

IV. Růst a vývoj rostlin

8. Rodozměna a ontogeneze

Život nevzniká ani nezaniká, život **trvá**. **Vznikají a zanikají pouze jedinci**. **Jedinec** během své existence **dává vznik zpravidla většímu počtu dalších jedinců – rozmnožuje se**.

Základní stavební a funkční jednotky organizmů – **buňky** – **vznikají dělením buněk již existujících**.

8.1. Rodozměna

U rostlin se střídají dvě generace – gametofyt a sporofyt. Toto **střídání generací** se nazývá **rodozměna** neboli **metageneze** (obr. 8-1.).

Gametofyt je generace **haploidní, pohlavní a tvoří gamety**. **Vyvíjí se ze spory** a jeho tělo tvoří více nebo méně členěná **stélka** (lat. *thallus*). V evoluci byla tato generace potlačena co do velikosti, složitosti stavby stélky i délky života, jen u mechorostů a některých řas je gametofyt generace převládající. V ostatních vývojových větvích převládl sporofyt. **U rostlin výtrusných** jsou gametofyty **samostatní jedinci**, žijící fotoautotrofně (přesličkovité, kapradinovitě) nebo heterotrofně (vranečky ze zásobních látek ve spoře, plavuně saprofytický). **U rostlin semenných** je gametofyt silně redukovaný a na sporofytu zcela **existenčně závislý**.

Gamety jsou **specializované buňky gametofytu, vznikají mitoticky**. Gamety menší a pohyblivé (aktivně nebo pasivně) jsou považovány za **samčí** – ♂ **mikrogamety**, větší gamety jsou považovány za **samičí** – ♀ **megagamety**. S výjimkou některých druhů řas megagamety zůstávají s gametofytem spojeny, jsou nepohyblivé a nazývají se **buňky vaječné** neboli **oosféry**. Samostatně existující gametofyty rostlin výtrusných mohou být oboupohlavné nebo jednopohlavné (obr. 8-2.), jsou-li oboupohlavné, netvoří se gamety samčí a samičí ve stejnou dobu (pohyblivé samčí gamety se obvykle tvoří dříve).

Gametofyty semenných rostlin jsou jednopohlavné. **Samičí gametofyt** semenných rostlin se vyvíjí **ve vajíčku** jako organická **součást mateřského sporofytu** a u naprosté většiny druhů rostlin s ním zůstává spojen i po splnutí gamet, tj. po **oplození oosféry**. Samičí gametofyt rostlin nahosemenných je mnohobuněčný, u krytosemenných rostlin je redukován na osm jader a sedm buněk a nazývá se zárodečný vak. **Samčí gametofyt - pylové zrno** - se vyvíjí v prašných pouzdrech tyčinek a u rostlin krytosemenných je tvořen pouze třemi buňkami. **V určité fázi** svého vývoje jsou samčí gametofyty semenných rostlin samostatné a **pohyblivé** a jsou pasivně přemístěny na vajíčko. Splnutím samčí a samičí gamety vzniká **zygota**.

Sporofyt je generace **diploidní, nepohlavní a tvoří spory**. **Vyvíjí se ze zygoty** a jeho tělo – **kormus** – tvoří pravé, diferencované a funkčně rozlišené **orgány**. Kromě mechorostů je sporofyt po většinu své existence **samostatný a fotoautotrofní** (až na vzácné výjimky úplných parazitů). Na dospělém sporofytu se tvoří **sporangia**, v nichž se specializované buňky **redukčně – meioticky – dělí**, vznikají **haploidní spory**. Z haploidních spor se vyvíjí další generace – haploidní **gametofyty**.

Spory mohou být morfologicky stejné (izosporie) nebo rozlišené (heterosporie). Izosporie mohou dávat vznik **oboupohlavným** gametofytům, jsou-li spory fyziologicky rozlišeny jsou gametofyty jednopohlavné. Morfologicky rozlišené spory dávají vznik gametofytům **jednopohlavným**. U **výtrusných** rostlin se spory ze sporangií **uvolňují** (u většiny výtrusných rostlin jsou gametofyty samostatní jedinci).

Semenné rostliny jsou **heterosporické**, morfologicky výrazně jsou rozlišena i sporangia na **mikrosporangia - prašná pouzdra** a **megasporangia - vajíčka**. **Spory** zůstávají ve **sporangiiích**, kde se z nich **vyvíjejí gametofyty**. **Samčí gametofyty** - pylová zrna - se v určitém stádiu vývoje z mikrosporangii **uvolňují**, **samičí gametofyty** v megasporangiiích **setrvávají**. Ve vajíčku dochází k **fúzi gamet – oplození oosféry**, vzniku **zygoty** a vývoji základu nového sporofytu – **embrya**. Vajíčko se mění v **semeno**. U **krytosemenných** rostlin se vajíčka tvoří v semeníku (bazální část srostlého megasporofylu – plodolistu neboli karpelu), který se mění v **plod**. Plod může obsahovat jedno nebo více semen.

Vystřídání gametofytu a sporofytu se obecně označuje jako **životní cyklus**.

Osobně si nejsem jista, že toto střídání má charakter cyklu. Otevírá se prostor pro Vaše vlastní přemýšlení, úvahy a názory.

8.2. Ontogeneze

Ontogeneze je vývoj **jedince** (individu). Jedinec existuje v **určitém časovém úseku ohraničeném počátkem a koncem**. Počátek a konec má sporofyt i gametofyt. Počátkem gametofytu je vznik spory, počátkem sporofytu je vznik zygoty.

Za individua se často považují také jasné diferencované a časově determinované orgány, termín ontogeneze se používá i ve spojení s nimi a mluví se např. o ontogenezi listu, květu, plodu.

8.2.1. Fáze ontogeneze

Ontogeneze se obvykle dělí na dvě základní období – období **juvenilní** a období **dospělosti** (obr. 8-3.).

V období **juvenilním** jedinec **není schopen dát vznik nové generaci**, noví jedinci mohou vznikat pouze vegetativní cestou. Juvenilní období **sporofytu** začíná **mitotickým dělením zygoty**, končí **meiotickým dělením** mateřských buněk megasporu a mikrosporu a vznikem

spor. Juvenilní období **gametofytu** začíná **mitotickým dělením spor** a končí **diferenciací gamet**.

Juvenilní období sporofytu semenných rostlin zahrnuje vývoj základu nového jedince – **embryogenezi** a vývoj samostatného fotoautotrofního jedince do dospělosti – **fázi vegetativní**, v níž jedinec tvoří jen **vegetativní orgány** – kořeny, stonky, listy nebo jejich metamorfované podoby, např. oddenky. Na konci vegetativní fáze se tvoří nový typ orgánů – **mikrosporofyly s mikrosporangii** (tyčinky s prašnými pouzdry) a **megasporofyly s megasporangii** (plodolisty s vajíčky). U **nahosemenných rostlin** jsou tyto orgány uspořádané v šišticovité soubory, u **krytosemenných** jsou částmi specifické **struktury s ochrannými obaly** – **květu**. Plodolisty tvoří **gyneceum** a tyčinky **andreceum**.

Období dospělosti zahrnuje fázi **generativní**, fázi stárnutí – **senescenci** a **smrt** jedince.

V **generativní fázi** je jedinec schopen dát vznik **generaci** nového typu – sporofyt gametofytu a gametofyt sporofytu. Gametofyt má poloviční genetickou výbavu rodičovského jedince, sporofyt má genetickou výbavu obou rodičovských gamet. V generativní fázi **gametofytu se diferencují gamety**, **sporofyt** je v generativní fázi schopen dát **redukčním dělením vznik sporám**.

Senescence a smrt jedince mohou nastat i v období juvenilním. Senescence a smrt determinovaných částí, např. děloh, listů nebo květních obalů, je přirozenou součástí ontogeneze stejně jako smrt některých buněk v trvalých orgánech (např. při vzniku cévních elementů; kap. 5.4.2.2.). Na konci ontogeneze nastane senescence v celém organismu.

Vstupem **sporofytu** do **generativní fáze nekončí procesy, které probíhají ve fázi juvenilní**. Ve **vegetativních meristémech** přetrvávají nediferencované buňky schopné se opakovaně dělit a dávat vznik vegetativním orgánům i v době, v níž rostlina jako celý organizmus je ve fázi generativní a činností **jiných meristémů**, určených jako květní, vznikají květní obaly, sporofyly, sporangia, spory a na rostlině se vyvíjejí gametofyty a embrya nových sporofytů. Současně mohou být na rostlině senescentní orgány, např. listy, květní obaly.

8.2.2. Rodozměna a rozmnožování rostlin

Během ontogeneze dává jedinec vznik jednomu nebo většímu počtu dalších jedinců. Jedná-li se o jedince odlišné generace (sporofyt → gametofyt, gametofyt → sporofyt), označuje se rozmnožování za **generativní**.

U rostlin **krytosemenných** je **pro rozmnožování**, tj. zvýšení počtu jedinců stejného druhu, **rozhodující počet vytvořených megaspor**. Jedna megaspora dá vznik jen jednomu samičímu gametofytu, který má jednu oosféru a je tedy chopen dát vznik jen jedné zygotě a jen jednomu

sporofytu. U rostlin **nahosemenných** se v jednom samičím gametofytu diferencuje více oosfér, vzniká více zygot a zpočátku se vyvíjí i několik embryí. V jednom vajíčku (tedy i v jednom semeni) však nakonec dozrává jen jedno embryo. Tvorba spor je rozmnožování **nepohlavní** (haploidní spory, byť funkčně rozlišené a vývojově určené, nemají funkci pohlavních buněk, tj. gamet; nejsou schopny splývat a dát vznik další generaci). U semenných rostlin **se počet jedinců zvyšuje tvorbou většího počtu spor** - semenné rostliny se generativně rozmnožují cestou nepohlavní.

Vedle rozmnožování generativního mohou noví jedinci vznikat i cestou vegetativní (nový jedinec vzniká ze somatických buněk mateřského jedince). **Vegetativní rozmnožování** je u rostlin časté a **mnohdy pro zachování druhu důležitější** než rozmnožování generativní (např. odnožování u trav). Vegetativně vzniklý jedinec má genetickou výbavu shodnou s jedincem mateřským, sporofyt dává vznik sporofytu, gametofyt gametofytu. Vegetativní rozmnožování není omezeno jen na juvenilní období ontogeneze, vegetativně se rostliny mohou rozmnožovat i v období generativním.

8.2.3. Trvání ontogeneze

Trvání ontogeneze a základní charakter jejího průběhu jsou dané geneticky a jsou součástí **adaptace** rostliny na podmínky **určitého typu stanoviště**.

Gametofyty některých **výtrusných rostlin** mohou žít i několik let. Ontogeneze gametofytů **semenných rostlin** trvá obvykle několik dní nebo týdnů, výjimečně několik měsíců, nepřekračuje rok.

Sporofyty, tvořené funkčně specializovanými buňkami, pletivy a orgány si po celý život zachovávají schopnost růst. Specializované buňky, tvořící dělivá pletiva – meristémy – neztrácejí schopnost se dělit, **růst stonku a kořene je teoreticky nekonečný a nelimitovaný**. Nejstarší známé živé organizmy na světě jsou rostliny (věk nejstarších se odhaduje na více než 4000 let). Zatímco se buňky v meristémech dělí, jiné buňky se zvětšují a funkčně specializují, tvoří **orgány trvalé** (kořeny, stonky) i orgány, jejichž **vývoj je determinován**, funkčně i časově (listy, květy, plody).

