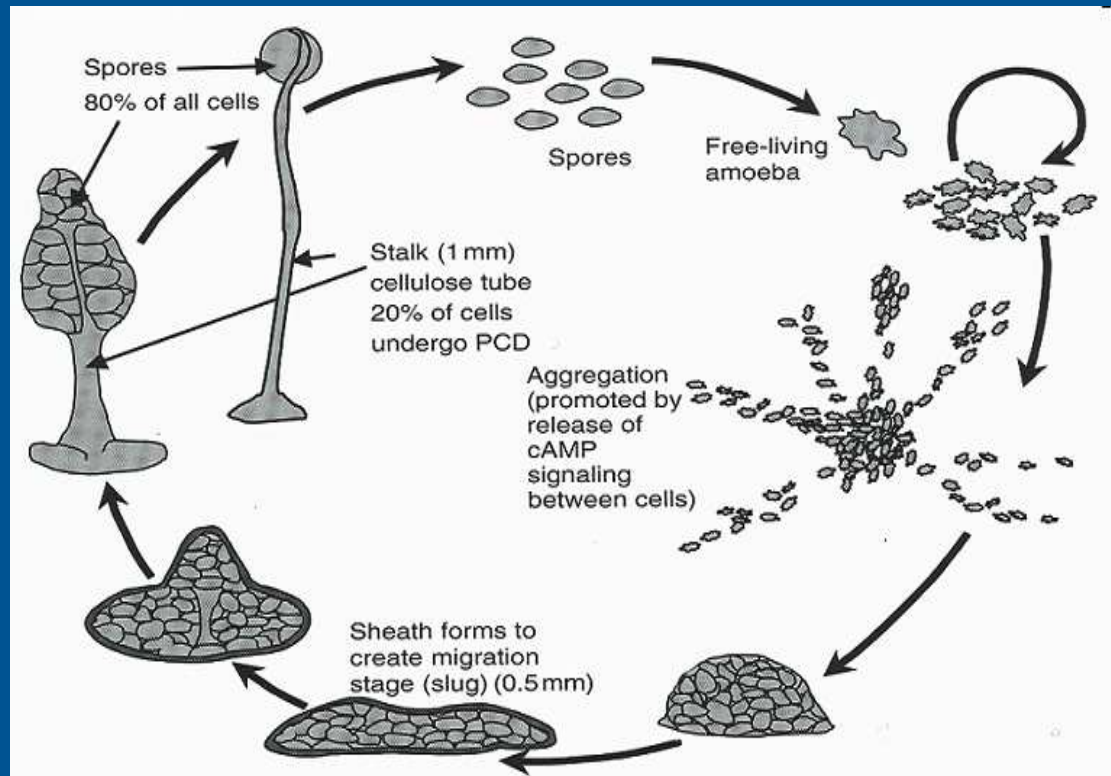
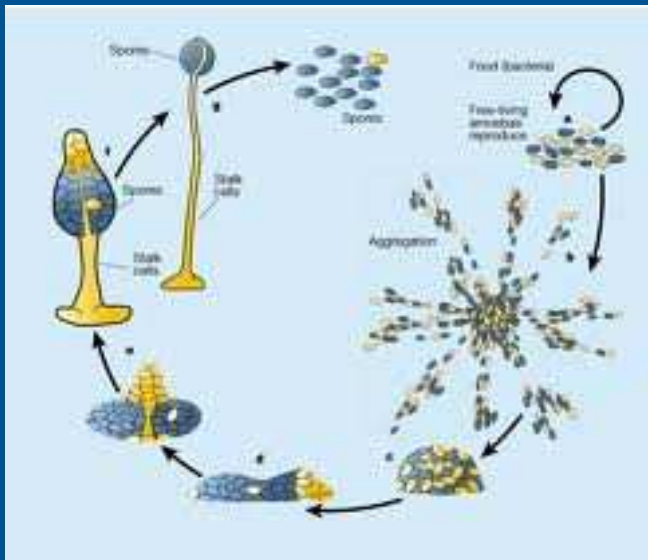
V nepříznivých podmínkách se bakteriální buňka dělí ve dvě, obsah mateřské je využit pro sporulaci – vznik obalu endospory a její následné zrání, nakonec autolýza.

Polovina populace tak přežije nevhodné vegetační podmínky



PCD u hlenek :

až 20% buněk populace tvoří stopku, prochází mechanismem PCD, umožní zbytku sporulovat



Schematic representation of the life cycle of *Dictyostelium discoideum*. The life cycle of the cellular slime mold *D. discoideum* exhibits features of protozoa and fungi. Spores germinate to form amoeba which move and replicate in the presence of an ample food source (bacteria). Under starvation conditions the secondary messenger cAMP is released and serves as a chemoattractant for other amoeba which aggregate together. On aggregation, the amoeba secrete a slimy sheath known as a slug which migrates as a unit toward light. After a period of hours the slug ceases migration and differentiates into a stalked structure. Twenty per cent of the cells form the stalk is enclosed by cellulose. The cells in the stalk undergo PCD (see text for details) and only those in the cap form spores that resist unfavorable conditions until favorable germination conditions occur.

U mnohabuněčných :

- * nejde jen o obecné uchování života a recyklaci jednou vytvořených metabolitů či struktur, ale o celou **ontogenezi organismu** a koordinaci jeho dílčích funkcí od úrovně **subbuněčné** po **organizmální** či možná **populační**
- * pojistka proti riziku neorganizovaného (**nádorového**) růstu resp. vývojových rad
- * aktivní ochrana proti **patogenům a xenobiotikům**
- * zázemí **nekřížitelnosti**
- * uchování **genetické stability**, eliminace „genetických zmetků“ v liniích kmenových buněk

vznik **nových sofistikovaných forem PCD**

Půjčeno od mého kamaráda Dr. Davida Honyse...



FYZIOLOGIE ROSTLIN

Vývojová biologie I + II

David Honys

Katedra fyziologie rostlin PŘF UK

Senescence

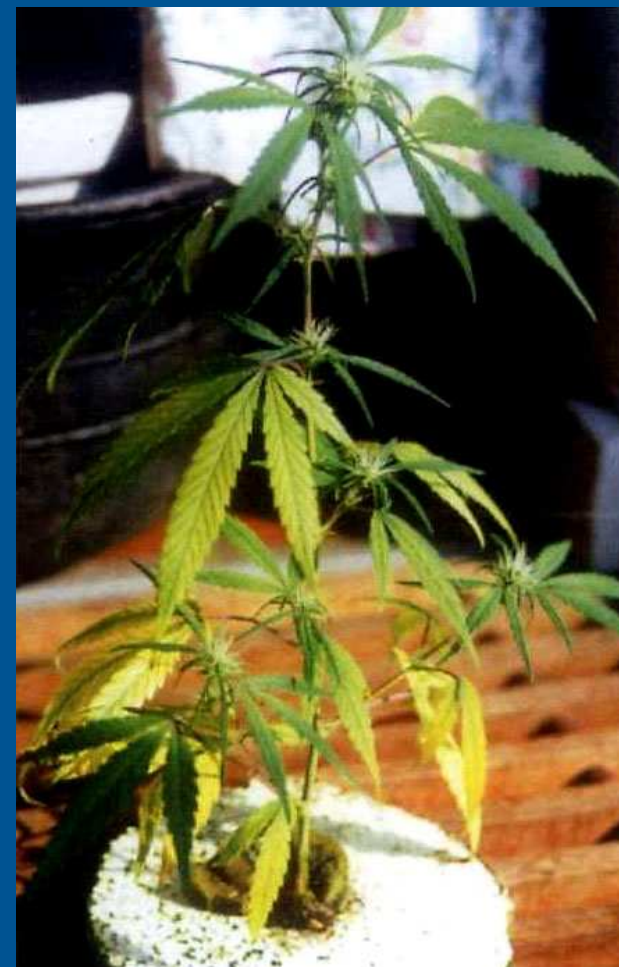
Období stárnutí

Programové odbourávání buněčných
struktur na dále použitelné metabolity

Celá rostlina

nebo

její část



Jedna z forem
programované buněčné smrti
(PCD)

Senescence

Přirozená senescence - často
forma adaptace na sezónní
změny klimatu

Senescence
indukovaná stresem



nedostatek
hořčíku



Přirozená senescence

Monokarpické druhy

Kvetou a plodí
jen jednou a
pak odumírají

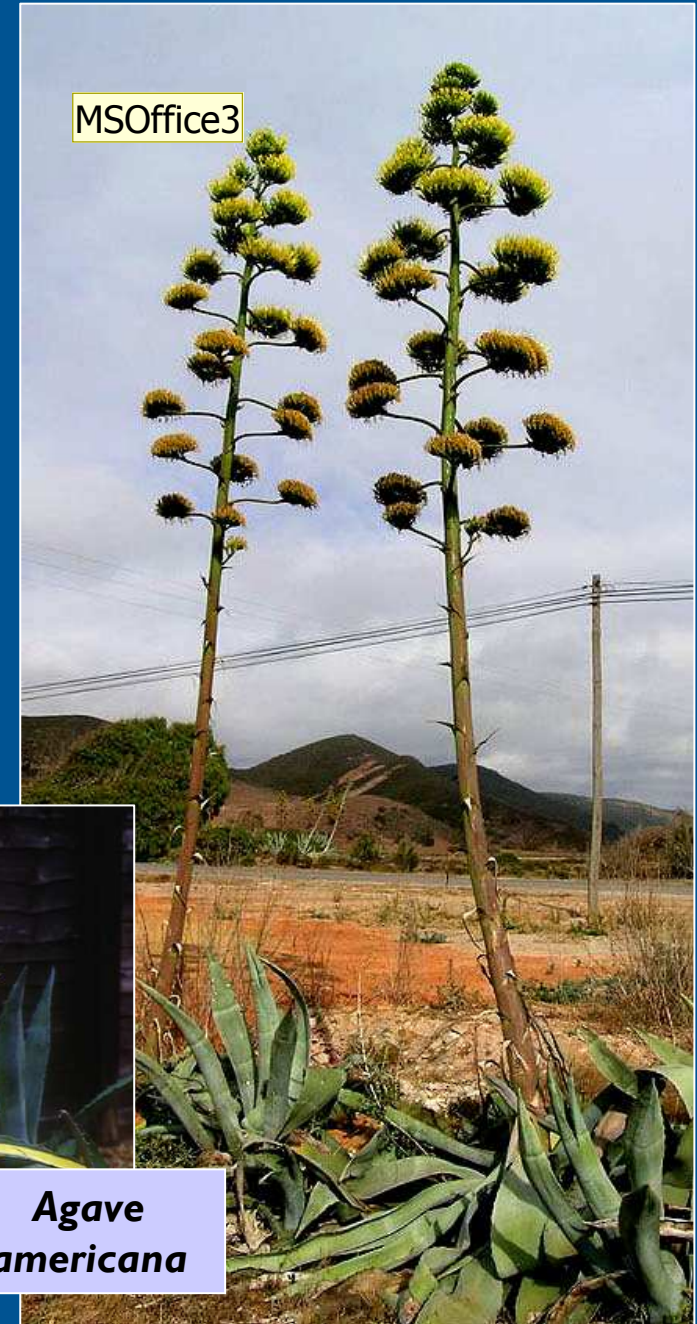


bambus

MSOffice4



Agave
americana



MSOffice3

Snímek 28

MSOffice3 Roste 8-10 let, pak bez zřejmého impulzu vykvete a odumře
; 6.3.2007

MSOffice4 "Stoletá perioda"
; 6.3.2007

Přirozená senescence

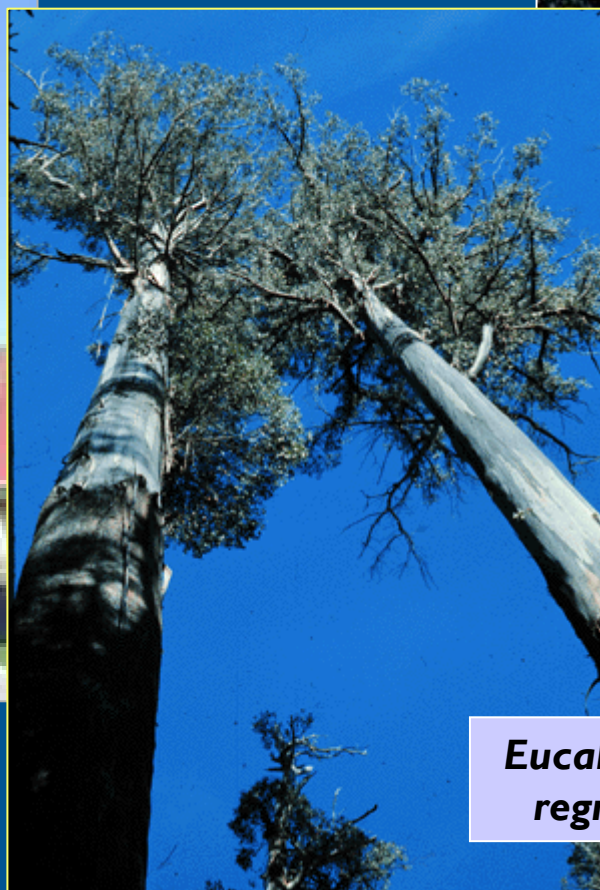
Polykarpické dřeviny

Kvetou a plodí
opakovaně



**Lípa
srdčitá**

1 000 let



***Eucalyptus
regnans***

2 000 - 4 000 let



***Sequoia
sempervirens***

Přirozená senescence

Polykarpické dřeviny



Břečťan

28
měsíců

2 – 3
roky

Borovice



Jedle

© Jardin Mundani ©



Smrk

4 – 13
let

3 – 14
let

6 let



laurus nobilis
© 2005 pictured by antonie van den bos
for aycronto.com

Vavřín

„Stálezelené“

Přirozená senescence



Jetel plazivý

8 let



Jetel luční

5 let



**Štírovník
růžkatý**

Polykarpické byliny

**Více než
10 let**

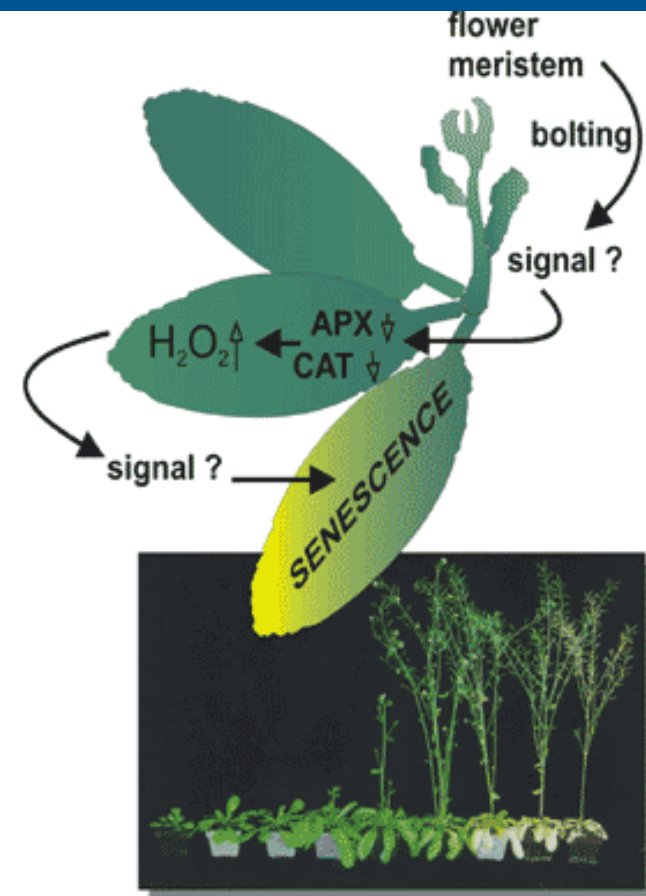
Stárnutí jako korelační jev



Lusky nebyly
odstraňovány

Lusky byly
odstraňovány

© 2001 Brooks/Cole - Thomson Learning



Zabránění přesunu
živin do květů,
semen či plodů může
oddálit senescenci

Fyziologické a biochemické změny v průběhu senescence

Precizně kontrolovaný proces

Genová exprese

Obecný pokles, ale ...

