

9. Buněčný cyklus a růst buňky

Nové buňky vznikají dělením buněk stávajících, mateřská buňka se rozdělí na dvě buňky dceřinné. Při dělení buňky se předává **úplná genetická informace** uložená v jádru, plastidech i mitochondriích. **Dělící se buňky** procházejí **buněčným cyklem**, tj. **interfází** a **mitózou**. Zvláštním případem buněčného cyklu je **meióza** (kap. 11.2.1.). Průběh buněčného cyklu je řízen, kontrolován a koordinován na mnoha úrovních, mnoha různými mechanizmy a odráží nejen poměry ve vlastní buňce ale i v buňkách sousedních, v pletivu, orgánu, organismu i v okolním prostředí.

9.1. Fáze buněčného cyklu

V **mitóze** (M) se dělí jádro a v **interfázi** (I) se buňka připravuje na další mitózu. Interfáze se konvenčně dále dělí na fázi G1 (z angl. *gap*; pauza, přerušení), fázi S (z angl. *synthetic*) a fázi G2. **Jednotlivé fáze** jsou samy o sobě velmi komplexní a mají **své regulační mechanizmy**. Trvání fází G1 a G2 je plastičtější než fáze S a mitózy. Vznik dvou dceřinných buněk je dovršen doplněním buněčných stěn dceřiných buněk a plazmatických membrán, tzv. **cytokinezí**.

Ve fázi G1 se buňka nejprve více nebo méně zvětšuje (přibývá cytoplazmy, organel i membránových struktur, zvětšuje se plocha buněčné stěny) a připravuje se na vstup do fáze S. V G1 fázi může buňka dlouho setrvat nebo přejít do fáze G0, tj. přestat se dělit a funkčně se specializovat.

V fázi S dochází k **replikaci DNA**, tj. k syntéze nových řetězců DNA podle řetězců stávajících. **Replikace** je **semikonzervativní**, v každé ze dvou vznikajících molekul dvouřetězcové DNA pochází jeden řetězec z původní DNA a druhý je nově syntetizovaný. Nutná je nejen přítomnost strukturních a katalytických proteinů nezbytných pro iniciaci a průběh replikace, ale také dostatek nukleotidů (ATP, TTP, CTP, GTP i UTP). Zdvojuje se nejen DNA ale také celý chromatin. Dělení plastidů a mitochondrií a replikace jejich genomů není s replikací jaderné DNA korelována.

▼ **Replikace jaderné DNA** začíná na určitých nukleotidových sekvencích, tzv. **replikačních počátcích ORI** (z angl. *origin replicaton initiation*; asi 100 pb), které jsou na DNA rozmístěny ve vzdálenosti asi 66 000 pb u rostlin dvouděložných a přibližně 47 000 pb u rostlin jednoděložných. Část replikovaná z jednoho počátku se nazývá **replikon**. Replikace není simultánní, v různých počátcích začíná v různou dobu, obvykle se nejdříve replikují aktivně se transkribující oblasti, v nichž je rozvolněn chromatin. Každý replikon se v S fázi **zreplikuje jen jednou**. Replikační počátek rozeznávají **regulační proteiny**, schopné se na tuto sekvenci vázat. V oblasti počátku, která je bohatá na A a T, začínají enzymy **DNAhelikázy** katalyzovat oddělování řetězců DNA. Separace probíhá za spotřeby energie, která se získává štěpením ATP. Po oddělení řetězců se na další element replikačního počátku, **ORE** (z angl. *origin recognition element*), naváže replikační protein A (RP-A; z angl. *replication protein*) a další proteiny s katalytickou a strukturní funkcí. Vytvoří se kooperující **replikační komplex** (aparát), zvaný **replikační vidlice**. Replikace probíhá od počátku na obou řetězcích DNA a oběma směry

(obr. 9-1.). Vznik fosfodiesterové vazby mezi nukleotidy katalyzují DNAPolymerázy (δ , ϵ), které připojují **5'-konec nukleotidu na 3'-konec řetězce**, tzn. že potřebují **primer** (syntéza $5' \rightarrow 3'$). Primery jsou **krátké úseky RNA** (asi 10 bází), které se syntetizují podle DNA mateřského řetězce. Jejich syntézu zajišťují **polymerázy**, zvané **DNAprimázy** (DNAPolymeráza α na opožďujícím se řetězci). Tyto polymerázy z mateřského řetězce DNA záhy disociují, poskytnou však 3' konec řetězce, na který může syntéza nového řetězce DNA, katalyzovaná DNAPolymerázami δ nebo ϵ , navázat. Podle mateřského řetězce čteného ve směru $3' \rightarrow 5'$ se nový antiparalelní řetězec syntetizuje ve směru $5' \rightarrow 3'$. Syntéza tohoto nového řetězce DNA je **kontinuální** a vyžaduje jen jeden primer, nový řetězec se nazývá **vedoucí**. Druhý mateřský řetězec, který se vzhledem k replikačnímu komplexu odvíjí ve směru $5' \rightarrow 3'$, se replikuje **diskontinuálně** po krátkých úsecích, z nichž každý potřebuje vlastní primer. Replikace tohoto mateřského řetězce probíhá pomaleji a vznikající řetězec se označuje jako **opožďující se** nebo **vážnouchý**. RNA primer a úsek nového řetězce DNA se nazývají Okazakiho fragmenty. RNA primery jsou z nového řetězce odstraňovány **nukleázou** a DNAPolymeráza, zvaná opravná, ve směru $5' \rightarrow 3'$ dosyntetizuje chybějící část nového řetězce. Spojení 3' konce tohoto úseku DNA s 5' koncem následujícího fragmentu DNA zajišťuje **DNAligáza**.

DNA polymerázy δ a ϵ jsou k mateřskému řetězci vázány proteinem, který se označuje jako **protein svírací** nebo jako **kofaktor PCNA** (z angl. *proliferating cell nuclear antigen*). Tento nezbytný kofaktor DNAPolymeráz δ a ϵ obepíná jako prstenec rodičovskou DNA a polymerázu na řetězci přidržuje. Polymerázy δ a ϵ mají také **exonukleázovou** aktivitu a jsou schopny **opravit** své případné chyby v **předcházejícím** kroku. Replikace končí tam, kde se setkají řetězce různých replikačních počátků. Lineární DNA chromozómů je ukončena **telomerami**, oblastmi DNA bohatými na G, na které se váže komplex s enzymatickou aktivitou, zvaný telomeráza. **Telomeráza** obsahuje RNA, která slouží jako templát pro prodloužení 3'-konce mateřského řetězce DNA. Prodloužený konec poskytne možnost syntézy primerů a umožní vznik nového kompletního **nezkráceného** řetězce DNA.

Při replikaci DNA, jejíž jeden řetězec je metylován (hemimetylovaná DNA), je řetězec, syntetizovaný podle metylovaného řetězce, také metylován.

Ve fázi G2 se rozhoduje o vstupu do mitózy. Tento krok je u rostlin kontrolován pečlivěji, než vstup do fáze S. Rostlinná buňka se může v buněčném cyklu zastavit (přestat se dělit a začít se diferencovat) i ve fázi G2.

Mitóza, ve skutečnosti plynulý sled událostí, je tradičně dělena na několik fází: **profázi** (chromatin kondenzuje, tvoří se profázní vřeténka), **metafázi** (obalové membrány jádra se rozpouštějí, chromozomy se uspořádávají v ekvatoriální rovině mitotického vřeténka), **anafázi** (oddělují se chromatidy a přemísťují se k pólům) a **telofázi** (tvoří se obalové membrány nových jader, chromatin dceřinných jader dekondenzuje). Následuje **cytokineze** – oddělení dceřinných buněk. Jednotlivé fáze mají vlastní regulační mechanismy.

Významnou úlohu v průběhu buněčného cyklu hrají **kinázy řízené cykliny (cyklin dependentní kinázy a cytoskelet**.

9.1.1. Cyklin dependentní kinázy

V průběhu buněčného cyklu hrají důležitou roli **kinázy**, jejichž aktivita je závislá na regulačních proteinech zvaných **cykliny**. Tyto kinázy se označují jako **cyklin dependentní kinázy**, **CDKs** (z angl. *cyclin dependent kinases*). Syntéza a odbourávání jednotlivých typů cyklinů představuje významnou úroveň řízení buněčného cyklu. Vazba cyklinů na základní katalytickou jednotku kinázy je významný mechanismus regulace schopnosti kinázy fosforylovat další

proteiny, není však jediný. Druhý významný mechanismus je **fosforylace a defosforylace** základní katalytické jednotky na několika **funkčně specifických místech** (tyrozinový zbytek v pozici 15 od N-konce, threoninový v pozici 14 a threoninový zbytek v pozici 160 nebo 167). Další z dosud známých regulačních mechanismů je vazba **inhibičních proteinů CKI** (z angl. *cyclin dependent kinase inhibitor*).

Základní katalytické jednotky CDK (dle hmotnosti 33 až 35 kDa značené také p34) jsou produkty malé rodiny genů *CDC* (z angl. *cell dividing cycle*), na N-konci nesou doménu, na kterou se vážou cykliny. U rostlin byly zatím prokázány dva typy těchto proteinů, značí se **CDK-A** a **CDK-B**. Každý z nich se může vyskytovat v několika podobách (dále se rozlišují čísly).

▲ **CDK-A** se vyskytuje během **celého buněčného cyklu** a nese charakteristickou doménu značenou PSTAIRE (sekvence aminokyselin značených jednopísmenovým kódem = prolin, serin, threonin, alanin, izoleucin, arginin, kyselina glutamová). mRNA i protein základní katalytické jednotky mohou být v některých situacích v malém množství přítomny i v buňkách, které se nedělí, např. při poranění.

CDK-B se vyskytuje v **mitóze** a má doménu poněkud odlišnou (např. PTALRE = prolin, threonin, alanin leucin, arginin, kyselina glutamová nebo jinou podobnou).

Cykliny, proteiny o hmotnosti 30 až 65 kDa, jsou produkty většího počtu vzájemně příbuzných strukturálních genů, jejichž **transkripce** je řízena různými regulačními faktory (např. fytohormony nebo hladinou sacharidů). Cykliny se vážou na základní katalytickou jednotku a **vyskytují se jen v buňkách, které se aktivně dělí**. U *Arabidopsis* je zatím známo 11 různých genů pro cykliny. Rostlinné cykliny se značí podle podobnosti s cykliny savčími A, B, D, E a jednotlivé proteiny se dále rozlišují číslicemi (např. A1, A2, B1). Podle fáze buněčného cyklu, ve které se vyskytují, je lze rozdělit do dvou základních skupin - cykliny zvané mitotické a cykliny fáze G1. Do skupiny **mitotických cyklinů** patří cykliny **A** a **B** (dříve známé jako M-cykliny), cykliny fáze **G1** jsou **cykliny D** a **E** (obr. 9-2.).