Sporofyty nahosemenných rostlin jsou nejčastěji vytrvalé dřeviny, s mnohaletým juvenilním i generativním obdobím. Průběh ontogeneze sporofytu u rostlin **krytosemenných** má mnoho podob. U některých druhů proběhne v jedné vegetační sezóně (letničky neboli annuely), u některých druhů dokonce jen v několika málo týdnech (efemery). Ontogeneze jiných druhů proběhne během dvou vegetačních sezón (ozimy a rostliny dvouleté - bieny). Rostliny, jejichž ontogeneze trvá více než dvě sezóny, se považují za vytrvalé. Jejich juvenilní fáze

může být různě dlouhá, rostliny **monokarpické** tvoří semena a plody jednou za život, rostliny **polykarpické** tvoří semena a plody po více sezón.

Ontogeneze rostlin je **diskontinuální**, fáze aktivity se střídají s fázemi vývojového, růstového i metabolického útlumu - klidu. **Klid** je adaptací na klimaticky **nepříznivé období**, má však význam i v oblastech s klimatem pro život stále příhodným. Pohyblivé klidové formy (spory rostlin výtrusných a semena rostlin semenných) slouží k **rozšiřování areálu druhu** i k **přetrvávání druhu v čase**.

8.2.4. Růst, vývoj, diferenciace

Gametofyt i sporofyt jsou v dospělosti mnohobuněčné organizmy. Buňky, které je tvoří, jsou odvozeny z buňky jedné, která je jejich buňkou počáteční (spora → gametofyt, zygota → sporofyt). Během ontogeneze se díky absorbované energii, asimilaci anorganických látek a metabolickým procesům **mění celkové množství hmoty**, které organizmus tvoří. Zvětšující se množství látek **se uspořádává** do nových **funkčních struktur buněk stávajících** a do **buněk nově vznikajících**. Se zvětšujícím se počtem buněk tvořících organizmus dochází k jejich **funkční specializaci**, která se projevuje na úrovni metabolické i strukturní, buňky se odlišují od buněk, ze kterých vznikly – **diferencují se**. Uspořádávají se do vyšších strukturních jednotek – **pletiv a orgánů** a tvoří **koordinovaný funkční celek – organizmus**.

Růst a vývoj jsou pojmy definované v období klasické vývojové fyziologie rostlin. **Kvantitativní změny** se považují za změny růstové, **kvalitativní změny** za změny vývojové.

Ve skutečnosti jsou **růstové a vývojové procesy spolu neoddělitelně spjaty**, hranice mezi nimi je neurčitá, může být definována dohodou vzhledem k úrovni sledování (celý organizmus, orgán, buňka).

Růst je definován jako **kvantitativní změna**, vzniklá na základě **procesů primárního metabolismu**. Obvykle se vyjadřuje jako změna suché **hmotnosti**, kritériem růstu však může být i změna **čerstvé hmotnosti** (méně spolehlivé kritérium) nebo změna **délky, plochy** nebo **objemu**. Růstová změna se může vztahovat k celému organizmu nebo k jeho definovatelné části, např. orgánu nebo buňce, a může být **kladná** i **záporná** (*jakkoli je v našich představách růst chápán automaticky jako změna kladná*). **Záporné růstové změny** jsou významnou součástí vývoje, zajišťují přežití druhu na mnoha typech stanovišť (opadávání listů u dřevin a redukce nadzemní části u vytrvalých bylin je součástí adaptace vedoucí k přežití období nepříznivých podmínek, např. nízkých teplot nebo sucha).

Vývoj je obvykle definován jako **soubor kvalitativních změn**. Kvalitativní změny jsou projevem **změny exprese genů** a vedou k **diferenciaci buněk**, tj. k jejich odlišení. Průběh vývojových procesů je často popisován a charakterizován růstovými parametry.

Kvantitativní i kvalitativní změny v životě jedince a jejich časové i prostorové uspořádání jsou určeny **genetickou výbavou**, kterou jedinec ve chvíli svého vzniku získal.

8.2.5. Diferenciace a exprese genů

Ontogenezi lze chápat jako **sled kvantitativních a kvalitativních změn**, které probíhají mezi **počátkem jedince a jeho smrtí organizovaně a koordinovaně v prostoru i v čase podle informací daných genetickou výbavou**.

Genetická informace – genom – je obsažena v každé živé buňce rostliny, uložena v **DNA jádra** (jaderný genom; u sítkových elementů může chybět), v **DNA plastidů** (plastom) a v **DNA mitochondrií** (chondriom) a zapsána v **primární struktuře DNA** (pořadí nukleotidů v polárním řetězci DNA), universálním **kódem**, diskontinuálně v jednotkách, které se nazývají **geny**. (*V některých učebnicích se místo názvu řetězec používá termín vláknko*).

▼ **Geny nesou informaci o pořadí aminokyselin v proteinech** (označují se jako geny strukturní) nebo **o pořadí nukleotidů** v různých druzích **RNA** (ribosomálních rRNA, transferových tRNA i dalších typech jako jsou malé jaderné snRNA, malé jadérkové snoRNA, RNA v telomeráze, malé regulační RNA – mikroRNA, apod.). **Vyjádření informace**, kterou gen nese, ve **funkčním produktu** (proteinu nebo příslušné RNA) se nazývá **exprese genu**. Geny jsou tvořeny oblastí kódující (určující) příslušný produkt a oblastmi, které regulují expresi genu (promotor, enhancery). Kódující oblast může být přerušena nekódujícími sekvencemi DNA, zvanými **introny**, a rozdělena na dvě nebo více částí, zvaných **exony**.

V jádře je DNA rozdělena do určitého (druhově specifického) počtu **lineárních molekul**, které spolu s **asociovanými proteiny** tvoří **chromozomy**. Nekódující oblasti DNA přítomné v chromozomu mohou mít jiné významné funkce, např. tvoří **centromeru** (struktura důležitá pro asociaci s cytoskeletem při mitóze nebo meióze; kap. 9.1.2., kap. 11.2.1.) nebo **telomery** (definují konce chromozomu a spolu s telomerázou zajišťují úplnou replikaci molekuly DNA; kap. 9.1.).

Genomy **plastidů a mitochondrií** mají **prokaryotický charakter**. **Genom plastidu** je nesen jedním chromozomem, tvořeným dvouřetězcovou kružnicovou molekulou DNA. V jednom plastidu je genom obvykle ve větším počtu kopií (polyploidie je vysoká obzvláště u chloroplastů; kap. 3.1.). **Genom mitochondrie** je tvořen obvykle jedním hlavním kružnicovým chromozomem, který nese kompletní mitochondriální genetickou výbavu, a několika různě velkými dvouřetězcovými kružnicovými nebo lineárními molekulami DNA s výbavou neúplnou. V buňkách meristémů se i u mitochondrií vyskytuje polyploidie.

Genomy jsou u rostlin různě veliké, genom huseníčku *Arabidopsis thaliana* tvořený $1,5 \times 10^8$ pb (párů bází) je považován za nejmenší, genom řebčíku *Fritillaria assyriaca* s 1×10^{11} pb patří jistě k největším. Rozdíly ve velikosti genomu jsou dány především obsahem nekódující DNA, polyploidní druhy mají samozřejmě vyšší obsah DNA. Udává se, že u většiny rostlin je v haploidním genomu 20 000 až 30 000 genů (zhruba jako u člověka).

Diferenciace u rostlin není spojena se ztrátou genetické informace – rostlinné buňky jsou totipotentní (výjimku tvoří jen několik málo funkčně vysoce specializovaných typů buněk, např. cévní a sítkové elementy, kap. 5.4.2.2; kap. 3.5.).

Na jadernou DNA se vážou proteiny a spolu s ní tvoří **chromatin**. Proteiny chromatinu mají různé funkce. **Strukturní proteiny** histonové i nehistonové povahy určují uspořádání molekuly DNA v chromozomu a **stav chromatinu** (kondenzovaný heterochromatin, dekonzenzovaný euchromatin a mnoho přechodných stavů mezi těmito extrémy). Další proteiny mají funkci **katalytickou** (např. polymerázy zajišťující replikaci, transkripci a opravy DNA) a **regulační**. Na DNA organel jsou navázány proteiny odlišné od proteinů jaderných, supramolekulární struktury chromatinového charakteru se v organelách netvoří.

Geny jsou exprimovány selektivně. Geny zajišťující základní metabolické a buněčné procesy nezbytné pro existenci buňky (např. respiraci, syntézu proteinů) se **exprimují stále** a jsou označovány jako **provozní** (anglicky se nazývají *housekeeping genes*). Specifické metabolické, funkční nebo strukturní vlastnosti buněk závisí na expresi **genů specifických, exprimovaných dočasně** (např. v určitém pletivu, v určité vývojové fázi nebo za určitých vnějších podmínek – světlo, tma, nedostatek vody). Exprese těchto genů je **vysoce regulovaná a kontrolovaná**.

8.2.5.1. Regulace exprese strukturních genů

Informace **genů kódujících protein**, tj. **genů strukturních**, musí být **transkribována** (přepsána - vznik mRNA) a **translatována** (přeložena - vznik polypeptidu na ribosomech), vznik funkčního proteinu může záviset též na **posttranslačních úpravách proteinu**. Každá z těchto etap má několik dalších regulačních úrovní s mnoha různými regulačními mechanismy. V řadě situací je neméně důležité expresi genu zastavit a vzniklé produkty odbourat.

Transkripce genu může být **regulována** na úrovni dostupnosti informace, iniciace transkripce, průběhu transkripce, ukončení transkripce, úprav primárního transkriptu v jádře, transportu mRNA z jádra.

Dostupnost informace uložené v jaderné DNA je dána **uspořádáním chromatinu**. Transkripčně aktivní chromatin je ve stavu **euchromatinu** (dekonzenzovaný), ne všechna DNA v euchromatinu je však aktivně transkribována. Během mitózy (i meiózy) je chromatin v nejvyšším stupni kondenzace a předpokládá se, že transkripce neprobíhá. Vedle uspořádání chromatinu dostupnost informace ovlivňuje také **metylace DNA**. U rostlin se metyluje **cytozin** (obr. 8-4.) v postavení **CpNpG** (cytozin, p – fosfodiesterová vazba mezi fosfátem a deo-

xyribózou sousedních nukleotidů, jakýkoli nukleotid, guanin). **Metylovaná DNA se netranskribuje** (ale replikuje se!), .

Expresí genů může být ovlivněna také **transpozony**, mobilními úseky DNA, které jsou schopny se přemísťovat a měnit organizaci jaderného genomu.

▲ Transpozony jsou ohraničeny specifickými sekvencemi opakovanými v obráceném pořadí, které rozeznává **transposáza**. Transposáza katalyzuje oddělení mobilního úseku DNA, který je vložen na jiné místo genomu. Expresí genů této oblasti může být kladně, záporně, v čase nebo lokálně ovlivněna. Předpokládá se, že transpozony zvyšují diverzitu genomu a adaptabilitu jedince na evoluční tlaky.