... zejména v počátku specifická aktivace řady genů

Řízení průběhu senescence

**Chlorofylasa
Mg-dechelatasa
Fosfolipasa D
 β -galaktozidasa
Isocitrátlyasa
Malátsynthasa
PEP karboxykinasa**

Aktivace katabolických procesů

**Enzymy degradace
nukleových kyselin**



Senescence listu

**Snížení rychlosti fotosyntézy
a zvýšení respirace**



Ztráta chlorofylu

žloutnutí listů



Chloroplast

Gerontoplast

**Rozpad pigmentových
komplexů**

Odbourávání chlorofylu

Rozpad fotosystémů

Narušení membrán

Štěpení lipidů a proteinů

Degradace nukleových kyselin

Ztráta turgoru



abscission
zone, where base
of leaf joins a stem

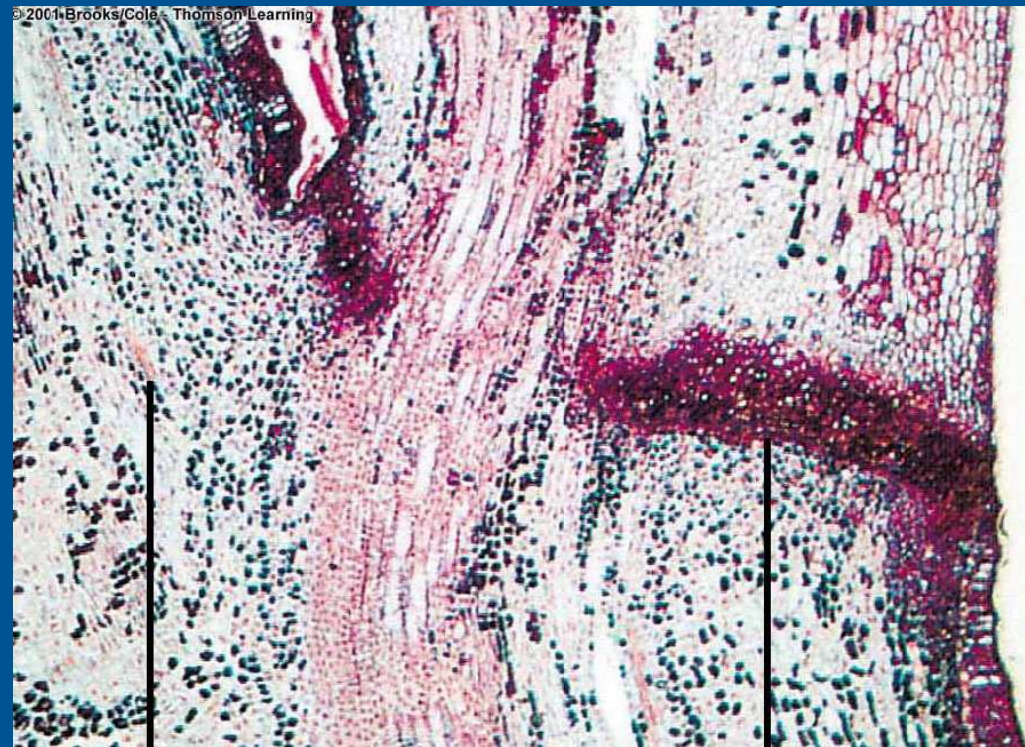
Zkrácení doby osvitu
– pokles produkce
auxinu

Vznik odlučovací vrstvy

Opad listů

Odlučovací vrstva

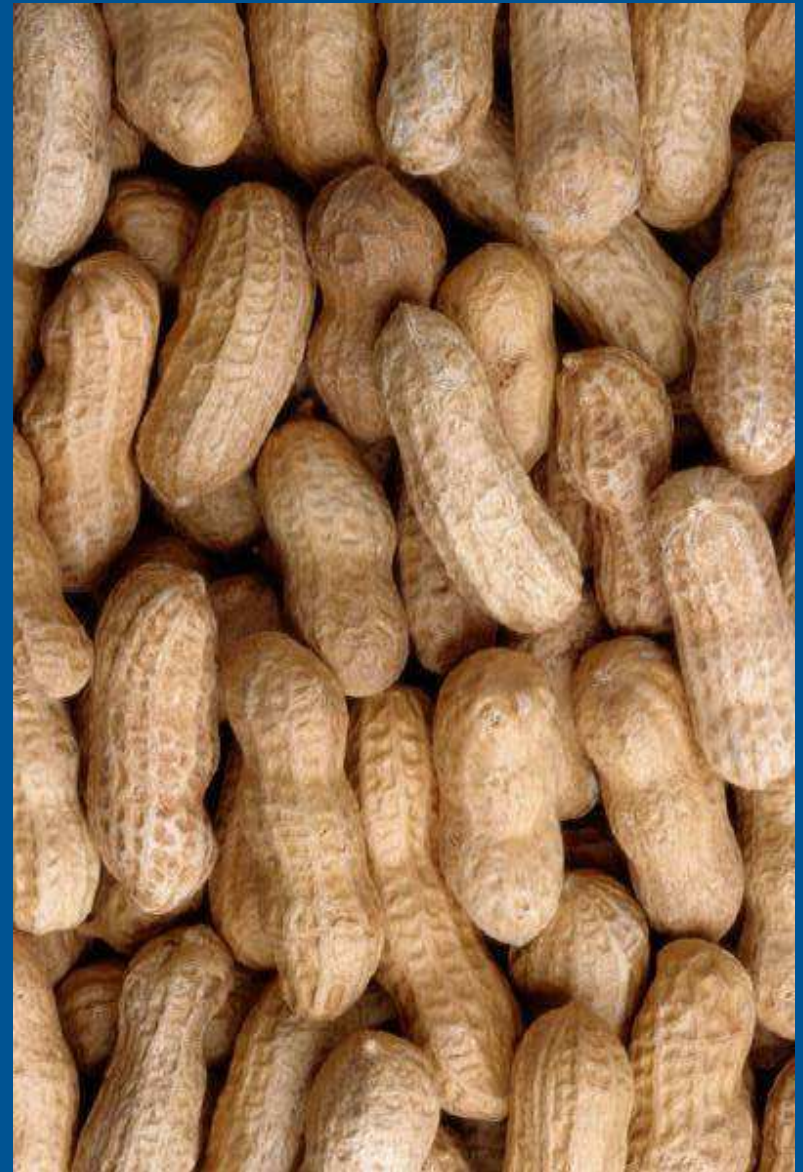
Produkce ethylenu – ukládání suberinu
Narušení buněčné stěny celulázami a pektinázami



Pletiva
stonku

Odlučovací
vrstva

Opad květů a plodů



Programovaná
Buněčná Smrt u
ROSTLIN

*kontrola buněčné
proliferace v průběhu
růstu a vývoje

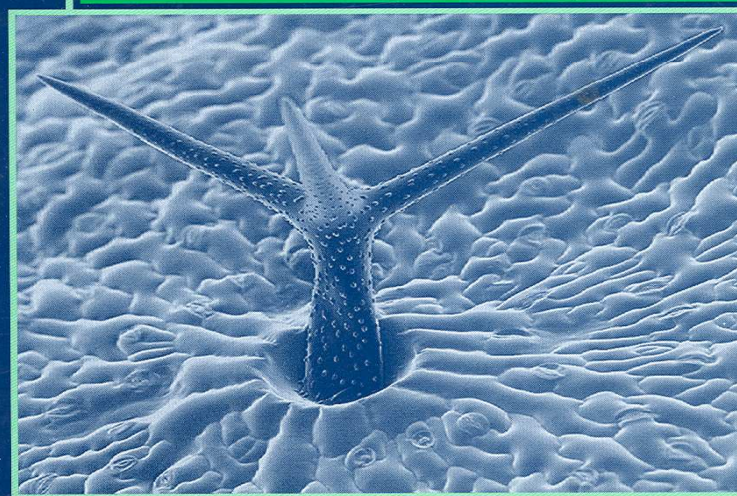
*udržování bezchybného
genomu a nekřížitelnosti

*cytodiferenciace
histogeneze, morfogeneze

*„recyklace“ vlastních
metabolitů a struktur

*ochrana proti
patogenům

**PROGRAMMED CELL
DEATH IN PLANTS**



Edited by **John Gray**

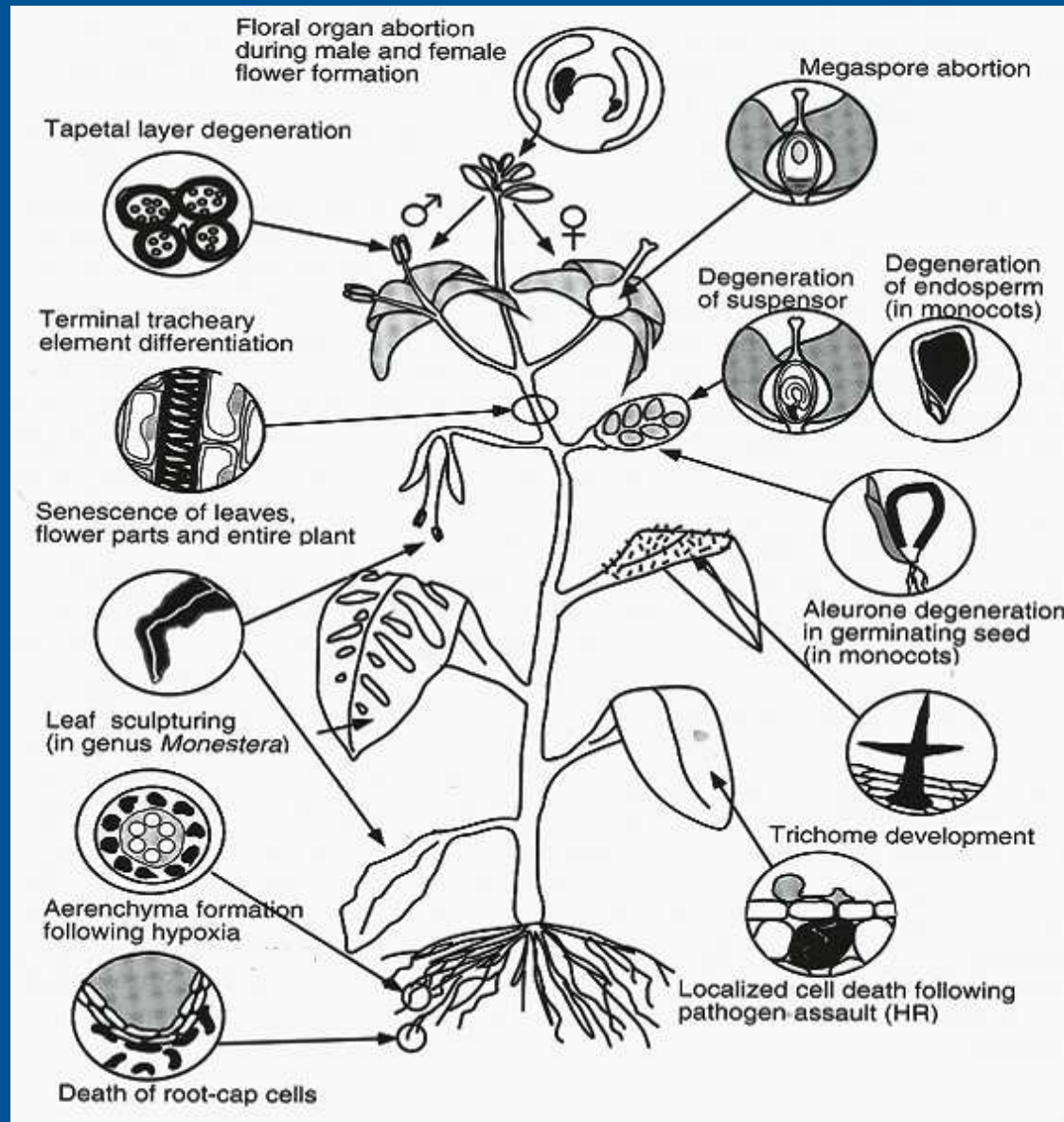


Blackwell
Publishing



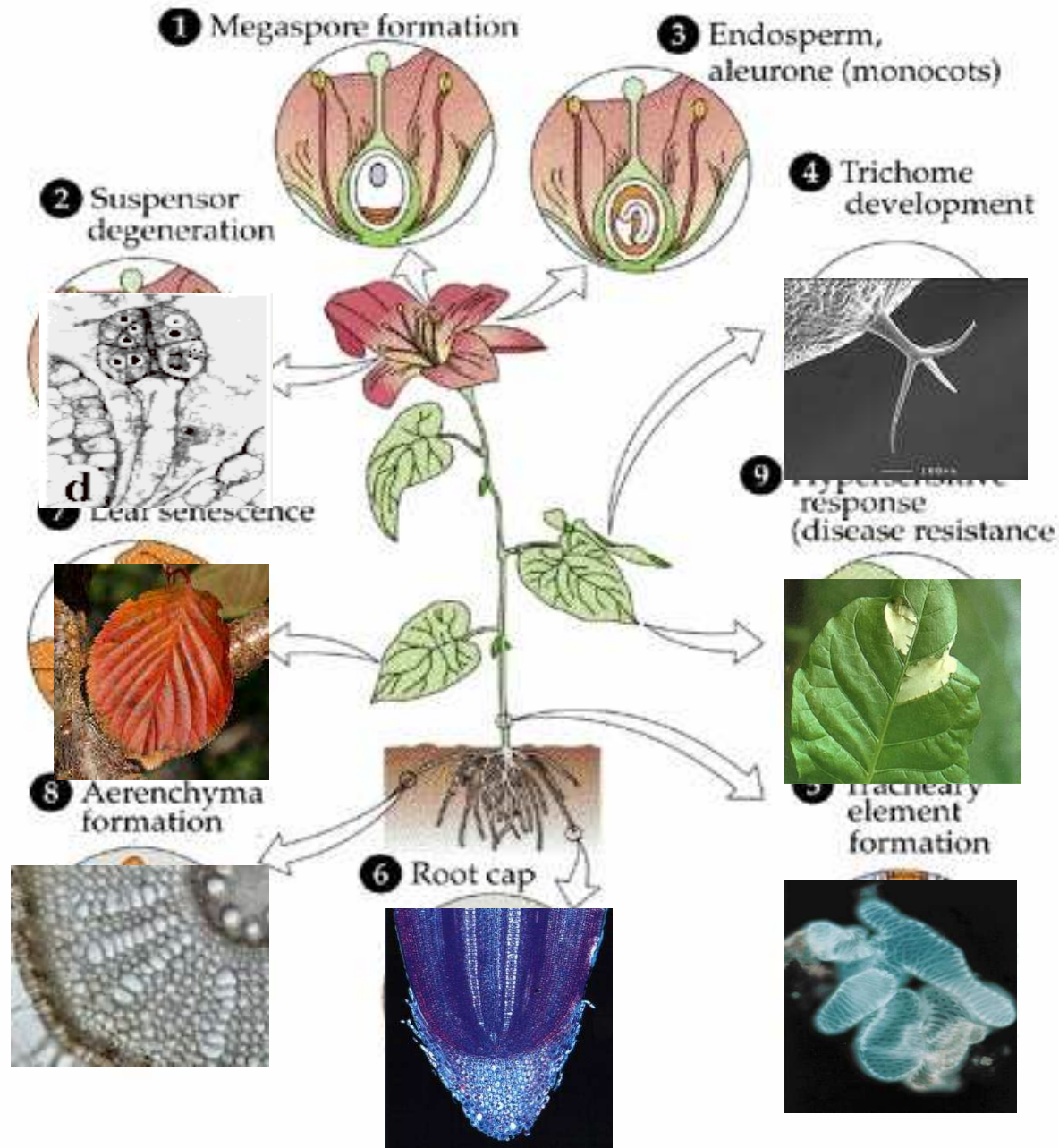
CRC Press

PCD v ontogenezi rośliny



Putative PCD Events in Higher Plants: Idealized schematic indicates cells, organs, and tissues in a plant that undergo cell death events during the normal developmental cycle. Dark areas indicate where PCD events are believed to occur. Adapted from Gray and Johal, 1998.

