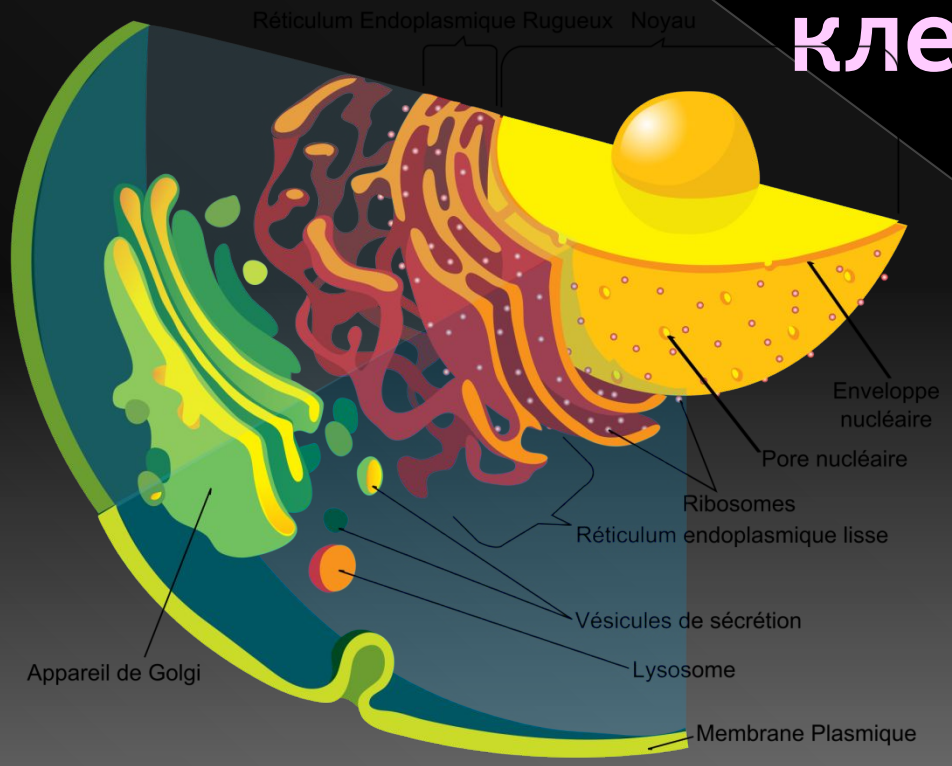
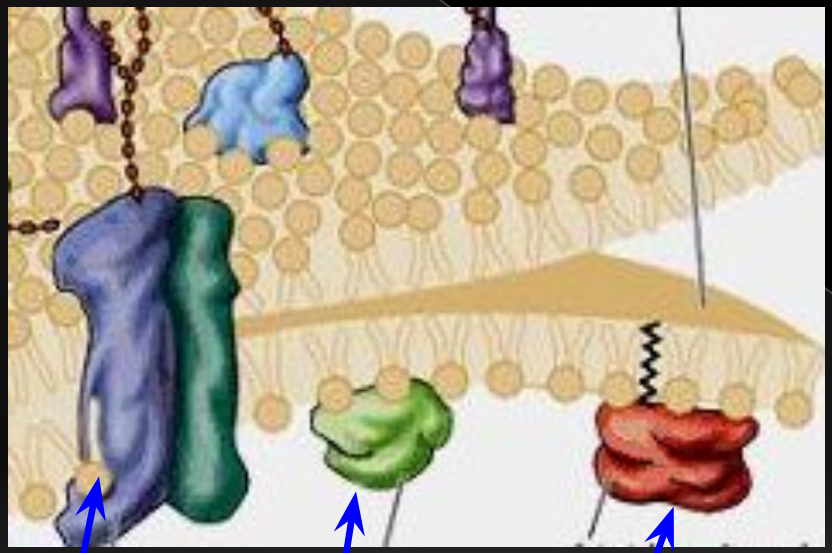
Система мембран растительной клетки



Строение мембраны. Белки.

Липиды : белки : углеводы

40 : 40 : 20

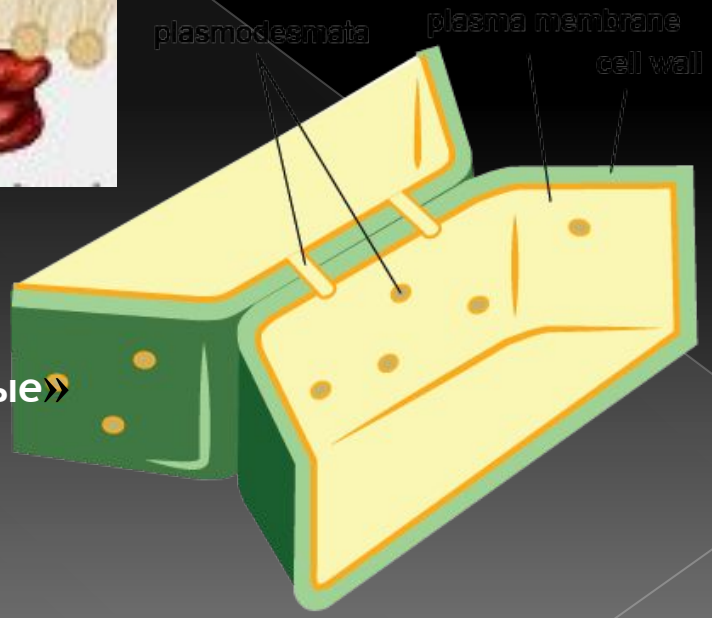


Мембраны соседних клеток образуют непрерывн

Интегральные

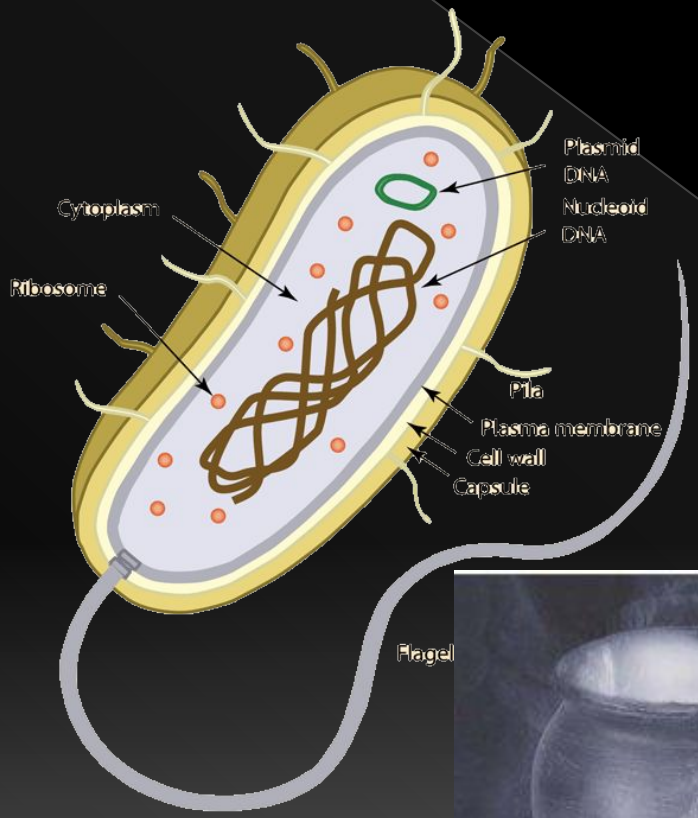
Периферийные

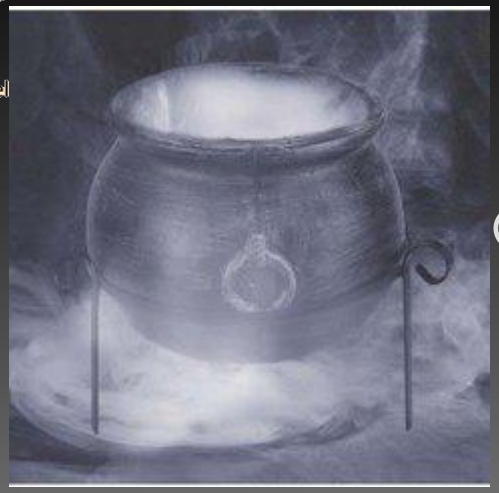
«Заякоренные»



TEM image of cell wall structure in plant roots

Принцип компартментации. Элементарный компартмент.