▲ **Cykliny A** se objevují v **S-fázi** a přetrvávají do fáze G2, **cykliny B** jsou důležité pro přechod **z fáze G2 do mitózy**. Cykliny typu A i B mají tzv. **cyklinový box**, doménu, která jim dává schopnost vázat se na základní katalytickou jednotku a tzv. **mitotický destrukční box**, který je určuje k rychlému odbourání během mitózy.

Do skupiny **cyklinů G1** patří cykliny **typu D** a **E**, které mají cyklinový box k vazbě na základní proteinovou jednotku, nemají mitotický destrukční box. Cykliny D jsou přítomné v G1 fázi a degradované na počátku fáze S a jsou **velmi nestálé**. Hladina cyklinu D3 je řízena cytokininy – jeden z bodů regulace buněčného cyklu fytohormony. Cykliny **typu E** se tvoří v pozdní fázi G1 a v rané S-fázi na konci S-fáze prakticky mizí.

Fosforylace je další **regulační mechanismus aktivity a substrátové specifity CDKs**. Základní jednotka je fosforylována **specifickými kinázami** a defosforylována příslušnými **fosfátami**. V G1 fázi je CDK fosforylována v pozici **Tyr 15** nebo **Thr 14** (i obou), fosforylace v

těchto pozicích **blokuje vstup buňky do mitózy**. Se vstupem do S-fáze je CDK fosforylována v pozici **Thr 160**, fosforylaci katalyzuje kináza CAK (z angl. *CDK activating kinase*). Fosforylace na tomto místě je pro vstup do mitózy nezbytná, stejně jako odštěpení fosfátu z pozice na Tyr 15 a Thr 14, ke kterému dochází na konci fáze G2 (obr.9-3.). U kvasinek je odstranění fosfátu z této pozice katalyzováno fosfatázou Cdc 25. U rostlin má fosfatáza, která odštěpuje fosfát před vstupem do mitózy z této pozice, specifickou podobu. Syntéza, aktivace a inaktivace kináz a fosfatáz, které katalytickou jednotku fosforylují a defosforylují, představují další oblasti regulace průběhu buněčného cyklu.

Inhibiční proteiny CKI se reverzibilně vážou na komplexy CDK-cyklin, inaktivují ho ale nedestruují. Jejich syntéza a odbourávání poskytují možnost řídit časový průběh buněčného cyklu (destrukce probíhá po označení ubikvitinem na proteazomu 26S).

Určité typy katalytických jednotek se vážou s určitými typy cyklinů, spolu s fosforylací pak tyto komplexy určují aktivitu a substrátovou specifitu kináz. Tento systém poskytuje mnoho možností pro regulaci průběhu buněčného cyklu. Zatím nejsou známy všechny substráty, které CDK v jednotlivých fázích buněčného cyklu fosforylují. Studium regulace buněčného cyklu se těší neobyčejné zájmu a podpoře, především v medicíně.

▲ Ve fázi G1 je jedním ze známých substrátů pro **CDK komplex** transkripčního faktoru **E2F** s proteinem **pRb** (z angl. *plant Retinoblastoma*). Transkripční faktor E2F se váže na promotory genů, které kódují **proteiny** nezbytné pro **replikaci** DNA a průběh S-fáze a také na promotory svých vlastních genů a silně **stimulují svou vlastní syntézu**.

Na konci fáze G1 je na transkripční faktor E2F vázán protein **pRb** a inaktivuje ho. Vstup do S-fáze je blokován. Komplex CDK4/cyklin D fosforyluje (silně, na mnoha místech) pRb vázaný na E2F, fosforylovaný pRb se z komplexu uvolňuje a geny kódující transkripční faktory E2F i replikační a regulační proteiny se exprimují. V pozdní S fázi komplex CDK2/cyklin A fosforyluje transkripční faktor E2F, který tím ztrácí schopnost se vázat na DNA. **Ustává exprese genů** pro replikační a regulační proteiny S fáze i pro transkripční faktory E2F (obr. 9-4.).

Při vstupu do **mitózy** příslušné **komplexy CDK/cyklin fosforylují**, tím **inaktivují** a zároveň určují k destrukci **histony H1** a **laminy**. Odstranění těchto proteinů je nezbytné pro vysoký stupeň kondenzace chromatinu a rozpad jaderné membrány. Dalšími substráty pro fosforylaci jsou zbývající volné nebo z rozpadajících se komplexů uvolňované **cykliny**.

Aktivní CDK v pozdní profázi asociují s mikrotubuly preprofázového pásu (kap. 9.1.2.), který se v této fázi rozpadá. Význam této asociace zatím není vysvětlen.

9.1.2. Cytoskelet a dělení buňky

▼ **Cytoskelet** je soubor **strukturních proteinů** asociovaných ve **vlákna**, který prostupuje protoplast a zajišťuje vnitřní funkční uspořádání **eukaryotických** buněk. Tvoří vnitřní **flexibilní** a **dynamicky proměnlivou kostru** buňky. Signály přicházející z vnitřního prostředí rostliny i z prostředí vnějšího způsobují jeho rychlé změny. Cytoskelet určuje **pozici jádra**, zajišťuje funkčně optimální vzájemné

postavení organel - chloroplastů, mitochondrií, peroxizomů i vakuol, uspořádání membrán **endoplazmatického retikula**, lokalizaci **diktyozomů** (soubor diktyozomů v buňce tvoří Golgiho aparát), **ribozomů** a **makromolekul**, např. enzymů glykolýzy i jiných metabolických drah. Cytoskelet usměrňuje **pohyb** organel, diktyozomů, vezikulů i makromolekul v buňce a zajišťuje **transportní procesy** spojené např. s **dělením jádra** i **buňky**. Významně se podílí na vzniku tvaru buňky.

Cytoskelet má tři základní vláknité proteinové **složky** - **mikrotubuly**, **mikrofilamenta** a **intermediární (střední) filamenta**. Jeho různé funkce jsou dále zajišťovány množstvím dalších, tzv. **asociovaných proteinů**, které skládají, štěpí, stabilizují i destabilizují základní vláknité složky cytoskeletu, propojují je a vážou do struktur vyšší funkční úrovně (svazky, sítě), zprostředkují kontakt s jinými strukturami (např. s membránami), pohybují se po nich a zajišťují transport makromolekul nebo organel uvnitř buňky.

Mikrotubuly jsou vystavěny ze základních stavebních proteinových jednotek – **heterodimerů α - a β -tubulinu** (monomer 50 kDa), **vazby** mezi monomery ani mezi heterodimery **nejsou kovalentní**. Tubuliny jsou kódovány rodinou genů, různé tubuliny se funkčně liší. Heterodimery **vážou GTP** a skládají se ve vlákna, zvaná **protofilamenta** (obr. 9-5.). V nich se α - a β -tubulin pravidelně střídá (heterodimer i vlákna jsou polární), 13 vláken k sobě po délce přiléhá a tvoří dutý válec – **mikrotubulus**. Přiléhající vlákna, držena pohromadě nekovalentními interakcemi, jsou vůči sobě posunuta a podjednotky stejného typu tvoří v mikrotubulu šroubovici se stoupáním 10° . Vnější průměr mikrotubulu je 25 nm, vnitřní 14 nm. Mikrotubulus je (stejně jako základní jednotky a protofilamentum) **polární**, konce se označují jako minus a plus. Plus a minus nejsou určeny elektrickým nábojem, různé jsou jejich biochemické vlastnosti - konec **minus je stabilnější**, konec **plus je méně stabilní**. Heterodimer s GTP má k ostatním heterodimerům vysokou afinitu. γ -fosfát z GTP se odštěpuje až po vytvoření vlákna a afinita tubulinového heterodimeru s GDP k sousedním jednotkám se sníží. Štěpení GTP působí depolymeraci mikrotubulů, dává možnost jejich **destabilizace** a **funkční dynamiky**, závislé na rychlosti sestavování vlákna a štěpení vázaného GTP. Po uvolnění z vlákna tubulinový heterodimer vymění GDP za GTP a může znovu s vláknem asociovat.

Tvorba mikrotubulů začíná v tzv. **organizačních** neboli **nukleačních** centrech - **MTOCs** (z angl. *microtubule organizing centres*). V nich je vždy zakotven **stabilnější minus konec**. Nukleační centra jsou na plazmalemě i na jaderné membráně. Součástí MTOC je γ -tubulin (58 kDa) tvořící prstencovité polymerní struktury, na které se naváže 13 heterodimerů s GTP (α -tubulinovou podjednotkou) a vzniká minus konec mikrotubulu. Plus konec mikrotubulu může být stabilizován např. navázáním určité makromolekuly nebo ukotvením v membráně. Tyto procesy jsou významné pro **polaritu buňky**.

Proteiny asociované s mikrotubuly, značené **MAPs** (z angl. *microtubule associated proteins*), zajišťují vzájemné propojení mikrotubulů a jejich interakci s membránami, odolnost mikrotubulů vůči chladu a další funkce. Proteiny, zvané **kataniny**, katalyzují rozpad mikrotubulů. Proteiny, které zajišťují **transport**, tzv. **molekulové motory**, štěpí ATP a energii používají k pohybu po mikrotubulu. Tvoří velkou a heterogenní skupinu, liší se směrem pohybu, rychlostí i charakterem přemísťované molekuly nebo struktury. Jedním z typů těchto proteinů jsou např. **kinesiny**. Kinesiny jsou kódovány genovou rodinou o počtu asi 60 členů, pohybují se od minus konce k plus, jejich různé funkce jsou na dalších úrovních regulované např. hladinou Ca^{2+} a kalmodulinem. Další velká skupina motorových proteinů jsou **dyneiny**, které se, na rozdíl od kinesinů, pohybují směrem k minus konci.

Mikrofilamenta jsou tvořena **globulárním** proteinem **G-aktinem**, který se po navázání **ATP sestavuje v řetězec F-aktinu** (z angl. *filamentous*), vazby jsou **nekovalentní**. Aktin je kódován rodinou genů, která má u *Arabidopsis* 10 a *Petunia* asi 100 členů, jednotlivé geny jsou exprimovány specificky, dle typu buněk a funkce filament. Dva řetězce F-aktinu (ze stejných typů aktinu) se kolem sebe otáčejí a tvoří šroubovici – **mikrofilamentum**, které je tenké a pružné a má průměr asi 7 nm (obr. 9-6.). Aktinová vlákna se začínají sestavovat na komplexech obsahujících proteiny příbuzné aktinu – **Arp proteiny** (z angl. *actin related protein*) a **formin** a mohou se větvit. Také mikrofilamenta jsou **dynamicky nestabilní** a **polární** (mají plus a minus konec určený stabilitou). Po štěpení vázaného ATP na ADP se vlákno destabilizuje. Může však být stabilizováno navázáním ochranných proteinů. **Depolymeraci** ovlivňují proteiny souborně značené **ADFs** (z angl. *actin depolymerizing factors*). Na ADP-G-aktin, uvolněný z vlákna, se váže **profilin**, protein, který katalyzuje výměnu ADP za ATP a významně tak ovlivňuje dynamiku tvorby vláken. **Transport** po aktinových vláknech zajišťují mole-

kulární motorové proteiny, zvané **myoziny**. Energií k pohybu získávají štěpením ATP. Vezikuly, jejichž obsah je určen pro necytoplazmatické kompartmenty (apoplast, vakuola), mají na povrchu proteiny myozinového typu. Podél aktinových mikrofilament se pohybují diktyozomy a plastidy.