a ještě jednou barevně



1. Bell et al., 1996
2. Nagl et al., 1977
3. Bethke et al., 1999

5. Fukuda et al., 1980

6. Feldman et al., 1996

7. Yen et al., 1998

8. Kawai et al., 1998

9. Lam et al., 2001

Programovaná buněčná smrt u rostlin



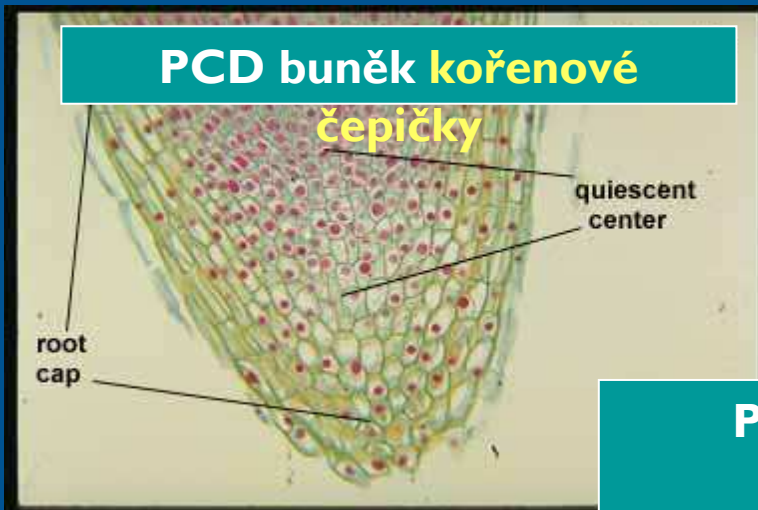
Degenerace
članků cév v
xylému



Degenerace
solných žláz



Senescence
listů



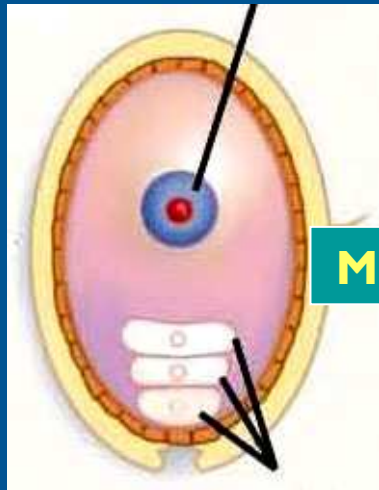
PCD buněk kořenové
čepičky

PCD po napadení
patogenem
– hypersenzitivní odpověď

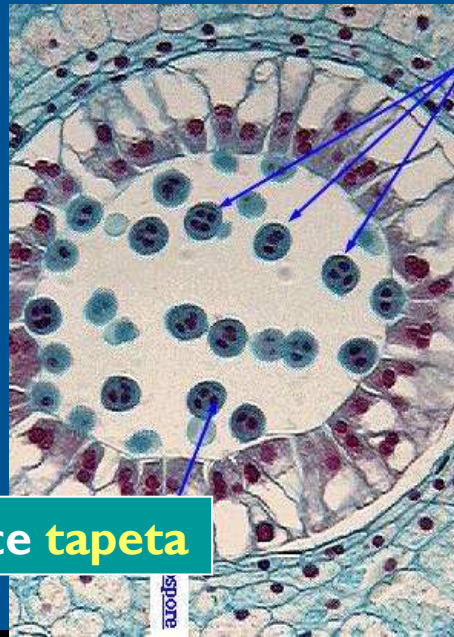


Tvar
listů

Programovaná buněčná smrt u rostlin



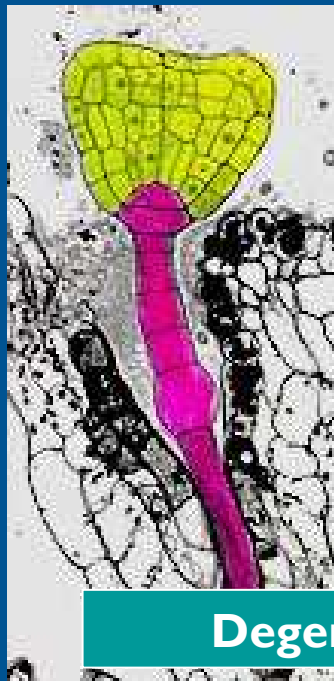
Megasporogene
ze



Degenerace tapeta



Puknutí
zralého
prašníku



Degenerace
suspenzoru



Vývoj pylu
nahosemenný
ch rostlin



Degenerace
papilárních buněk po
obvylení

Degenerace základů květních
orgánů
při zakládání jednopohlavných
květů

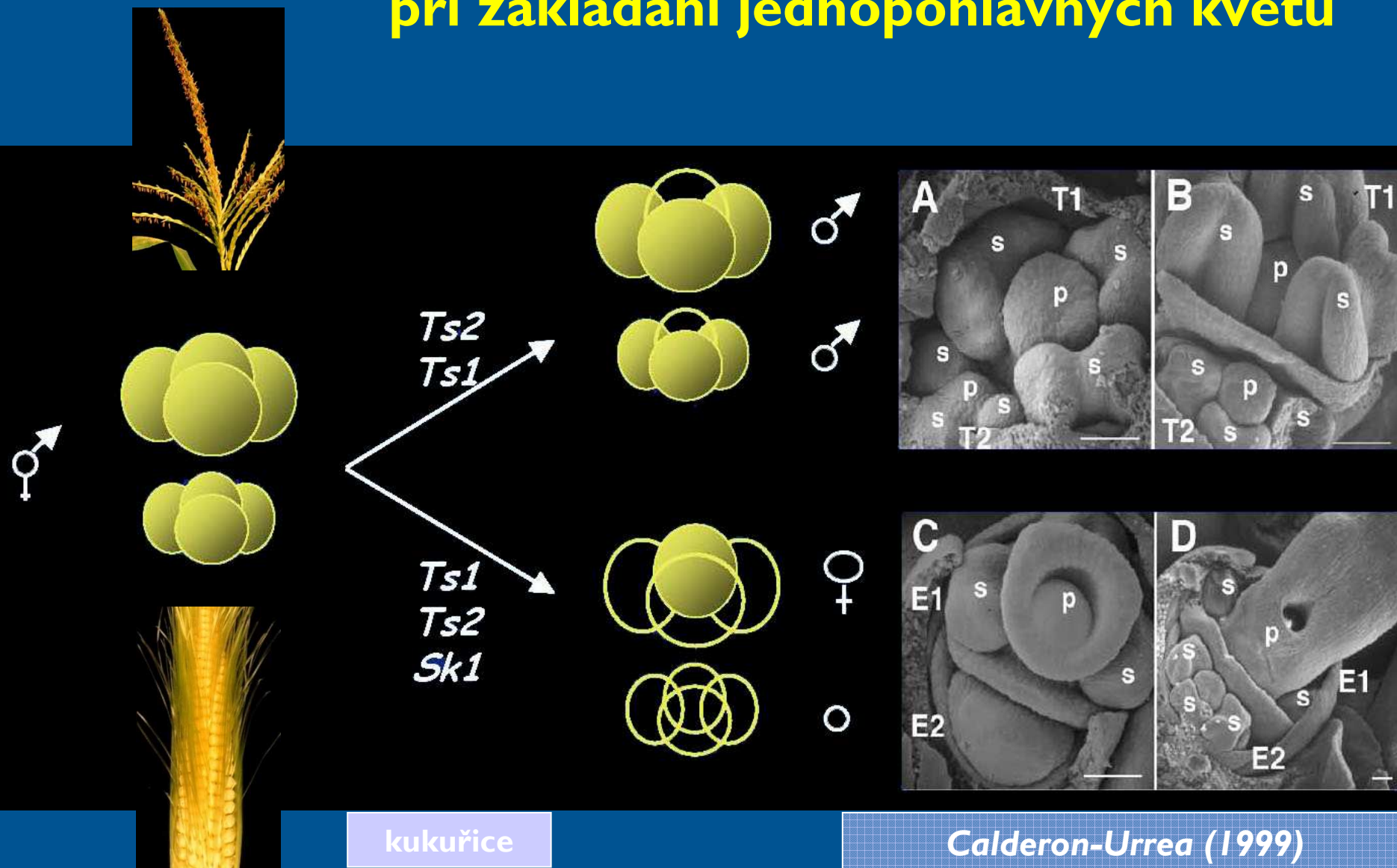
Degenerace základů květních orgánů při zakládání jednopohlavných květů



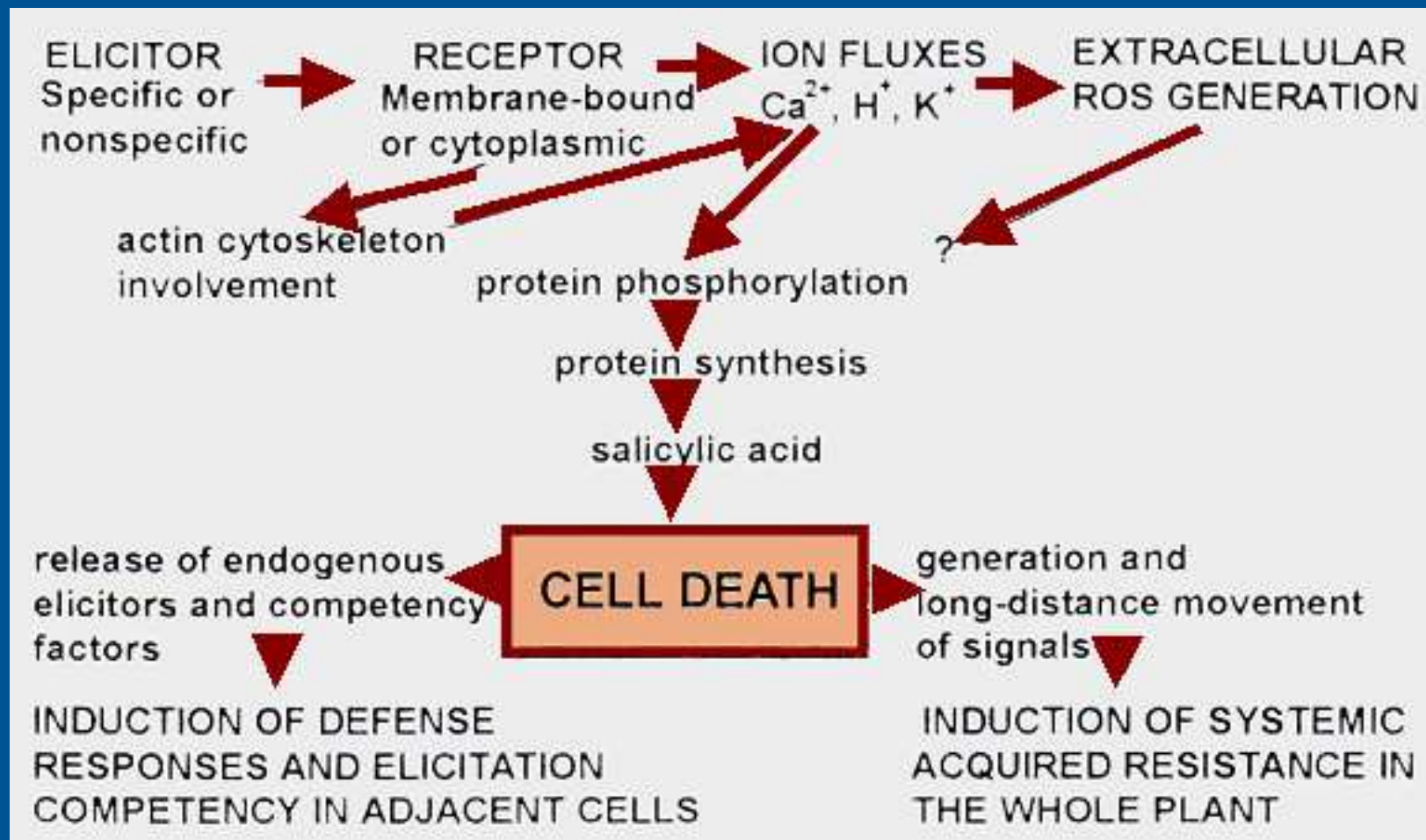
kukuřice



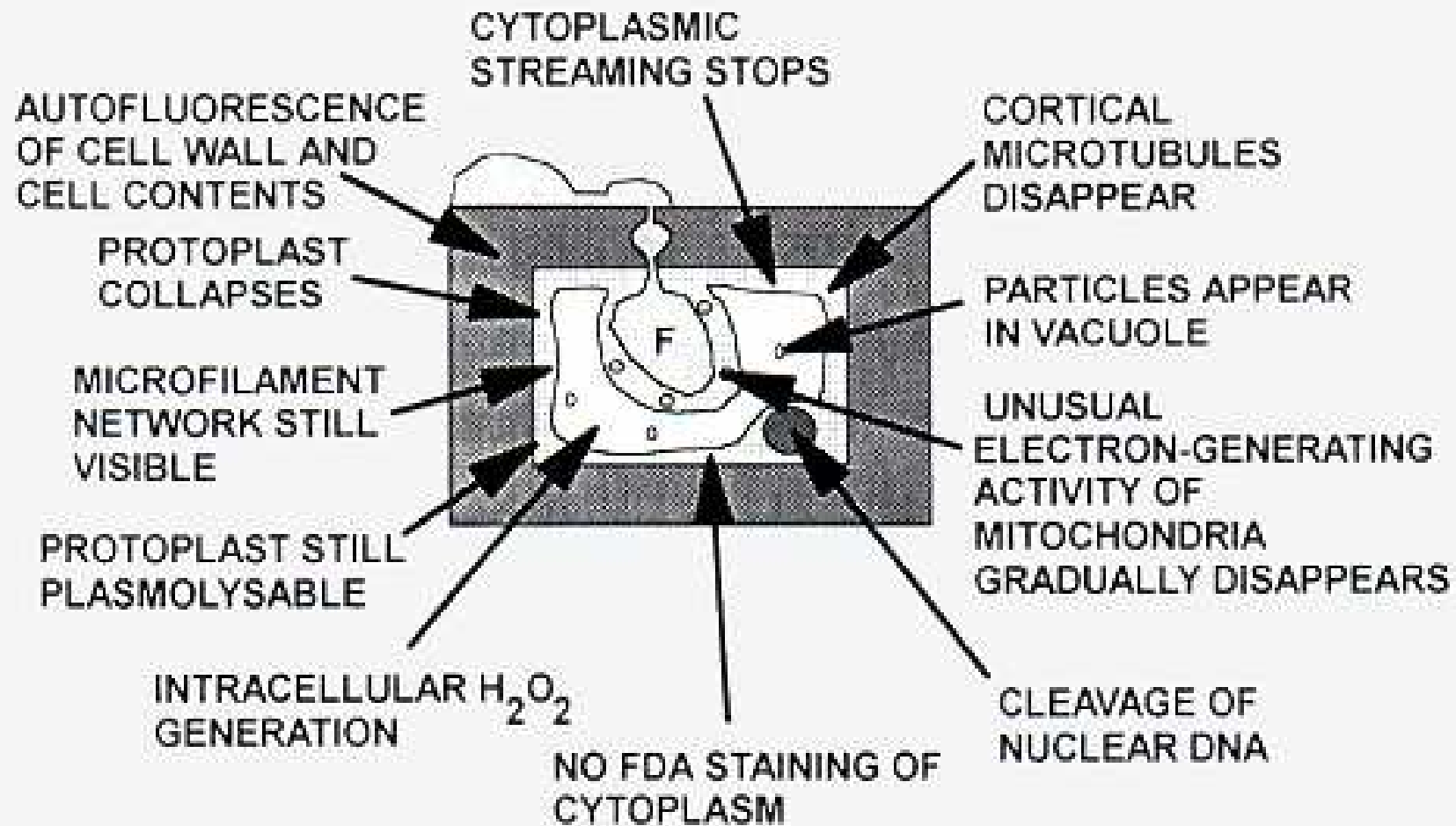
Degenerace základů květních orgánů při zakládání jednopohlavných květů



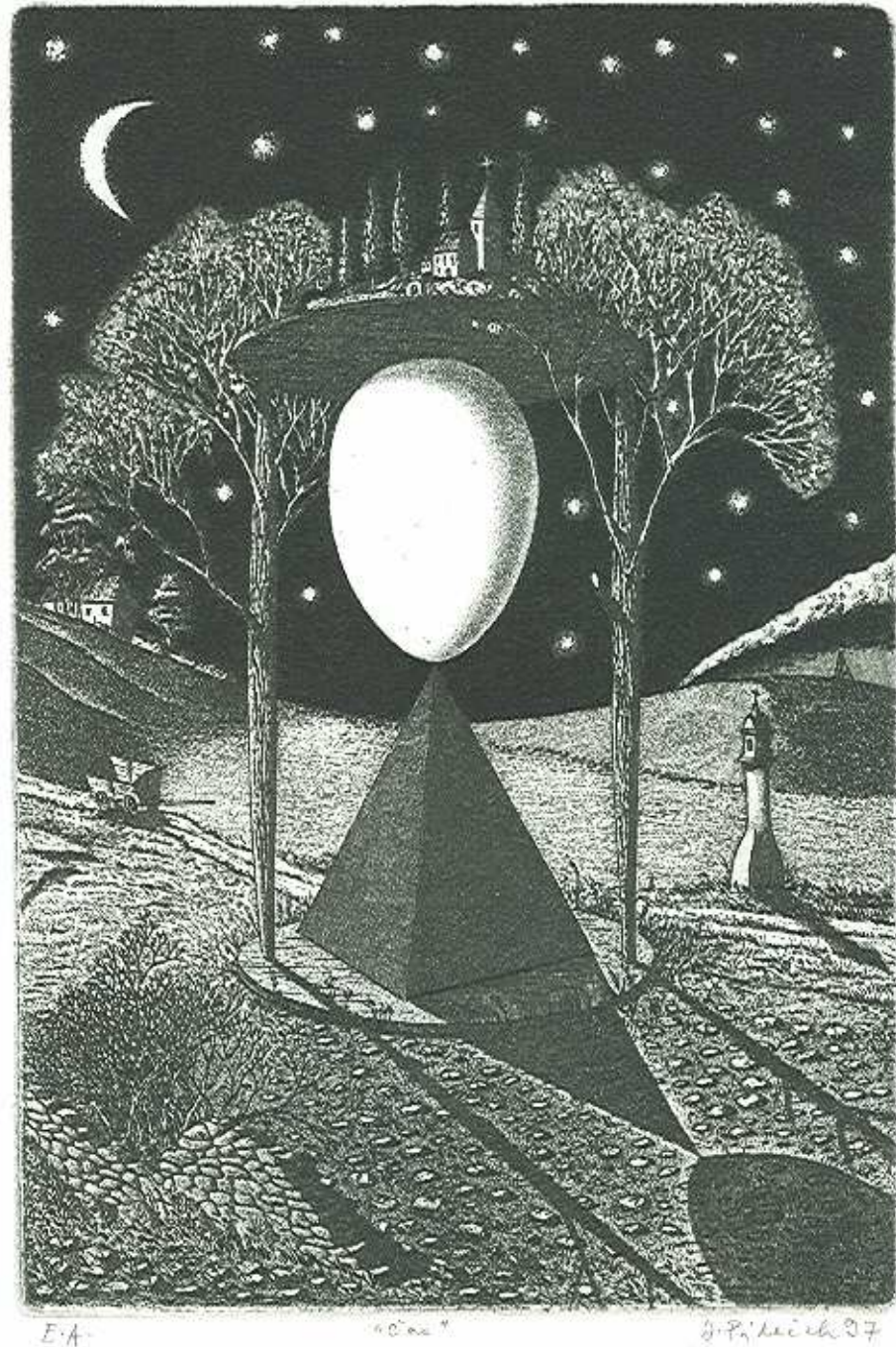
PCD po útoku **PATOGENA**



Cytologické změny po účinku patogena či xenobiotika



Od embrya
ke smrti
nebo
naopak
?



buněčná smrt a vznik embrya

Protimluv nebo realita ?