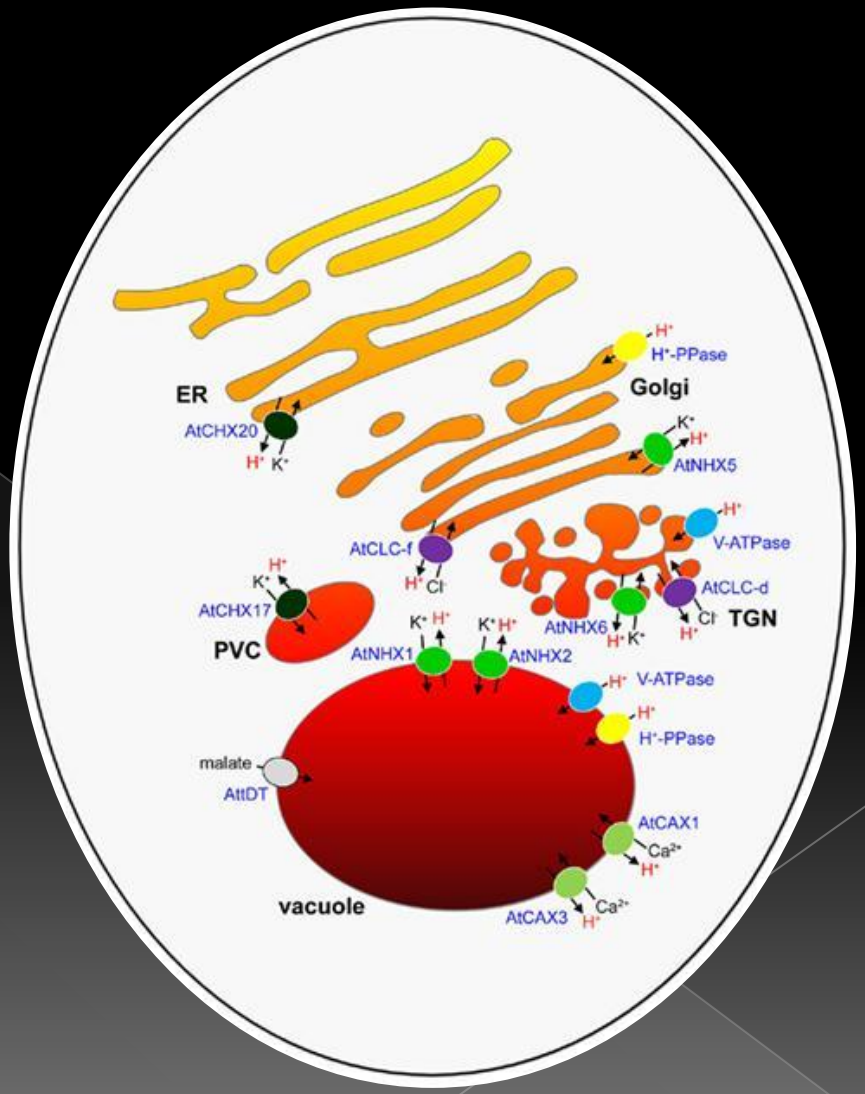




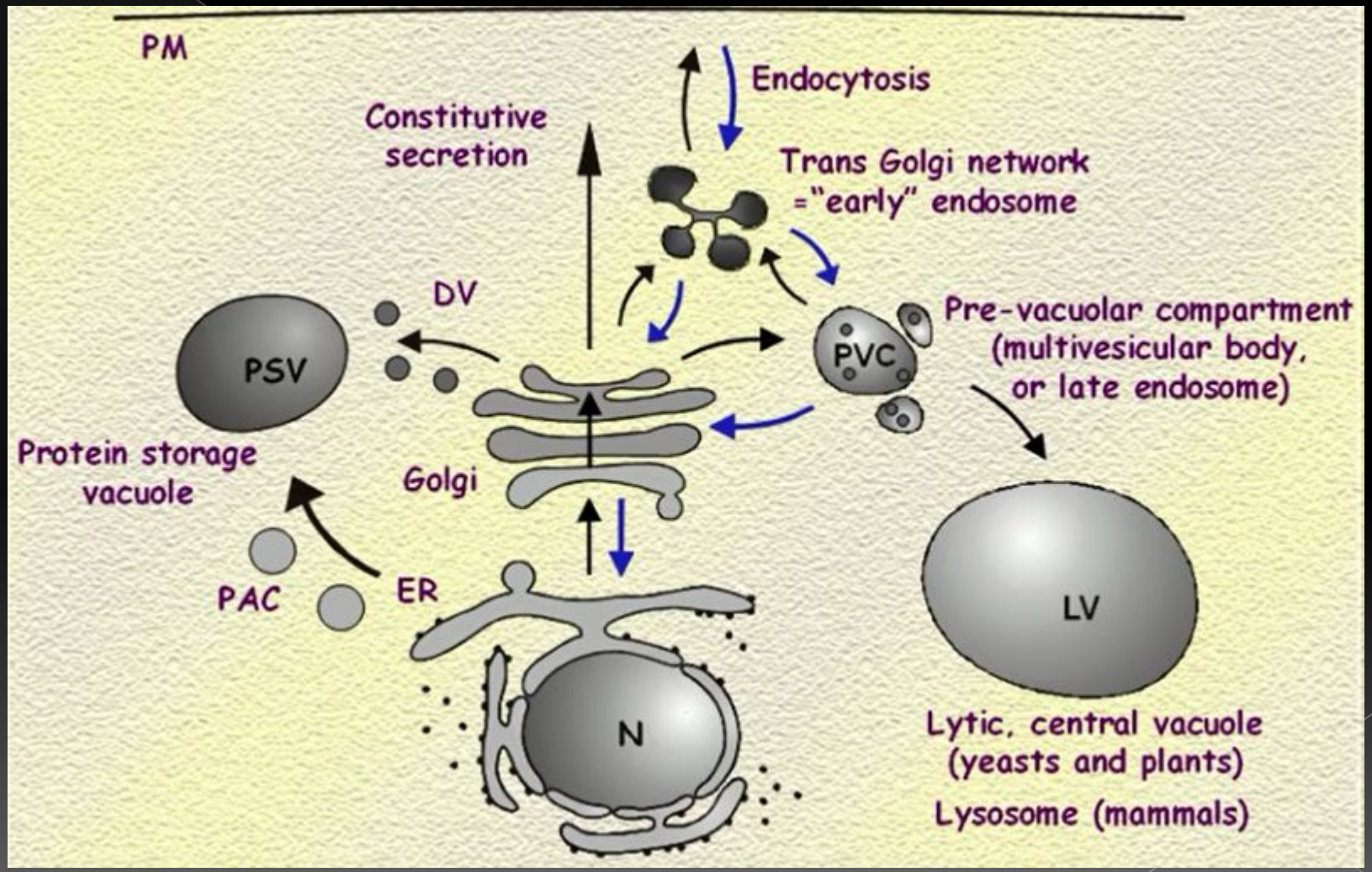
- Примитивная прокариотическая клетка представляет собой простейшую однокомпартментную систему.
- Одна оболочка, одна ДНК, одна цитоплазма – один «котёл»

Компартменты растительной клетки

- В современной эукариотической клетке компартментов много.
- Несовместимые процессы можно вести параллельно.
- Изоляция «опасных производств».
- Защиты «хрупких процессов».



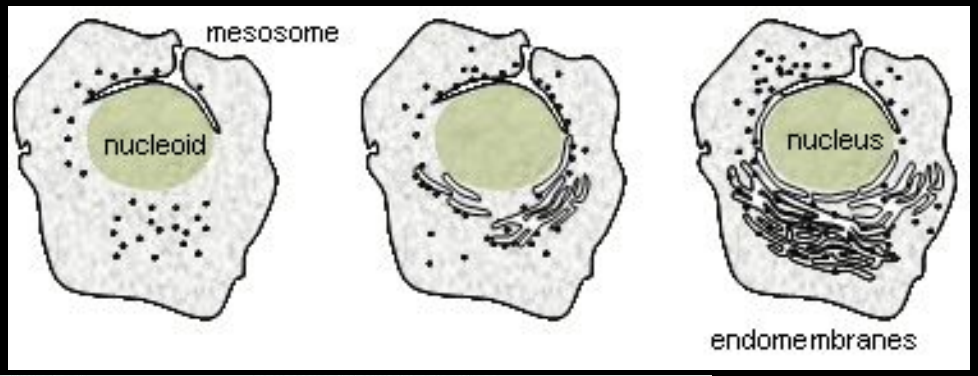
Как сейчас представляют ЭМС

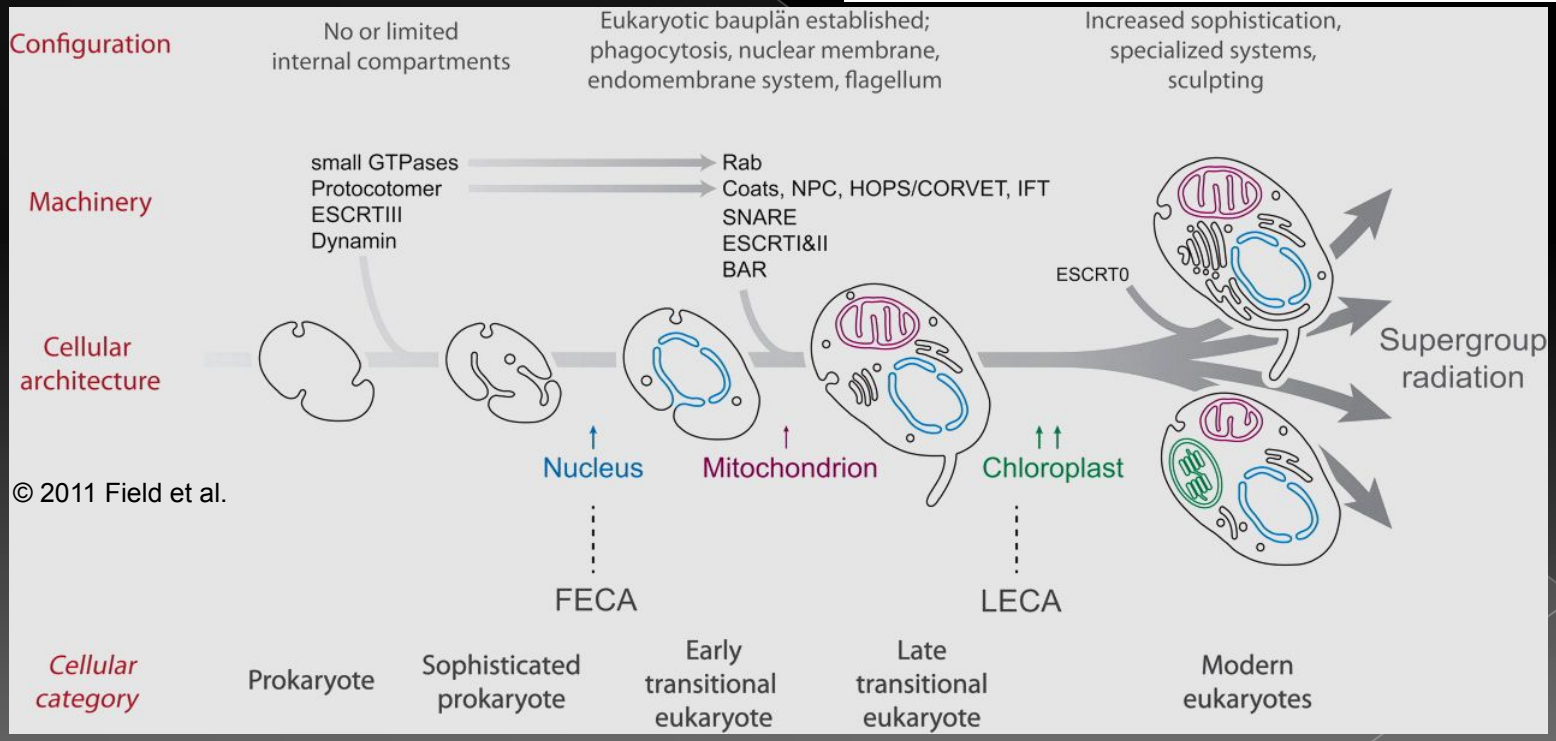


The Endoplasmic Reticulum in Plants Dr. Jurgen Denecke, University of Leeds, UK

Гипотеза о возникновении ЭМС от плазмалеммы

Как всё это великолепие появилось в эволюции?





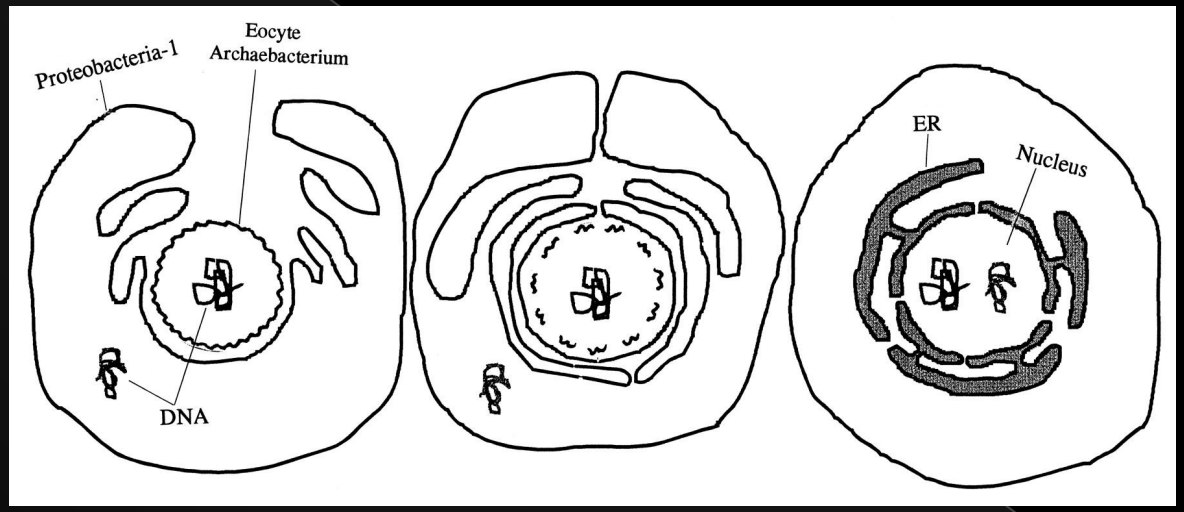
© 2011 Field et al.

Mark C. Field et al. J Cell Biol 2011;193:963-972

JCB

Есть и другие версии…

Radhey S. Gupta Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1998;62:1435-1491



Based on phylogenetic information from indels in different protein sequences, it is hypothesized that all eukaryotes received major gene contributions from both an archaebacterium and a gram-negative eubacterium. In this model, the ancestral eukaryotic cell is a chimera that resulted from a unique fusion event between the two separate groups of prokaryotes followed by integration of their genomes.

Microbiology and Molecular Biology Reviews
Journals.ASM.org | Copyright © American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

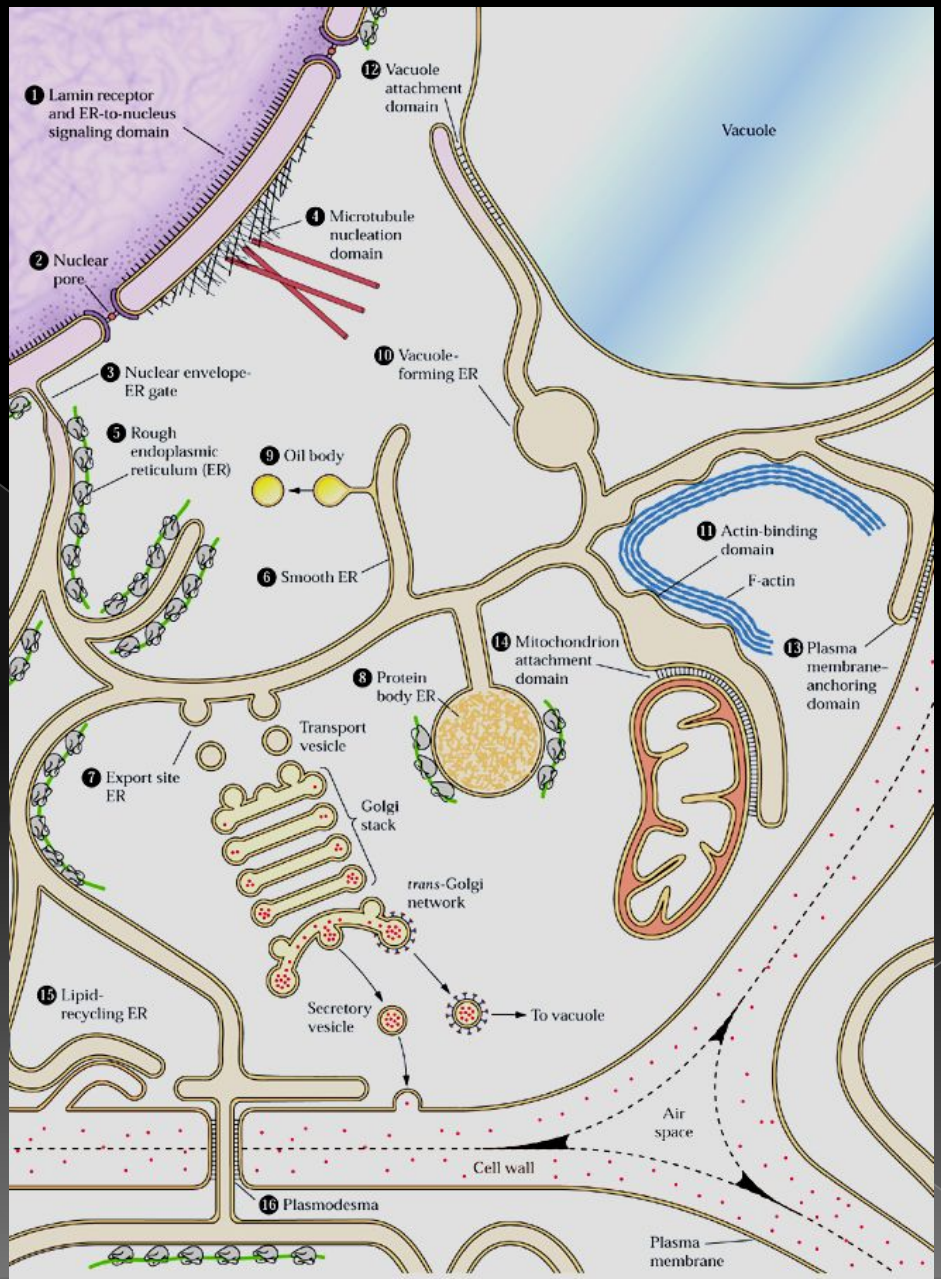
Онтогенетическая непрерывность ЭМС

- Плазмалемма
- Вакуоль (тонопласт)
- Эндоплазматический ретикулум
- Аппарат Гольджи
- Плазмодесмы
- Глиоксисомы
- Ядерная мембрана