Intermediární filamenta se označují jako střední, neboť jsou tenčí než mikrotubuly a silnější než mikrofilamenta (10 až 15 nm v průměru). Jsou **pevná, nejsou polární**, vyskytují se v mnoha podobách především u živočichů (keratinová filamenta, vimentinová filamenta, neurofilamenta a jaderná intermediární filamenta). U **rostlin** jsou intermediární filamenta reprezentována **jadernými mikrofilamenty**, složenými z proteinů, zvaných **laminy**. Jaderná intermediární filamenta tvoří síť, která stabilizuje vnitřní jadernou membránu, tzv. **nukleární laminu**, a zajišťuje zakotvení dekonenzovaného chromatinu. V profázi jsou laminy fosforylovány cyklin dependentními proteinovými kinázami (CDK) a nukleární lamina se rozpadá, v telofázi se opět tvoří.

V **interfázi** se většina mikrotubulů a mikrofilament nachází ve vrstvě pod plazmalemou a tvoří tzv. **kortikální cytoskelet**, další mikrotubuly se **paprskovitě rozbíhají z jaderné membrány** (obr. 9-7.). U buněk, které se zvětšují ve všech směrech, jsou kortikální mikrotubuly uspořádány všemi směry, u buněk, které se budou prodlužovat v jednom směru, se mikrotubuly staví kolmo ke směru prodlužování.

V **profázi** mikrotubuly z kortikálního cytoskeletu mizí, část se uspořádává na vnitřní straně plazmalemou v rovině, kde se v cytokinezi bude připojovat buněčná deska, oddělující dceřinné buňky. Tento prstenec mikrotubulů se nazývá **preprofázický pás**, PPB (z angl. *preprophase band*). Na vzniku této struktury se aktivně podílejí aktinová mikrofilamenta. PPB je struktura charakteristická pro dělicí se buňky **sporofytu** (v meioze a dělení buněk gametofytů se preprofázický pás netvoří, objevuje se až při prvním dělení zygoty). V oblasti kolem jádra se mikrotubuly uspořádávají paralelně s jeho povrchem ve směru osy budoucího dělicího vřeténka – svým minus koncem směřují k jeho budoucím pólům. Tato struktura, **charakteristická pro rostlinné buňky**, se označuje jako **profázní vřeténko**. V pozdní profázi **mizí PPB i obalové membrány jádra** a mikrotubuly začínají interagovat s chromozomy.

V **metafázi** je chromatin ve stavu maximální kondenzace, **chromozomy**, tvořené **dvěma sesterskými chromatidami**, se přemísťují do ekvatoriální (rovníkové) roviny vřeténka a začínají se **štěpit na dceřinné chromozomy**. Profázní vřeténko se mění ve **vřeténko mitotické**, tvořené množstvím (stovkami až tisíci) mikrotubulů, aktinových filament a asociovaných proteinů. **Rostliny nemají centrozomy s centriolami**. **Póly vřeténka**, obsahující MTOC, jsou **široké** a značně **difúzní**, tvořené mnoha ohnisky (obr. 9-8.), která jsou propletena mikrotubuly. Mikrotubuly svými póly plus směřují k ekvatoriální rovině vřeténka, kde množství z nich asociuje s kinetochory. **Kinetochory** jsou proteiny, které se vážou **na centromery** (nekódující oblasti DNA). Každá chromatida má svou centromeru a kinetochor. Na jeden kinetochor se vážou mikrotubuly vycházející z jednoho pólu vřeténka a k chromatidám jednoho chromozomu se musí vázat mikrotubuly vycházející z pólů opačných. Na jeden kinetochor se vážou

desítky (obvykle 30 až 50, výjimečně i více než 100) **mikrotubulů**. Volné mikrotubuly, které mohou (ale nemusí) přesahovat ekvatoriální rovinu, stabilizují strukturu vřeténka.

V **anafázi** se kinetochorová vlákna zkracují a dceřinné **chromozomy se pohybují směrem k pólům**, často se i póly od sebe vzdalují. V **telofázi** se mitotické vřeténko rozpadá, tvoří se obalové membrány dceřiných jader, chromozomy začínají dekondenzovat, intermediární filamenta tvoří nukleární laminu.

Buněčný cyklus je ukončen **cytokinezí**, tj. vytvořením přepážky mezi dceřinými buňkami. Důležitou úlohu v tomto procesu hraje fragmoplast, Golgiho aparát a endoplazmatické retikulum.

▼ **Fragmoplast**, charakteristická struktura **rostlinných buněk**, je velmi dynamická **cytoskeletální struktura** sloužící k transportu materiálu, ze kterého se tvoří přepážka mezi dceřinými buňkami. Fragmoplast začíná vznikat v **pozdní anafázi** v centrální oblasti ekvatoriální roviny vřeténka jako dva paralelní prstence volných mikrotubulů vřeténka, mikrotubulů nově tvořených, nově tvořených aktivních filament a myozinu. Polární orientace mikrotubulů zůstává zachována (konce minus směřují k pólům).

Materiál, především **pektiny**, **hemicelulózy** a **glykoproteiny**, je transportován ve **vezikulech**, které se oddělují z *trans*-cisteren **diktyozomů** (kap.3.3.4.). V rovině, původně určené prepro-fázickým pásem, **vezikuly splývají** a tvoří plochou cisternu (strukturu tvarem podobnou disku a obalenou membránou) zvanou **buněčná deska** (angl. *cell plate*). Díky fúzi s dalšími vezikuly buněčná deska **centrifugálně roste** (tj. směrem k plazmalemě mateřské buňky). Buňky jsou definitivně oddělené ve chvíli, kdy membrána na okraji buněčné desky splyne s plazmatickou membránou mateřské buňky (nemusí nastat po celém okraji současně). Vlastní kontaktní plochu dceřiných buněk tvoří pektinová vrstva, zvaná **střední lamela**, směrem k membránám přibývá hemicelulóza a glykoproteinů. Membrány se mění ve **funkční plazmalemu**. Na komplexech **celulózasyntázy**, zvaných též komplexy terminální, se začíná syntetizovat **celulóza** (kap. 3.3.4.), vzniká **primární buněčná stěna**. Pohyb komplexů v membráně a směr ukládání celulózních mikrofibril do amorfni polysacharidové matrix určují **mikrotubuly** opět se formujícího **kortikálního cytoskeletu**.

Plocha buněčné desky není celistvá, je přerušována prstovitými výběžky membrány ER, kolem nichž zůstává zachován nepřerušovaný pruh cytoplazmy. Povrchová membrána buněčné desky zůstává v těchto přerušeniích, zvaných také póry nebo kanálky, kontinuální. Z těchto přerušenií se dále vyvinou **primární plazmodezmy** (kap. 3.5.). Další plazmodezmy mohou vznikat sekundárně.

9.2. Růst buněk

Organismus se zvětšuje zvyšováním počtu buněk a zvětšováním jejich objemu. Po rozdělení mateřské buňky dceřinné buňky **zvětšují svůj objem – rostou**. Podmínkou růstu je dostatek **organických látek** (především sacharidů a aminokyselin), které rostoucím buňkám poskytují jiné části rostliny (aktivně fotosyntetizující nebo zásobní pletiva), a **nezbytných látek minerálních**. Tyto látky jsou rostoucí buňkou **metabolizovány a měněny v nové funkční komponenty buňky** (včetně organel) nebo slouží jako **zdroj energie**, která je k růstovým procesům nezbytná stejně jako stavební komponenty samy. **Neméně podstatný je dostatek vody.**

Buňky, které se opakovaně dělí, jsou obvykle izodiametrické, zvětšují se ve všech směrech přibližně rovnoměrně, obsahují jednu nebo několik malých vakuol (výjimku tvoří buňky kambia) a zvětšují se jen do té míry, která odpovídá schopnosti dát vznik dostatečně velkým dceřinným derivátům. Toto zvětšování buněk se často označuje jako **růst embryonální**.

Buňky, které se **přestávají dělit** (odcházejí do fáze G₀), zvětšují svůj objem výrazněji, než buňky, které v buněčném cyklu setrvávají. Vedle zvětšení obsahu cytoplazmy se u těchto buněk výrazně zvětšuje především **objem vakuol** (četné vakuoly mohou nakonec splynout v jednu velkou centrální vakuolu; obr. 9-9.). Tento typ růstu se obvykle označuje jako **růst objemový** nebo **expanzní**, rostlinná buňka je schopna zvětšit svůj objem 10- až 100-krát (některé i vícekrát). Ve fázi objemového růstu rovnoměrné zvětšování buňky ve všech směrech, tzv. **difúzní růst**, dříve nebo později ustává a buňka začne v jednom směru růst rychleji - prodlužuje se. Takový růst se označuje jako **dlouživý**. Některé specializované buňky zvětšují svůj objem velmi výrazně jen v určité oblasti, růst je charakterizován jako **apikální**. Apikálním růstem vznikají např. kořenové vlásky a pylová lůčka.

Při objemovém růstu dochází vedle zvětšení obsahu **cytoplazmy** především ke **zvýšenému příjmu vody**, zvětšování **objemu vakuoly** a plochy **tonoplastu** a dále ke **zvětšení plochy plazmalemy** a **buněčné stěny**. Objemový růst buňky vyžaduje nejen **syntézu** všech **složek** těchto struktur ale také jejich správnou a dostatečně rychlou **distribuci**, zprostředkovanou vnitrobuněčným transportem, a **vestavění složek** do stávajících struktur.

Zvětšovat objem buněk příjmem vody umožnilo rostlinám zvětšit plochu schopnou absorbovat dopadající energii slunečního záření bez energeticky náročné tvorby organické hmoty a vysoké spotřeby dusíku.

9.2.1. Buněčná stěna – funkce, složení

▼ **Buněčná stěna** je **extraprotoplastový kompartment** buňky, **charakteristický pro rostliny**. Určuje tvar a pozici buňky a **vymezuje prostor pro protoplast**. Proto se často označuje také jako **exoskelet**. Buněčná stěna vzniká při dělení buňky v cytokinezi (kap. 9.1.2.) a je tvořena **polysacharidy** – celulózu, hemicelulózy a pektiny (kap. 3.3.4.), a strukturálními **proteiny**. Obsahuje proteiny katalytické a množství volných i vázaných **anorganických látek**, např. Ca^{2+} , K^+ , Cl^- , $\text{B}(\text{OH})_3$ (kap. 6.2.3.; 6.2.2.; 6.3.1.; 6.3.3.). Díky činnosti H^+ ATPáz plazmatické membrány (kap. 6.1.2.1.) se v buněčné stěně udržuje **zvýšená koncentrace H^+** (pH v buněčné stěně je 4,5 až 5,5).