Embryogeneze u vyšších rostlin: základní vývojový + „pohlavně rozmnožovací proces“

Alternativní embryogenní cesty

- *pro případ selhání základního zygotického programu
- *pro rychlé a účinné množení druhu v konkurenci jiných

APOMIXE

POLYEMBRYONIE

využívající buněk „zárodečné dráhy“

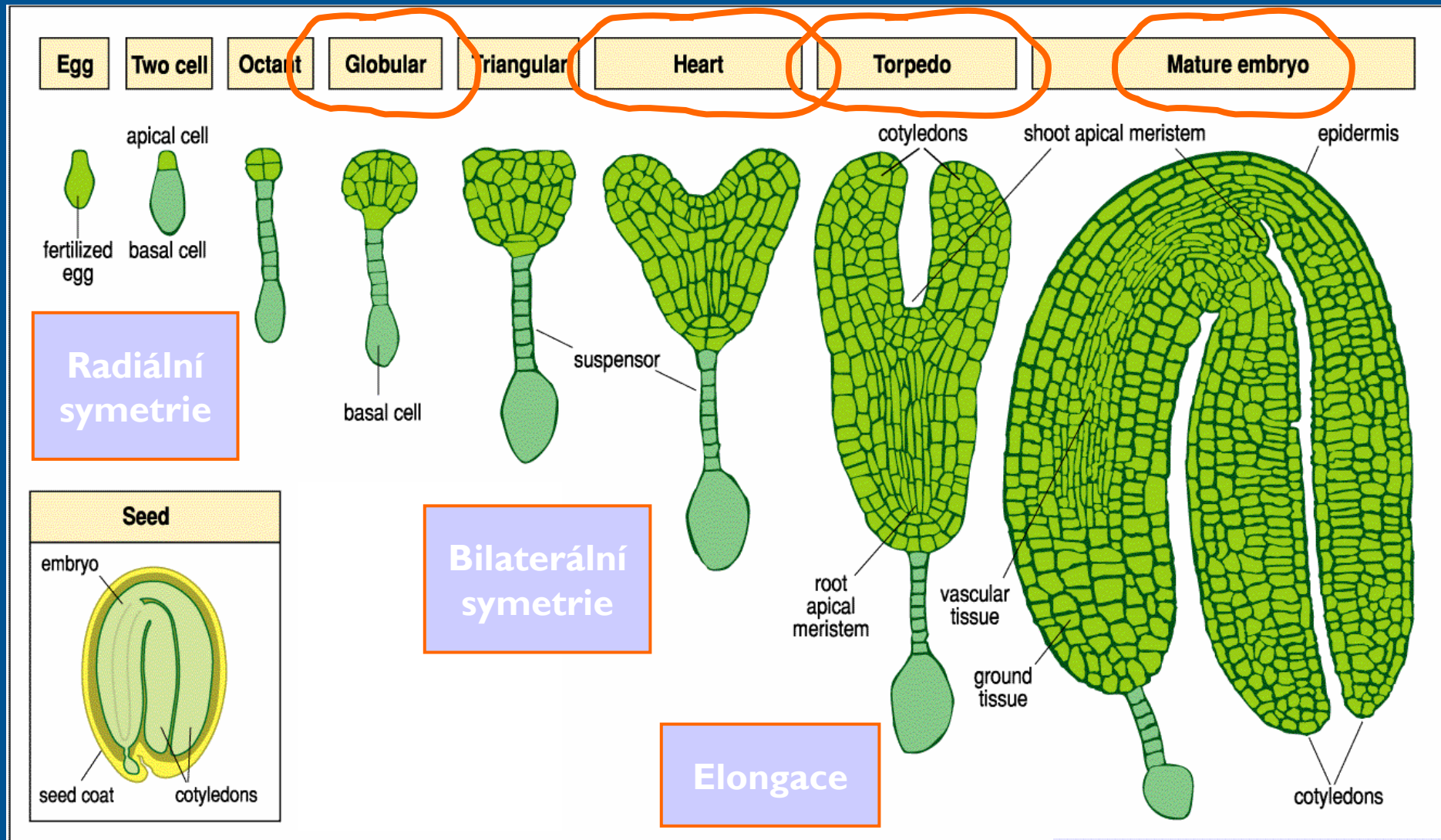
Jak vzniká
„rostlinné miminko“ ?

cytologická dokumentace
raných fází

zygotické embryogeneze

opět půjčená od D. Honyse

Vývoj embrya huseníčku

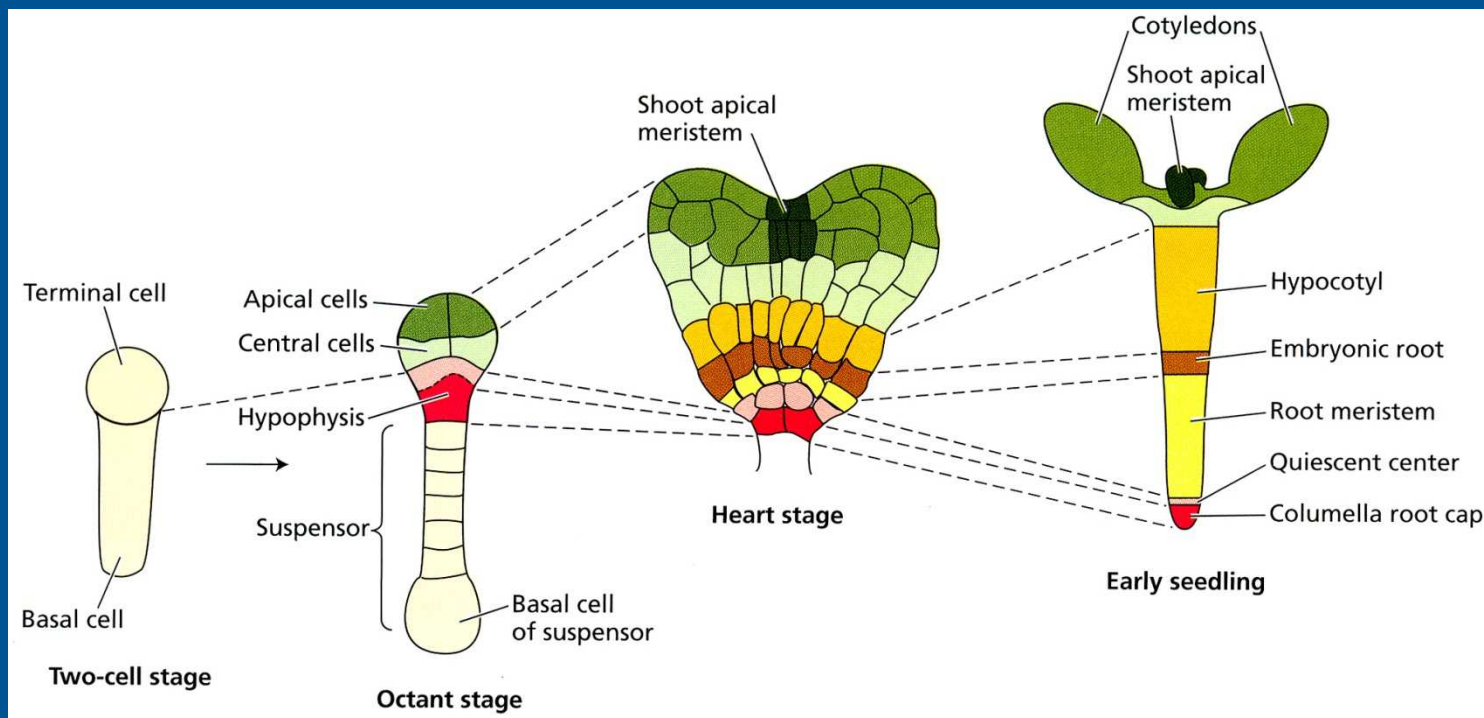


Vznik **protomeristémů** velice záhy po oplození

HONYS 2007

Wolpert (1998)
Principles of
Development

Apikálně-bazální organizace embrya a semenáčku



Naprostá většina rostlinného těla je produktem apikální buňky

Hypofýza - derivát bazální buňky
centrum

kolumela a klidové

Srdčité stádium: tři oblasti

Apikální oblast →

dělohy a apikální meristém

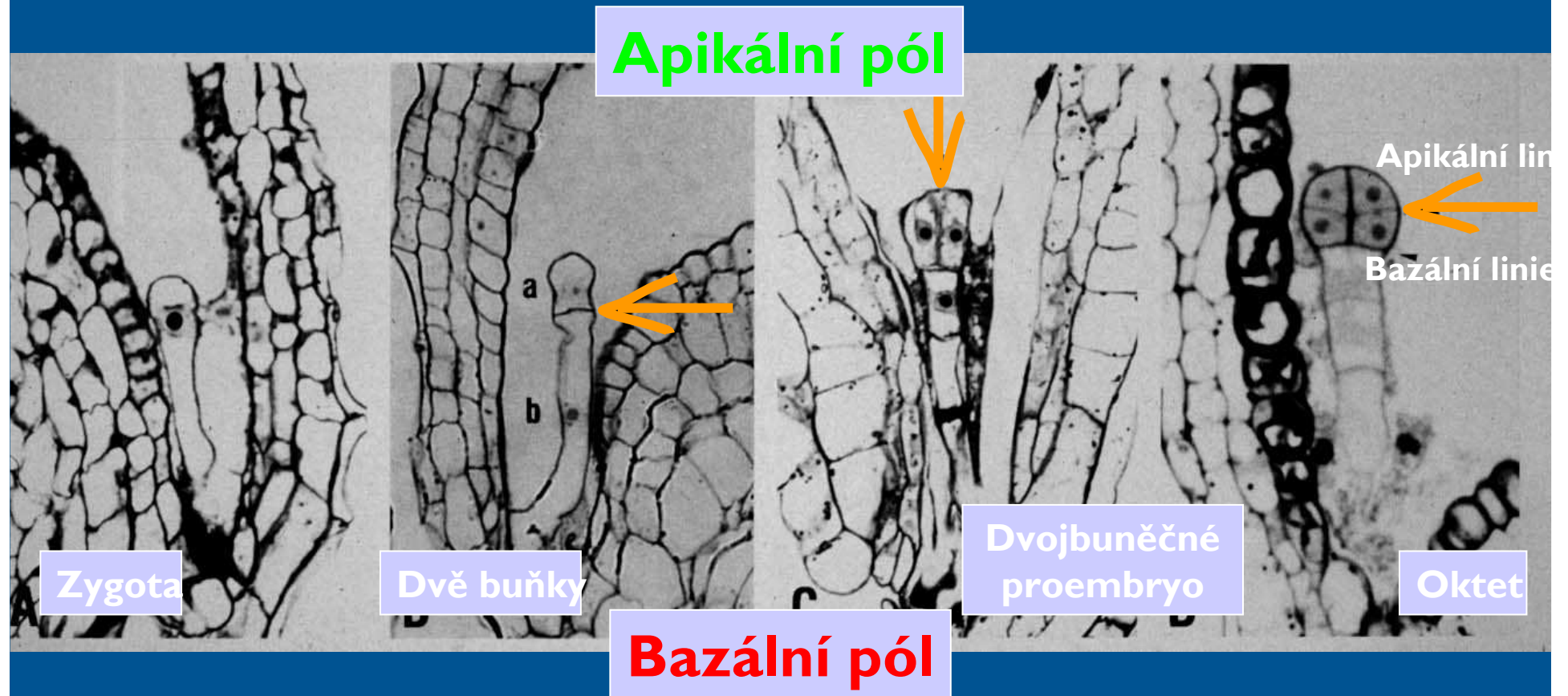
Střední oblast →

hypokotyl, kořen, většina kořenového meristému

Hypofýza →

zbytek kořenového meristému

Nejranější období vzniku uspořádanosti (pattern formation) huseníčku

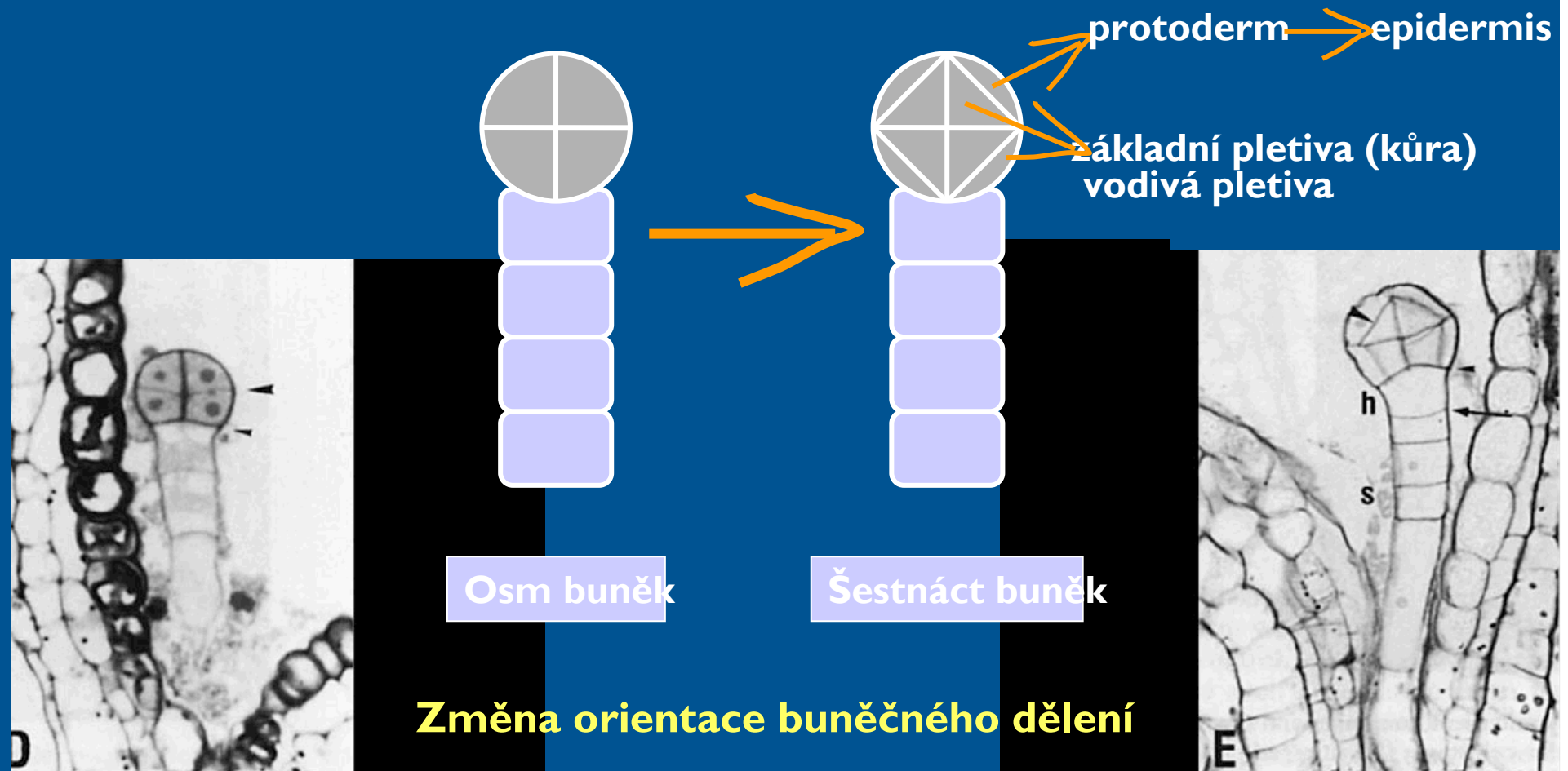


Přesně definovaný sled buněčných dělení

David Twell (2006)

Přechod z oktetového do dermatogenového stadia

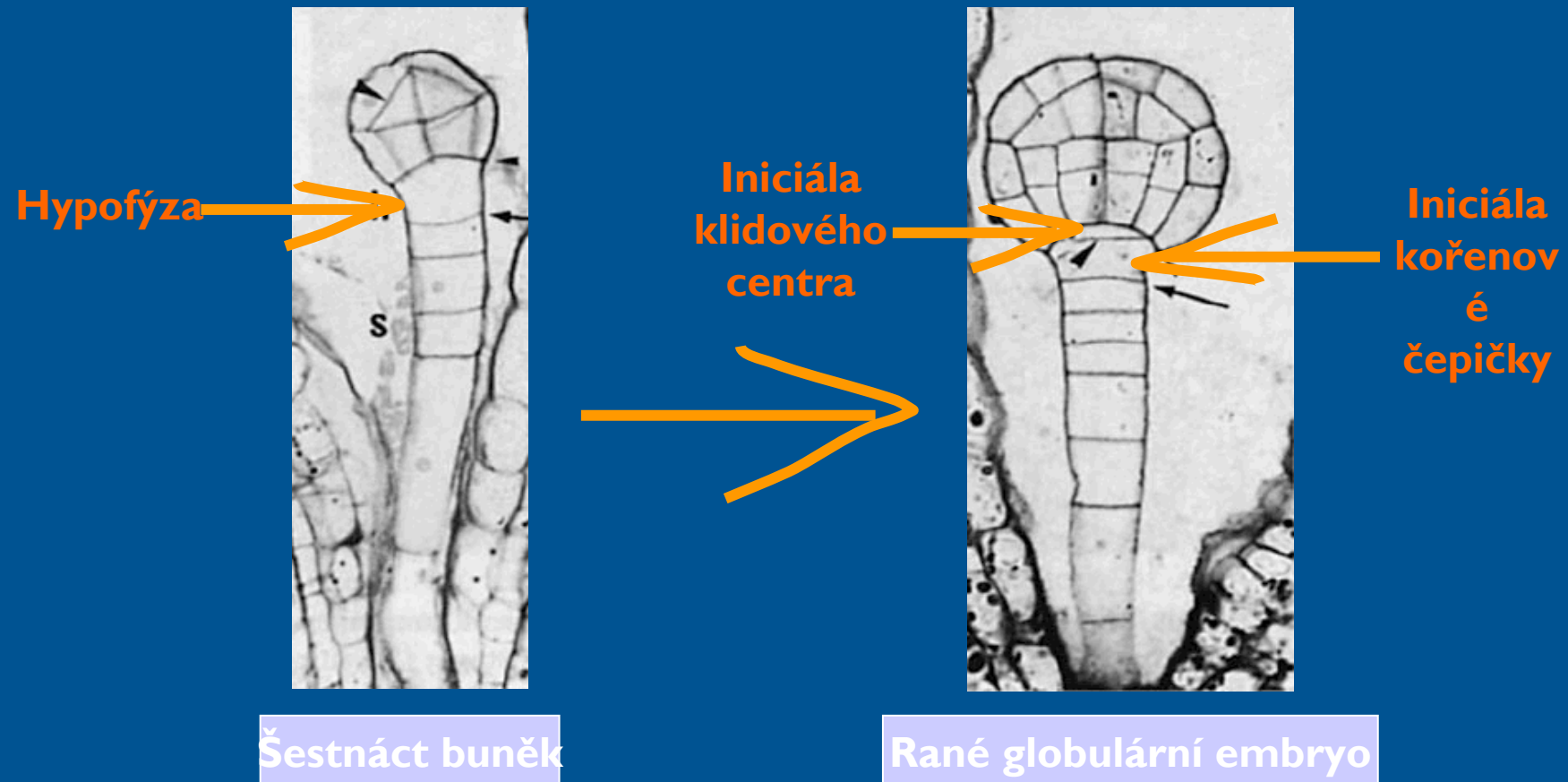
Základ budoucích vrstev pletiv



David Twell (2006)

Dermatogenové stadium – bazální buněčná linie

Základ kořenového apikálního meristému

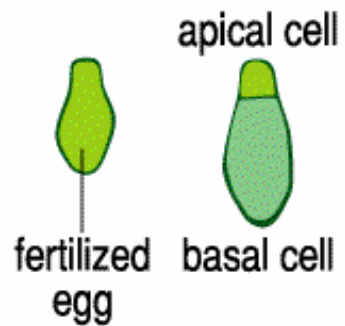


David Twell (2006)

Deriváty apikální a bazální buňky

Egg

Two cell



Embryo
huseníčku



K dozrání a „osamostatnění“ embrya v rostlině
je nutná včasná **smrt** „pupeční šňůry“
tzv. **SUSPENSORU**

Platí to i při vzniku somatických embryí
ve zkumavce ?
A jakým způsobem se to děje ?