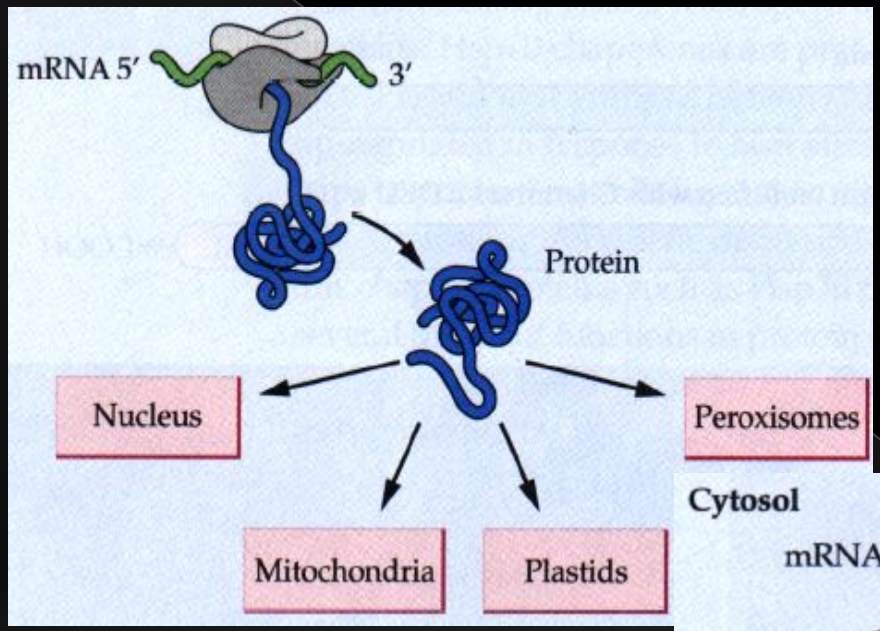
Эндоплазматическая сеть

Контакты

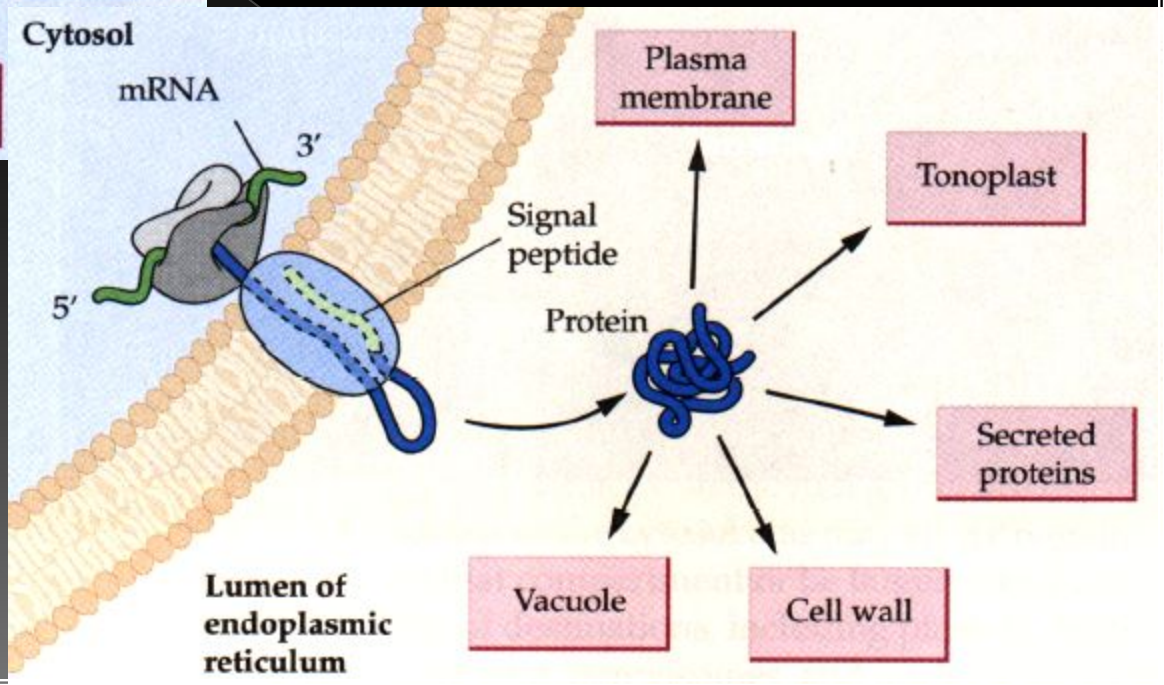
- ЭПР наиболее тесно взаимосвязан с двумя структурами: ядерной оболочкой и аппаратом Гольджи.
- Между ЯО и ЭПР замечены многочисленные зоны контакта.
- Однако недавно такие же зоны контакта были замечены между ЭПР и Гольджи (ранее считалось, что транспорт веществ между ними возможен только путём упаковки в везикулы).



Два пути для белка: цитоплазматический и секреторный

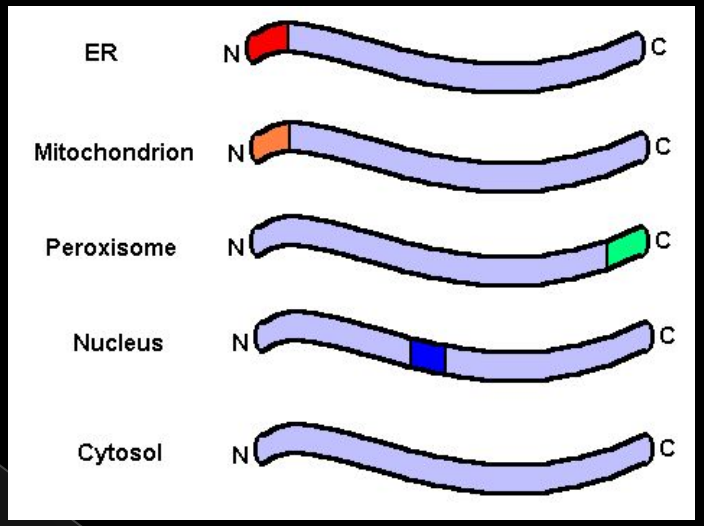


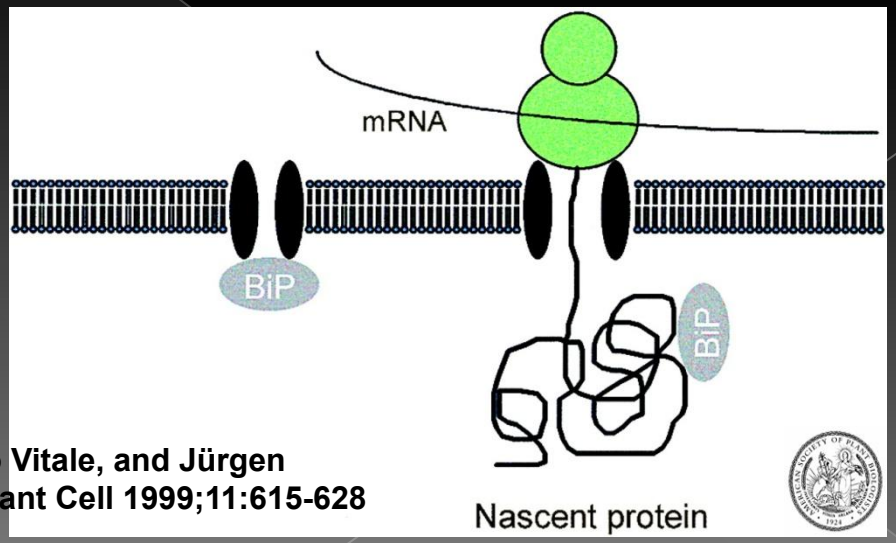
У *Arabidopsis thaliana* чуть более 17% белков имеют сигнальный пептид, и 33% имеют хотя бы один трансмембранный домен, а значит, вероятно, ассоциированы с ЭПР и другими компонентами секреторного пути.



Шероховатый ЭПР – добро пожаловать на секреторный путь!

- Около 13 миллионов рибосом «украшают» поверхность ЭПР.
- Все рибосомы одинаковы (цитоплазматические и ЭПР). Прикрепится она или нет, зависит от сигнальной последовательности мРНК (N – концевой лидерный пептид).
- Перенос полипептида происходит котрансляционно.
- Затем происходит сворачивание белка.
- Финальный этап – проверка белка: хорошо ли он собран?

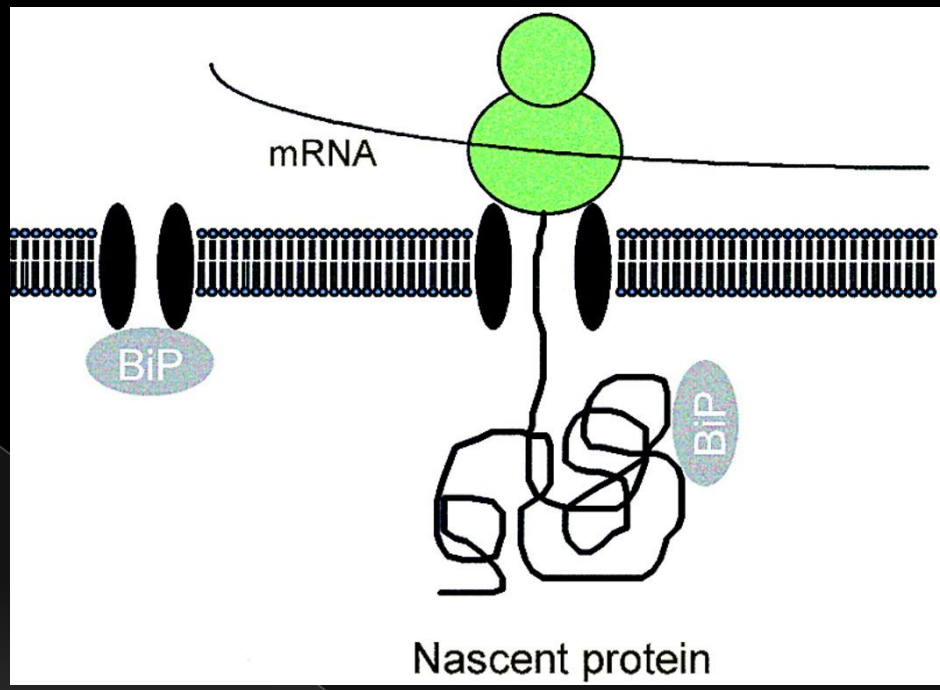




Alessandro Vitale, and Jürgen Denecke Plant Cell 1999;11:615-628

Котрансляционный перенос

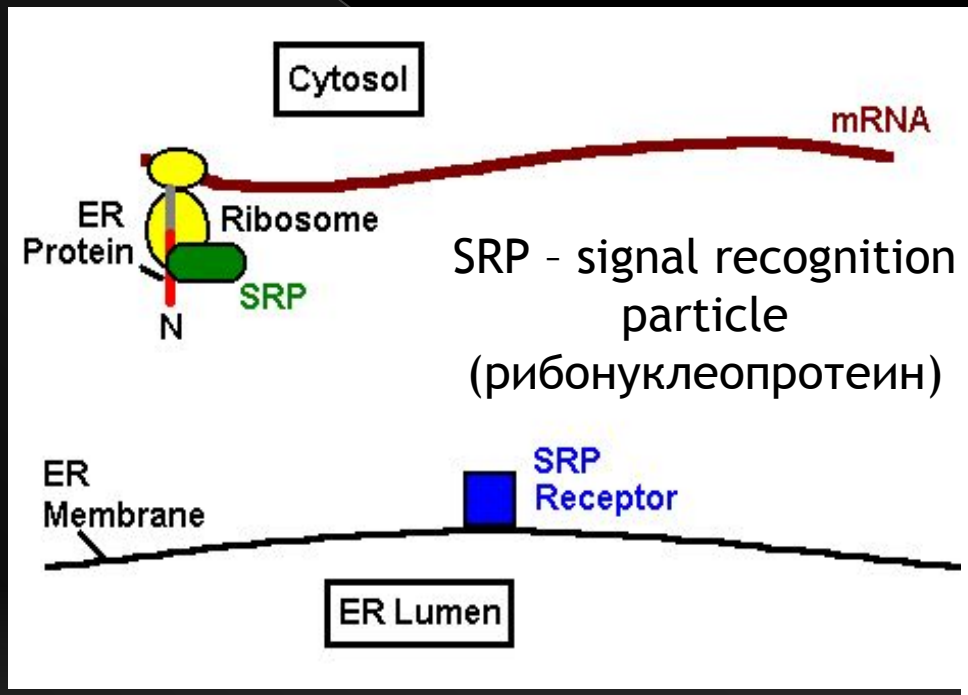
- Ранее считалось, что транслокация происходит через липидный бислой. Сейчас понятно, что в этом процессе участвует специальный поровый комплекс – *пора транслокона*. Он избирателен, т.е. не пропускает вещества в закрытом состоянии. При открывании его диаметр увеличивается в 4 раза.
- lumenal binding protein (BiP) закрывает пору с люменальной стороны. Когда он занят транслокацией белка, пору прикрывает рибосома.