Vlastní transkripce jaderných genů je řízena **vazbou regulačních proteinů na regulační elementy** genu. Regulační elementy jsou krátké sekvence (asi 20 pb) na řetězci DNA, který se přepisuje, a označují se jako **cis-elementy** nebo **boxy**. Možnosti aktivace a inaktivace transkripce jsou určeny charakterem, počtem a uspořádáním regulačních elementů v **promotorové oblasti** daného genu i regulačních elementů mimo promotor. Promotorová oblast (řádově stovky pb) leží před počátkem transkripce (tzv. proti proudu, angl. *up-stream*) a tvoří ji obvykle několik regulačních elementů (obr.8-5.). Počátkem transkripce se rozumí první transkribovaný nukleotid (jeho pozice se označuje se +1).

Základní cis-element promotorové oblasti jaderných genů je tzv. **TATA box** (zvaný též Hognessův, bohatý na báze adenin a tymín), lokalizovaný obvykle mezi 26. až 34. pb před počátkem transkripce. Význam tohoto elementu spočívá především v tom, že umožňuje vazbu **DNA dependentní RNA polymerázy II** na transkribovaný (tj. negativní) řetězec DNA. Tento enzym **katalyzuje vlastní polymeraci nukleotidů** a tvorbu primárního transkriptu (polymeraci rRNA a tRNA katalyzují RNA-polymerázy I a III, uspořádání promotoru je jiné). Před TATA boxem (v oblasti asi -75 až -80 pb) leží box značený CAAT, který zvyšuje sílu promotoru, a další elementy promotoru. Geny, které se exprimují **selektivně**, mají **v oblasti promotoru specifické elementy** (např. element značený LRE, z angl. *light regulated element*, zajišťuje možnost řízení transkripce genu světelným signálem). Další regulační oblasti mohou ležet mimo promotor **v oblastech vzdálenějších** a to před počátkem transkripce (až 50 tisíc pb) i za ním (tzv. po proudu, angl. *down stream*) v intronech příslušného genu (nekódujících sekvencích DNA). Tyto vzdálené regulační oblasti, česky zvané zesilovače transkripce, anglicky **enhancery**, ovlivňují transkripci určitého genu **kvantitativně, kladně nebo záporně**, tj. zrychlují nebo zpomalují transkripci.

Iniciace transkripce je řízena přítomností **regulačních proteinů – transkripčních faktorů** (*trans* faktory, které se vážou na *cis*-elementy). Tyto proteiny jsou kódovány vlastními strukturálními geny a jejich exprese podléhá další regulaci. Jsou syntetizovány na cytoplazmatických

ribosomech a jsou transportovány do jádra (tím vznikají další možné úrovně regulace a kontroly). Na TATA box se postupně vážou transkripční faktory TFII (dále rozlišované velkými písmeny D, B, A, F, E, H), které spolu s RNAPolymerázou II, vytvoří **iniciační komplex** (obr. 8-6.). Ten **naváže RNAPolymerázu II** na řetězec DNA a uvede ji do **aktivního stavu**. RNA polymeráza II je aktivována **fosforylací** několika serinových a threoninových zbytků na C-konci polypeptidu jedné z podjednotek, které ji tvoří. Fosforylaci katalyzuje TFIIH, který má kinázovou aktivitu. Po zahájení transkripce se iniciační komplex rozpadá.

Na **základní elementy** promotoru se vážou **obecné** neboli **generální** transkripční faktory. **Obecné transkripční faktory** se vyskytují ve všech buňkách a rozeznávají elementy promotorů všech genů, které jsou transkribovány RNAPolymerázou II. Typů těchto regulačních proteinů je relativně malý počet, vyskytují se však v jádru ve značném množství. Na **specifické elementy** promotoru se vážou **speciální transkripční faktory**, které ovlivňují transkripci **pozitivně i negativně** (indukují nebo blokují transkripci). Tyto regulační proteiny se vyskytují ve **velikém množství typů** avšak v jednom jádru je určitý typ přítomen v **malém počtu molekul**. Tvorba specifických regulačních proteinů je indukovatelná odpovídajícím podnětem, např. produktem genu, který je v hierarchii postaven výše a určuje typ pletiva, nebo složkou přenášející světelný signál. Transkripci jednoho genu řídí větší počet různých regulačních proteinů, jeden typ proteinu může regulovat transkripci většího počtu genů.

Transkripční faktory mají nejméně dva funkčně rozdílné **motivy** dané primární, sekundární i terciární strukturou proteinu. Jeden motiv jim dává **schopnost rozeznat a vázat se na určité úseky DNA**, druhý zajišťuje vazbu s **dalším regulačním proteinem**, který může ale nemusí být schopen se vázat na DNA (pokud tyto proteiny významně ovlivňují transkripci genu označují se také jako transkripční faktory, i když se na DNA přímo nevážou).

▲ Uvádí se, že z asi 26000 genů *Arabidopsis* jich přibližně 15000 kóduje transkripční faktory. Na základě charakteru strukturních motivů lze transkripční faktory dělit do několika skupin. Jedna ze skupin se označuje jako **HTH** = helix - otáčka (z angl. *turn*) – helix. Tyto transkripční faktory se vážou na DNA jako homo- nebo heterodimery.

Další skupinu tvoří proteiny bazického charakteru s motivem **leucinového zipu**. Také tyto proteiny se vážou na DNA jako dimery (v oblasti α helix je každý sedmý aminokyselinový zbytek leucinový - struktura slouží tvorbě dimeru).

Motiv tzv. **zinkových prstů** tvoří atomy Zn, které interagují se čtyřmi aminokyselinovými zbytky proteinu (histidinu nebo cysteinu) a tvoří na polypeptidu specifickou prstovitou nebo kruhovou strukturu. Tento typ transkripčních faktorů zpravidla dimery netvoří.

Další skupina transkripčních faktorů se značí **HMG**, podle jejich chování při elektroforéze (z angl. *high mobility group*). Protein má tři α helixy, z nichž dva se vážou na DNA a deformují ji tak, že se v těsné blízkosti vytvoří místo pro vazbu dalšího transkripčního faktoru, který zároveň vytvoří komplex s proteinem HMG.

Geny kódující transkripční faktory s **homeodoménou** mají charakteristickou sekvenci 180 pb (homeobox), určující pořadí 60 aminokyselin v peptidu. Tyto transkripční faktory byly poprvé poznány a popsány u *Drosophila* a hrají úlohu především ve vývojových procesech. Jsou-li geny pro transkripční

faktory s homeodoménu nefunkční, projeví se na jejich místě funkce jiného transkripčního faktoru s homeodoménu (u octomilky – *Drosophila* např. noha na místě tykadla; jev zvaný homeóze). Předpokládá se, že homeotické transkripční faktory řídí expresi genů, které kódují další regulační proteiny. Některé transkripční faktory se mohou šířit symplastem z buňky do buňky (procházejí plazmodezmy).

Transkripční faktory jsou obvykle kódovány **rodinou genů** a vyskytují se ve větším množství podobných proteinů. Tvorba dimerů poskytuje možnost vzniku mnoha kombinací, které rozeznávají různé regulační sekvence na DNA.

Pro průběh transkripce je nezbytná aktivní (fosforylovaná) RNAPolymeráza II a potřebné množství ATP, CTP, GTP a UTP. Vznikající **nascentní řetězec RNA** je na počátku 5'-konce **ošetřen čepičkou** (navázání 7-metylguanylátu; obr. 8-7.) a po délce **asociovanými proteiny**, které zabrání nevhodným interakcím s jinými molekulami (včetně vlastního řetězce nebo s RNAPolymerázou II) a hrají významnou úlohu při další úpravě RNA v jádře.

Ukončení transkripce je signalizováno specifickou sekvencí nukleotidů na DNA, konec řetězce je ošetřen **polyadenylací** (navázáním různého většího počtu A, 50 až 200 i více, počet ovlivňuje stabilitu a funkční dobu molekuly mRNA). Primární transkript, označovaný jako **hn-RNA** (**h**eterogenní **n**ukleární RNA nebo pre-mRNA), je v **jádře dále upravován** procesem zvaným **sestřih**, v němž jsou odstraněny nekódující oblasti – **introny** a vzniká **mRNA** (obr. 8-5.). Sestřih (angl. *splicing*) může probíhat jen jedním způsobem, tj. konstitutivně, nebo alternativně a z jednoho genu mohou být odvozeny odlišné mRNA (posléze i odlišné proteiny). **Transport mRNA z jádra do cytoplazmy** je kontrolní krok kvality produktu transkripce i další regulační úroveň exprese genu.

Regulace exprese jaderných genů na úrovni transkripce má pro vývojové procesy rostlin **základní význam**. Další fáze exprese genů poskytují **další úrovně regulace** a možnost uplatnění dalších regulačních mechanismů. Významné je také **odbourávání mRNA** (slouží rychlému zastavení tvorby proteinu).

Translace – biosyntéza polypeptidového řetězce podle informace nesené mRNA - probíhá v cytoplazmě na makromolekulárních komplexech tvořených proteiny a rRNA, zvaných **ribosomy**.

▼ Ribosomy jsou složeny ze dvou částí, malé a velké podjednotky. **Sekvence tří nukleotidů** na mRNA – **kodon** – určuje **jednu aminokyselinu**, většina aminokyselin je určena více než jedním kodonem – kód je tzv. **degenerovaný**. Pouze methionin a tryptofan mají jen jeden kodon. Aminokyseliny jsou na místo syntézy přinášeny transferovými tRNA, které mají dvě specifická vazebná místa. Jedno místo určuje aminokyselinu a druhé, zvané **antikodon**, musí odpovídat jejímu kodonu na mRNA. Navázání aminokyseliny na tRNA katalyzují **enzymy** zvané aminoacyl-tRNA syntetázy (aminokyselina musí být předem aktivována ATP, zůstává v komplexu s AMP). Translace je iniciována tím, že malá podjednotka nalezne počátek translace (kodon AUG pro methionin) na mRNA, a umožní interakci s antikodonem příslušné tRNA nesoucí aminokyselinou (Met-tRNA^{Met}). K iniciaci translace jsou třeba **regulační proteiny**, zvané **iniciační faktory translace** a značené eIF (z angl. *eukaryotic initiation factor*), které rozeznají 5'-konec mRNA, ošetřený čepičkou, za účasti GTP vytvoří iniciační komplex a

umožní navázání velké podjednotky ribozomu. Tak se mRNA a Met-tRNA^{Met} dostanou do správného vzájemného postavení.

Ribozom se pohybuje po mRNA a čte ji ve směru 5'→3', peptid je syntetizován od N-konce k C-konci. Konec translace je signalizován tzv. stop kodony. Na ribozom se vážou specifické proteiny, zvané **terminační**, které polypeptid uvolní. Jeden řetězec mRNA může být translatován několika ribozomy současně. Další ribozom nasedá, když je z mRNA přečteno 80 až 100 nukleotidů - vznikají polyzomy.