Somatická embryogeneze (SE)

od mrkve přes pšenici po smrk

- * 2,4-D klíčový morfogenní faktor, součinnost s CK, ABA ..
- * rychle stoupá počet druhů vykazujících schopnost SE
- * poměrně nízký výskyt genotypů realizujících jak organogenezi tak i SE. Některé klasické regenerační modely (tabák, brambor) v realizaci SE neúspěšné
- * často striktní limit regenerační kompetence souvisí s orgánovou specifitou, stářím

atraktivní modelem
i pro cytologické *in situ* analýzy
je
somatická embryogeneze
jehličnanů

SE linie udržovány v tzv.
proliferační fázi

na mediu s auxiny (zejm. 2,4-D) a cytokininy
„maturace“ spuštěna

vynecháním A+K a přidavkem CK

zrání „embryonálních hlav“
provázeno ? podmíněno?

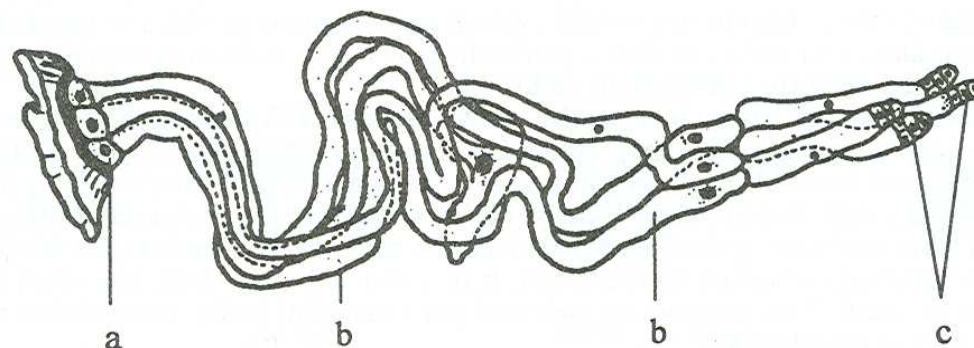
programovanou buněčnou smrtí suspensorů

Zygotická embryogeneze borovice – *Pinus*

10.1.3 Embryogeneze rostlin nahosemenných

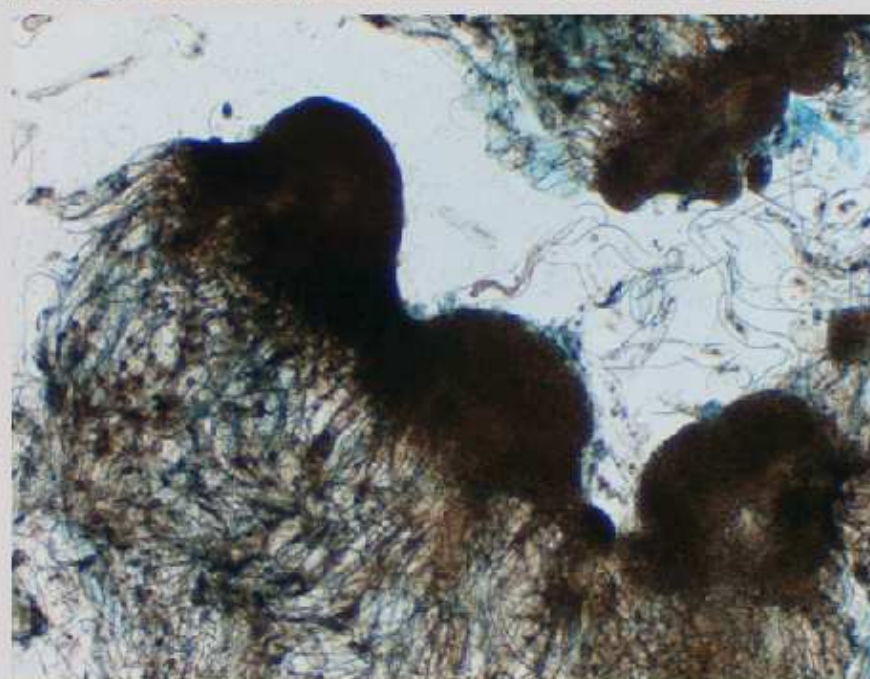
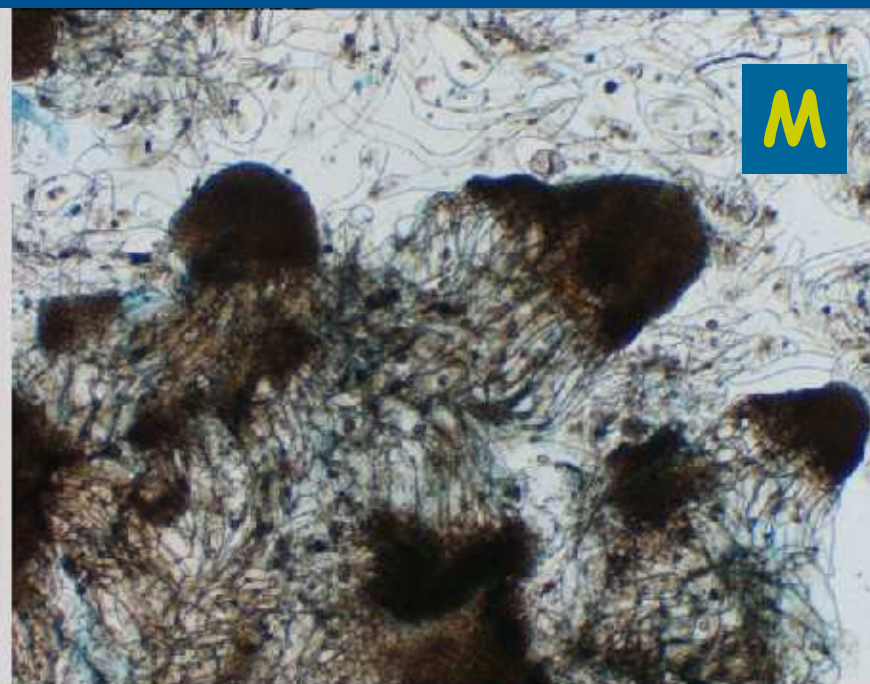
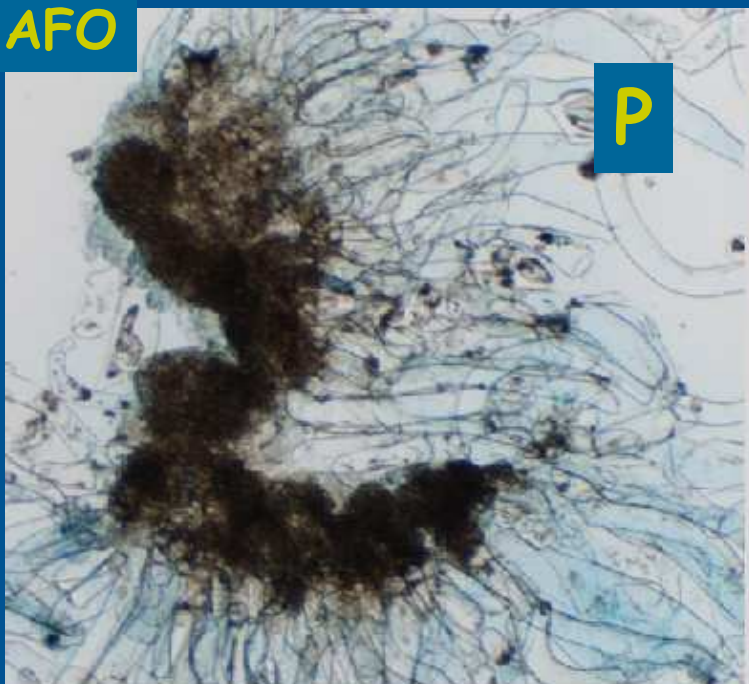
▲ U nahosemenných rostlin jsou **gametofyty mnohobuněčné**. Vajíčka krytá integumentem (obvykle jedním) nejsou uzavřena v dalších strukturách, jsou volná na stopkách (např. *Ginkgo*) nebo leží na **plodních** (semenných) **šupinách** uspořádaných v soubory připomínající květenství. V samičím gametofytu je diferencováno **několik archegonií**, každé obsahuje jednu **oosféru**. **Oplození je jednoduché**, jedna buňka spermatická (výjimečně pohyblivý spermatozoid) fúzuje s oosférou, druhá zaniká. U *Gnetaceae* druhá spermatická buňka fúzuje s břišní kanálkovou buňkou (sesterská buňka oosféry, leží v hrdle archegonia nad oosférou, tj. směrem k jeho ústí), vzniklá buňka se několikrát dělí. Tento fenomén je považován za náznak dvojitého oplození. Pletivo samičího gametofytu se mění v zásobní pletivo, které se označuje jako **primární endosperm** (endosperm krytosemenných se někdy označuje jako endosperm sekundární). Nucellus přetrvává jako **perisperm**.

Po oplození se **jádro zygoty dělí bez vzniku přepážek** (tzv. syncytiální dělení nebo starší název – volné novotvoření jaderné). **Počet vzniklých jader je druhově specifický** (u jinanu 256, u většiny konifer 32, u *Pinus* 16, u *Sequoia* se tvoří přepážka hned po prvním dělení jádra), stejně jako jejich další vývoj. U borovice (*Pinus*) se čtyři jádra přesunou do chalazální oblasti a synchronně se dělí. Vzniklých 16 jader se uspořádá do čtyř tetrad nad sebou a začnou mezi nimi vznikat přepážky. Čtveřice buněk ležící směrem k mikropylu se nazývá **rozeta** a tyto buňky se nezvětšují. Buňky dalších dvou vrstev se výrazně prodlužují, oddělují se od sebe a tvoří čtyři vlákna spojená v rozetě. Prodlužující se buňky se označují jako **suspensory** (obr. 10.8.). Čtyři buňky ležící směrem k chaláze na kon-



Obr. 10.8. Embryogeneze u nahosemenných rostlin (borovice – *Pinus*). a – rozeta, b – suspensory, c – základ embrya. (Podle Černohorský Z.: Základy soustavné botaniky I., SPN, Praha 1964. Upraveno).

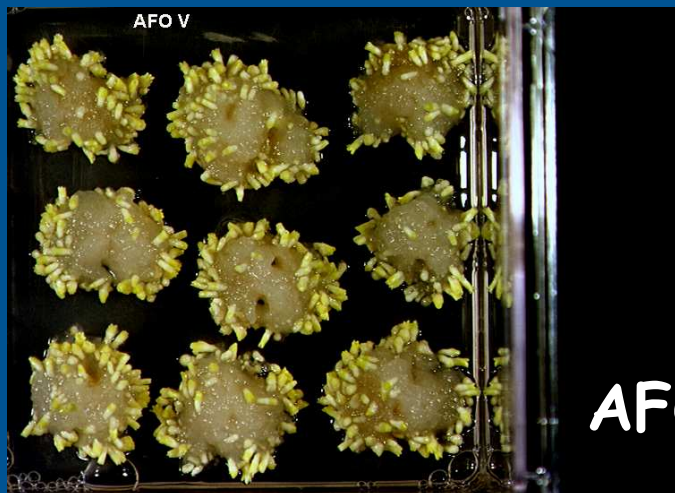
SE linie AFO



Vondráková et al. 2005

Somatic embryogenesis of spruce

– *Picea abies*



AFO



C 111



Opatrná, Vágner, Vondráková 1995

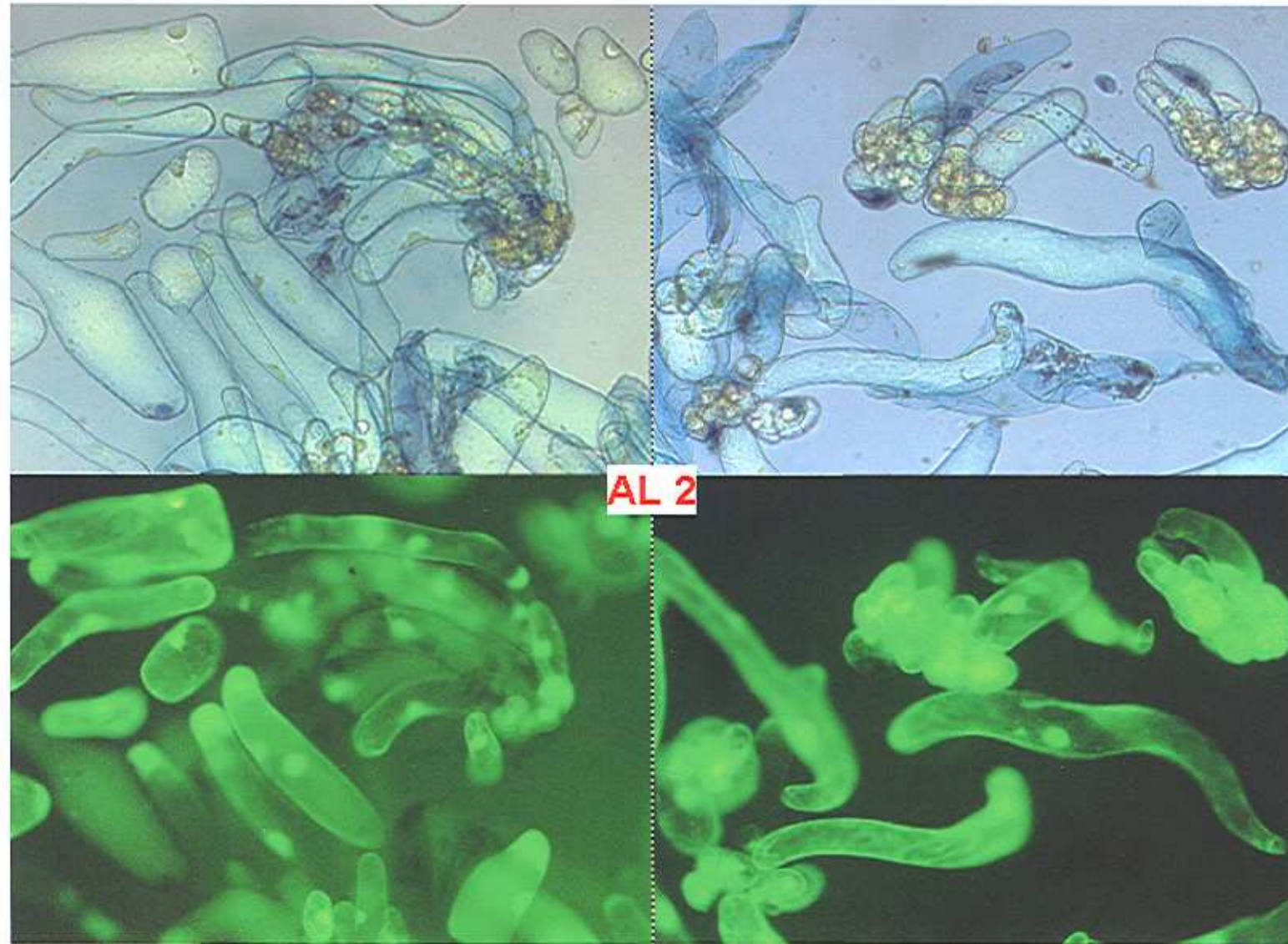
Podíl i charakter

„proembryonálních hlav“
a suspensorových buněk

jsou často typické
pro
danou embryogenní linii

(viz mj. kolekce SE linií z laboratoře Dr. Vágnera ÚEB AVČR)

SE linie jedle AL2 jen několikabuněčné meristematické hlavy, krátké a nečetné suspensorové buňky. Proliferační fáze, vysoká viabilita FDA



The evolution of new structures

clues from plant cytoskeletal genes

How large numbers of genes were recruited simultaneously in evolutionary biology. Here, we present data on actins and other cytoskeletal proteins arose concurrently reproductive structures in the earliest land plants. That the development of organs and tissues is well established. This is an ancient landmark event in the global regulation of the macroevolution of plant vegetative and reproductive organs for large numbers of plant genes should make it possible.