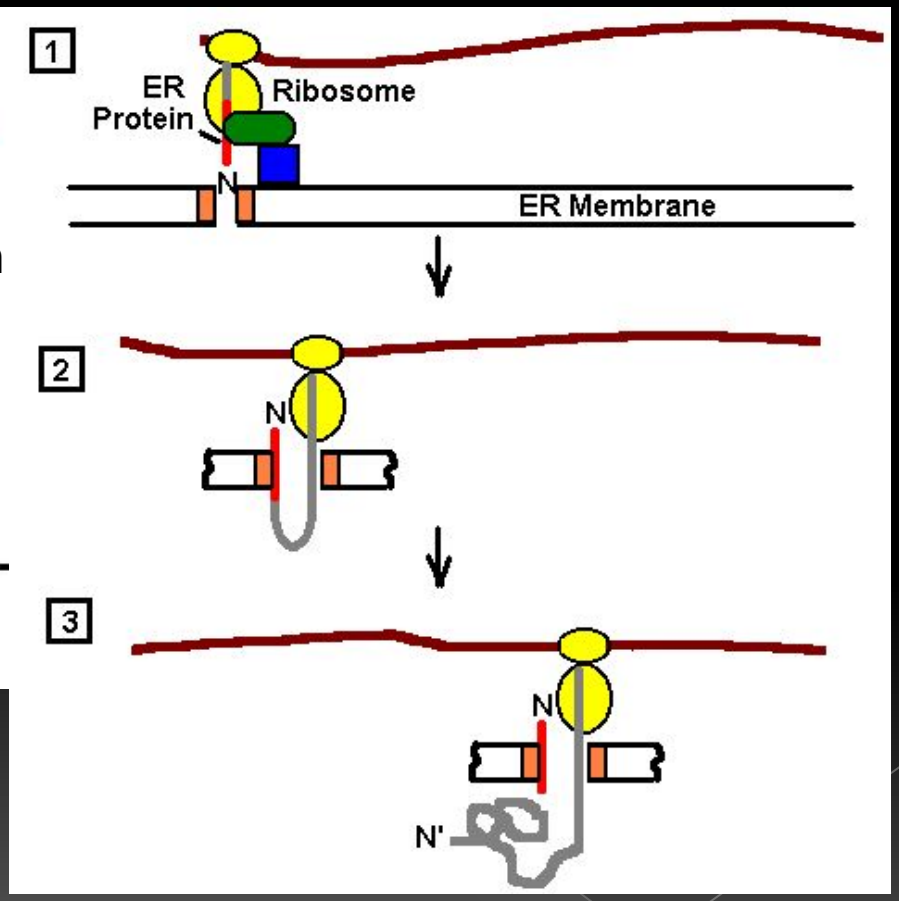


Alessandro Vitale, and Jürgen Denecke Plant Cell 1999;11:615-628

©1999 by American Society of Plant Biologists

Откуда рибосома узнает?

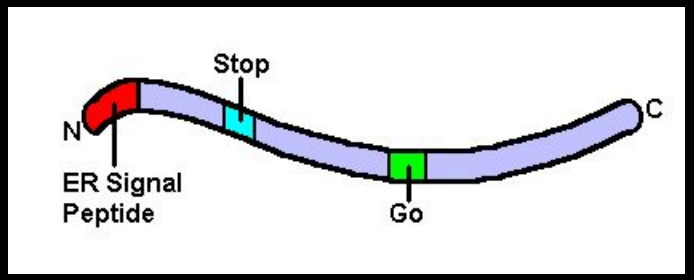


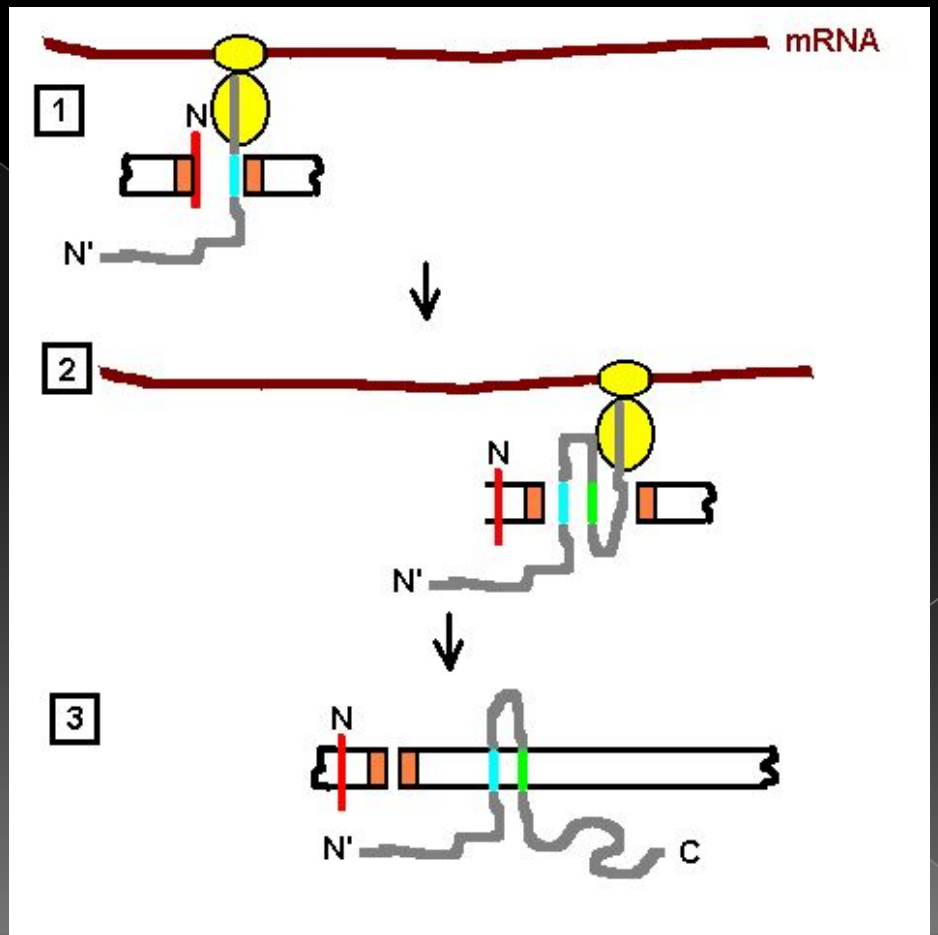


- SRP связывается с сигнальным пептидом и накладывает «заклятие» на трансляцию, чтобы возобновилась после прикрепления к транслокону.
- После связывания SRP с рецептором и гидролиза ГТФ транслокон открывается, а сигнальный пептид отрезается в люмене SP (signal peptidase).

А если белок мембранный?

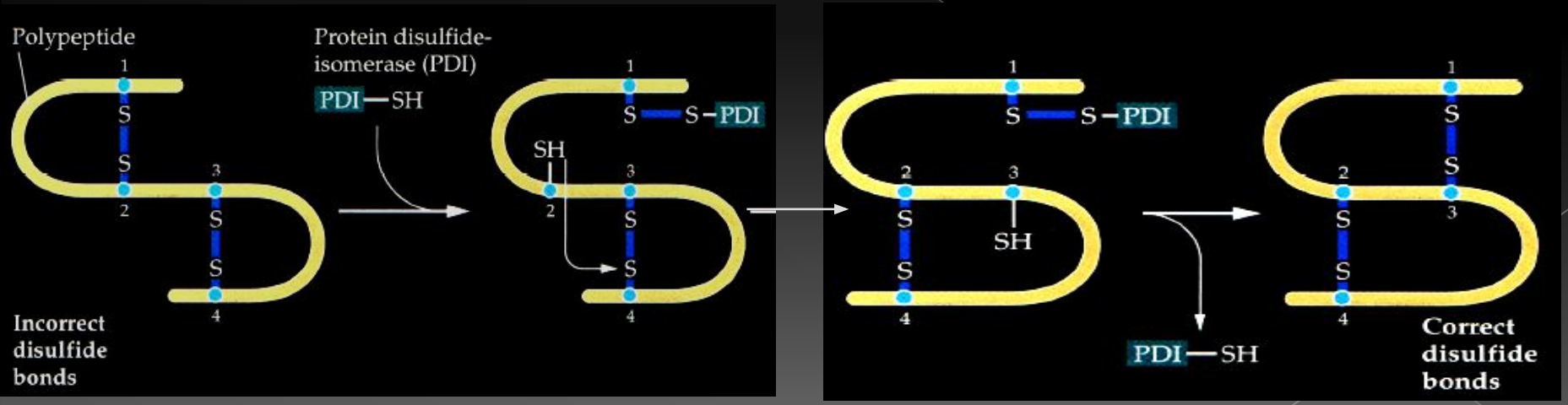
- Для мембранных белков схема чуть сложнее. Они также встраиваются в мембрану котрансляционно благодаря специальным последовательностям.





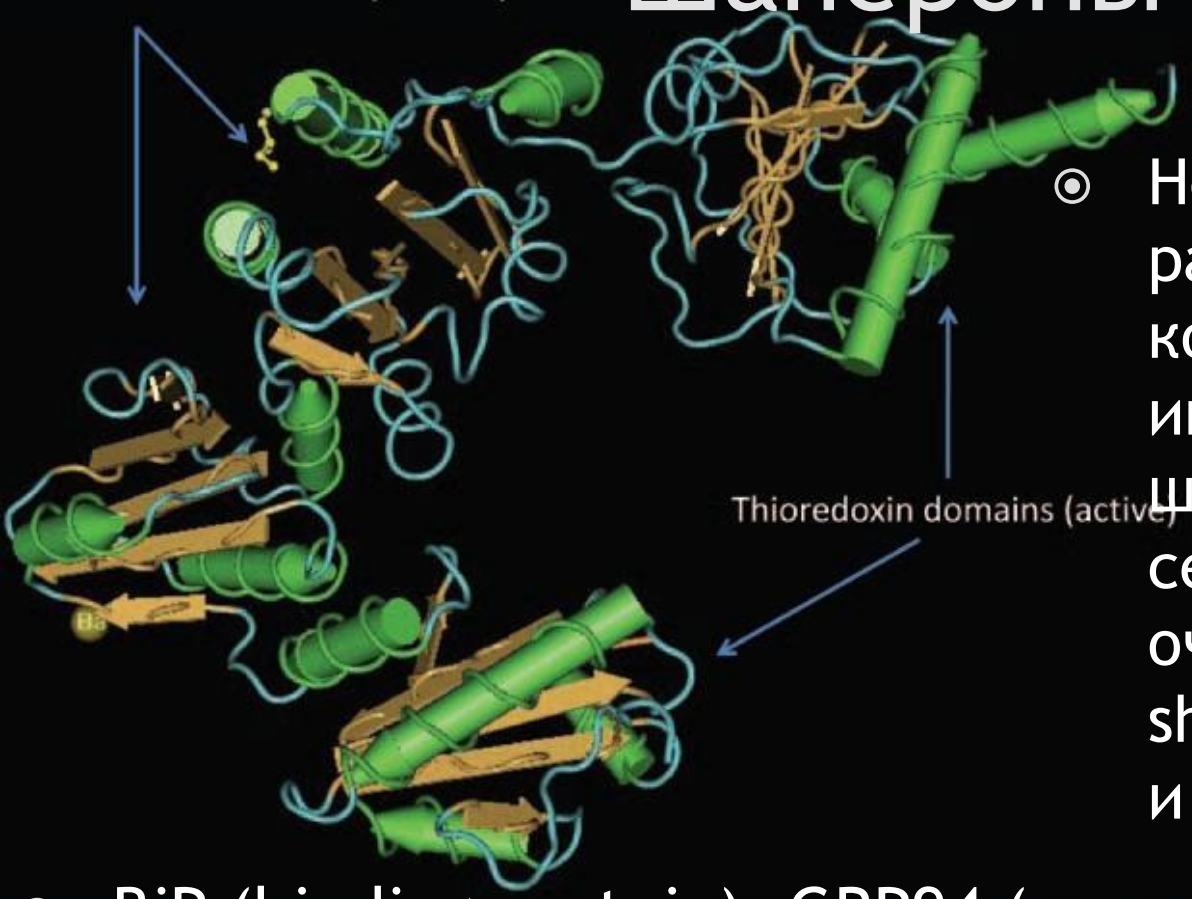
Сворачивание белков

- Фолдинг белков происходит не самопроизвольно, а с участием шаперонов. Шапероны ЭПР – *ретикулоплазмины*.
- Правильный фолдинг имеет большое значение, потому что неправильно свернутые белки формируют агрегаты, слипаясь гидрофобными частями, и могут повредить компартмент.
- Шапероны не ускоряют фолдинг, а лишь стабилизируют правильную конформацию. Возможна корректировка неправильной конформации.