Proteiny nezbytné k **zahájení** (iniciaci) translace, k jejímu **průběhu** (elongaci), **ukončení** (terminaci) a proteiny, které se **vážou na vznikající** neboli **nascentní polypeptid**, jsou další místa možné regulace exprese genu, stejně jako místo, kde v cytoplazmě translace probíhá. Proteiny určené k dalším úpravám, např. glykosylaci, nebo k transportu do organel a určitých kompartmentů, mají příslušné **určující signální sekvence**. Podle nich jsou proteiny syntetizovány na volných ribozomech v cytosolu nebo na membráně endoplazmatického retikula (např. integrální membránové proteiny, proteiny určené do vakuoly nebo k transportu do buněčné stěny; kap. 9.2.4.).

Translace je regulována také negativně, může být efektivně blokována např. navázáním **regulačních proteinů** v oblasti 5'-konce mRNA nebo **jinými krátkými RNA**, které mají schopnost se s určitými úseky translatované mRNA párovat.

Správné prostorové uspořádání polypeptidových řetězců představuje další důležitou úroveň regulace exprese strukturních genů. V těchto procesech hrají významnou roli proteiny zvané **chaperony** a energie **ATP**. **Posttranslační úpravy proteinů**, např. **fosforylace** (kap. 6.2.5.), **glykosylace** (kap. 3.3.4.), tvorba disulfidových můstků, které rychle a velmi významně ovlivňují funkční vlastnosti nebo lokalizaci proteinů, **umožňují rychlé reakce** na některé **signály**.

Degradace proteinu může být konečnou fází regulace exprese strukturního genu a **významným mechanismem regulace metabolických dějů i vývojových procesů** (např. odbourávání cyklínů v průběhu buněčného cyklu; kap. 9.1.1.). Současně poskytuje aminokyseliny pro syntézu nových nezbytných proteinů. Proteiny jsou degradovány v **různých buněčných kompartmentech** – vakuolách, cytosolu, jádře, chloroplastech a mitochondriích, různými cestami. Vakuoly obsahují proteázy lysozomálního charakteru, podobně jsou odbourávány proteiny zásobního charakteru. Degradace proteinů musí být velmi **selektivní**, aby nedošlo k odbourávání proteinů funkčních. Cytoplazmatické proteiny, které jsou určeny k brzkému odbourání, nesou určité signální sekvence, např. sekvenci označovanou PEST (P = prolin, E = glutamin, S = serin, T = threonin). Během denaturace proteinu (poškození) se obnažují hydro-

fobní oblasti, které jsou normálně uloženy uvnitř proteinu a působí také jako signál k degradaci.

Množství proteinů, především **regulačních a signálních**, se v cytosolu i v jádře odbourává na komplexu zvaném **proteazom 26S**.

▲ **Proteazom 26S** (1,5 MDa) je proteinový komplex, tvořený složkami, které jsou kódované asi jedním stem strukturních genů. Je tvořen dutým válcem (základní část 20S), na jehož vnitřní straně probíhá štěpení proteinu na aminokyseliny (tím jsou chráněny proteiny vně proteazomu). **Selektivní vstup** do proteazomu zajišťují dva **regulační a rozeznávací komplexy 19S** (obr. 8-8.), které tvoří dno a víčko válce a obsahují ATPázy, zajišťující energii pro degradaci proteinů. Proteiny, které se v proteazomu odbourávají, musí být **označené ubikvitinem**

Ubikvitin je obecně se vyskytující (od kvasinky po člověka) signální polypeptid, tvořený řetězcem 76 aminokyselin, jejichž sled je silně konzervovaný. Jeden nebo několik řetězců se váže na zbytky lyzinu na C-konci proteinu, který je určen k degradaci (polyubikvitinace). Před vazbou na protein však musí být **ubikvitin aktivován** navázáním enzymu E1 (za spotřeby ATP), který umožní konjugaci s enzymem E2. Protein určený k likvidaci musí být vázán s proteinem E3, který má funkci ubikvitinové ligázy. Výsledkem interakce obou komplexů je **navázání ubikvitinu na protein** a uvolnění proteinů E2 a E3 (obr. 8-9.). Specifita vazby je dána charakterem **ubikvitinové ligázy** E3. Rostlina tvoří velké množství různých ubikvitinových ligáz.

Protein označený ubikvitinem je regulační podjednotkou rozeznán, asociován s proteazomem 26S, transportován do střední části proteazomu, kde je protein štěpen na aminokyseliny. Ubikvitin do proteazomu nevstupuje a není odbouráván, uvolňuje se v neaktivní formě.

Regulace exprese genů uložených v **plastidech a mitochondriích** má **prokaryotický charakter**. Geny plastomu jsou uspořádány do tzv. polycistronických transkripčních jednotek, celků se společným promotorem (připomínají operony). Soudí se, že **posttranskripční regulace** má v plastidovém genomu významnější úlohu než v genomu jaderném.

▲ **Transkripci v plastidech** zajišťují **plastidové RNAPolymerázy**, které jsou **dvojího typu** – prokaryotického (podobná jako u *Escherichia coli*) a bakteriofágového (obr. 8-10.). Katalytické podjednotky **polymerázy prokaryotického typu** (α , β , β') jsou kódovány v plastidu, regulační podjednotka (σ) v jádře – genom jaderný a plastidový při regulaci transkripce plastidového genomu kooperují. Polymeráza prokaryotického typu rozeznává specifické promotorové oblasti genů důležitých pro fotosyntézu a transkribuje tyto geny. **Bakteriofágový typ RNAPolymerázy** je tvořen **jedním polypeptidem kódovaným v jádru**. Zajišťuje transkripci genomu ve všech typech plastidů ale netranskribuje geny pro fotosyntézu. Podobný typ RNAPolymerázy zajišťuje také transkripci genomu mitochondriálního.

8.2.5.2. Přenos signálů

Expresce genů musí být koordinována. Koordinace je nezbytná nejen na úrovni buňky. Zvětšující se organizmus s diferencovanými buňkami, funkčně specializovanými orgány musí být vnitřně organizován na úrovni celku. Rostlina žije v těsné interakci s prostředím a své funkce musí podle vnějších podmínek **neustále modulovat**. Rostlina **podněty integruje** a nakonec **interpretuje** ve výsledné komplexní **fyziologické odpovědi**. Odpověď **závisí na stavu rostliny** (např. na vývojové fázi, stupni adaptace na aktuální podmínky i na denní nebo roční době). K některým podnětům jsou v rostlině citlivé jen některé buňky, různé buňky stejný podnět různě interpretují (např. je-li etiolovaná rostlina přenesena ze tmy na světlo buňky

stonku, které se ve tmě prodlužují, se přestanou prodlužovat, buňky listových základů se začnou zvětšovat a diferencují se ve fotosynteticky aktivní palisádový a houbový parenchym). Ke koordinaci funkcí je nutná komunikace, která v konečné fázi koordinuje expresi genů v jednotlivých buňkách. Koordinaci funkcí v rostlině slouží specifické **signální molekuly** a **sít propojených signálních drah**. Různé signály ovlivňují informační síť různým způsobem a na různých místech. V konečném efektu zpravidla **mění expresi genů**.

Studium příjmu signálu a přenosu informací je jednou z dynamicky se rozvíjejících oblastí fyziologie. Ve srovnání s přenosem signálu u živočichů, kvasinek a prokaryot, u nichž je tato problematika poznána detailněji než u rostlin, mají rostliny určité specifické rysy. K rozvoji studia těchto problémů přispěly především přístupy a metody molekulární biologie.

Signál (podnět, stimulus) může mít různý charakter, může být **fyzikální** nebo **chemický**. Fyzikální charakter má např. světlo nebo podněty mechanické (např. tlak), chemický signál má podobu určité molekuly, např. fytohormonu (kap. 12.1.) nebo látky produkované patogenem (kap. 7.6.2.1.).

Pro **přijetí signálu** musí být rostlina vybavena příslušným **receptorem**, pro světlo se často užívá termín **senzor**.

Receptory jsou zpravidla proteiny nebo **proteinové komplexy**. V buňce mohou být receptory **lokalizovány na různých místech**. Senzory světla – fytochromy - jsou lokalizovány v cytosolu, kryptochromy v jádře, fototropin je membránový protein (kap. 7.2.1.). Chemické signály, přenášené mezi buňkami hydrofilními molekulami, jsou přijímány nejčastěji na vnější straně plazmatické membrány. Fytohormon etylén, jehož molekula je hydrofobní a je schopná překonat plazmatickou membránu, má receptor na endoplazmatickém retikulu (kap. 12.1.5.).

Informace je přenášena určitou **signální cestou** (dráhou), která je tvořena **řadou na sebe navazujících kroků**, v nichž se aktivuje řada dalších složek, mezi něž patří **enzymy, efekторы** a **druzí poslové**. Z jednoho receptoru může vycházet více signálních cest, cesty se mohou větvit. Signální cesty, vycházející z různých receptorů, jsou na určitých místech propojeny (angl. *cross talk*) a často již v této fázi je informace konfrontována a integrována s informacemi dalšími. Signál může být zesílen nebo tlumen, současně ovlivňuje další signální dráhy. Signální dráhy vedou ke změně exprese genů (kvalitativní nebo kvantitativní), která však může být ovlivněna dalšími mechanismy na mnoha různých úrovních (kap. 8.2.5.1.).

Příjem signálu vyvolá **konformační změnu receptorového proteinu** (např. fytochrom; kap. 7.2.1.1.). Receptory chemických podnětů jsou zpravidla **integrální membránové proteiny**, signální molekula, která se váže na receptor se obvykle označuje jako **ligand**. (V současnosti se zdá, že jen omezený počet signálních molekul se šíří z buňky do buňky symplastem, i když

přes plazmodezmy mohou procházet i látky značně komplikované struktury, např. mRNA ve floému nebo virová RNA; plazmodezmy – kap. 3.5.). Membránové receptory mají v podstatě dvojí charakter. Jedny jsou transmembránové **receptorové enzymy**, druhé jsou **receptory funkčně spojené s G-proteiny**.

Transmembránové receptorové enzymy mají receptorovou část na vnější straně plazmalemmy, membránovou část a část cytoplazmatickou (doména, která je kotví v membráně je obvykle jen jedna). Navázání signální molekuly vede často k **dimerizaci** tohoto receptoru v membráně, vždy ke **změně vlastností cytoplazmatických domén**, čímž je informace přenesena dovnitř buňky (obr. 8-11.). Aktivuje se jejich katalytická, obvykle **proteinkinázová, aktivita**. Složky v dimeru se fosforylují navzájem (transautofosforylace). Cytoplazmatická doména pak fosforyluje další proteiny, u rostlin především na jejich serinových nebo treoninových zbytcích. **Serinové kinázy** jsou v rostlinách převažující (u živočichů převažují tyrozinové kinázy). Některé **receptorové kinázy u rostlin** autofosforylují zbytky **histidinu** a fosfát je dále přenášen na zbytek aspartátu v jiné doméně cytosolové složky (např. receptory fytohormonů cytokininů a etylénu; kap. 12.1.3., kap. 12.1.5.). Tento typ receptorových kináz je v membráně kotven dvěma až čtyřmi doménami a je blízký receptorům u prokaryot.

Receptorová doména i kinázová doména u transmembránových kináz jsou **substrátově (vazebně) specifické**.