Buněčná stěna určuje **mechanické vlastnosti** buňky, její vnější část - střední lamela - drží buňky pohromadě. Většinou je buněčná stěna přerušovaná plazmodezmy, které umožňují propojení protoplastů a kontinuitu membrán plazmalemy a endoplazmatického retikula sousedních buněk. Buněčná stěna představuje významnou část **apoplastové transportní cesty** pro vodu, minerální látky i některé organické látky. Její struktura určuje velikost molekul, které stěnou difundují a vcházejí v kontakt s vnějším povrchem plazmatické membrány a s receptory, které tam jsou přítomny. V mikropórech svých struktur buněčná stěna **zadržuje vodu** (kap. 5.1.). V buněčné stěně probíhá řada významných metabolických procesů souvisejících s **diferenciací** buněk nebo s **obrannými reakcemi** rostliny (kap. 7.6.2.1.).

Buňky, které se dělí nebo se zvětšují, mají pouze **primární buněčnou stěnu**, která je **elastická**, tj. pružná, schopná reverzibilně (leč limitovaně) zvětšovat plochu, i **plastická**, tj. schopná **nevratně** zvětšit plochu **ukládáním** dalšího materiálu. U **diferencovaných buněk** má buněčná stěna mnoho podob. U mnoha typů buněk zůstává primární buněčná stěna jako definitivní i v jejich diferencovaném stavu (např. listový mezofyl, parenchym), plasticitu však ztrácí a díky elasticitě je schopna jen malých reverzibilních změn plochy.

Diferenciace některých buněk je spojena s tvorbou **sekundární buněčné stěny**. Sekundární buněčnou stěnu tvoří buňky, které dosáhly **konečné velikosti**. Nový materiál je ukládán směrem dovnitř a omezuje prostor pro protoplast. Podstatnou komponentou sekundární buněčné stěny je **celulóza** (může tvořit 40 až 90% sušiny), materiál sekundární stěny nemusí být ukládán stejnoměrně (např. u cévních elementů), u některých buněk (svěrací buňky průduchů) tvoří ve stěně výrazné lamely. Sekundární buněčná stěna může být dále **impregnována organickými látkami**, z nichž nejvýznamnější je **lignin** (druhá nejčastěji se vyskytující organická látka na naší planetě; kap. 5.4.2.2.; 7.6.2.1.), který se však často ukládá i v primární buněčné stěně i ve střední lamelle. Další významnou látkou impregnující stěny některých funkčně specializovaných buněk je **suberin** (kap. 5.4.2.3.), na povrchu nadzemní části rostliny se tvoří **kutin** a **vosky** (kap. 5.4.3.).

Polysacharidy buněčné stěny - celulóza, hemicelulózy a pektiny jsou popsány v kap. 3.3.4. Celulóza je syntetizována tzv. terminálním komplexem v plazmatické membráně (obr. 9-10.), hemicelulózy a pektiny, syntetizované v Golgiho aparátu (obr. 9-11.), jsou do apoplastu transportovány vezikuly, které se z diktyozomů oddělují. Enzymy, které katalyzují syntézu hemicelulóz a pektinů (glykosyltransferázy), jsou integrálními proteiny membrán cisteren diktyozomů. Pektiny, vázané ionty Ca^{2+} , tvoří základní a v podstatě amorfní matrix, v níž jsou uloženy celulózní mikrofibrily propojené pružnými řetězci hemicelulóz (obr. 9-12.).

Rostliny **dvouděložné a jednoděložné kromě trav** a některých příbuzných rostlin mají v buněčné stěně vysoký obsah pektinů a zhruba stejné množství celulózy jako hemicelulózy, jejichž základní řetězec je tvořen molekulami **glukózy** - **xyloglukany**. Tento typ buněčné stěny se označuje jako **typ I**. U **trav** a příbuzných jednoděložných rostlin je buněčná stěna tzv. **typu II**, charakteristická nízkým obsahem pektinů a hemicelulózy, jejichž základní řetězec je tvořen molekulami **xyulózy** - **glukuronoarabinoxylany**. Na hemicelulózy jsou vázány aromatické látky, např. kyselina hydroxyskořicová, ferulová nebo *p*-kumarová, které je mohou vzájemně propojovat v síťovitou strukturu.

Proteiny obsažené v buněčné stěně mají **funkci strukturální, katalytickou nebo signální**. Jsou syntetizovány na hrubém endoplazmatickém retikulu a dále mohou být upravovány glykosylací v Golgiho aparátu.

▲ **Expansiny** jsou **strukturální proteiny** buněčné stěny, významné pro **zvětšování buňky**. Expansiny **zvysují plasticitu** buněčné stěny. Jejich působení je **chemoreologické** – vazbou na hemicelulózy na-

rušují vodíkové můstky mezi celulózními mikrofibrilami a hemicelulózami a umožňují uložení dalšího materiálu, nezbytné pro zvětšení plochy buněčné stěny a změnu tvaru buňky.

Existují dvě základní skupiny těchto proteinů **α -** a **β -expanziny**, obě jsou kódovány četnou rodinou genů (u *Arabidopsis* se odhaduje asi 25 genů), jejichž exprese je velmi specifická, závislá na typu buňky, pletivu i vývojové fázi orgánu. U rostlin, které mají typ buněčné stěny I (dvouděložné a jednoděložné mimo trávy) se vyskytují **α -expanziny**, které se velmi pevně vážou na buněčnou stěnu, jsou funkčně velmi efektivní a jejich hladiny jsou ve srovnání s β -expanziny nižší. **β -expanziny** se vyskytují především u trav, v buňkách vegetativních pletiv i v pylu, kde je jejich koncentrace značně vysoká. Pylové β -expanziny působí jako **alergeny**.

Další strukturní proteiny se vyskytují často jen v určitém typu buněk a souvisejí s jejich funkční specializací. Proteiny jsou klasifikovány podle často se opakujících sekvencí aminokyselin a bývají **konjugovány s oligosacharidy** na **glykoproteiny**.

Extenziny jsou bazické proteiny bohaté na **hydroxyprolin** – **HRGPs** (z angl. *hydroxyproline-rich glykoproteins*). Rozpustné **monomery polymerují v buněčné stěně** a tvoří tyčovité proteiny stabilizující buněčnou stěnu, když dosáhla konečné velikosti a tvaru. Proteiny bohaté na **prolin** - **PRPs** (z angl. *proline-rich proteins*) se vyskytují v tracheálních článcích a xylémových vláknech, strukturně a funkčně jsou podobné extenzinům. Předpokládá se, že tyto dva typy strukturních proteinů vytvoří prostorovou síť, důležitou pro fixaci tvaru dospělých diferencovaných buněk.

Proteiny bohaté na **glycin** – **GRP** (*glycin-rich proteins*) se vyskytují v xylému a tvoří ploché struktury na straně stěny přiléhající k plazmatické membráně. Předpokládá se, že působí jako kotvy pro vznikající lignin.

Arabinogalaktanové proteiny – **AGPs** (z angl. *arabinogalactan proteins*) jsou velmi heterogenní skupina rozpustných bílkovin. V určitých pletivech jsou velmi četné, významné pro adhezi a rozeznávání buněk, např. pylu na blizně. Jejich funkce je především signální, strukturní význam je nejasný.

Katalytické proteiny důležité pro zvětšování plochy buněčné stěny jsou **xyloglukan-endo-transglykosylázy** (XET). Podílejí se na **rozvolňování polysacharidové sítě** celulózních mikrofibril a hemicelulóz, tím, že **štěpí řetězce hemicelulóz** a vážou je na konce jiných xyloglukanů. Umožňují tak zvětšit vzdálenost mezi mikrofibrilami a vytvořit tak prostor pro vkládání dalšího materiálu.

Peroxidázy jsou důležité pro tvorbu **ligninu** (kap. 5.4.2.2.) ve fázi **diferenciace**, kdy buňka dosáhla své **konečné velikosti a tvaru**, nebo při **obraných reakcích** (kap. 6.3.2. a 7.6.2.1.).

9.2.1.1. Růst buněčné stěny

Buněčná stěna je **pružná** avšak **pevná** struktura, která **limituje** zvětšování objemu buňky.

Růst buňky je závislý na **ireverzibilním zvětšení plochy buněčné stěny**.

Při zvětšování objemu buňky hraje významnou úlohu tlak zvětšujícího se protoplastu na buněčnou stěnu – **turgor** (kap. 5.3.), rostlinná **buňka bez turgoru neroste**. Protoplast se zvětšuje díky syntéze nových organických látek a aktivnímu příjmu anorganických látek, hlavně však v **důsledku příjmu vody**, která vstupuje do protoplastu **akvaporiny pasivně na základě rozdílu vodního potenciálu**. Vodní potenciál (kap. 5.3.) v protoplastu je při zvětšování buňky udržován nižší než v apoplastu díky obsahu osmoticky aktivních látek. Obsah osmoticky aktivních látek, anorganických (především K^+ a Cl^-) i organických, je aktivně řízen na úrovni **transportních procesů** přes plazmalemu a tonoplast (kap. 6.1.; kap. 7.3.1.1.) i na úrovni **metabolických procesů** uvnitř buňky (štěpení polysacharidů, tvorba aminokyselin nebo kompatibilních solutů). Voda hydratuje složky cytosolu, většina se však transportuje do vakuoly, jejíž objem se zvětšuje. Turgor působí **mechanický stres** v buněčné stěně, která se

napíná a rozvolňuje působením katalytických (glykosylázy) i strukturních proteinů (expantinů). **Rozvolňování**, zvané též relaxace **buněčné stěny**, je pro růst buňky rozhodující. Znamená **narušení vazeb** mezi celulózními mikrofibrilami a ostatními polysacharidy, které **umožní posunutí složek** buněčné stěny způsobené tlakem a jejich nové uspořádání ve větší ploše. Je chápáno jako komplexní stresová reakce.

Experimentálně bylo zjištěno a mnohokrát ověřeno, že rozvolňování buněčné stěny je stimulováno nízkým pH a fytohormonem auxinem (kap. 12.1. 1.). Předpokládá se, že **auxin** aktivuje protonové pumpy v plazmatické membráně, čímž se prostředí buněčné stěny okyseluje a aktivují se enzymy, které uvolňují vazby mezi polysacharidy. Vestavění nového materiálu fixuje zvětšení plochy a zabrání snížení pevnosti, ke kterému by jinak při zvětšování buněčné stěny došlo.

Turgor působí **všemi směry stejně**, buňky však mění tvar podle možností daných vlastnostmi buněčné stěny. Směr prodlužování buňky je dán **uspořádáním celulózních mikrofibril** v buněčné stěně. Difúzní růst může probíhat jen u buněk, v jejichž stěnách jsou mikrofibrily uloženy všemi směry. Buňky, jejichž mikrofibrily jsou uspořádány paralelně, se prodlouží ve směru k mikrofibrilám kolmém nebo mírně šikmém.