Plant Signal Behav. 2011 Feb; 6(2): 232–236

Шапероны и фолдины



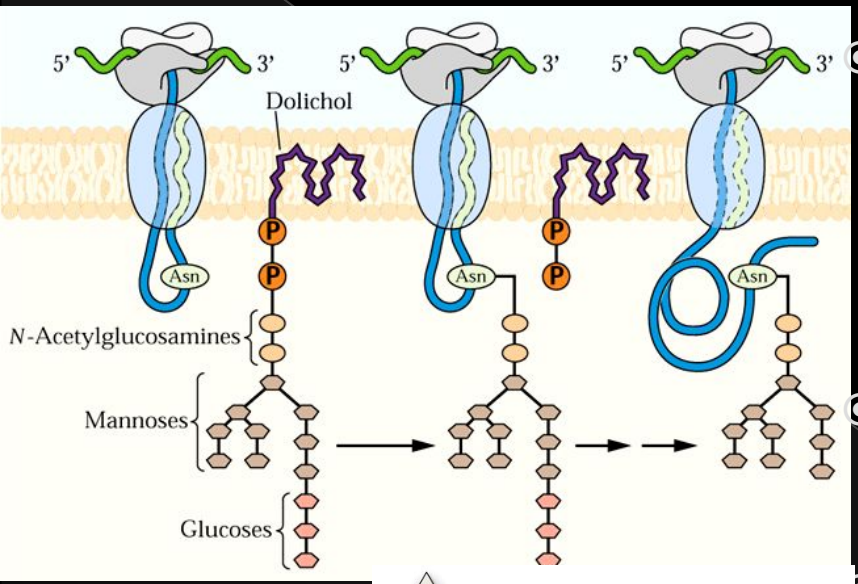
- Некоторые шапероны работают в ЭПР конститутивно, а другие индуцируются тепловым шоком. При этом все семейства называются очень похоже: Heat shock protein (HSP)70,90, и т.п.

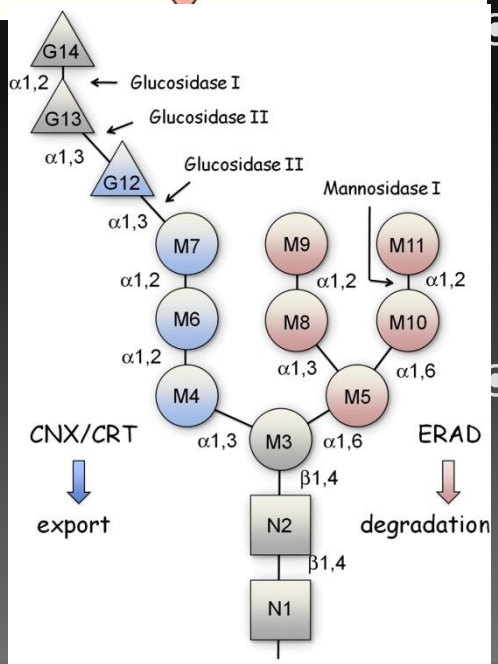
- BiP (binding protein), GRP94 (эндоплазмин), GRP78 (glucose-regulated protein 78), калнексин, калретикулин и PDI (protein disulfide isomerase).
- Первые два имеют гомологи в цитозоле, остальные уникальны для ЭПР.

Как Вы себя чувствуете в ЭПР?

- В люмене ЭПР pH близок к нейтральному, в этом смысле он похож на цитозоль.
- Однако, в люмене царит окисление: отношение окисленного глутатиона к восстановленному там высоко, что способствует формированию дисульфидных связей.
- Правильно их выстраивать помогает PDI (protein disulfide isomerase).
- Также в люмене много АТФ: сворачивание требует энергии. BiP является АТФазой.

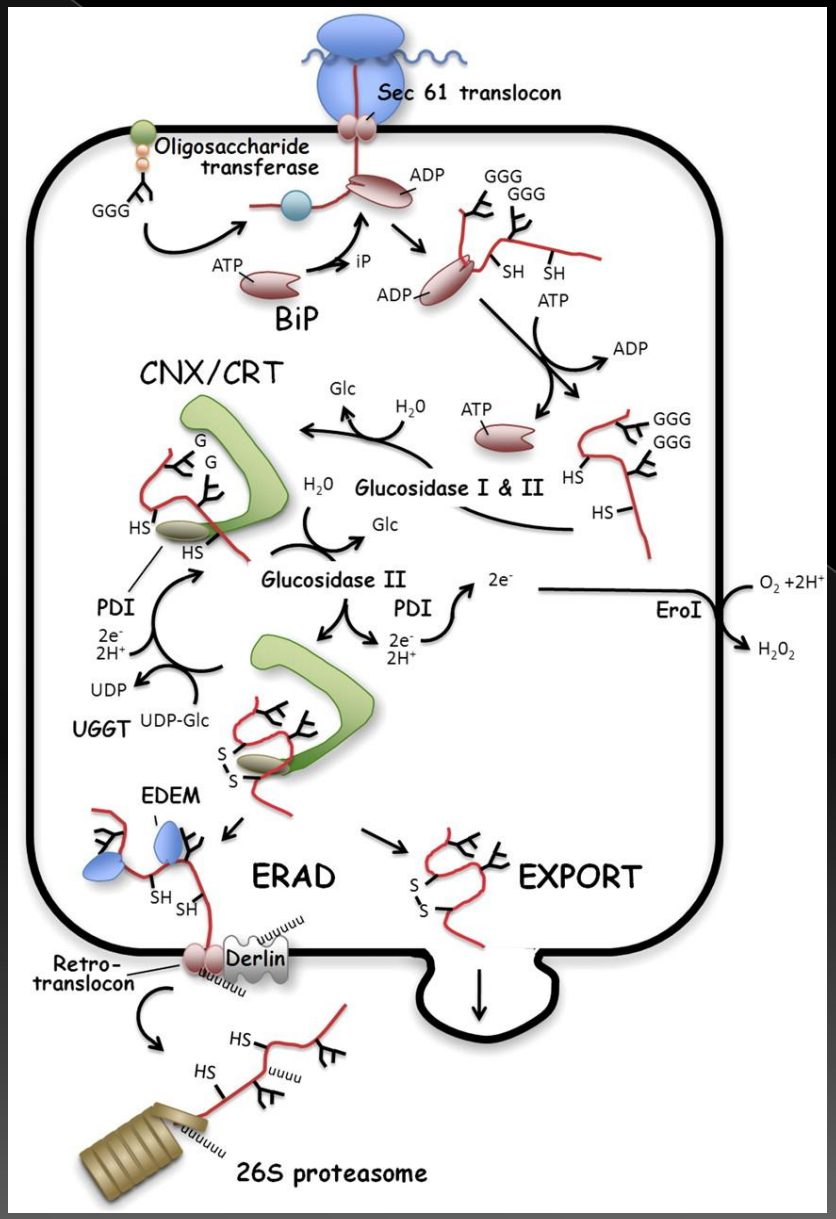
Гликозилирование белков в ЭПР





- Многие секреторные белки N-гликозилированы по остатку Asn в составе трипептидной последовательности Asn-X-Ser/Thr, где X любая кислота, кроме пролина.
- N-гликозилирование заключается в связывании с разветвленным олигосахаридом $Glc_3Man_9GlcNAc_2$.
- Мультисубъединичный фермент олигосахарил-трансфераза, который активен на люменальной стороне поры транслокона, переносит олигосахарид с липида, сидящего в мембране.
- Более распространено котрянсляционное гликозилирование, однако может быть и посттрансляционное.

Резюме. Так рождаются белки.



- Калнексин/ Калретикулин – лектиновая система «поддержки» нормальных структур. Она ориентируется по глюкозным остаткам. Если их убрали – значит, белок готов.

ER degradation-enhancing α-mannosidase-like protein

Endoplasmic-reticulum-associated protein degrad

Jian-Xiang Liu, and Stephen H. Howell Plant Cell 2010;22:2930-2942

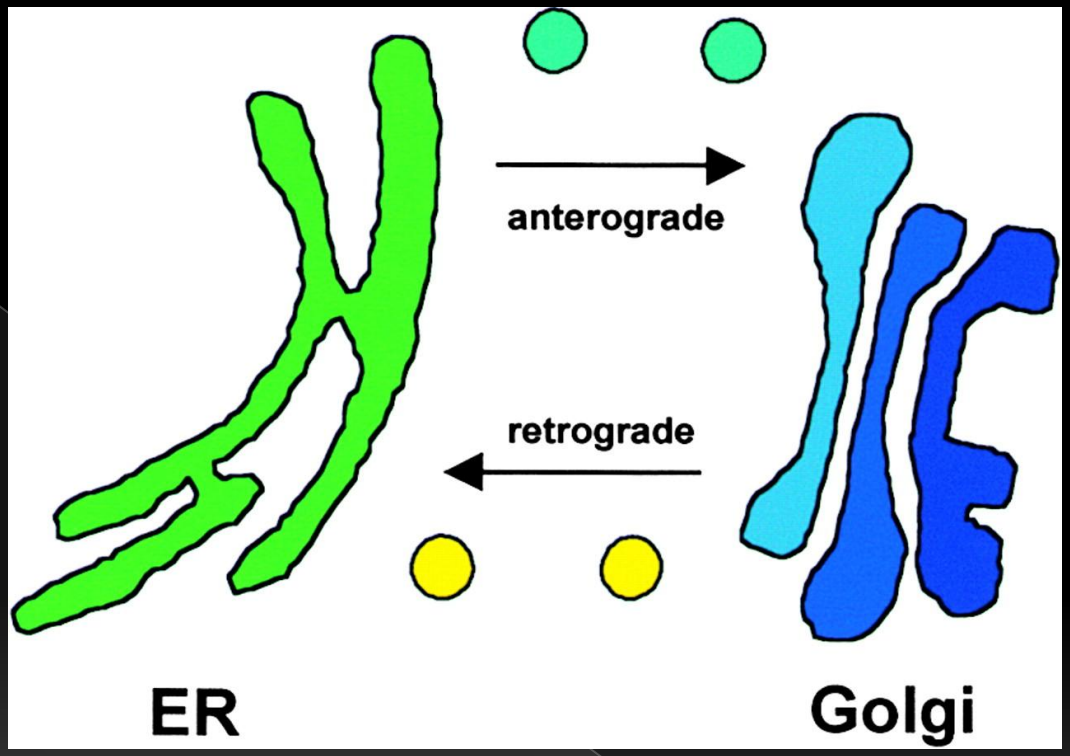
©2010 by American Society of Plant Biologists

Функции ЭПР в процессинге белков

- Модификация определенных аминокислот, например, превращение пролина в гидроксипролин.
- N-гликозилирование и отщепление глюкозы у N-связанных гликанов.
- Образование правильных S-S связей (глутатион и дисульфидизомераза).
- Правильное сворачивание белковой молекулы (шапероны, например, пептидилпролилизомераза и BiP).
- Сборка олигомерных комплексов.
- Деградация неправильных белков или их транспорт для

Куда дальше?

- Антероградный транспорт: ЭПР – Гольджи – плазмалемма/вакуоль. Необходим для поставки белков в стенку и обновления пула мембранных белков. Возможен транспорт ЭПР – вакуоль в обход Гольджи.
- Ретроградный транспорт в обратном направлении обеспечивает рециклирование мембран и эндоцитоз.



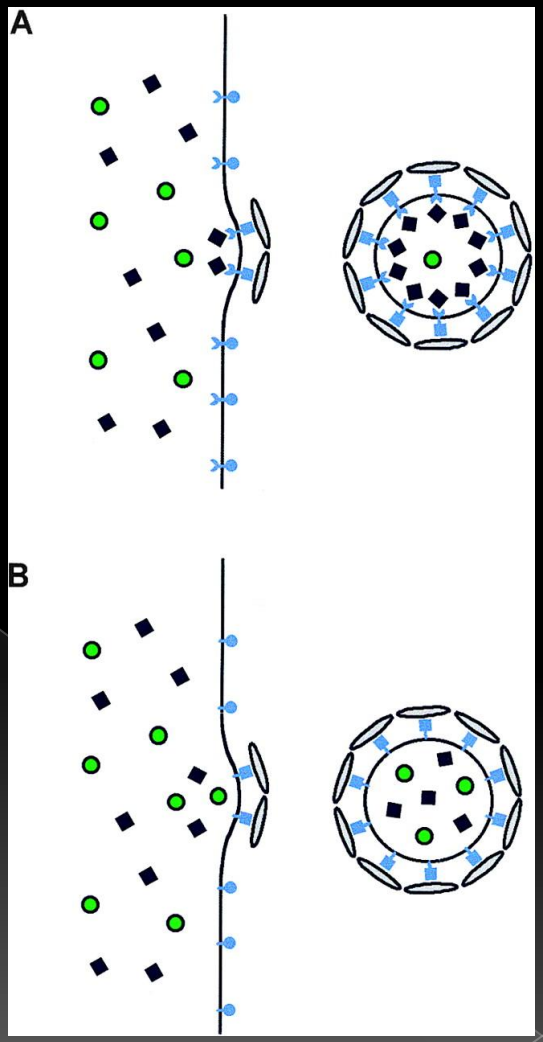
Alessandro Vitale, and Jürgen Denecke Plant Cell 1999;11:615-628

Люмен ЭПР, Гольджи и вакуоли топологически эквивалентен межкдеточному пространству.