▲ **Receptorové kinázy** jsou podle charakteru **receptorové části** děleny do dvou hlavních skupin (a dalších mnoha podskupin). Jedna z nich, značená **S**, je charakteristická četnými **cysteinovými** zbytky a hraje významnou úlohu při rozeznávání inkompatibilního pylu (lokus **S**, **SI** – *self-incompatibility*; kap. 11.2.4.1.). Druhá skupina, značená **LRR** (z angl. *leucin rich repeats*) má strukturu **leucinového zipu**, která slouží vazbě signální molekuly (kap. 8.2.5.1.). Příkladem receptorové kinázy je např. **CLAVATA 1 (CLV1)**, která se podílí na regulaci velikosti vegetativního i florálního meristému (kap. 10.3.1.2.), další receptorové kinázy tohoto typu se podílejí na přenosu signálu pro diferenciaci buněk listové epidermis, v aktuálních adaptačních reakcích na desikaci nebo nízké teploty.

Receptorové kinázy přenášejí signál na různé efekторы, které mohou být přímo fosforylovány nebo odpovídají na změnu konformace receptoru změnou aktivity. Významnou skupinou efektorů jsou tzv. malé **GTPázy**, které vážou a štěpí GTP – a zahajují řadu dalších navazajících **fosforylačních reakcí** nebo aktivují **druhé posly**. U **rostlin** se vyvinuly značně **charakteristické GTPázy**, které se účastní přenosu signálu v mnoha drahách. Receptorové kinázy a GTPázy mohou být inaktivovány vazbou regulačních proteinů.

Receptory funkčně spojené s G-proteiny mají receptorovou doménu na vnější straně plazmatické membrány, transmembránové domény a cytosolovou část bez kinázové aktivity

(obr. 8-12.). **Aktivují heterotrimerický G-protein**, který dále přímo nebo přes efektory a druhé posly, navodí řadu fosforylačních a defosforylačních kroků. Receptory funkčně spojené G-proteiny jsou proteiny velmi různé a v přírodě obecně rozšířené (v současnosti u živočichů známo asi 700 typů), které mají obvykle sedm velmi konzervovaných částí, jimiž jsou kotveny v membráně (označují se také jako serpentina, 7TM nebo 7-pass receptory). Ostatní, naopak velmi odlišné části, slouží rozeznání nejrozličnějších signálních molekul na vnější straně membrány a různých proteinů $G\alpha$ na vnitřní straně membrány.

Heterotrimerické G-proteiny jsou komplexy tří proteinů $G\alpha$, $G\beta$ a $G\gamma$, z nichž každý je kódován několika geny. To umožňuje určitou míru plasticity v tvorbě trimerických komplexů, specifických k dalším receptorovým proteinům a efektorovým molekulám. Jednotka $G\alpha$ funguje jako GTPáza, váže a štěpí GTP, jednotky $G\beta$ a $G\gamma$ jsou nezbytné pro její funkci. **V neaktivním stavu je $G\alpha$ vázaná s $G\beta$ a $G\gamma$ a s GDP. Receptor** vazbou ligandu **změní svou konformaci a aktivuje jednotku $G\alpha$** , která vymění GDP za **GTP** a z komplexu se uvolní. $G\alpha$ GTP se váže s určitou **efektorovou molekulou** (efektorem) a komplex $G\beta\gamma$ se může vázat s jinou efektorovou molekulou. $G\alpha$ je GTPáza, štěpí GTP na GDP, komplex s efektozem se rozpadá a obnoví se trimerický komplex $G\alpha G\beta\gamma$ s GDP. Jednotka $G\alpha$ je tzv. pomalá GTPáza a v době, než rozštěpí GTP, může aktivovat řadu efektorových molekul, např. adenylátcyklázy, a zesílit signál. Tato složka přenosu signálu byla prokázána v řadě případů u rostlin, např. v přenosu signálu auxinu v koleoptilích rýže a při otvírání kanálů pro K^+ ve svěracích buňkách při otvírání průduchů. Ve srovnání s živočichy je však tato signální dráha u rostlin frekvencována výrazně méně.

Efektorové molekuly mohou mít různý charakter, jsou to např. **enzymy** nebo efektorové **iontové kanály** (kap. 6.1.2.3.). Efektorové molekuly **regulují koncentraci** dalších složek přenosu signálu v buňce, tzv. **druhých poslů**. Termín druhý posel (angl. *second messenger*) označuje obvykle snadno **difundující molekulu**, jejíž koncentrace se může rychle změnit a výrazně **ovlivnit další složky signálních drah**.

Efektorové enzymy jsou např. **fosfolipázy PL** (z angl. *phospholipase*), **adenylátcykláza** nebo **guanylátcykláza**. Efektorové fosfolipázy PLC, PLA a PLD štěpí membránové lipidy (obr. 8-13.). **Fosfolipáza C – PLC** – existuje v mnoha formách. Forma v signální cestě funkčně spojená s $G\alpha$ je asociovaná s vnitřní fosfolipidovou stranou plazmalemy a štěpí fosfatidylinozitol-4,5-bisfosfát na diacylglycerol – **DAG** a inozitol-1,4,5-trifosfát – **IP₃** (obr. 8-14.). **IP₃** je hydrofilní, mobilní, difunduje v cytoplazmě a váže se na receptor v tonoplastu nebo endoplazmatickém retikulu. Aktivuje příslušné kanály a působí uvolnění Ca^{2+} z vakuoly nebo z lumenu endoplazmatického retikula a vzestup hladiny Ca^{2+} v cytoplazmě. Cyklázy katalyzu-

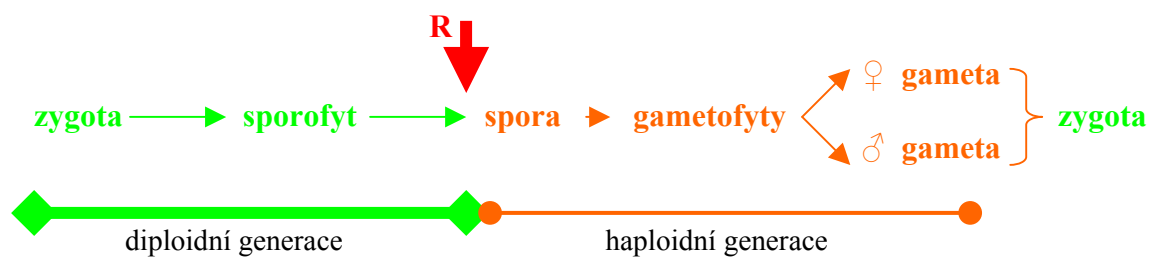
jí vznik dalších druhých poslů, cyklického AMP – **cAMP** (obr. 8-15.), cyklického GMP – **cGMP**. DAG a cyklické nukleotidy (cAMP, cGMP) působí u rostlin jako druzí poslové méně často než u živočichů (*nebo se o nich zatím méně ví*).

Ca^{2+} slouží u rostlin jako druhý posel nejčastěji. Jeho koncentrace je v cytosolu udržována nízká ale může se rychle změnit uvolněním Ca^{2+} z různých kompartmentů (buněčná stěna, endoplazmatické retikulum, vakuola; kap. 6.2.3.) tím, že se otevřou **efektorové kanály**.

Ca^{2+} výrazně ovlivňuje katalytickou aktivitu **proteinových kináz – PK** (enzymy katalyzující štěpení ATP a přenos fosfátu na proteinový substrát) a **proteinových fosfatáz** (PP – z angl. *protein phosphatase*; naopak odštěpují fosfát), které se účastní přenosu signálu v buňce. Tyto enzymy se často označují jako proteinové kinázy nebo proteinové fosfatázy **závislé na druhém poslu**. Fosforylace a defosforylace proteinů je významný mechanismus nejen při přenosu signálu ale i při mnoha dalších regulačních procesech (např. regulace buněčného cyklu prostřednictvím CDK; kap. 7.6.2.). U mnoha regulačních proteinů fosforylace umožňuje vstup molekuly do jádra. Proteinových kináz existuje v rostlině velké množství (udává se, že až 4% genomu kóduje proteinové kinázy). Pro **rostliny** jsou charakteristické proteinové kinázy a fosfatázy, které jsou aktivované Ca^{2+} **přímo**. Další mohou být aktivované Ca^{2+} **v komplexu s kalmodulinem** (kap. 6.2.3.). Proteinové kinázy aktivované Ca^{2+} jsou u rostlin velmi četné a jsou kódovány velkou rodinou genů. Geny jsou exprimovány v různých orgánech specificky, exprese je obzvláště vysoká v pletivech meristematických. Ca^{2+} může zvýšit aktivitu enzymu 70- až 100-krát. Fosforylovaný stav může být stabilizován navázáním regulačních proteinů, např. proteinů 14-3-3 (kap. 6.1.2.1.).

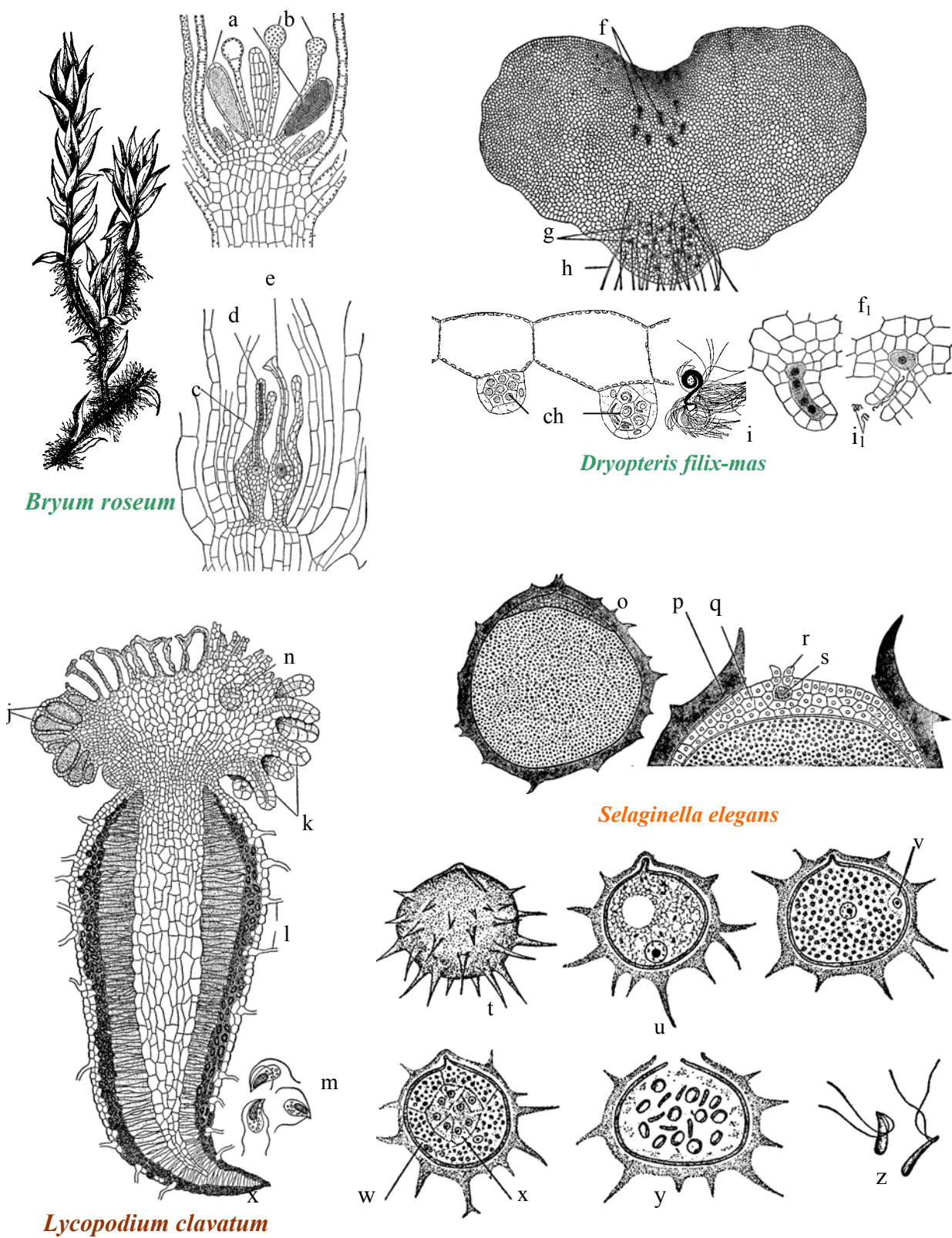
Přenosu signálu u rostlin se účastní také tzv. **MAPkinázové kaskády**. MAPkinázy (z angl. *mitogen-activated protein*) byly objeveny původně u živočichů v souvislosti s aktivací buněčného dělení. Jsou charakteristické tím, že k jejich aktivaci je nutná fosforylace zbytku **serinu i treoninu**, mezi nimiž je **jen jeden aminokyselinový zbytek**. Tyto kinázy mohou být fosforylovány jen specifickou kinázou – MAPKK (z angl. *MAPK kinase*; značenou také MEK). MAPKK je fosforylována kinázou MAPKKK, která stojí na začátku fosforylační kaskády. MAP kinázy a jejich specifické MAPKK a MAPKKK mohou být aktivovány odpovídajícími malými GTPázami, složkami heterotrimerického G-proteinu nebo jinými složkami signálních cest. V jedné buňce může být několik desítek takových kaskád a slouží přenosu různých signálů, např. auxinu, působení různých abiotických stresorů (poranění) i signálů uvnitř buňky. **Fosforylovaná MAPkináza** může vstoupit do **jádra**. V cytosolu nebo v jádře **fosforyluje transkripční faktory** nebo jiné **regulační proteiny**.