Uložení celulózních mikrofibril v buněčné stěně řídí **kortikální mikrotubuly** (obr. 9-13.), které jsou s plazmatickou membránou propojeny proteiny (patrně fosfolipázou D) a vymezují prostor, v němž se terminální komplex může pohybovat. (Fosfolipáza D štěpí molekuly membránových lipidů za vzniku kyseliny fosfatidové, tzn. že fosfát zůstává na lipidovém zbytku v membráně; obr. 8-13.). Vedle uložení mikrofibril je směr růstu ovlivňován také tlakem sousedních buněk v pletivu, u povrchových buněk i pevností kutikuly (kap. 5.4.3.). Směr prodlužování je tedy určen před tím, než se buňka prodlužovat začne a bez ohledu na to, zda a jak moc se prodlužovat bude.

9.2.2. Plazmatická membrána

▼ Plazmatická membrána neboli plazmalema je **lipidová dvouvrstva s integrálními a asociovanými proteiny**. Ohraničuje protoplast a za normálních osmotických podmínek přiléhá k buněčné stěně. V plazmodezmech je propojena s plazmatickou membránou protoplastu sousední buňky. Lipidová složka, syntetizovaná eukaryotickou cestou na endoplazmatickém retikulu (kap. 6.3.2.), je tvořena především **fosfolipidy**, **glykolipidy** a **steroly** (kamposterol, sitosterol, stigmasterol). Zastoupení jednotlivých složek závisí na typu a funkci buňky. Mastné kyseliny vázané v lipidech jsou nejčastěji kyselina palmitová (C16:0), linolová (C18:2) a linolenová (C18:3).

Integrální proteiny zajišťují **aktivní i pasivní selektivní transport** organických i anorganických látek do cytoplazmy (kap. 6.1., včetně vody kap. 5.4.2.1.) i uvolňování látek do apoplastu, **přenos signálu** (kap. 8.2.5.2.) z prostředí mimo protoplast a interakci se složkami **cytoskeletu**. Z metabolických aktivit je významná především **syntéza celulózy a kalózy** (kap. 6.3.3.). Specifické proteinové kinázy, značené WAKs (z angl. *wall associated kinases*), slouží interakci s buněčnou stěnou. Jejich

část na vnější straně plazmalemy je asociována s pektiny buněčné stěny, část na vnitřní straně má kinázovou aktivitu a katalyzuje fosforylaci serinu a threoninu specifických substrátů v cytoplazmě.

9.2.3. Vakuola

Vakuola je endomembránový kompartment, charakteristický pro **rostlinné buňky**, ohraničený membránou zvanou **tonoplast**. Vakuoly mají různý tvar, velikost, obsah a funkční dynamiku, mohou fúzovat ale také se zaškrcovat a separovat. Během růstu buněk se objem vakuoly značně zvětšuje.

▼ Vakuoly obsahují, vzhledem k ostatním kompartmentům buňky, značné množství **vody**, která je zadržována odpovídajícím množstvím rozpuštěných **anorganických i organických látek**, jako jsou např. K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , NO_3^- , sacharidy (mono- a disacharidy, fruktany), aminokyseliny a organické kyseliny. Proteiny obsažené ve vakuolách mají zásobní nebo katalytický charakter. Enzymy přítomné ve vakuolách odbourávají proteiny, nukleové kyseliny a ruší fosfátové nebo jiné esterové a glykosidové vazby. Ve vakuolách jsou obsaženy také další látky, např. flavonoidy, poskytující ochranu před UV-zářením, sekundární metabolity (glykosidy, alkaloidy; kap. 7.6.1.2.), sloužící jako látky ochranné, nebo inaktivované látky toxické.

U některých dospělých buněk může vakuola tvořit až 90% jejich objemu. Jedna buňka může obsahovat **několik vakuol s různou funkcí**. Funkci vakuoly odpovídá její obsah i složení tonoplastu, tj. charakter lipidů a integrálních proteinů.

▲ **Lipidy tonoplastu** jsou syntetizovány eukaryotickou cestou (kap. 3.6.2.) ve specifické oblasti hladkého ER, kde jsou později syntetizovány také integrální proteiny tonoplastu, např. H^+ ATPázy typu V, PPázy (kap. 6.1.2.1.), tonoplastové akvaporiny a některé zásobní proteiny. **Vakuoly** mohou vznikat v buňce *de novo* jako deriváty endoplazmatického retikula nebo z provakuol. Jako **provakuoly** (nebo provakuolární kompartment) se označují přechodné struktury (drobné váčky) odvozené z vezikulů, které se oddělují z diktyozomů (kap. 3.3.4.; obr. 3-40.).

9.2.4. Distribuce materiálu nezbytného pro růst buňky

Lipidy nezbytné pro zvětšení plochy **plazmalemy a tonoplastu** jsou **syntetizovány v ER** tzv. **eukaryotickou cestou**. Charakteristickým rysem těchto membránových lipidů je navázání zbytku mastné kyseliny s 18 atomy C v pozici sn-2 (prostřední atom C glycerolu; kap. 3.6.2.).

Proteiny, které mají být integrálními složkami plazmalemy, tonoplastu nebo membrán Golgiho aparátu nebo jsou určeny k transportu do buněčné stěny nebo vakuoly, jsou také **syntetizovány na ER**. Na N-konci nesou informační **signální doménu** (sekvenci aminokyselin), která je **rozeznána specifickými proteiny SRP** (z angl. *signal recognition particle*). Tyto proteiny se na signální doménu navážou a zajistí spojení se specifickým receptorem na endoplazmatickém retikulu. **Nascentní peptid** je vložen do **kanálu translokačního komplexu** v membráně ER a syntéza daného polypeptidu pokračuje. Budoucí integrální membránové proteiny zůstávají vázány v lipidové dvouvrstvě ER, budoucí rozpustné proteiny jsou uvolňovány do lumenu ER, kde další proteiny (chaperony; kap. 7.4.1.) zajistí správné strukturní uspořádání polypeptidového řetězce, a proběhnou další úpravy jako je např. glykosylace, vznik disulfidických můstků nebo komplexů s dalšími peptidy. Lipidy i proteiny jsou ve **vezikulech**, které se

z ER oddělují, transportovány do *cis*-cisteren Golgiho aparátu. V Golgiho aparátu může dojít k dalším úpravám proteinů. Výjimečně jsou vezikuly z endoplazmatického retikula transportovány přímo k plazmatické membráně.

V Golgiho aparátu jsou syntetizovány také **pektiny** a **hemicelulózy** určené pro buněčnou stěnu (kap. 3.3.4.). Z Golgiho aparátu je tento materiál uvolňován ve vezikulech, které putují k příslušným membránám, s nimiž fúzí, a obsah váčků se uvolňuje do buněčné stěny (obr. 9-12.) nebo do vakuoly.

Tento proces se nazývá **exocytóza** a transport **anterográdní**. Materiál přebytečný, chybně doručený, materiál určený k metabolické přeměně nebo recyklovatelné regulační proteiny přenesené z předchozího kompartmentu, se ve **vezikulech** vzniklých na plazmalemě, diktyozomech nebo tonoplastu vrací transportem zvaným **retrográdní**. Proces se označuje jako **endocytóza**. Při transportu váčků v obou směrech hraje důležitou roli **cytoskelet** (kap. 9.1.2.).

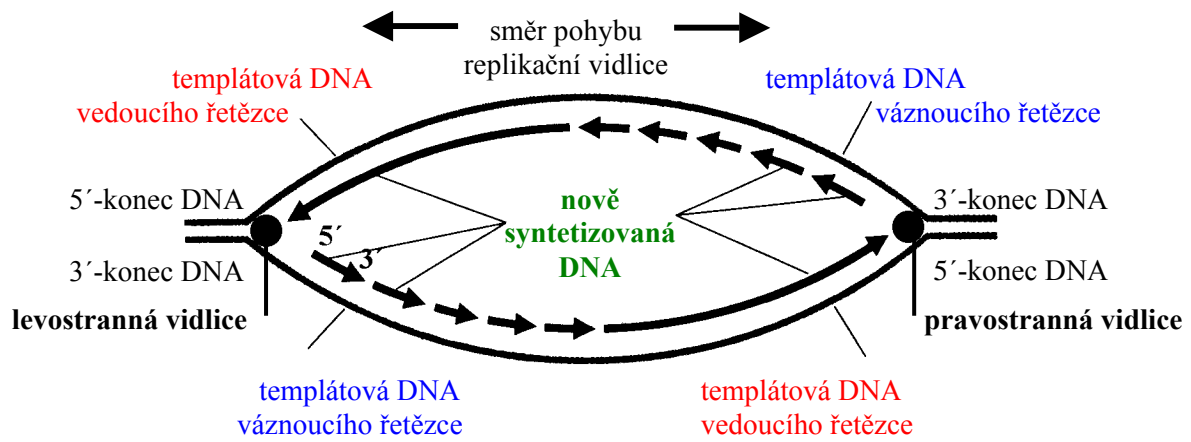
Vezikuly nesou na povrchu **obalové**, původem **cytosolické proteiny** (angl. *coat proteins*), které jsou **nezbytné pro jejich vznik a oddělení** z ER, Golgiho aparátu nebo plazmalemy, **charakterizují obsah vezikulu a určují jeho cílovou membránu**. Membrána, s kterou má vezikul fúzovat, musí být vybavena příslušnými integrálními proteiny, které mají funkci **receptorů**. Po rozeznání vezikulu, ale před fúzí s membránou, je proteinový obal vezikulu odstraněn. Tím jsou obnaženy integrální proteiny membrány vezikulu nezbytné pro fúzi s membránou cílovou. Vezikuly oddělené z ER nesou jiné obalové proteiny než vezikuly oddělené z Golgiho aparátu nebo plazmalemy a odpovídají jim také jiné receptorové proteiny.

▲ Váčky, zajišťující anterográdní transport látek z ER do *cis*-cisteren Golgiho aparátu, nesou protein značený COPII (z angl. *coat protein*), váčky retrográdního transportu mezi Golgiho aparátem a ER nesou protein značený COPI. Váčky odvozené z plazmatické membrány nebo TGN, sloužící endocytóze, nesou obal z klatrinu a adaptinů (jsou značené CCV, z angl. *clathrin coated vesicles*).

▲ **Transport vezikulů** je řízen **regulačními proteiny** Rab, které vážou a štěpí GTP (tzv. Rab GTPázy). Energie uvolněná štěpením GTP je využívána k transportu a fúzi váčků. V buňce se mezi ER, Golgiho aparátem, plazmalemou, tonoplastem a provakuolárním kompartmentem neustále pohybuje všemi směry množství různých vezikulů. Jejich obsah odpovídá stavu a potřebám buňky.