©1999 by American Society of Plant Biologists

Экспорт

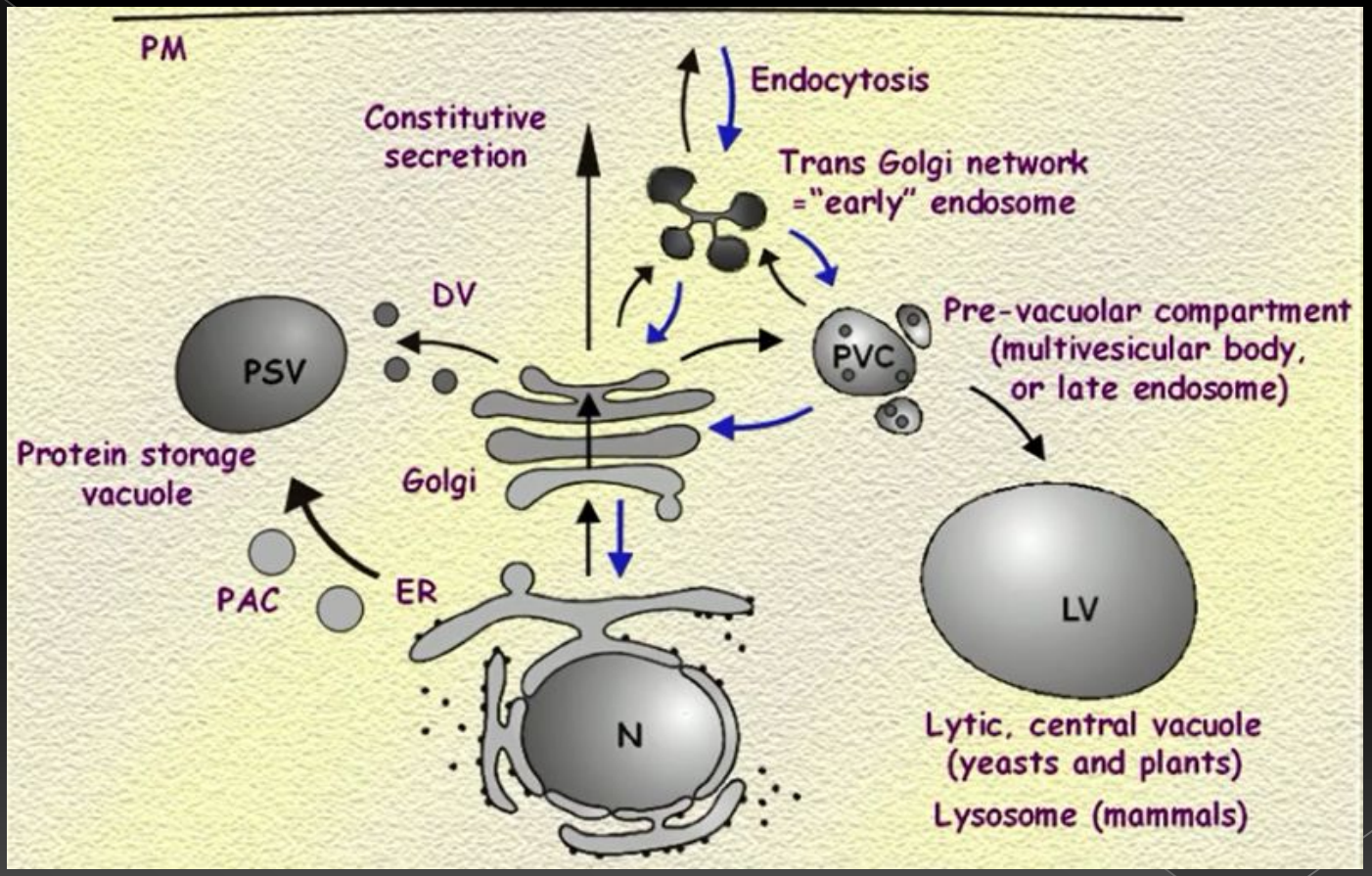
- Рассматривается две модели: активный отбор и случайное попадание.
- Активные отбор подразумевает, что есть сигнал экспорта и рецептор, а белки ЭПР не попадают в Гольджи.
- Случайное попадание подразумевает, что белки пакуются в везикулы по умолчанию, а ЭПР-резиденты затем возвращаются ретроградно.



Alessandro Vitale, and Jürgen Denecke Plant Cell 1999;11:615-628

©1999 by American Society of Plant Biologists

Куда могут идти везикулы?



Два типа везикул было обнаружено в ЭПР: большие и малые. Они путешествуют по разным маршрутам.

The Endoplasmic Reticulum in Plants Dr. Jurgen Denecke, University of Leeds, UK

Возврат ЭПР-резидентов

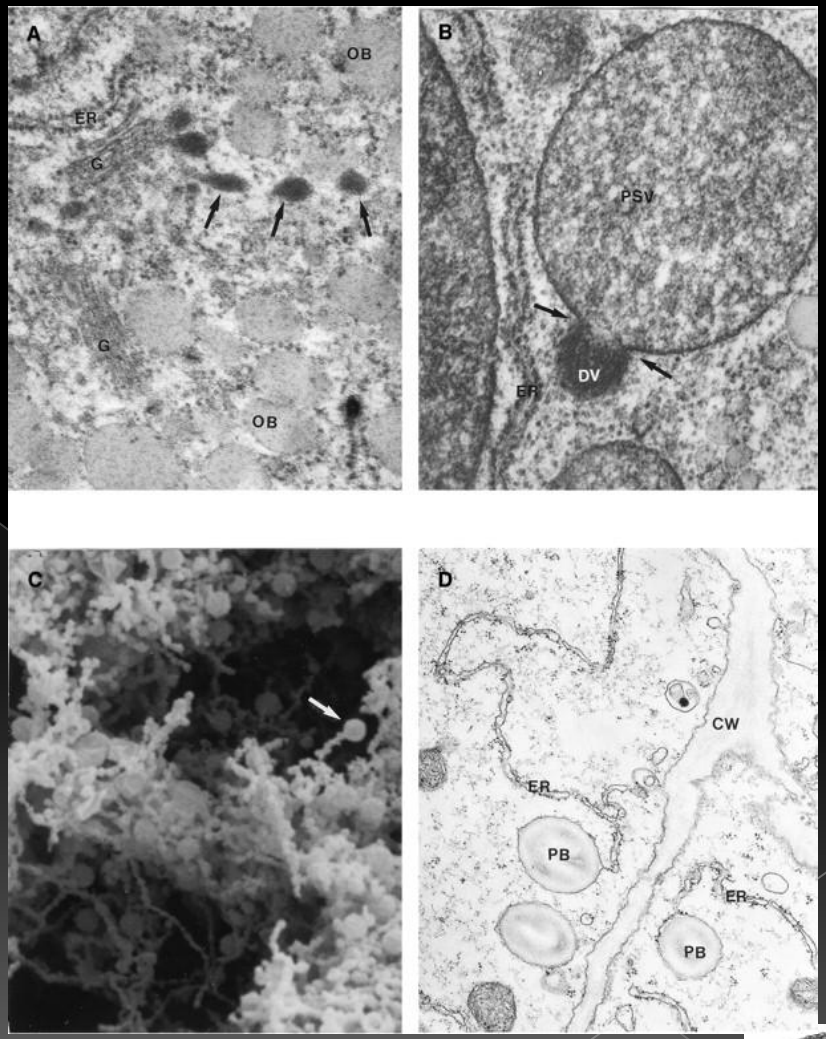
- Был обнаружен рецептор, который опознает ЭПР-резидентные белки на входе в Гольджи - ERD2 (ER-retention defective).
- Он помогает возвращать такие белки, как BiP, попавшие в везикулы, обратно в ЭПР, узнавая их сигнальную последовательность.
- Вместе с BiP в ЭПР возвращаются и дефектные белки, которые неправильно свернулись.
- Однако, пока неизвестно, каким образом он сам возвращается в Гольджи.

Запасные белки: где их хранят?

- Запасные белки могут храниться в двух компартментах: белковых вакуолях (PSVs) в терминально дифференцированных клетках зародыша или эндосперма и в белковых тельцах (PBs), которые собираются непосредственно в ЭПР.
- Запасные белки формируют димеры, тримеры и тетрамеры сразу после трансляции в люмене ЭПР.
- Запасные белки бобовых – глобулины – растворимые белки, в т.ч. в олигомерной форме. Они отправляются в PSVs
- Запасные белки злаков – проламины – формируют большие агрегаты. У кукурузы и риса они так и остаются в ЭПР, у пшеницы и отпочковываются, упакованные в мембрану ЭПР, формируя PBs.

Как это выглядит?

- Плотные везикулы (DV) отпочковываются от Гольджи и сливаются с PSV
- На концах ЭПР формируются PB.



Eliot M. Herman, and Brian A. Larkins Plant Cell 1999;11:601-613

©1999 by American Society of Plant Biologists

Проламины

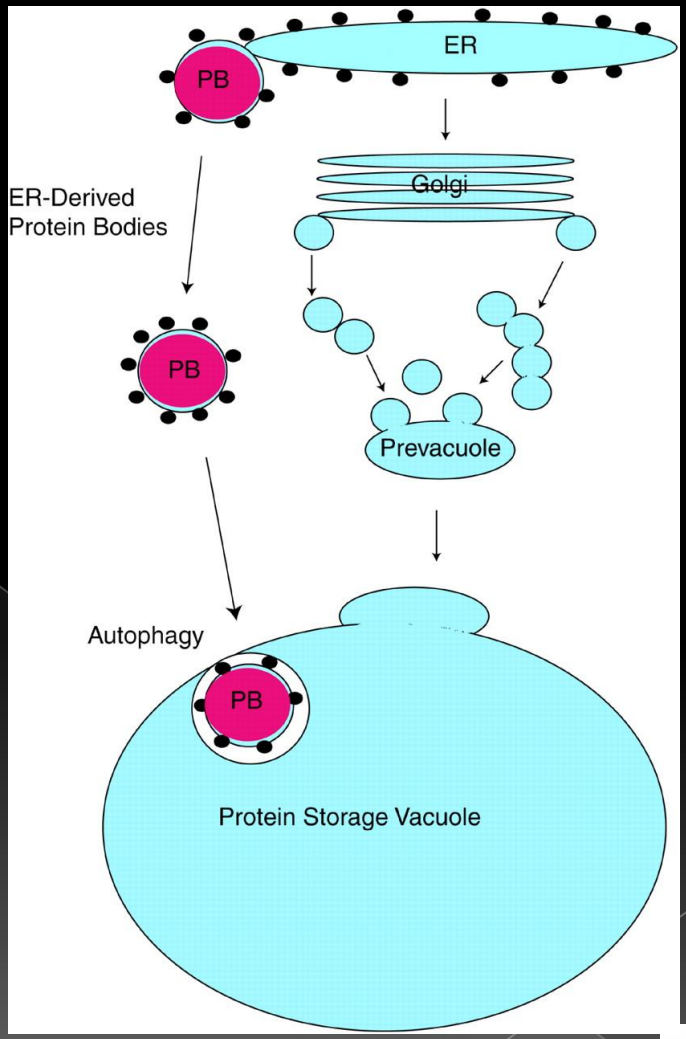
- Проламины – запасные белки у злаков.
- Они гидрофобны.
- Богаты пролином и глутамином (30-70%): повторяющиеся гидрофобные последовательности из 20 аминокислот
- Однако, агрегация обусловлена не только неспецифическими гидрофобными взаимодействиями (модель «ЭПР-сосиска»), а специфическими взаимодействиями между серо-богатыми и серо-бедными проламинами.

Пример: эндосперм кукурузы

- PBs формируются в люмене ЭПР и содержат 4 различных проламина: α-, β-, γ-, и δ-зеины.
- PBs наименьшего диаметра содержат β- и γ-зеины, богатые цистеином и сшитые дисульфидными мостиками.
- α- и δ-зеины, внедряясь в их компанию, расширяют PB до больших сферических структур, которые достигают от 1 до 2 μm в диаметре.

Транспорт белков в PSV

- PB могут оставаться связанными с ЭПР, могут жить своей жизнью, а могут скапливаться в PSV, оказываясь там путём автофагии (у пшеницы).
- Лишние мембраны затем могут растворяться с помощью ферментов вакуоли, и проламиновые комплексы оказываются непосредственно в вакуоли.
- Другие запасные белки оказываются в вакуоли из комплекса Гольджи, поскольку нуждаются в дополнительной модификации.