Obr. 8-1. Schéma rodozměny. R – meióza (redukční dělení).



zpět do textu

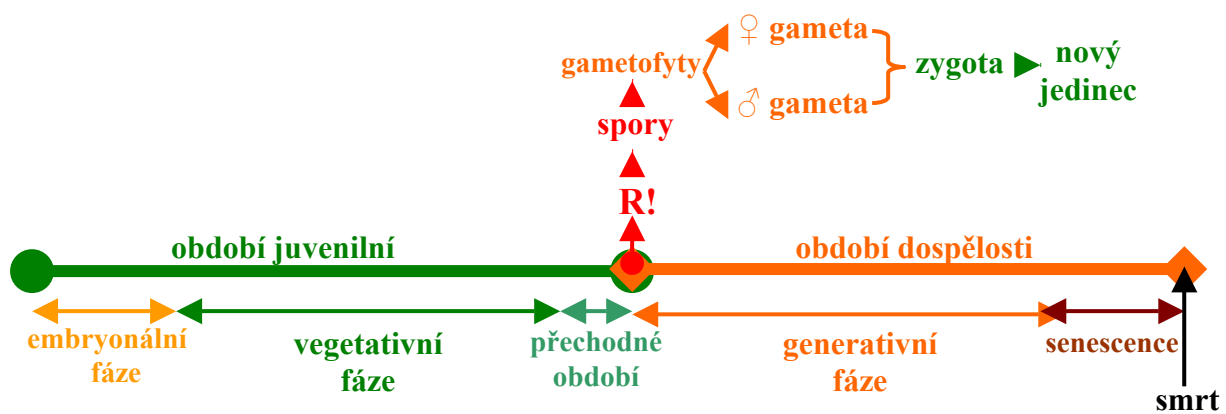
Obr. 8-2. Gametofyty mechů (*Bryum roseum*), izosporických kapradin (*Dryopteris filix-mas*), plavuní (*Lycopodium clavatum*) a vranečků (*Selaginella elegans*).



[zpět do textu](#)

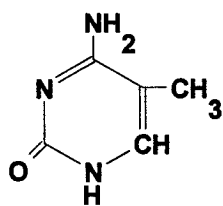
Bryum roseum: a – pelatky (anteridia), b – sterilní vlákna, c – hrdlo zárodečníku (archegonium), d – kanálek, e – zralý zárodečník s vaječnou buňkou (oosféra). *Dryopteris filix-mas*: f, f₁ – zárodečníky, g – pelatky, h – rhizoidy, ch – pelatky se spermatozoidy v různém stádiu vývoje, i, i₁ – zralé spermatozoidy. *Lycopodium clavatum*: j – pelatky, k – zárodečníky, l – rhizoidy, m – zralé volné spermatozoidy, n – základ sporofytu. *Selaginella elegans*: o – mladá megaspora se vznikajícím megagametofytem, p – stěna megaspor, q – pletivo megagametofytu, r – zárodečník, s – vaječná buňka (oosféra), t – mikrospora, u – řez mikrosporou, v, w – buňka mikrogametofytu, x – vznikající spermatozoidy, y – zralý mikrogametofyt, z – zralé spermatozoidy. (Podle Smith G.M., Gilbert E.M., Evans R.I., Duggar B.M., Bryan G.S., Allen Ch.E.: A text Book of General Botany. – Macmillan Comp. New York, 1946. Upraveno.)

Obr. 8-3. Schéma ontogeneze sporofytu semenných rostlin.



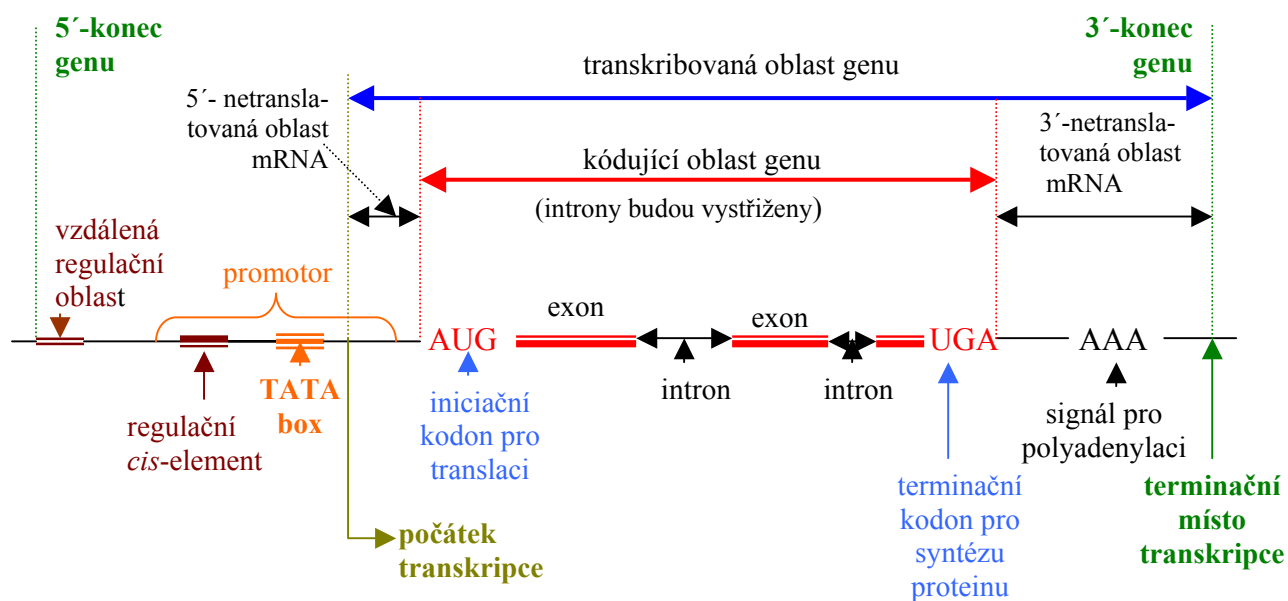
zpět do textu

Obr. 8-4. Metylcytozin.



[zpět do textu](#)

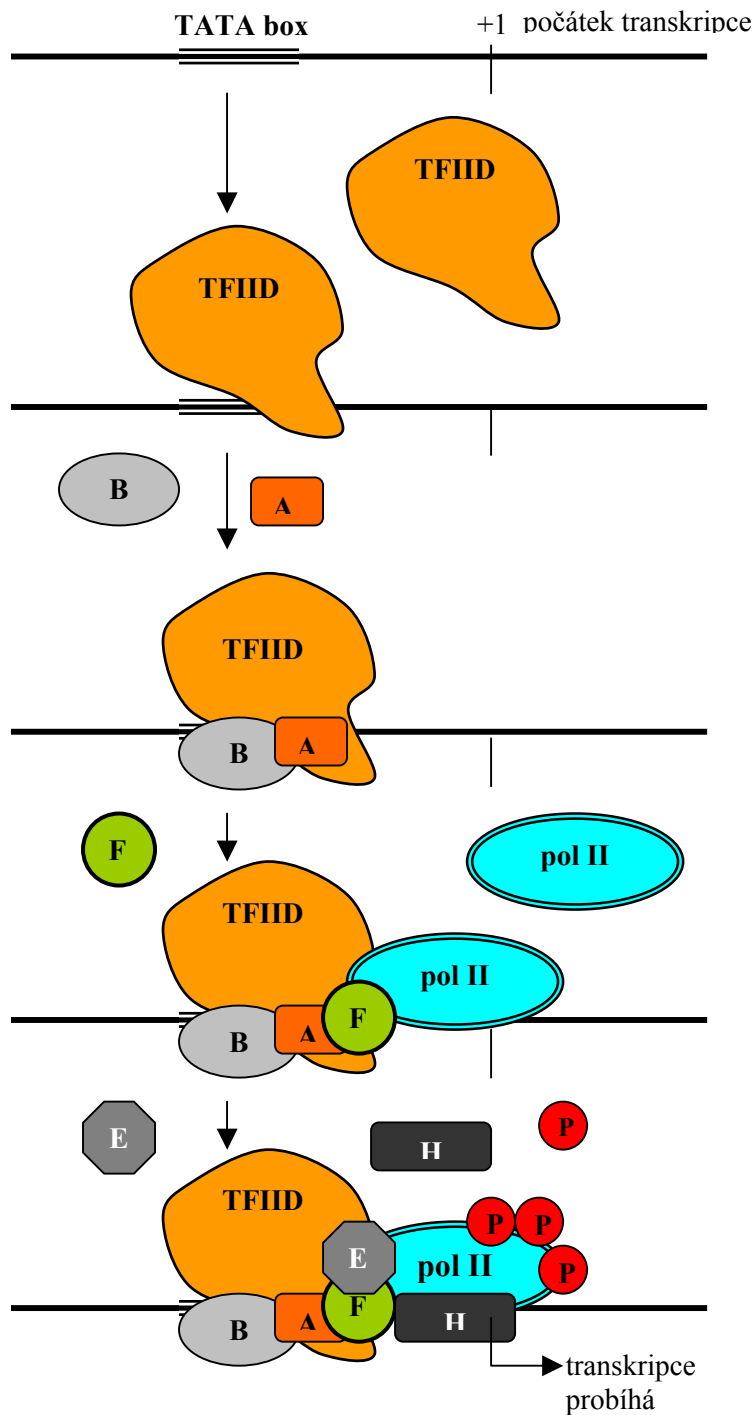
Obr. 8-5. Schéma uspořádání eukaryotického genu (délkové poměry nejsou zachovány).
(Podle Buchanan B. B., Gruissem W., Jones R.L.: Biochemistry and Molecular Biology of Plants. – American Soc. Plant Physiol. Rockville, Maryland, 2001. Upraveno.).