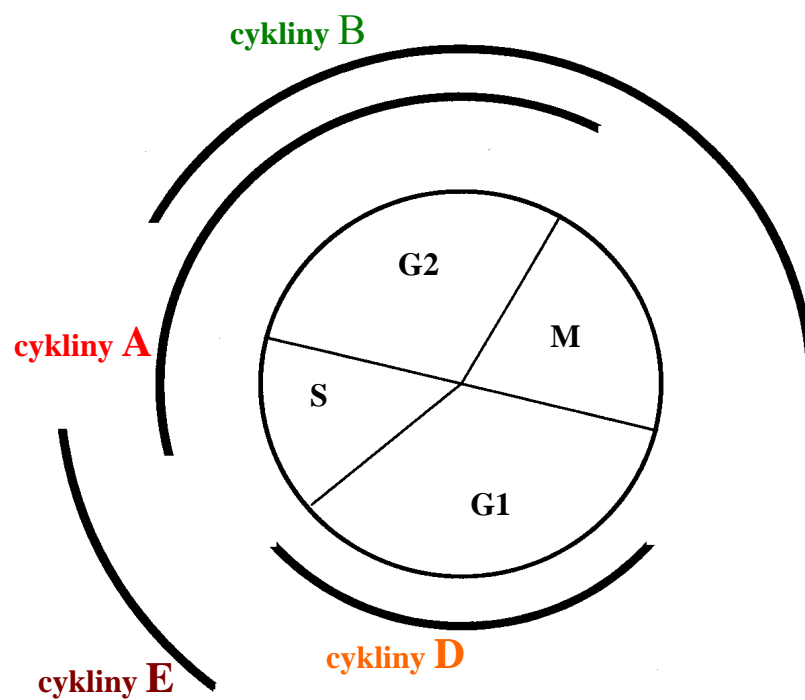
Exocytóza i endocytóza jsou také ovlivněny **turgorem**. Po fúzi vezikulu s plazmalemou turgor podpoří uvolnění (vypudí) obsahu váčku do buněčné stěny. Plně turgescenční buňka však může zvětšovat plochu plazmalemy jen omezeně a v rychle rostoucích oblastech buňky (jako je např. špička pylové láčky) probíhá současně s exocytózou i endocytóza. Membrána váčku v těchto situacích může na plazmalemě vytvořit plochou diskovitou vchlípeninu. Tuto vchlípeninu pevně obklopí membrána ER a mechanismem, zatím neznámým, jsou **jednotlivé molekuly lipidů** přímo inkorporovány do membrány ER. Tento, vedle endocytózy druhý, způsob odstraňování přebytečných lipidů z membrány přímou inkorporací do membrány ER je **charakteristický pro rostliny** (anglicky se užívá termín *lipid internalization* nebo „*hopping*“).

Obr. 9-1. Schéma replikace DNA. Nové řetězce jsou syntetizovány ve směru 5' → 3', DNA opožďující se řetězce je syntetizována jako krátké úseky DNA, které jsou později pospojovány do souvislého řetězce.



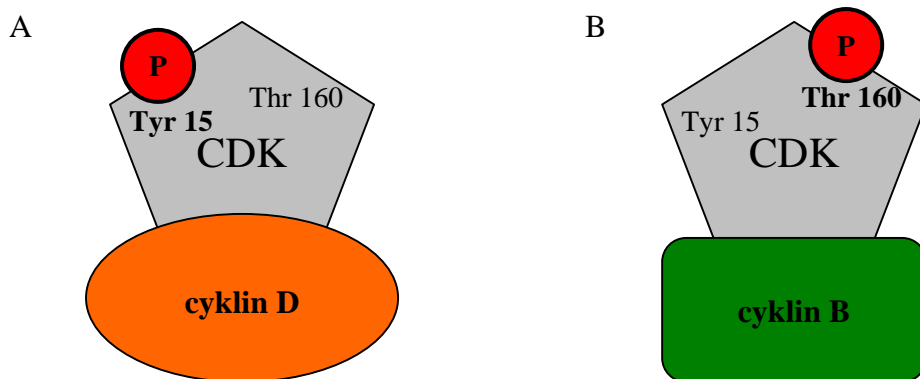
zpět do textu

Obr. 9-2. Buněčný cyklus a výskyt jednotlivých typů cyklinů. M – mitóza, S – syntetická fáze.



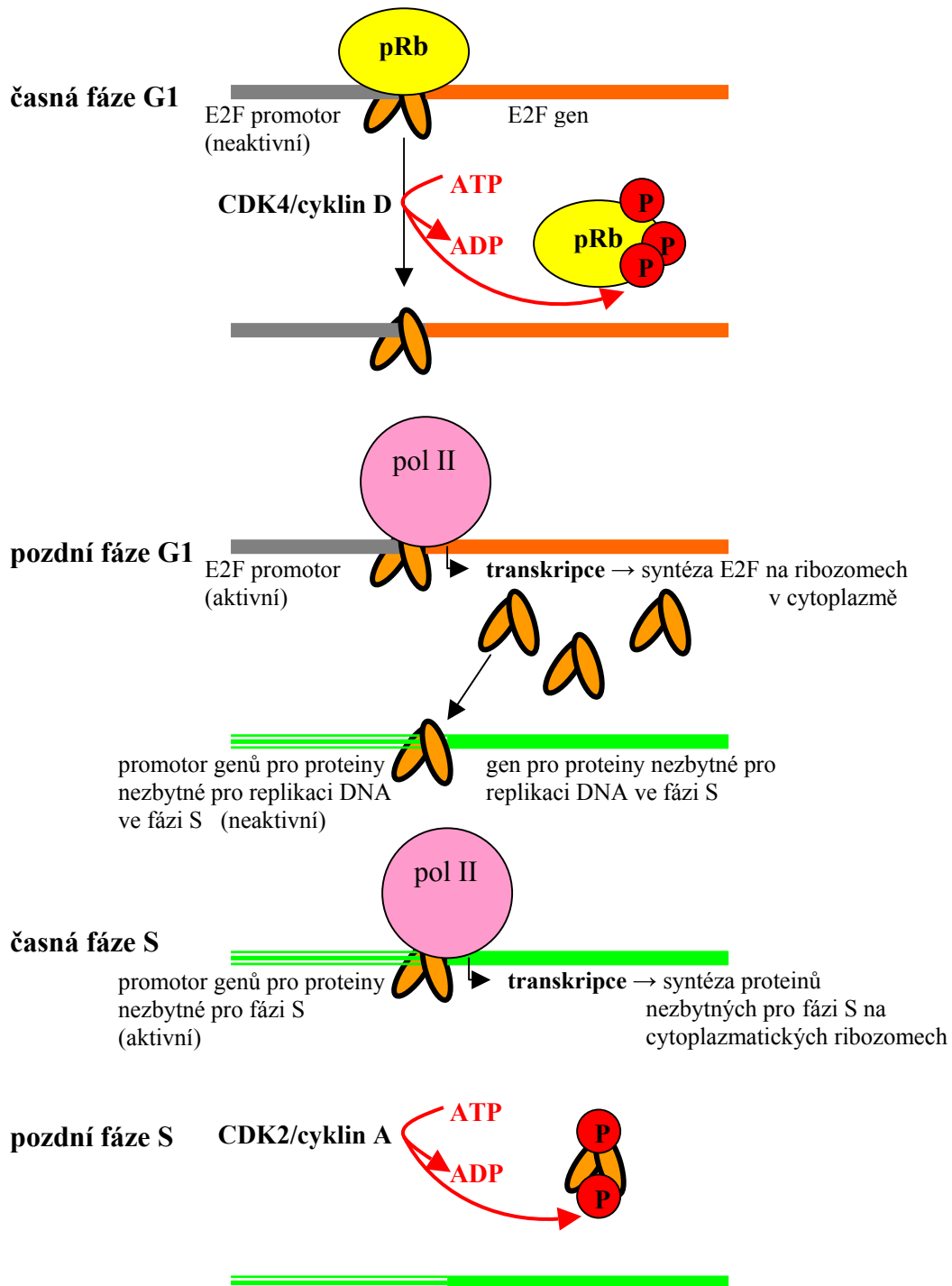
zpět do textu

Obr. 9-3. Schéma regulace aktivity cyklin dependentních kináz cykliny a fosforylací (P). Komplex aktivní ve fázi G1 (A) a komplex aktivní pro vstup do mitózy (B).



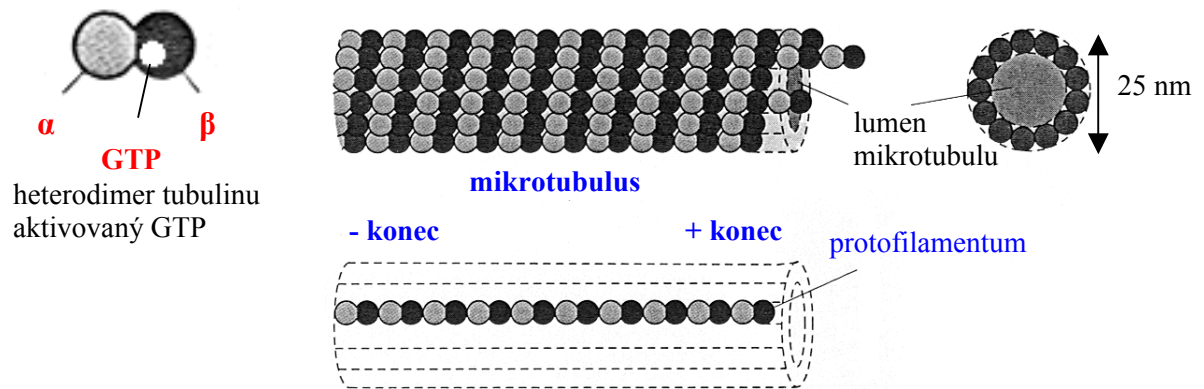
zpět do textu

Obr. 9-4. Schéma regulace buněčného cyklu cyklin dependentní kinázou, cykliny, transkripčním faktorem E2F, proteinem pRb (z angl. *plant Retinoblastoma*) při přechodu z G1 do fáze S a během fáze S. pol II – polymeráza II.