Perhaps one of the most complex questions in plant evolutionary biology is how to link the rapid macroevolutionary changes that occurred during vascular plant evolution with the molecular evolution of the genes that are necessary to control their development. Remarkable new organ structures have evolved in the past 500 million years since land plants split from a common ancestor with green algae^{1,2}. For example, it is widely accepted that there was a macroevolutionary divergence of leaves and reproductive structures early in vascular plant evolution (~400 million years)^{3,4}. However, it has been difficult to model the evolution of any set of genes with the macroevolutionary origin of an organ, such as the leaf. Large numbers of interacting genes are required to regulate and physically direct the development of cell, tissue and organ structures. Distinct sets of genes have been uncovered that regulate the development of vegetative and reproductive organs⁵⁻¹⁰. Here, we propose that the macroevolution of vegetative and reproductive plant structures was linked to the molecular evolution of two large, differentially regulated classes of cytoskeletal genes that physically direct development.

Actin is a cytoskeletal protein that is expressed in all eukaryotes. Higher plant actins are encoded by a relatively ancient and diverse family of genes, whose phylogeny was initiated with the emergence of vascular plants^{11,12}. The earliest phylogenetic divergence resulted in separate vegetative and reproductive classes of actin genes, and these have been preserved as separate classes for 350–500 million years¹². Because duplicate gene copies are genetically less stable than single-copy genes^{13,14}, two logical and non-exclusive arguments have been given for the preservation of ancient actin subclasses^{12,15}. The first argument says that the amino acid sequence diversity found in

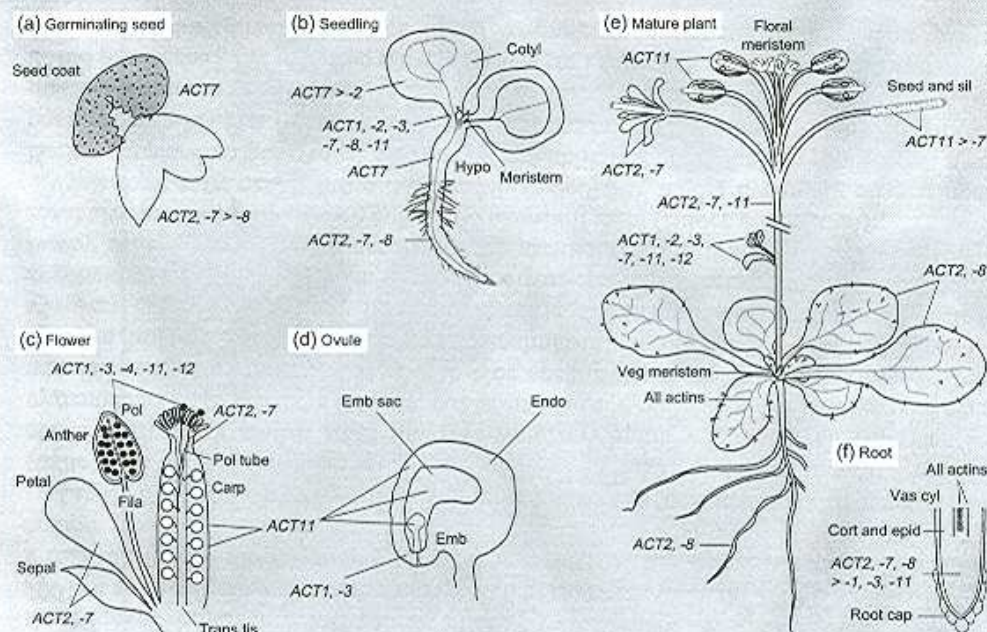
Richard B. Meagher
meagher@arches.uga.edu

Elizabeth C. McKinney
emckinney@arches.uga.edu

Angela V. Vitale
avital@arches.uga.edu

Genetics Department,
Life Sciences Building,
University of Georgia,
Athens, GA 30602, USA.

FIGURE 2. Summary of actin expression patterns



The two ancient classes of *Arabidopsis* actin-encoding genes are distinguished easily based on vegetative and reproductive expression patterns. Vegetative actins (*ACT2*, *ACT7*, *ACT8*) predominate in germinating seeds (a), seedlings (b), mature plants (e) and root tips (f); whereas reproductive actins (*ACT1*, *ACT3*, *ACT4*, *ACT11*, *ACT12*) predominate in the ovule (d) and in pollen sacs in the flower (c). A few patterns of expression for each gene class do not fit neatly into these categories. For example, vegetative actins (*ACT2*, *ACT7*) are strongly expressed in parts of the floral organ complex, such as sepals, petals, stigma and style (c, e). Three reproductive actins (*ACT1*, *ACT3*, *ACT11*) are expressed in meristems (b, e). All eight actins are expressed at some level during vascular tissue development (e, f). A summary of these data and the abbreviations used is presented in Table 2.

Mohou se
v buňkách suspensoru
exprimovat
jiné aktinové geny
než v merihlavách ?

The actin cytoskeleton: a key regulator of apoptosis and ageing?

Campbell W. Gourlay and Kathryn R. Ayscough

Abstract | Evidence from many organisms has shown that the accumulation of reactive oxygen species (ROS) has a detrimental effect on cell well-being. High levels of ROS have been linked to programmed cell death pathways and to ageing. Recent reports have implicated changes to the dynamics of the actin cytoskeleton in the release of ROS from mitochondria and subsequent cell death.

The study of pathways that trigger apoptosis and ageing is crucial for increasing our understanding of these fundamental processes. Whereas apoptosis is probably triggered by a range of both extracellular

and intracellular factors, its morphological characteristics are notably consistent. From yeast to human cells, the hallmarks of this programmed cell death pathway include chromatin condensation, degeneration of mitochondrial membrane potential and exposure of phosphatidylserine at the plasma membrane^{1,2} (BOX 1).

Crucial to our current understanding of apoptosis is the role of the mitochondrion. Both the release of cytochrome *c* and the production of reactive oxygen species (ROS) from mitochondria are involved in apoptosis in yeast and mammalian systems. Despite evidence for a role of the accumulation of ROS in both apoptosis and ageing, relatively

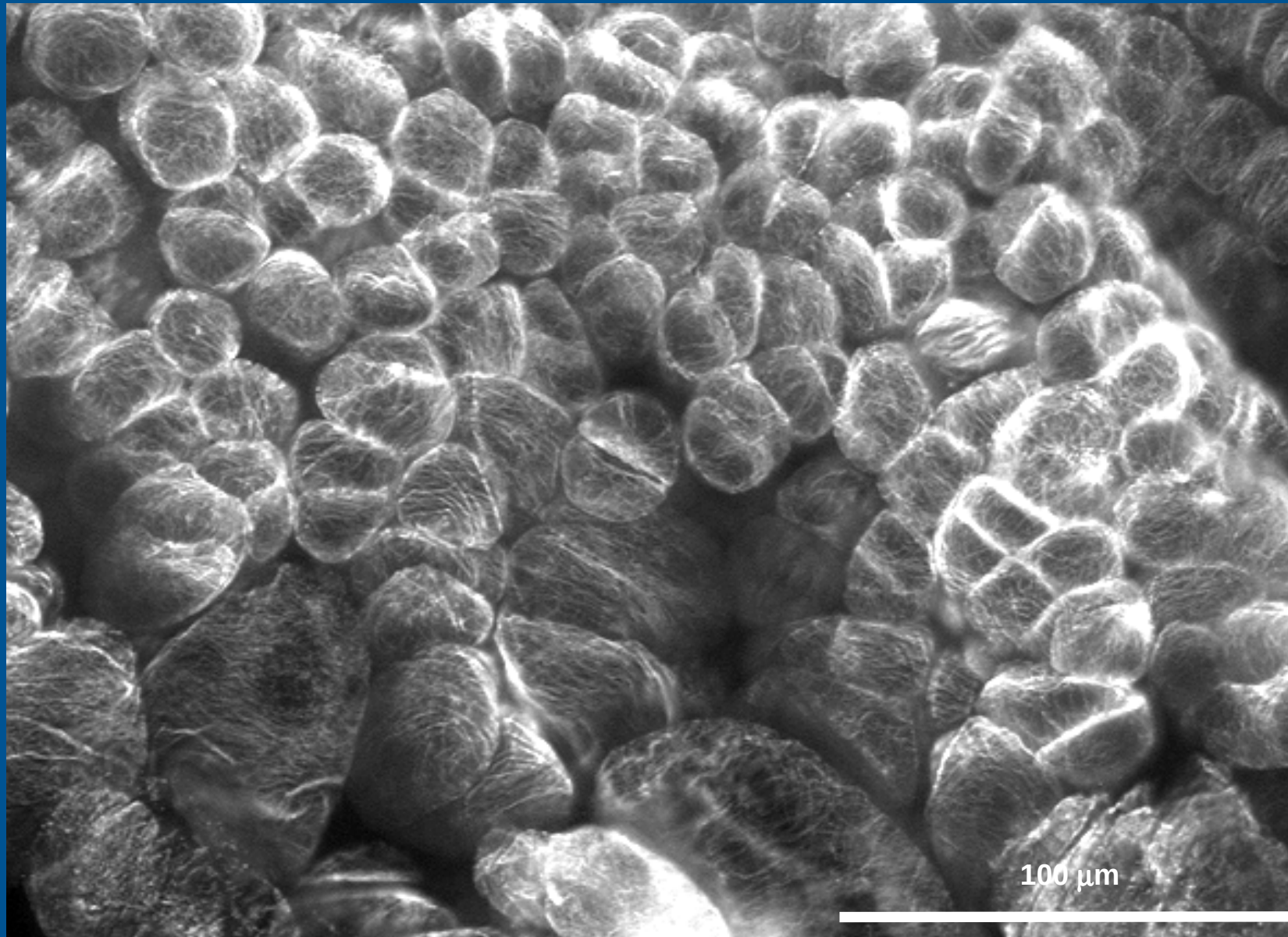
NATURE REVIEWS | MOLECULAR CELL BIOLOGY

Je i v našich liniích AKTINOVÝ CYTOSKELET
„KEY REGULATOR OF PCD“ ??

Dílčí cíle:

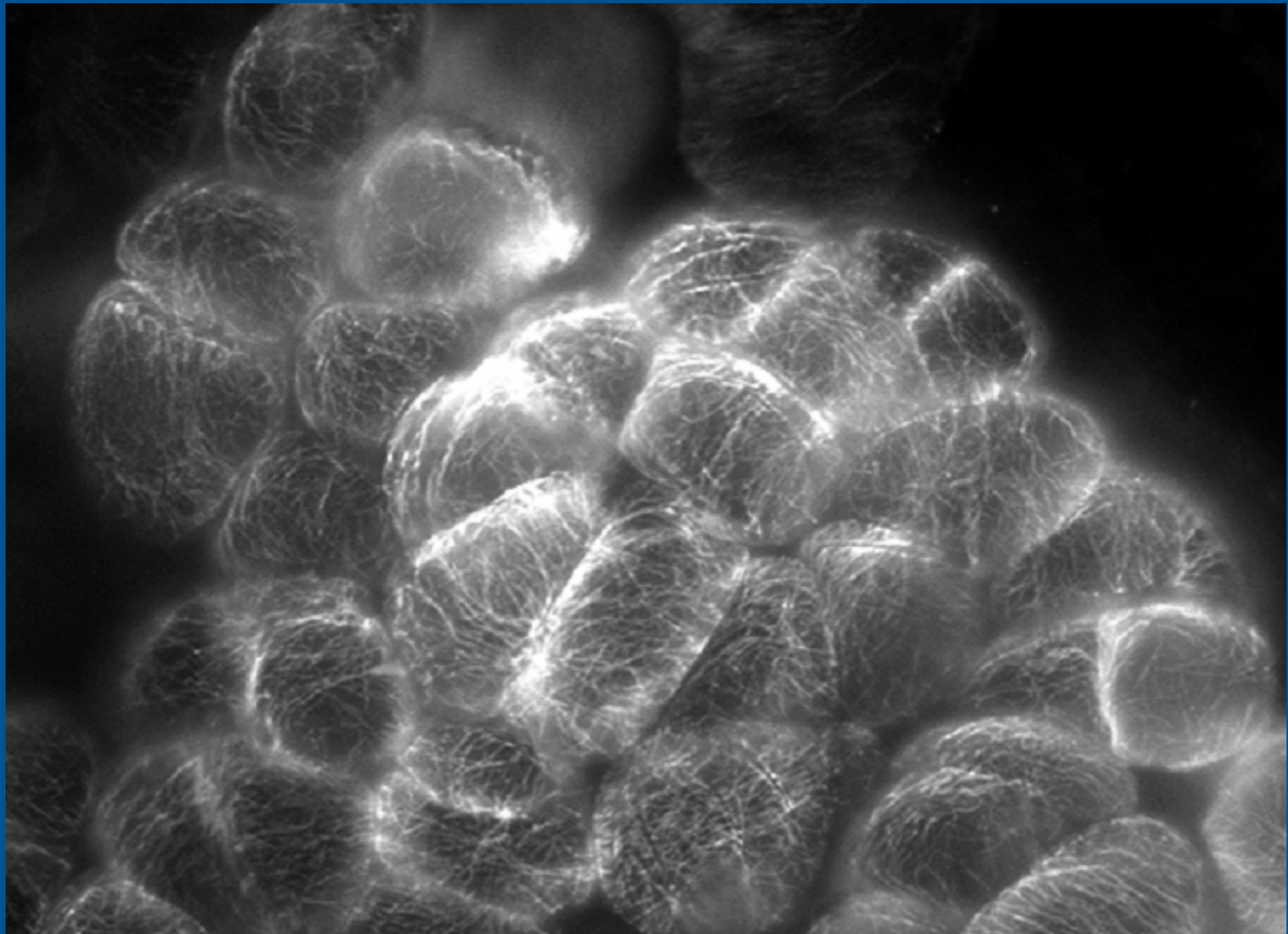
- * charakterizovat stav MT a AF cytoskeletu u SE linií s různou embryogenní schopností
- * sledovat účinek fytohormonů – změny CSK při převodu kultur z proliferačních medií na maturační
- * detekovat a charakterisovat aktinové geny sledovat jejich expresi v P i M fázi
- * ověřit účinky AF jedů na chování kultur v P i M fázi

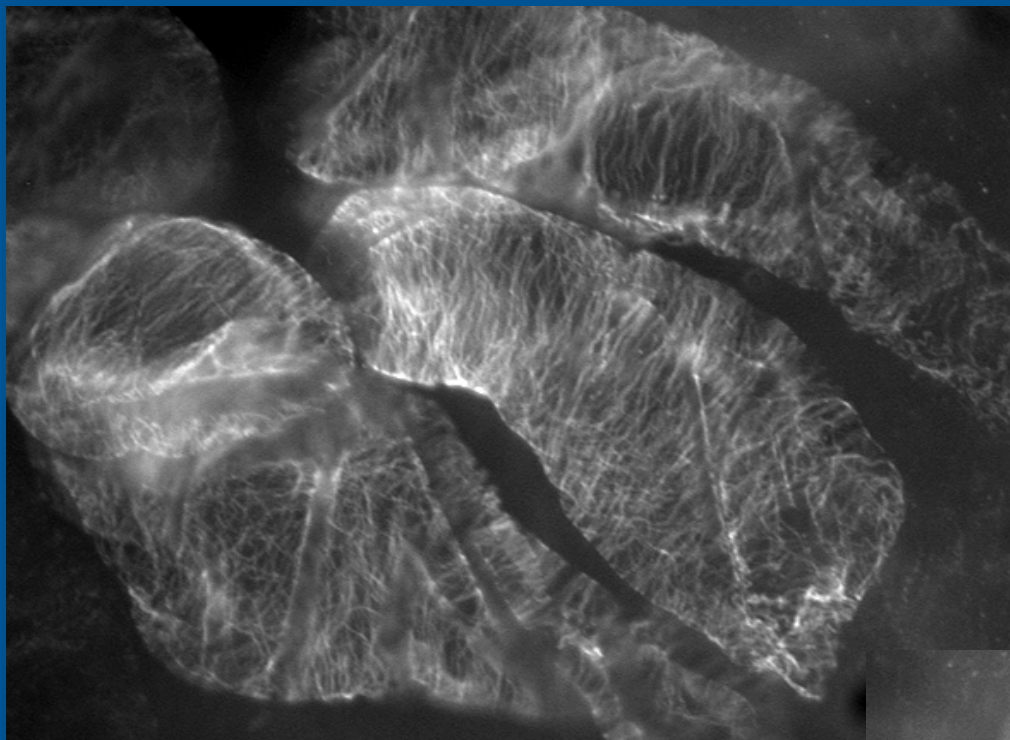
Mikrotubulární cytoskelet v buňkách meristematických hlav



SE linie AFO, maturační fáze

meristematické centrum (α -tub.)