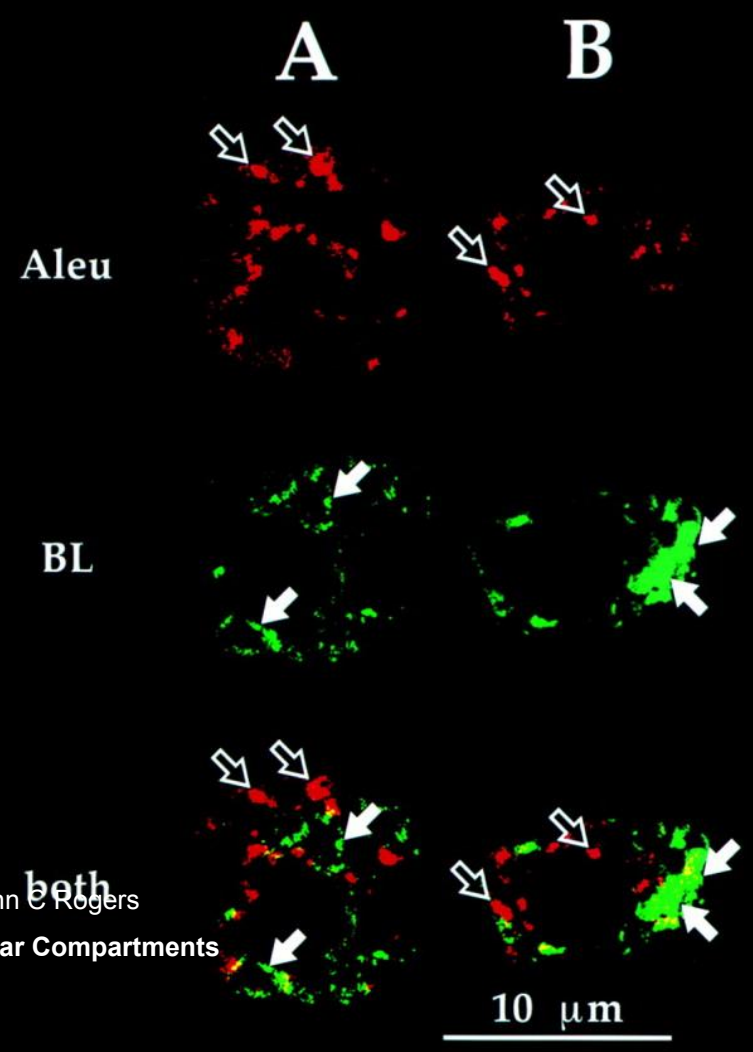


Eliot M. Herman, and Brian A. Larkins Plant Cell 1999;11:601-613

©1999 by American Society of Plant Biologists

Вакуолярные компартменты

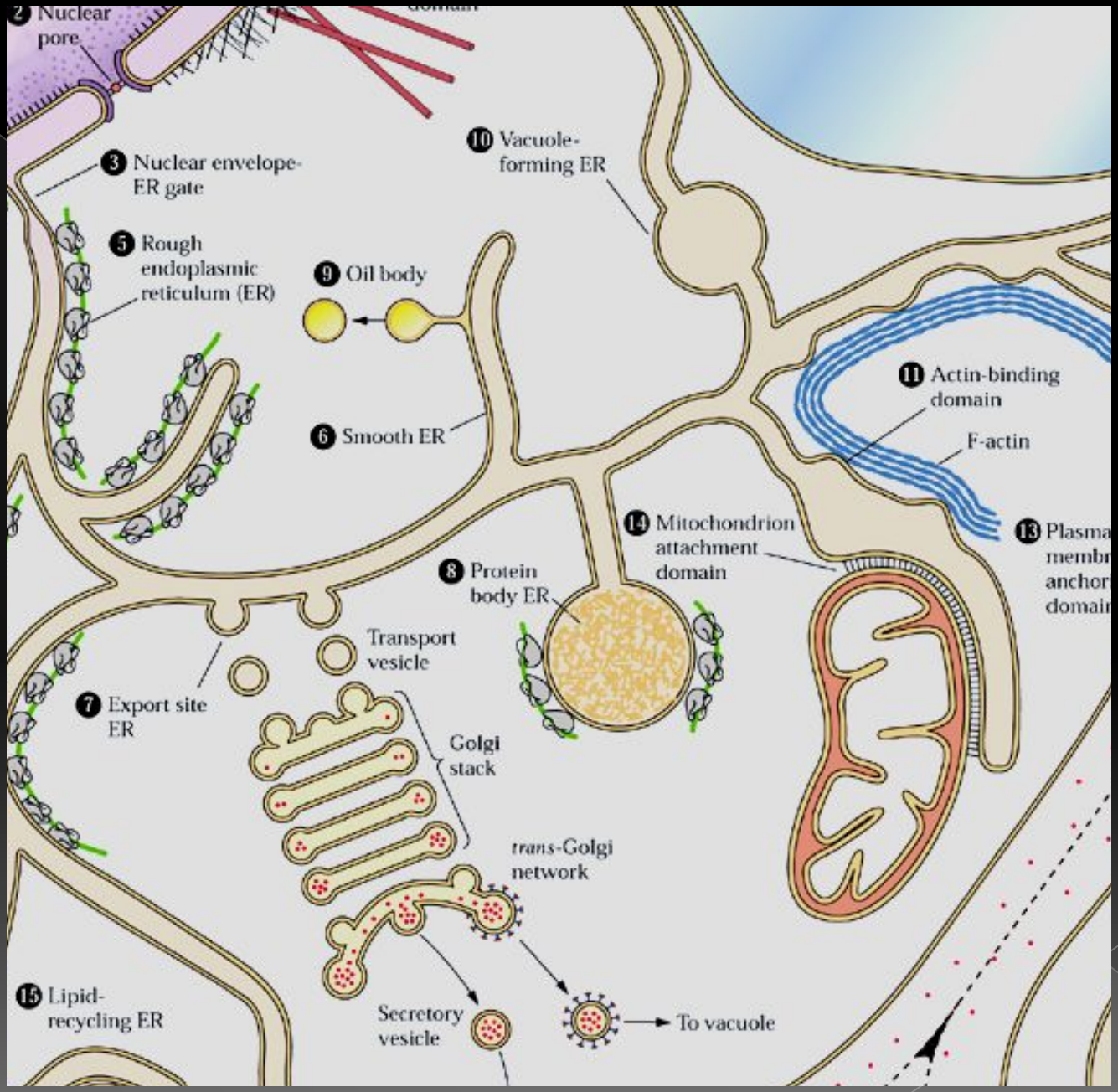
- В молодых клетках две группы вакуолярных белков локализованы в разных компартментах: 1. запасной, 2. литический.
- В большой вакуоли оба компартмента объединяются.



Nadine Paris, C.Michael Stanley, Russell L Jones, John C Rogers

Plant Cells Contain Two Functionally Distinct Vacuolar Compartments

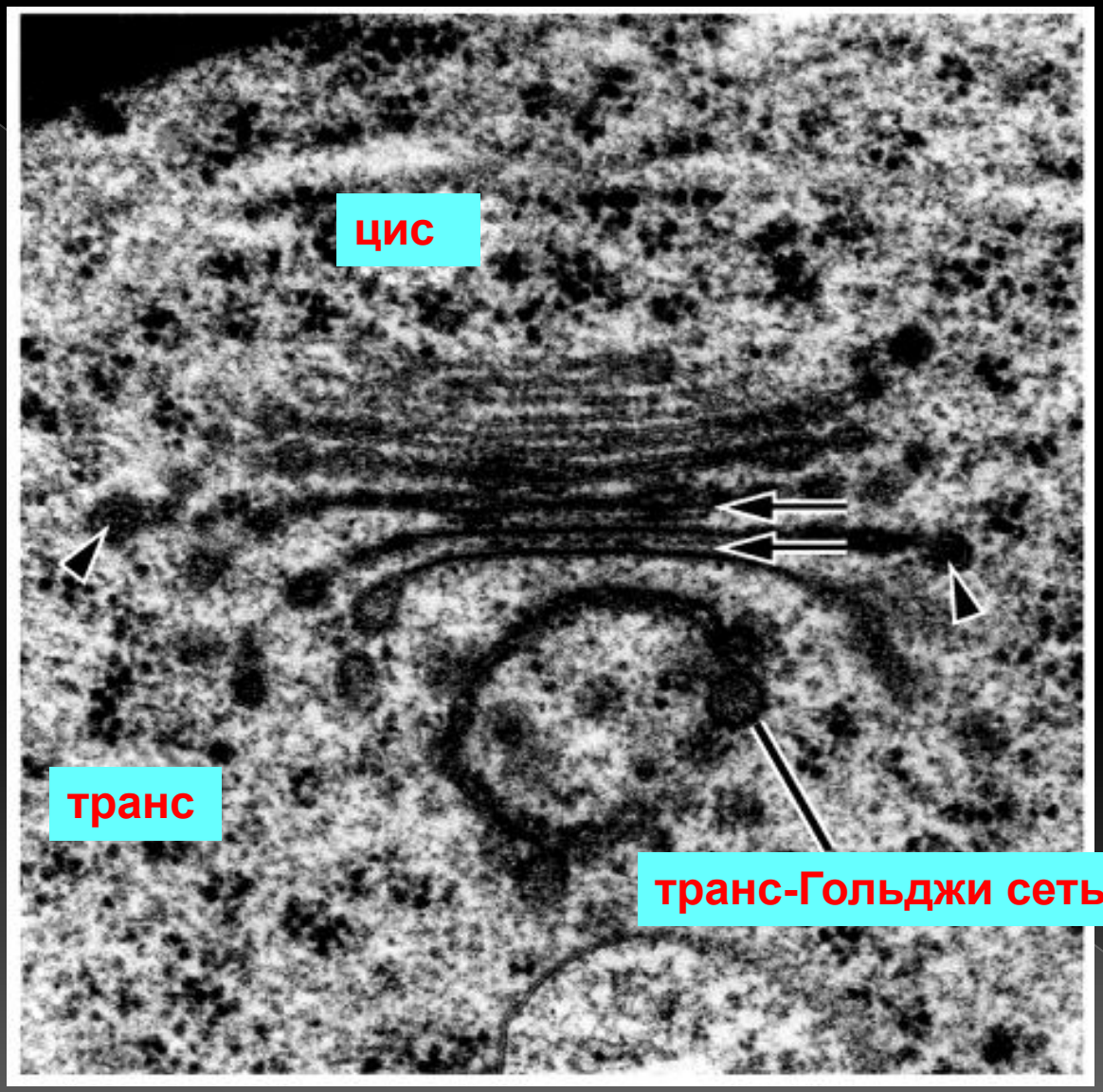
Cell, Volume 85, Issue 4, 1996, 563–572


2 Nuclear pore
3 Nuclear envelope-ER gate
5 Rough endoplasmic reticulum (ER)
9 Oil body
10 Vacuole-forming ER
6 Smooth ER
11 Actin-binding domain
F-actin
14 Mitochondrion attachment domain
13 Plasma membr anchor domai
8 Protein body ER
Transport vesicle
7 Export site ER
Golgi stack
trans-Golgi network
15 Lipid-recycling ER
Secretory vesicle
To vacuole

Функции аппарата Гольджи?

1. Биохимическая модификация белка. «Дозревание» белков, предназначенных для секреторного пути
2. Биосинтез полисахаридов матрикса клеточной стенки
3. Секреторный путь транспорта. Везикулярный транспорт. Рециклирование клеточных мембран.

Полярность аппарата Гольджи



New Phytologist

Review

Tansley review

Cell biology of the plant Golgi apparatus

Author for correspondence:
Chris Hawes
Tel: +44 (0) 1865 483266
Fax: +44 (0) 1865 483955
Email: chawes@brookes.ac.