zpět do textu na str. 8

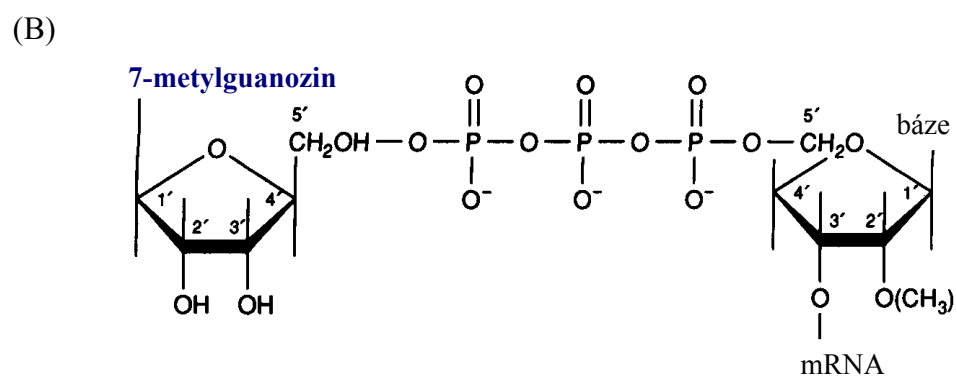
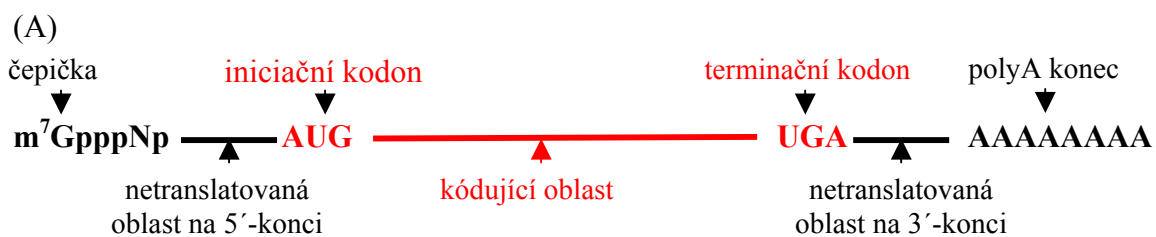
do textu na str. 10

Obr. 8-6. Schéma vzniku transkripčního iniciačního komplexu. Obecné transkripční faktory (TFII) a RNApolymeráza II se vážou v určitém pořadí na TATA box – TFIID, TFIIB, TFIIA, TFIIF, RNApolymeráza II, TFIIE a TFIIH. TFIIH má kinázovou aktivitu a fosforyluje RNApolymerázu II. Po vytvoření komplexu začíná transkripce a komplex se rozpadá. P - fosfát.



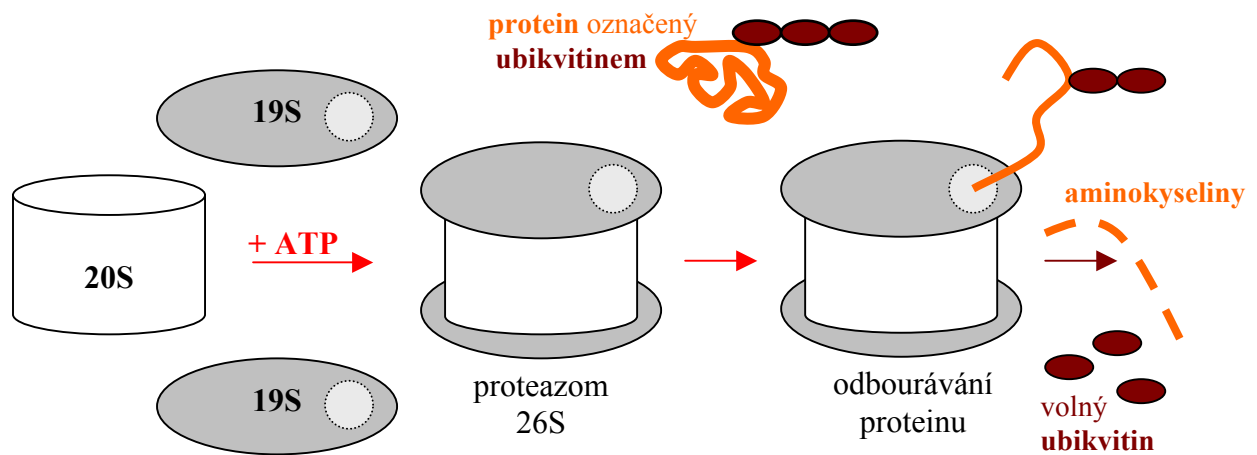
zpět do textu

Obr. 8-7. Struktura typické mRNA strukturního genu (A) a čepička (B). (Podle Fosket D.E.: Plant Growth and Development. – Academic Press Inc., San Diego, 1994. Upraveno.).



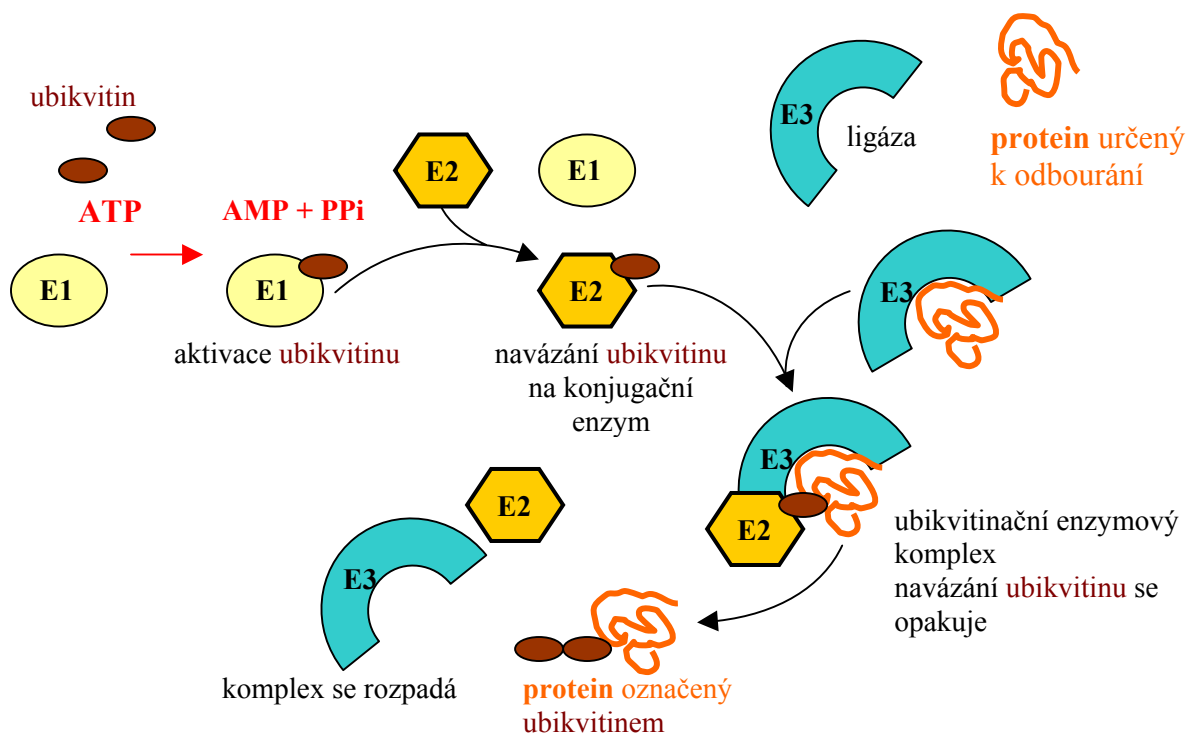
zpět do textu

Obr. 8-8. Schéma proteazomu 26S a odbourávání proteinů značených ubikvitinem. Proteazom 26S je tvořen centrálním dutým válcem 20S (jádre, angl. *core*) a dvěma regulačními jednotkami 19S (tzv. víčka).



[zpět do textu](#)

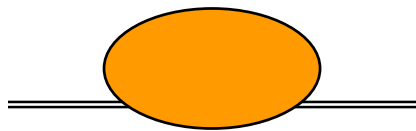
Obr. 8-9. Schéma ubikvitinace proteinů.



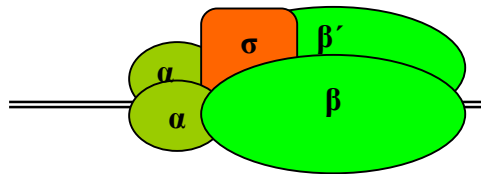
zpět do textu

Ubikvitin je aktivován aktivačním enzymem E1 a navázán na enzym konjugací – E2. Specifická ubikvitinová ligáza E3 se naváže na protein, který má být odbourán, vytvoří se komplex s konjugacním enzymem nesoucím ubikvitin a ubikvitin je přenesen na protein. Po navázání ubikvitinu na protein se komplex rozpadá (velmi zjednodušeno). Protein označený ubikvitinem je odbourán na proteazomu 26S.

Obr. 8-10. Plastidové RNAPolymerázy – schéma. Bakteriofágový typ RNAPolymerázy je peptid kódovaný v jádru. Zajišťuje transkripci genů nutných pro funkce plastidu mimo geny nezbytné po fotosyntézu. Prokaryotický typ plastidové RNAPolymerázy je tvořen dvěma podjednotkami α , β a β' a podjednotkou σ , která je kódována v jádru.