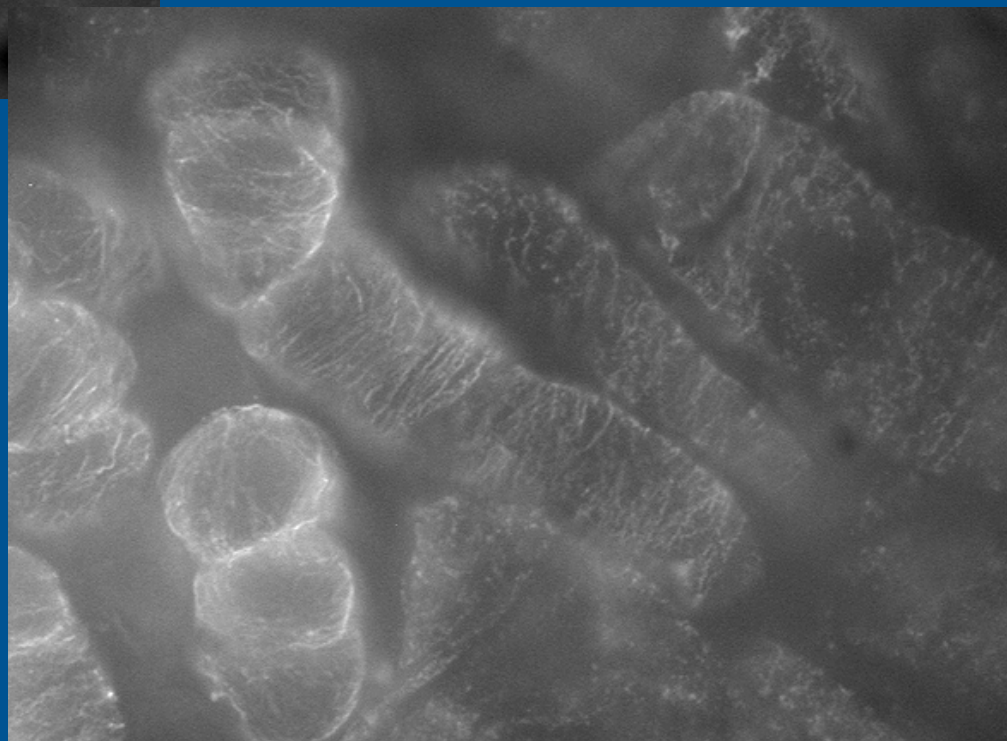


SE linie AFO

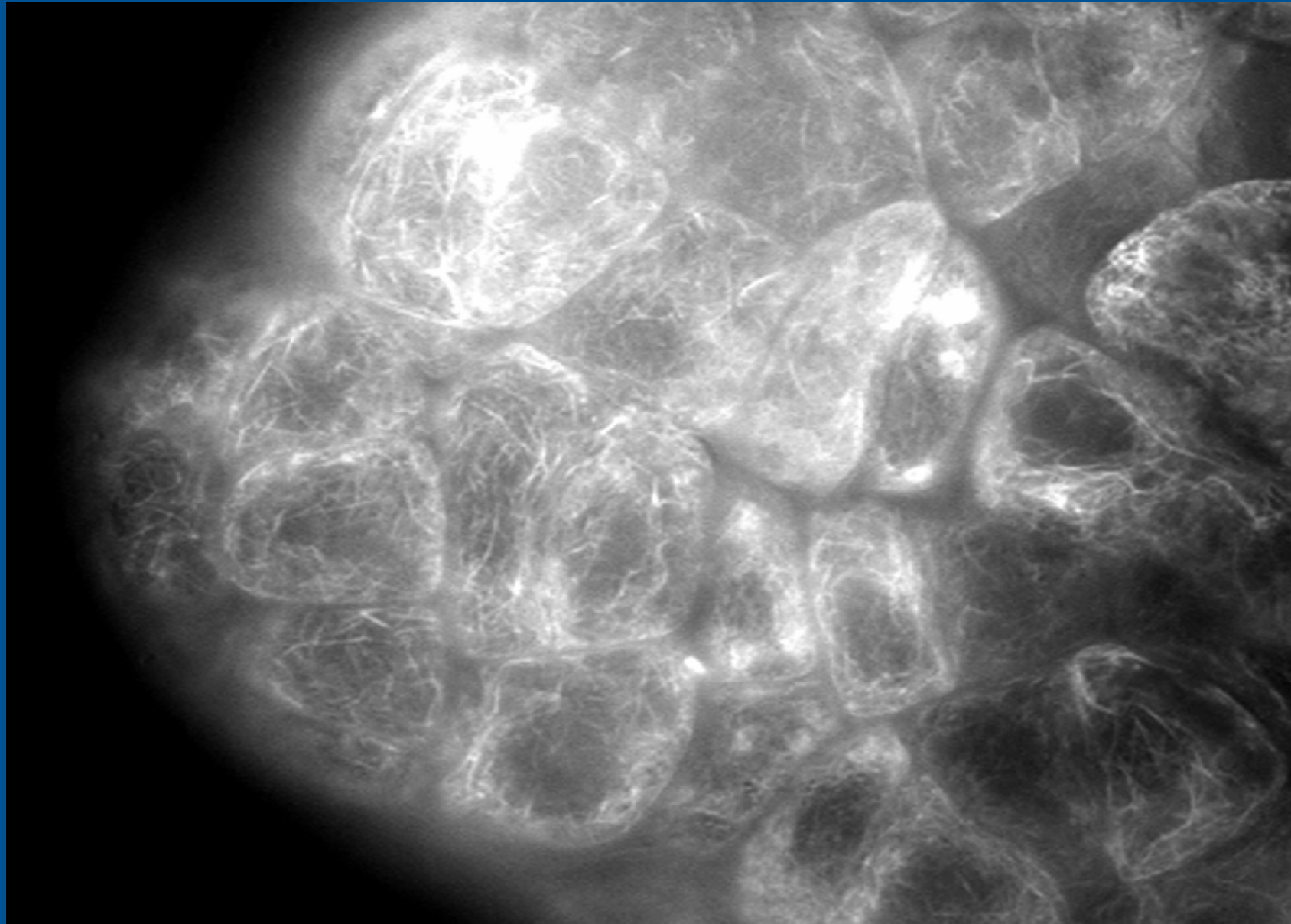
mladé buňky
suspensorové

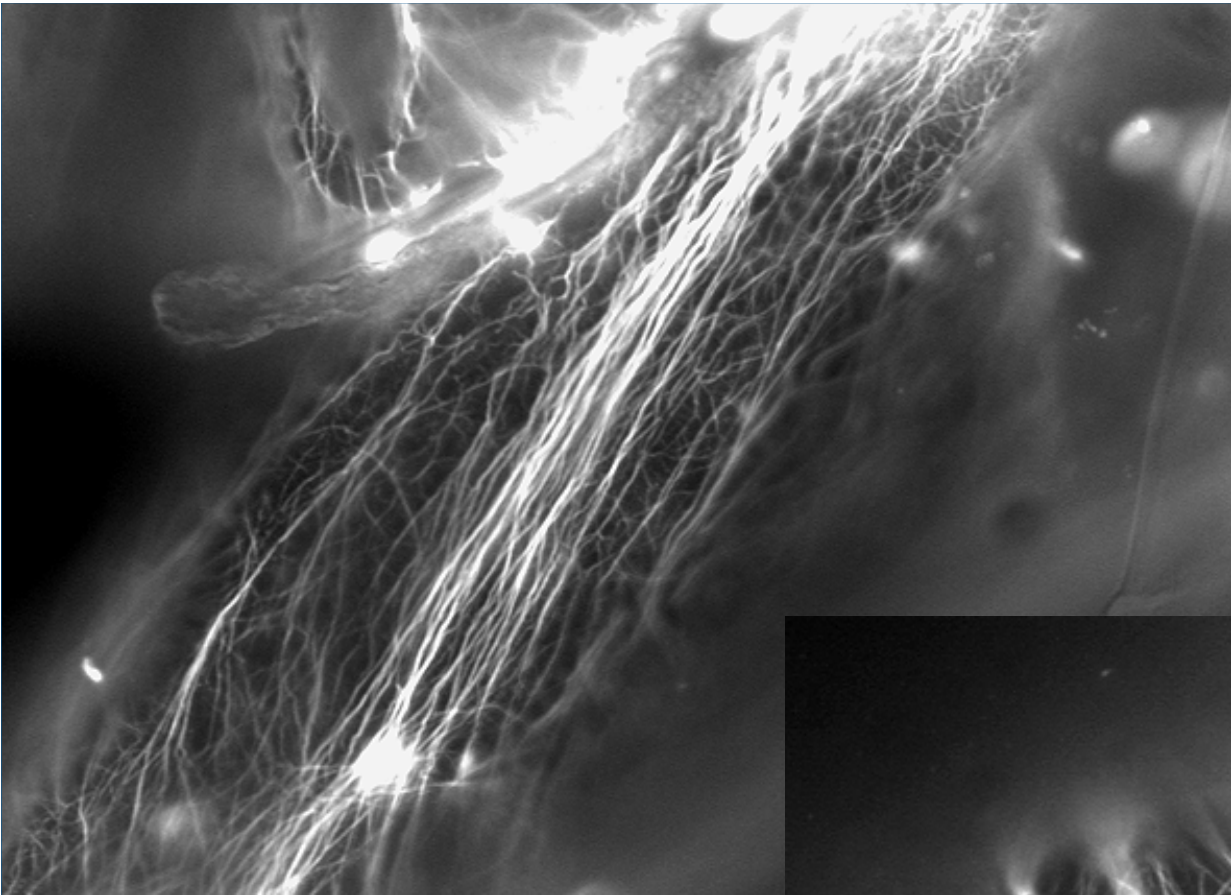
α -tubulin

tyrozinovaný tubulin

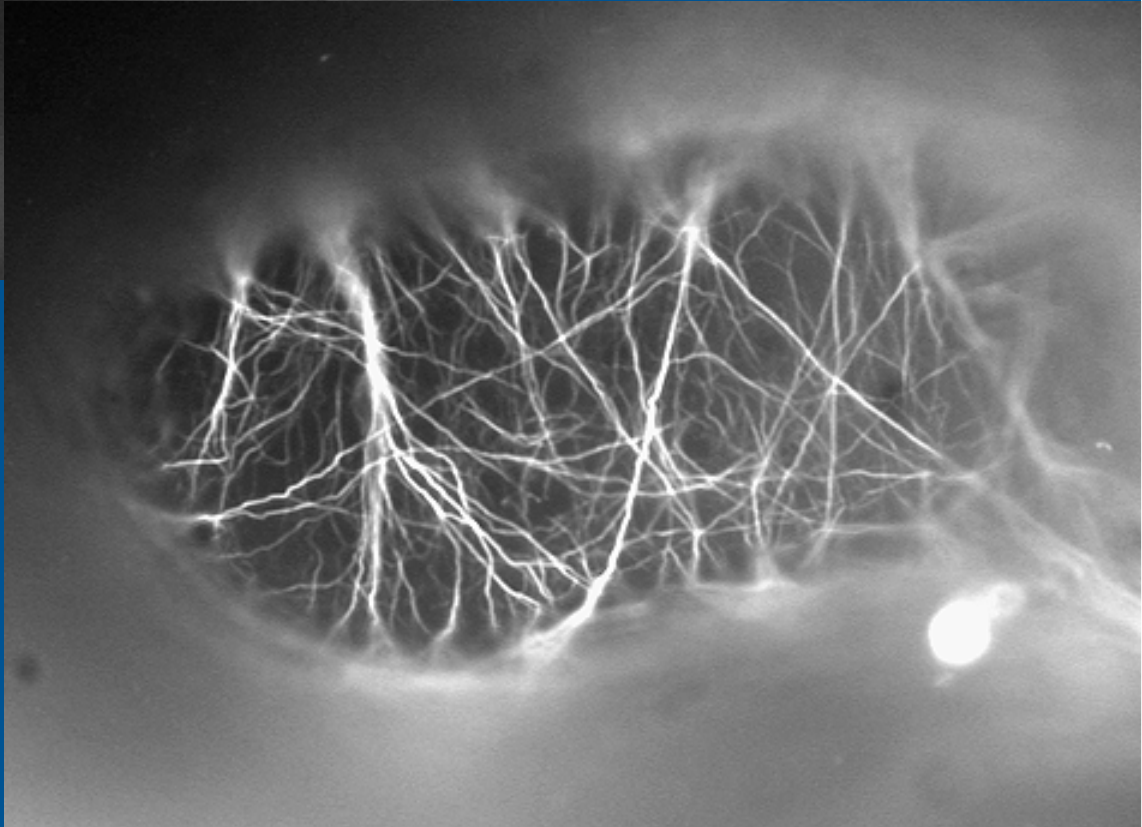


SE linie AFO, maturační fáze
aktinový cytoskelet v buňkách meristematických „hlav“





SE linie AFO
raná maturační fáze



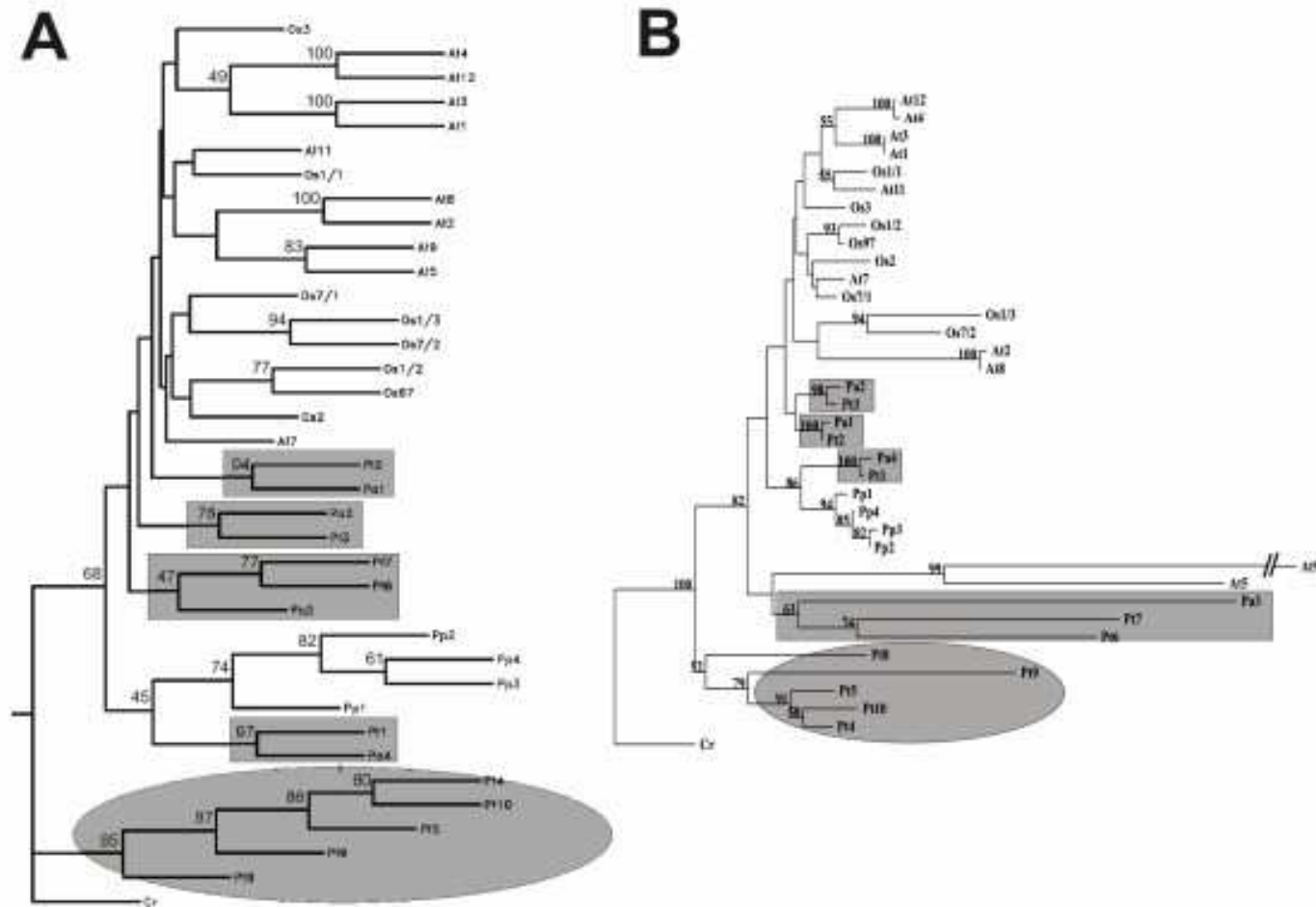
Aktin v suspensorových
buňkách

Jed z mořských hub pro rozmnožování smrků

Schwarzerová et al.: The role of actin isoforms in somatic embryogenesis in Norway spruce. BMC Plant Biology 10: 89 (2010).