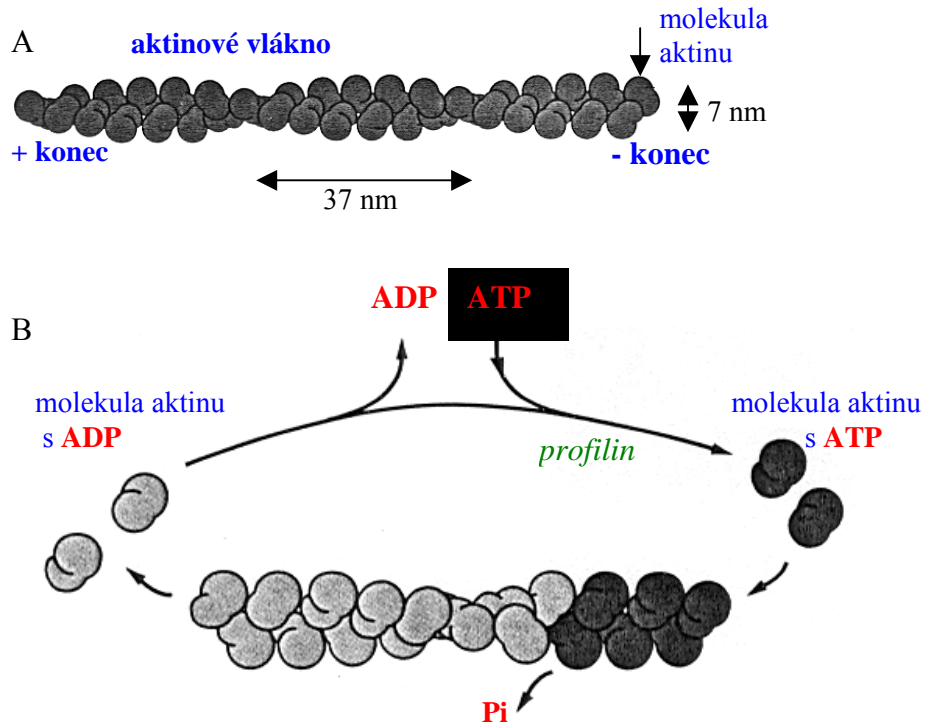
[zpět do textu](#)

Obr. 9-5. Mikrotubulus. Heterodimery tubulinu aktivované GTP se skládají ve vlákna - protofilamenta, 13 vláken k sobě přiléhá a tvoří dutý válec – mikrotubulus.



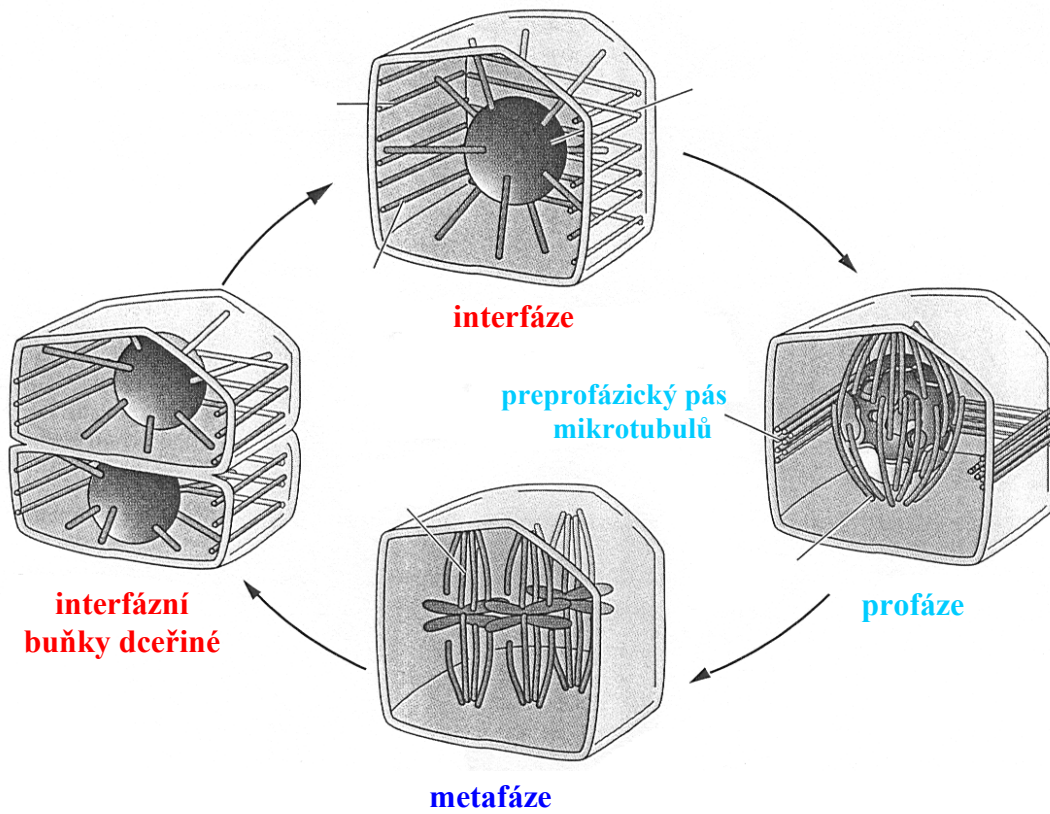
zpět do textu

Obr. 9-6. Mikrofilamenta. Aktinové monomery nesoucí ATP tvoří řetězce, které se uspořádávají do dvoušroubovic – mikrofilament – se závitem 37 nm. V mikrofilamentu je každá molekula aktinu v těsné interakci se čtyřmi dalšími (A). ATP je štěpeno na ADP a anorganický fosfát (Pi) a molekuly s ADP se z vlákna uvolňují (B). Výměnu ADP za ATP na volných monomerech katalyzuje profilin.



zpět do textu

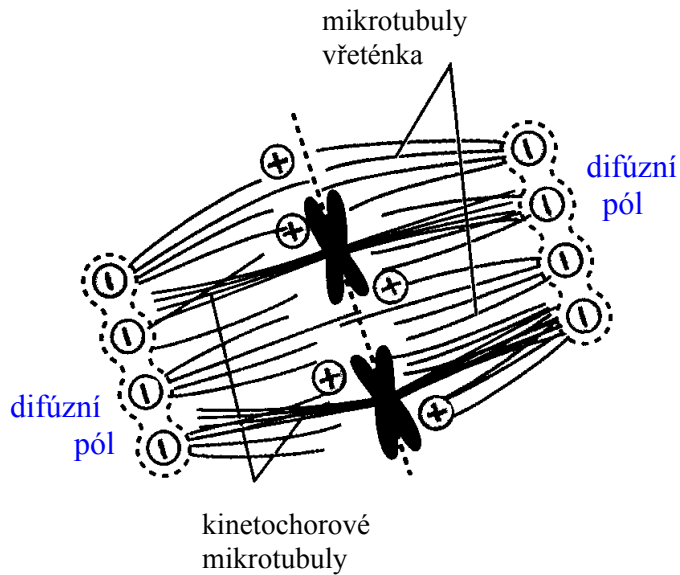
Obr. 9-7. Uspořádání mikrotubulů během buněčného cyklu.



zpět do textu

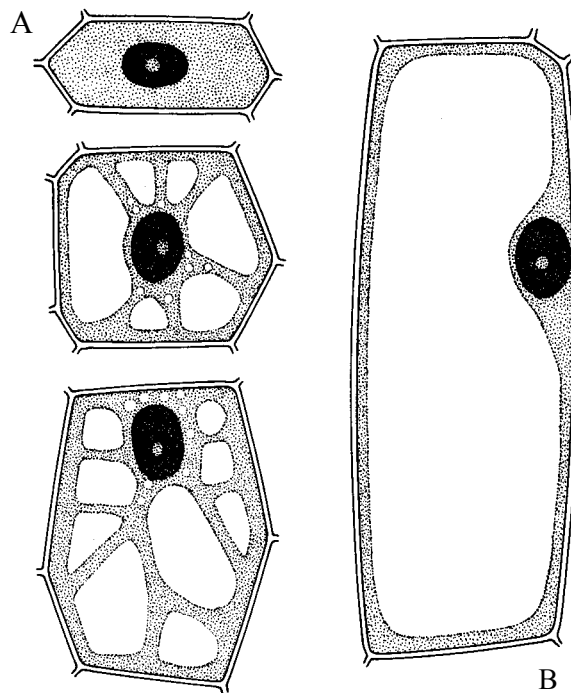
V interfázi se mikrotubuly nacházejí ve vrstvě pod plazmalemou (kortikální mikrotubuly) nebo se rozbíhají z jaderné membrány. V profázi se mikrotubuly uspořádávají paralelně s povrchem jádra ve směru osy budoucího vřeténka (minus konce směřují k pólům), část tvoří preprofázický pás. V metafázi mikrotubuly tvoří mitotické vřeténko, preprofázický pás mizí. Po cytokinezi se mikrotubuly uspořádávají způsobem charakteristickým pro interfázi. (Podle Buchanan B. B., Grissem W., Jones R.L.: Biochemistry and Molecular Biology of Plants. – American Soc. Plant Physiol. Rockville, Maryland, 2001. Upraveno.)

Obr. 9-8. Dělicí se jádro v metafázi. Dělicí vřeténko u rostlin má difúzní póly. Mikrotubuly jsou orientovány minus koncem k pólům. (Podle Buchanan B. B., Gruissem W., Jones R.L.: Biochemistry and Molecular Biology of Plants. – American Soc. Plant Physiol. Rockville, Maryland, 2001. Upraveno.).



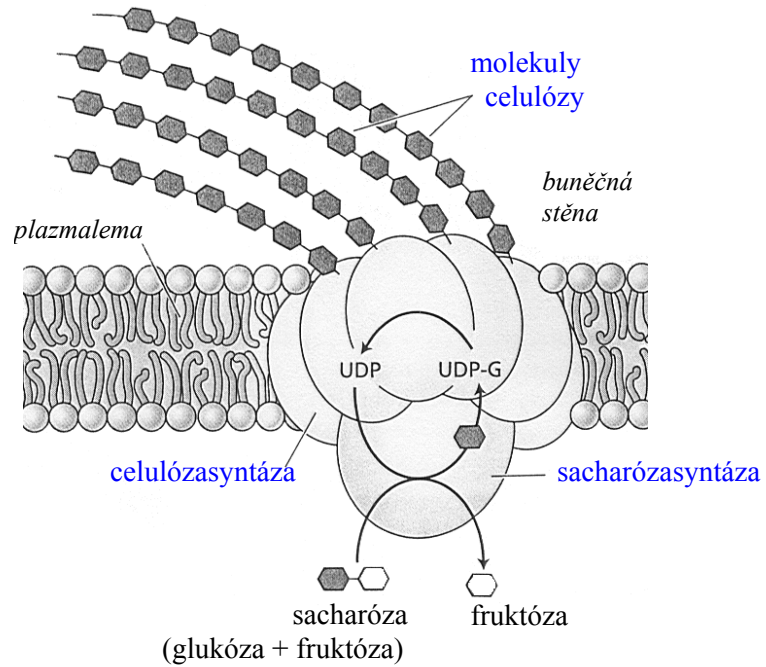
zpět do textu

Obr. 9-9. Objemový růst buňky – přeměna izodiametrické buňky meristematické (A) v dospělou parenchymatickou buňku (B). Během objemového růstu se zvětšuje především objem vakuoly. (Podle Mohr H., Schopfer P.: Plant Physiology. – Springer-Verlag, Berlin 1995.).