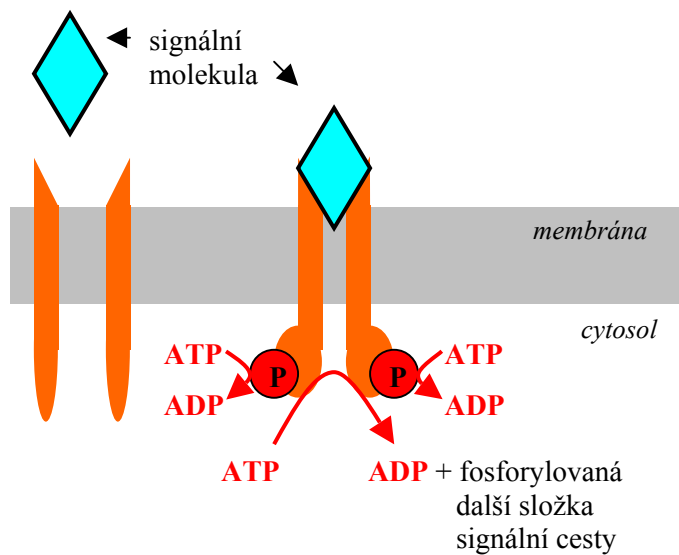
bakteriofágový typ RNAPolymerázy
kódovaný v jádru



prokaryotický typ RNAPolymerázy
podjednotky α , β a β' jsou kódovány
v plastidu, podjednotka σ v jádru

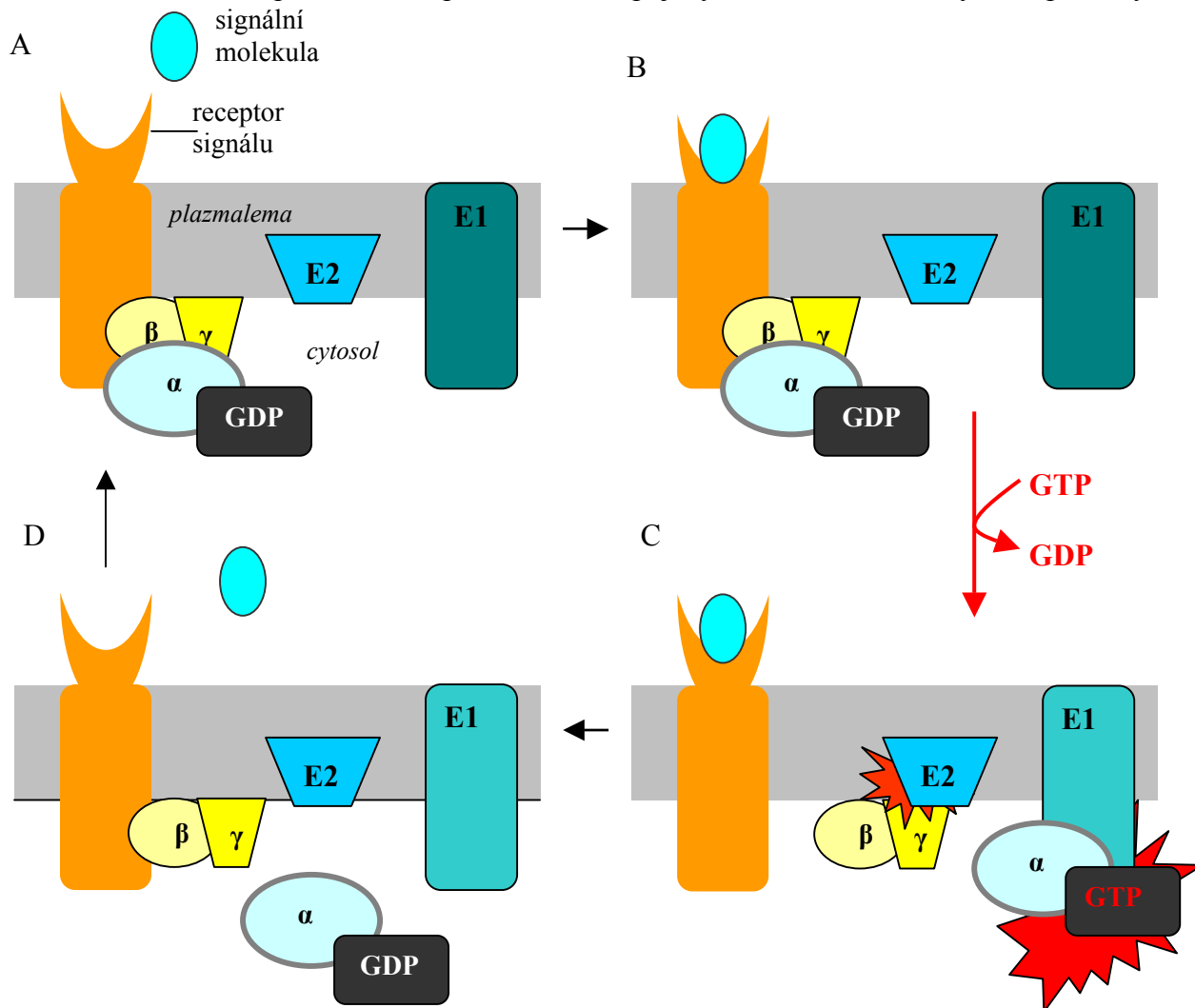
[zpět do textu](#)

Obr.8-11. Schéma funkce membránové receptorové kinázy. Po navázání signální molekuly receptorové kinázy vytvoří dimery, autofosforylují své cytosolické domény a fosforylují další složky signální cesty.



[zpět do textu](#)

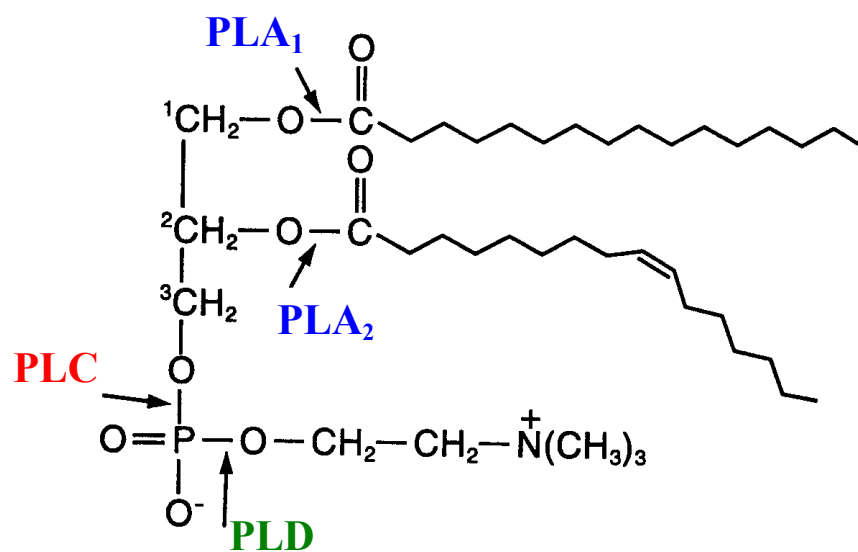
Obr. 8-12. Schéma působení receptorů funkčně spojených s heterotrimerickými G-proteiny.



zpět do textu

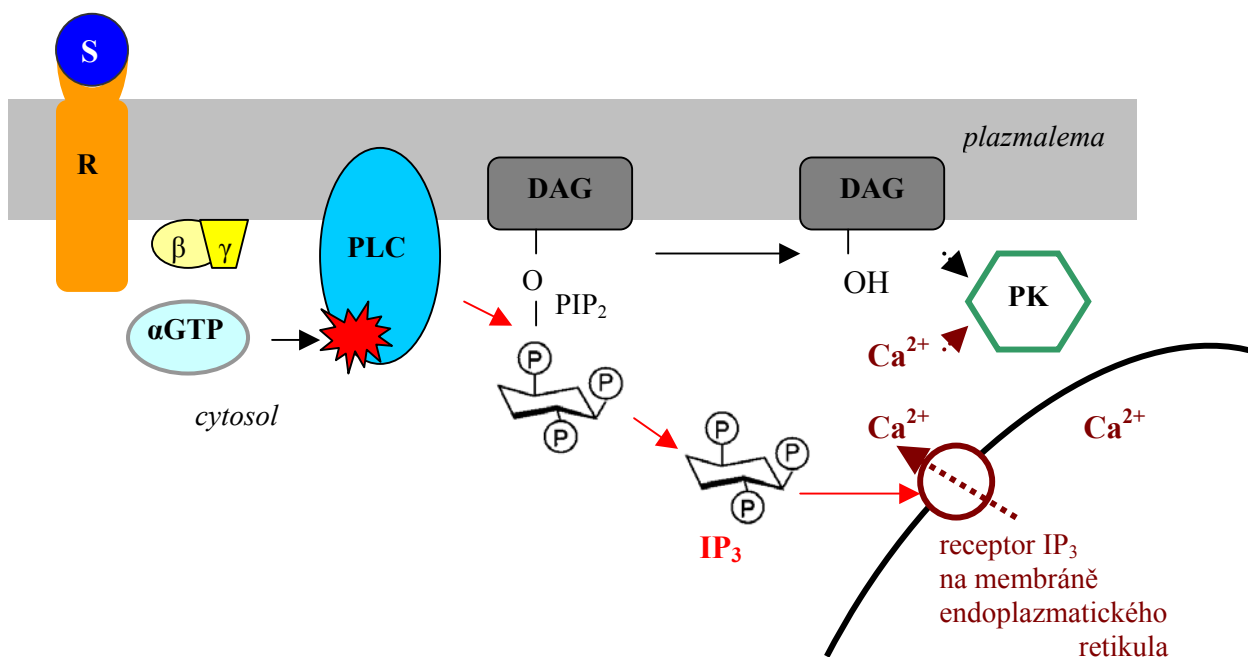
V neaktivním stavu podjednotka $G\alpha$ váže GDP a podjednotky heterotrimerického G-proteinu $G\alpha$, $G\beta$ a $G\gamma$ tvoří komplex s receptorovým proteinem (A). Po navázání signální molekuly receptorový protein aktivuje podjednotku $G\alpha$ (B), která vymění GDP za GTP, a komplex se rozpadá. Podjednotka $G\alpha$ aktivuje efektor E1 v membráně, podjednotky $G\beta$ a $G\gamma$ spolu zůstávají spojeny a mohou aktivovat jiný efektor (E2) (C). Po odeznění signálu podjednotka $G\alpha$ mění GTP za GDP a komplex heterotrimerického G-proteinu s receptorovým proteinem se opět ustavuje (D).

Obr. 8-13. Štěpení membránových fosfolipidů různými fosfolipázami (PL).



zpět do textu

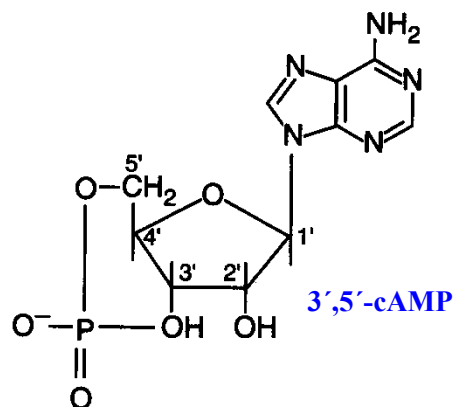
Obr. 8-14. Schéma přenosu signálu.



zpět do textu

Signální molekula S se naváže na receptor R, funkčně spojeným s heterotrimerickým G-proteinem. Podjednotka $G\alpha$ s navázaným GTP aktivuje fosfolipázu PLC, která štěpí fosfatidyl-4,5-inozitolbisfosfát (PIP₂) na inozitol-1,4,5-trifosfát (IP₃) a diacylglycerol (DAG). IP₃ aktivuje receptor v membráně endoplazmatického retikula a otevře se kanál pro Ca²⁺. Zvýšená hladina Ca²⁺ v cytosolu aktivuje řadu enzymů, např. proteinové kinázy (PK). DAG se může také účastnit přenosu signálu, např. může ovlivňovat senzitivitu proteinových kináz k Ca²⁺.

Obr. 8-15. Cyklický AMP.



zpět do textu