Aktinové izoformy různých rostlinných druhů

generativní a vegetativní

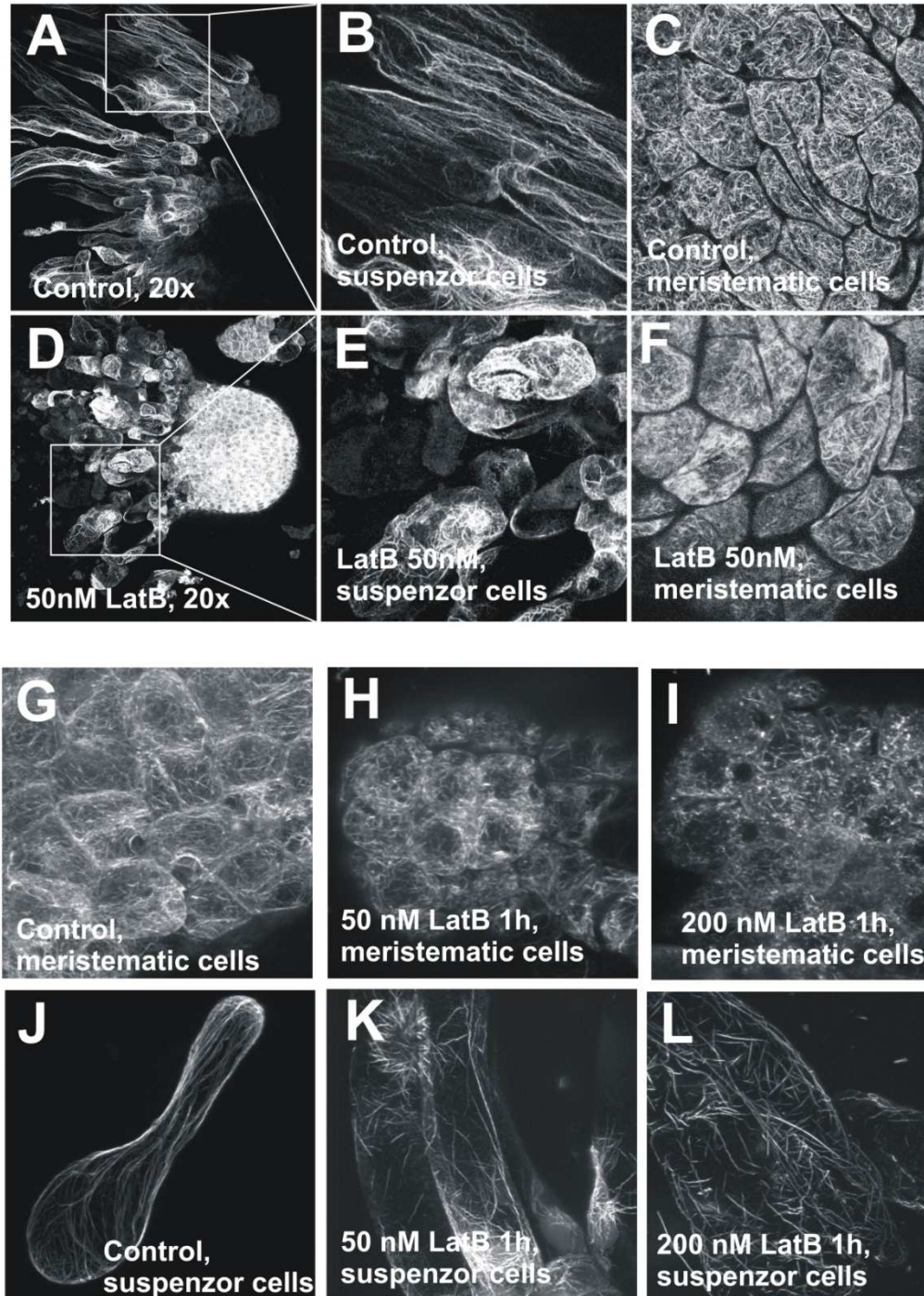


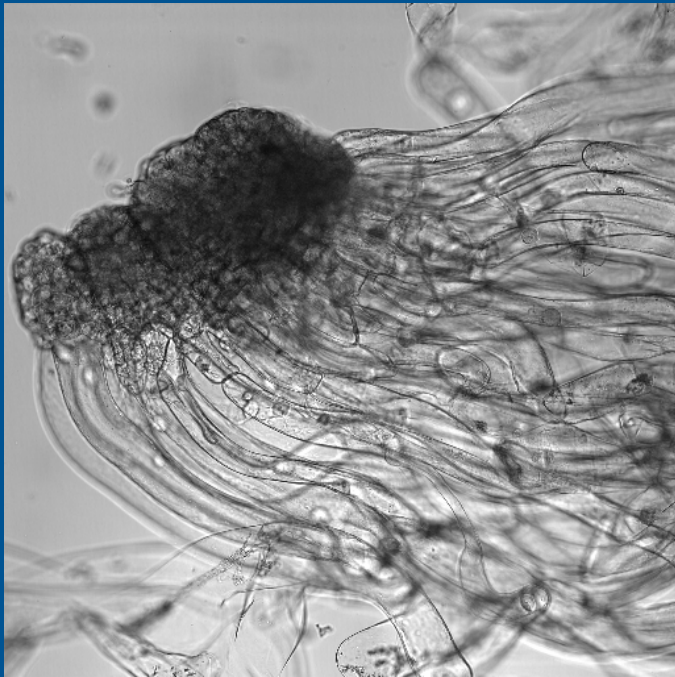
Různé antiMT a antiAF drogy

destruují cytoskelet
zabíjejí buňky
či inhibují proces SE

Jen LATRUNKULIN B
v určité dávce
a aplikaci
na vhodnou fázi kultury

stimuluje zrání
somatických embryí

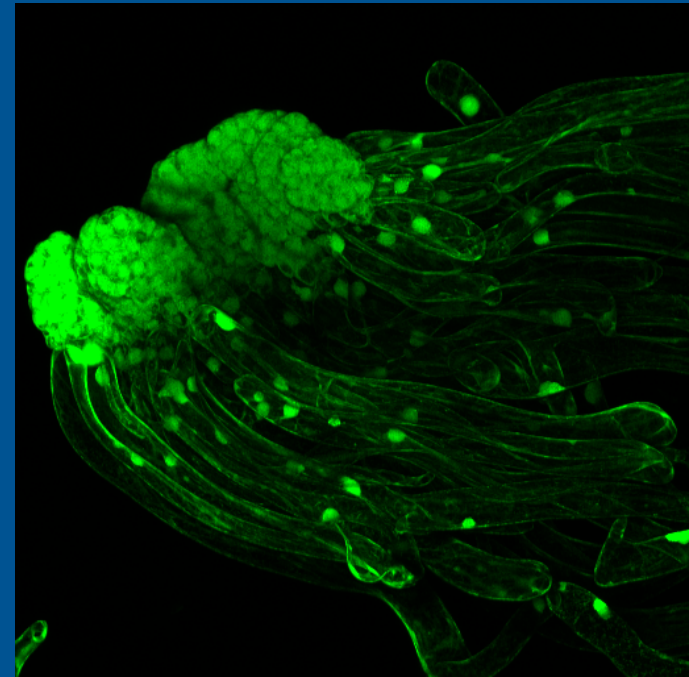




PCD

při zrání
somatických
embryí smrku

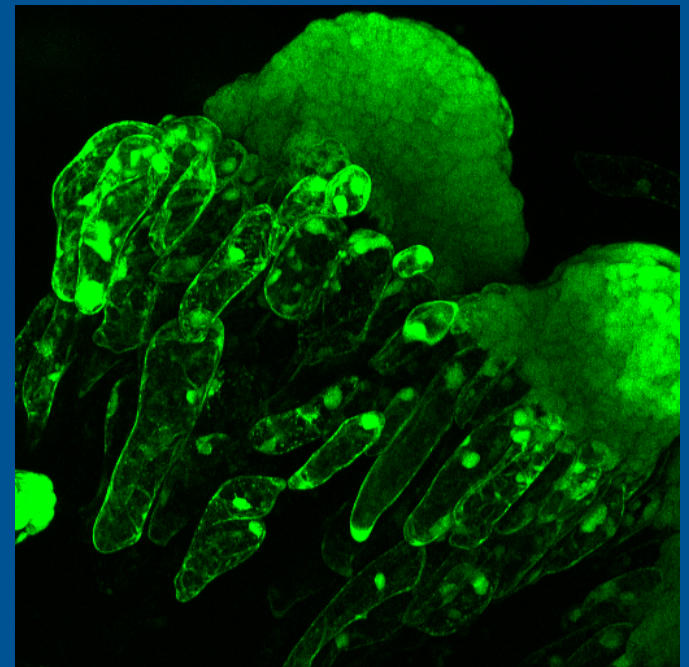
Kontrola



antiaktinová
droga
Latrunkulin

preferenčně
zabíjí buňky
suspensorů

Schwarzerová et al 2010



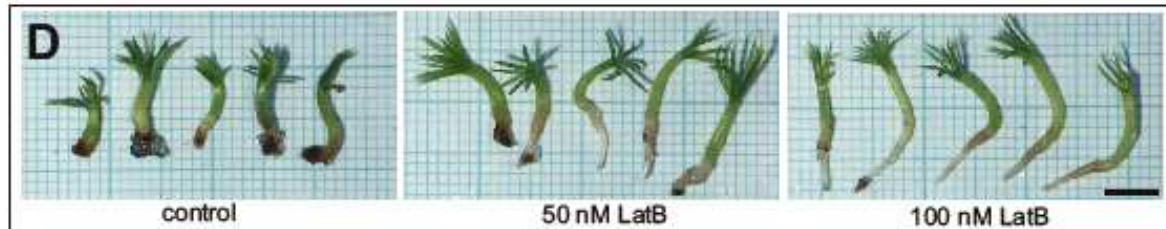
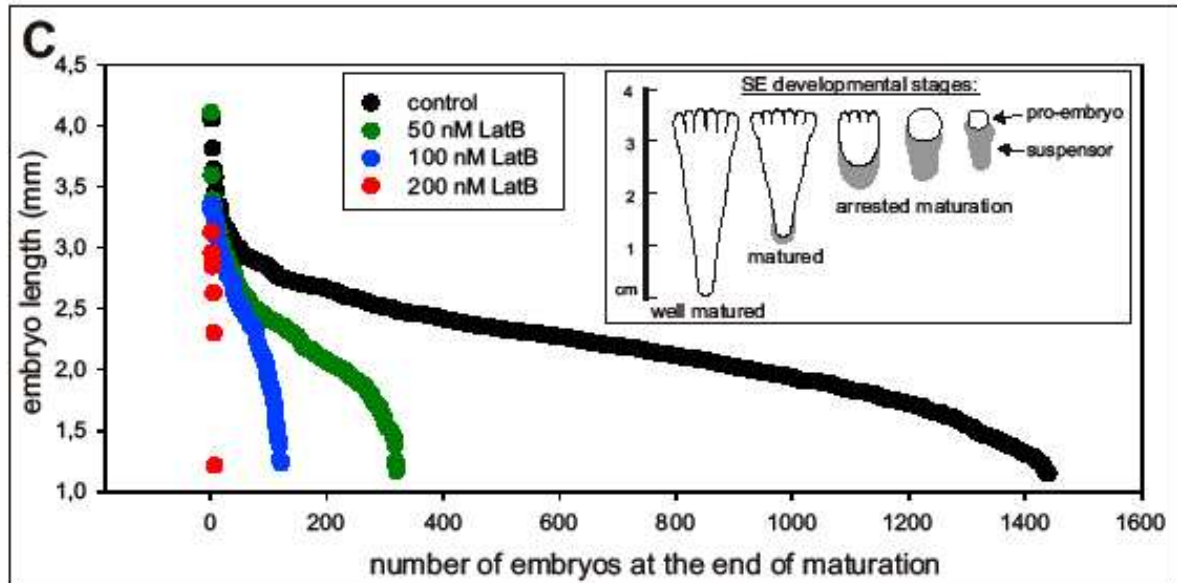
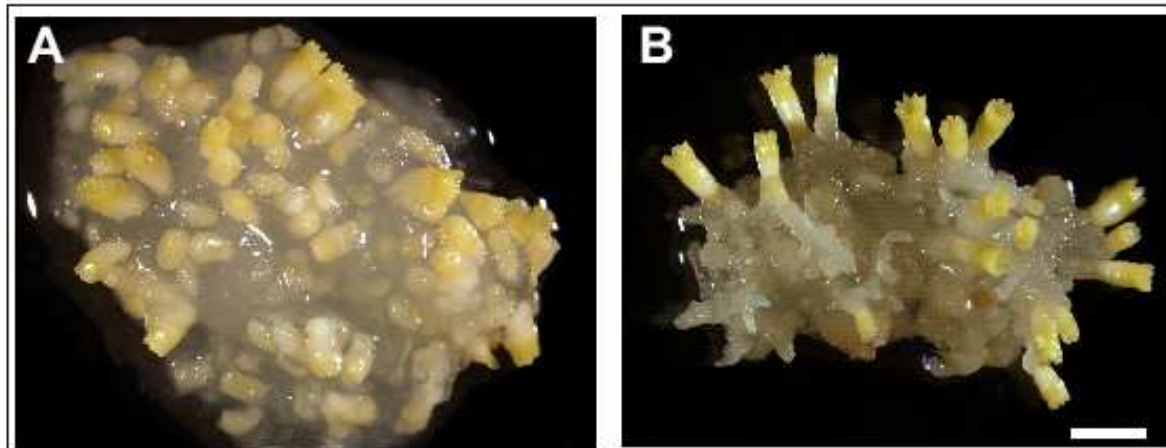
Somatic embryogenesis of spruce

effect of anti-actin drugs

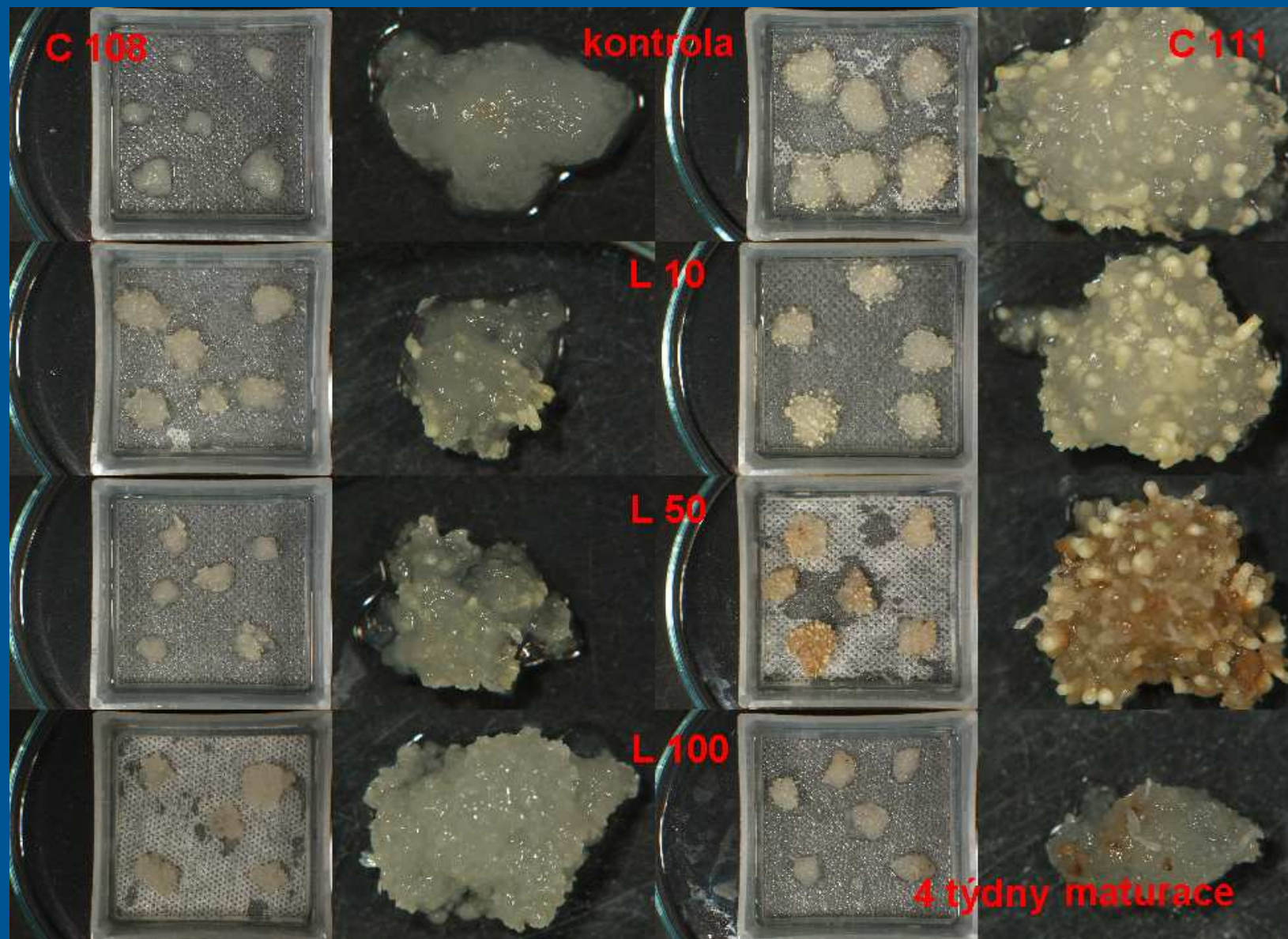
We will be able to
clone
Christmas trees ?

Schwarzerová et al.
2010

Faculty of Science
UK Prague
Institute of Experimental
Botany AV ČR
Prague



Pozitivní vliv latrunkulinu se téměř neprojevil u smrkových SE linií s malou embryogenní kapacitou (př. C108)



Cytoskeletální JEDY živočišného původu

mohou tedy ovlivňovat dělení či smrt
buněk rostlinných

Naopak totéž dělají CS jedy rostlinné, např.
alkaloid kolchicin z ocúnu (*naháček*, *Colchicum autumnale*)
taxol z tisů (*Taxus sp.*)

Jedy ale i léky

Není SMRTI bez ŽIVOTA – ani naopak



Děkuji za pozornost.....