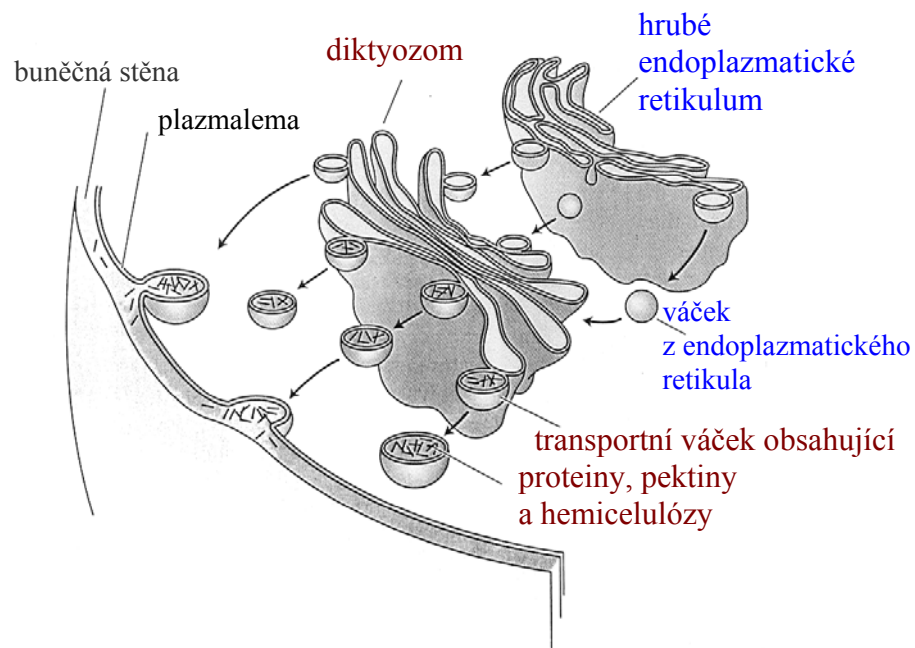
zpět do textu

Obr. 9-10. Model terminálního komplexu – celulózasyntázy. Sacharóza je štěpena sacharózasyntázou na fruktózu a UDP-glukózu (UDP-G). Celulózasyntáza katalyzuje syntézu jednotlivých molekul celulózy (polymeraci UDP-glukózy). (Podle Delmer D.P., Amor Y.: Cellulose biosynthesis. – Plant Cell 7: 987 – 1000, 1995. Upraveno.).



zpět do textu

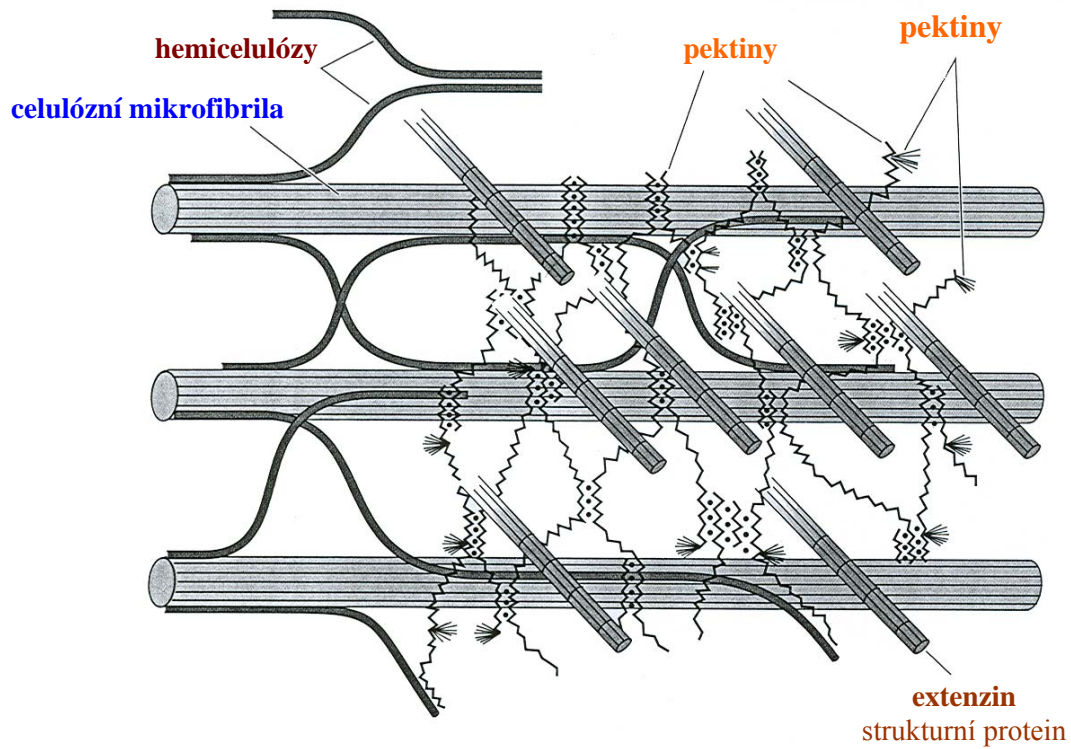
Obr. 9-11. Schéma transportu proteinů, hemicelulóz a pektinů z diktyozomu do plazmatické membrány a buněčné stěny. (Podle Taiz L., Zieger E.: Plant Physiology. – Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts 2002. Upraveno).



zpět do textu

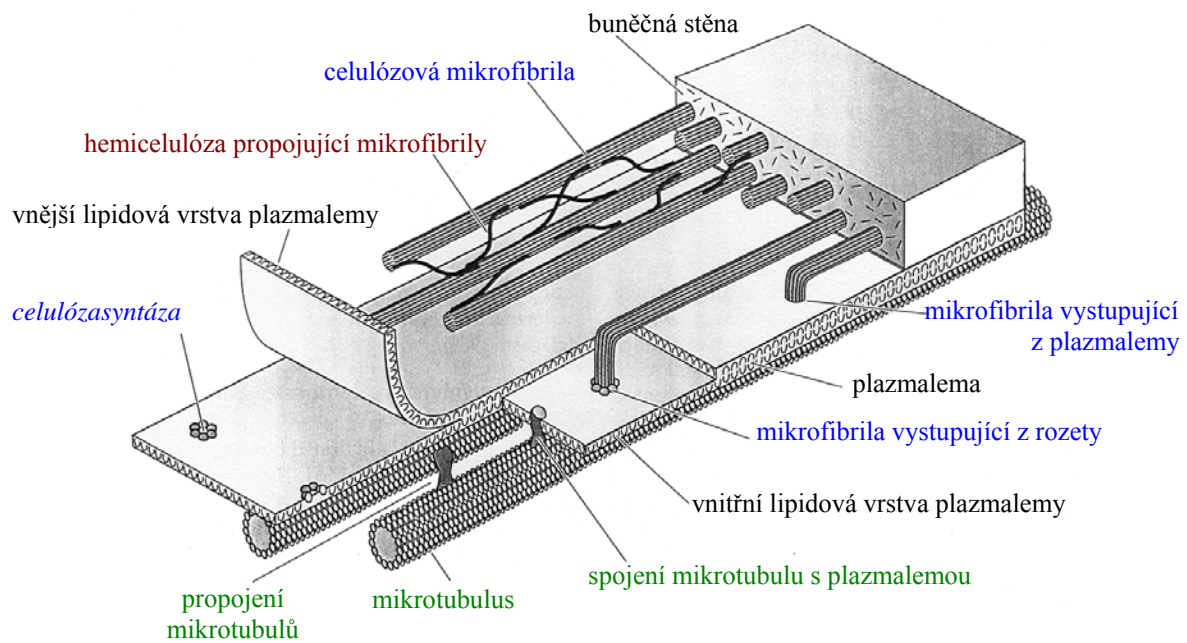
Proteiny určené do buněčné stěny a plazmatické membrány jsou syntetizovány na endoplazmatickém retikulu. Polysacharidy jsou syntetizovány v diktyozomu. Proteiny i polysacharidy jsou z diktyozomu dopravovány ve váčcích k plazmatické membráně, kde váčky s plazmatickou membránou fúzí a jejich obsah se uvolňuje do buněčné stěny.

Obr. 9-12. Schéma propojení hlavních složek buněčné stěny. Celulózní mikrofibrily jsou propojeny hemicelulózami, pektiny tvoří základní gelovou matrix, která interaguje se strukturálními proteiny. (Podle Taiz L., Zieger E.: Plant Physiology. – Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts 2002. Upraveno.)



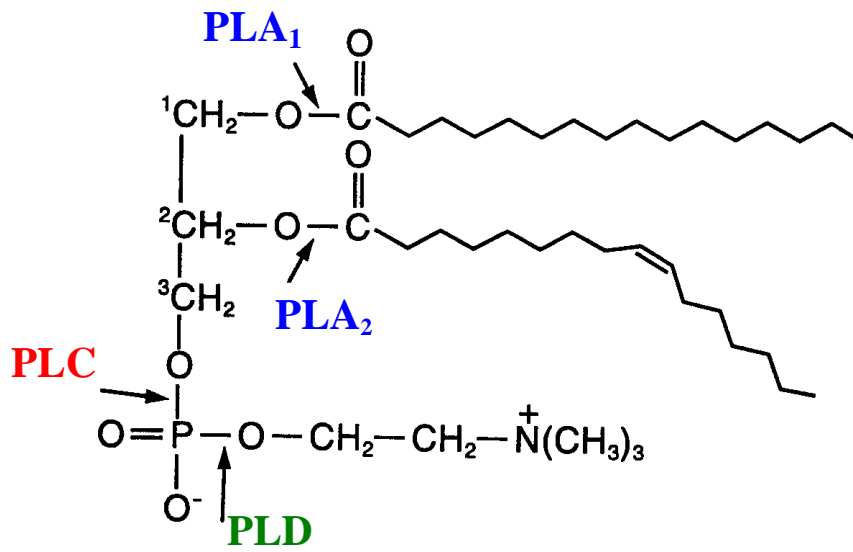
zpět do textu

Obr. 9-13. Schéma terminálního komplexu (celulózasyntázy), uložení mikro fibril a mikrotubulů. (Podle Taiz L., Zieger E.: Plant Physiology. – Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts 2002. Upraveno.)



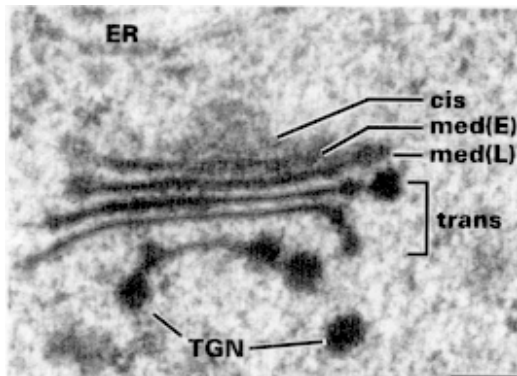
zpět do textu

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



zpět do textu

Obr. 3-40. Diktyozom.



ER – endoplazmatické retikulum, cis – *cis*-cisterna, med – mediální (střední) cisterny, E – mladé (z angl. *early*), L – zralé (z angl. *late*), trans – *trans*-cisterny, TGN – vezikuly z rozpadlých *trans*-cisteren. (Zhang G.F., Staehelin L.A.: *Plant Physiol.* 99 : 1070 – 1083, 1992.)

zpět do textu