X3 0BP, UK

Received: *6 May 2004*
Accepted: *15 July 2004*

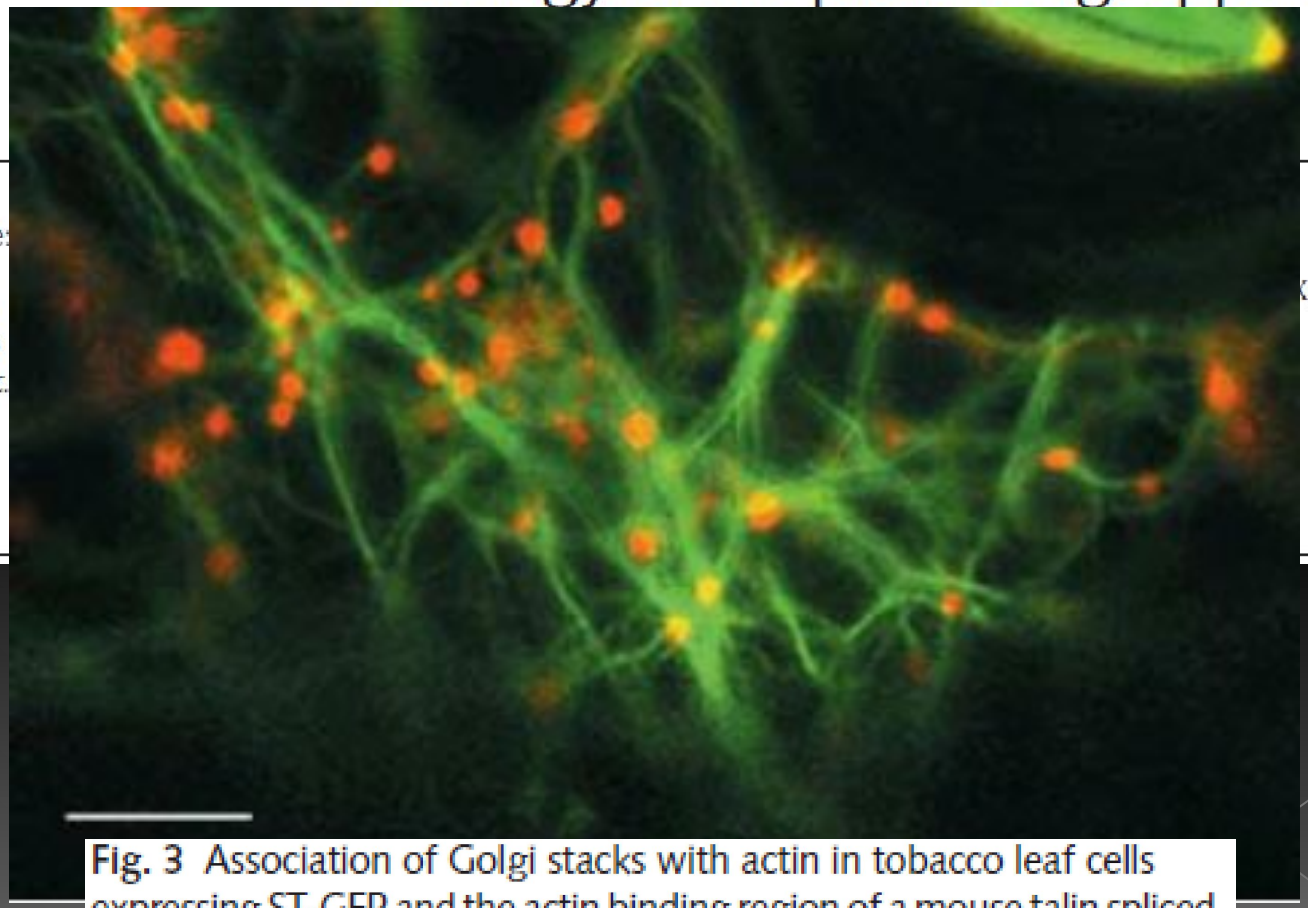
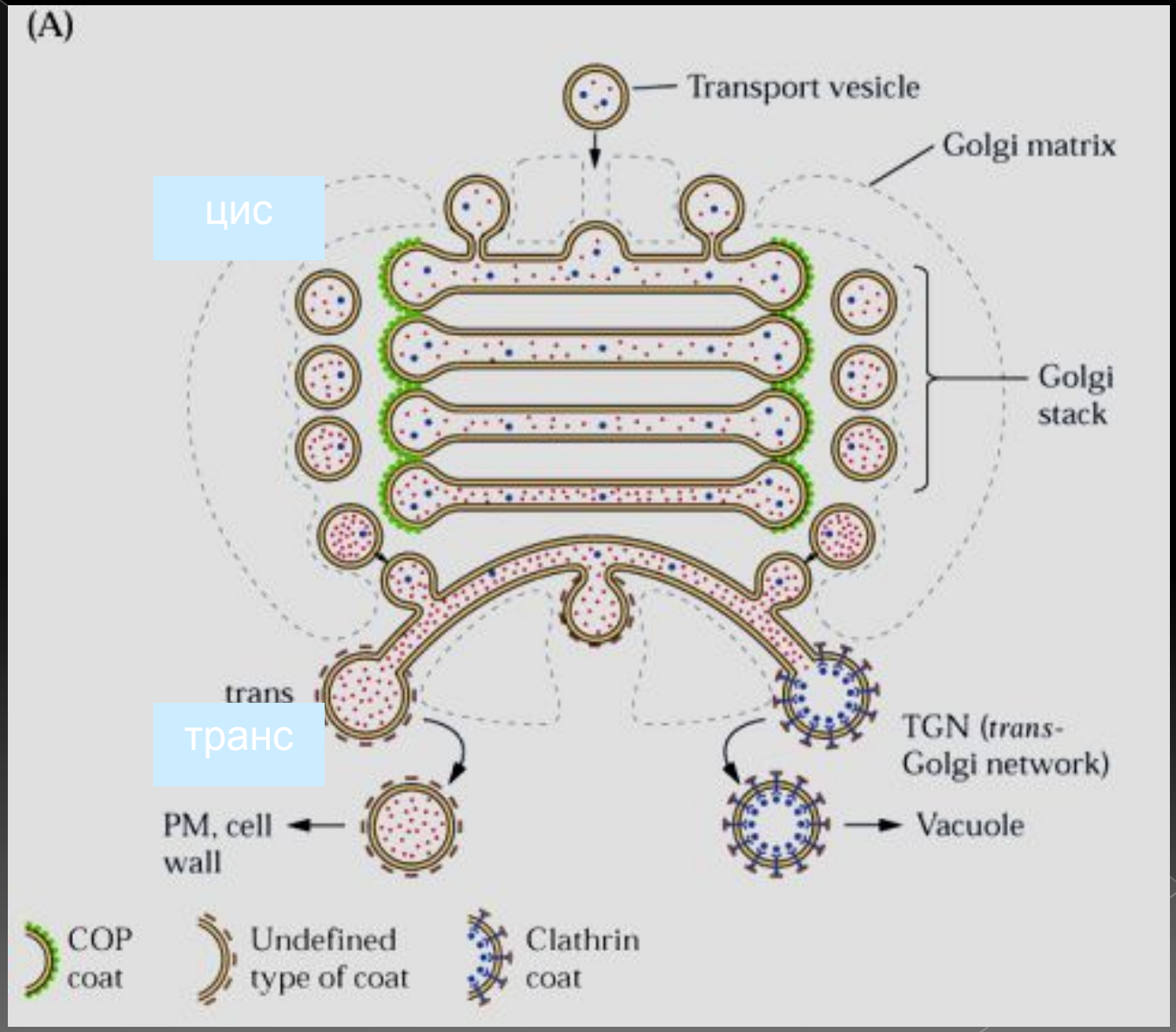


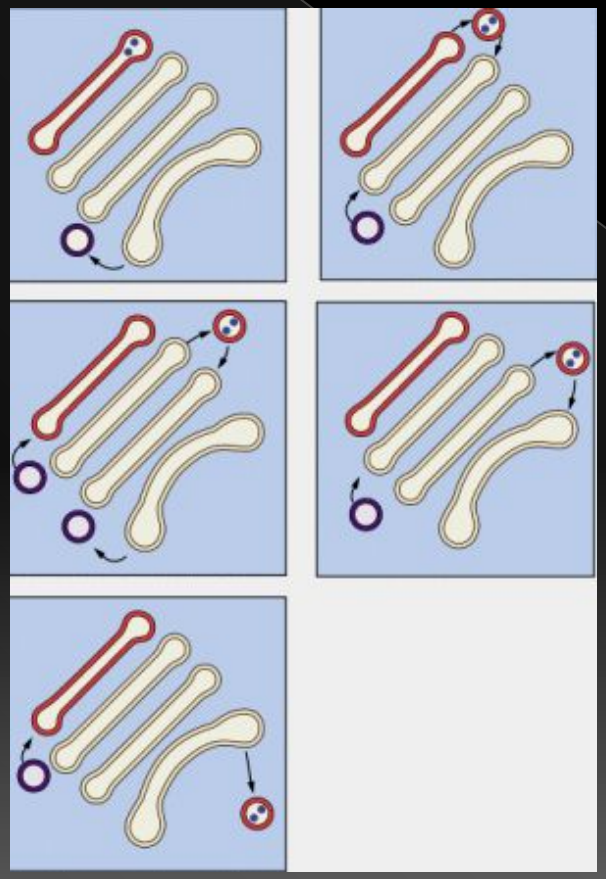
Fig. 3 Association of Golgi stacks with actin in tobacco leaf cells expressing ST-GFP and the actin binding region of a mouse talin spliced to YFP (red channel). Bar, 10 μm. (Courtesy of Federica Brandizzi.)

Аппарат Гольджи в виде схемы

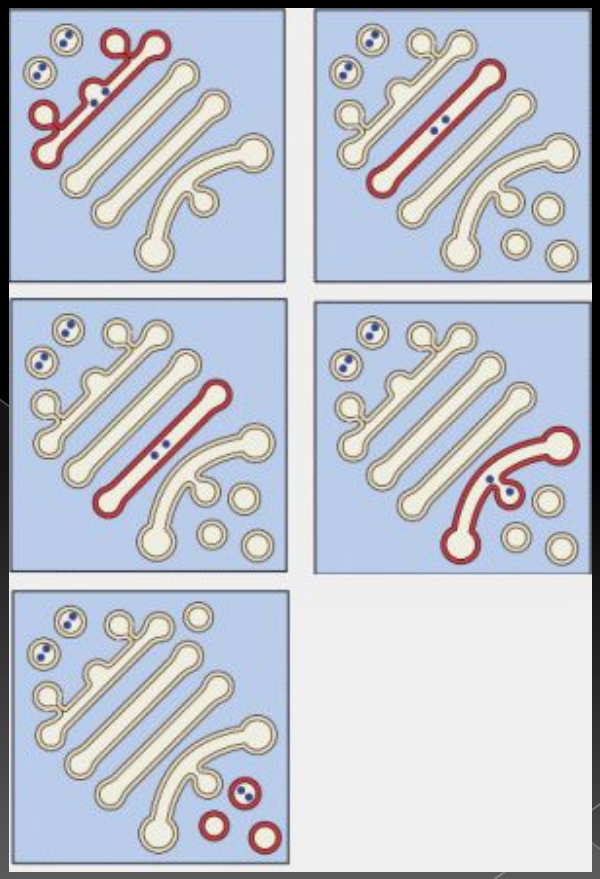


Гипотезы о природе транспорта материала через ап.Гольджи

а) челночный транспорт

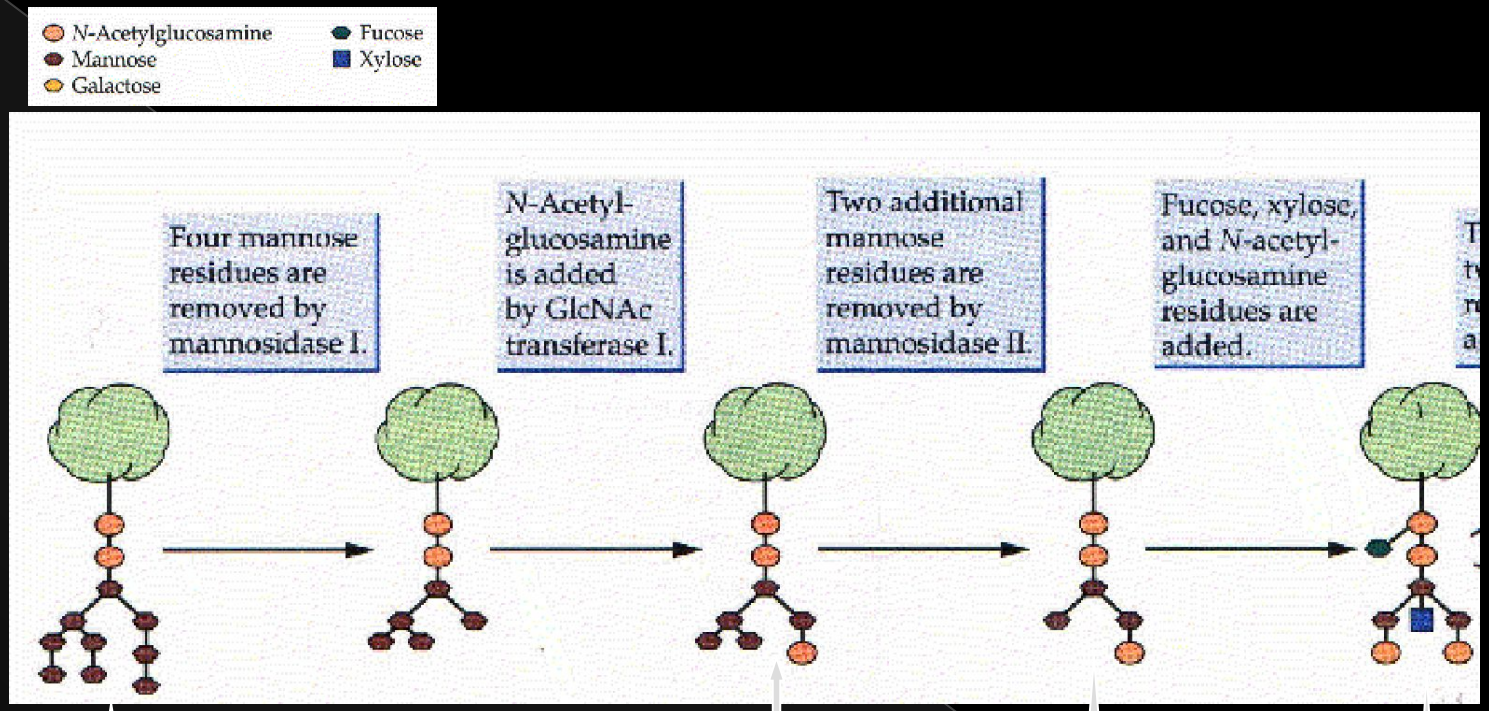


б) перемещение цистерн



Функции аппарата Гольджи в процессинге белков

- Сложные модификации N-связанных гликанов.
- О-гликозилирование серина, треонина и гидроксипролина в составе белковой молекулы.

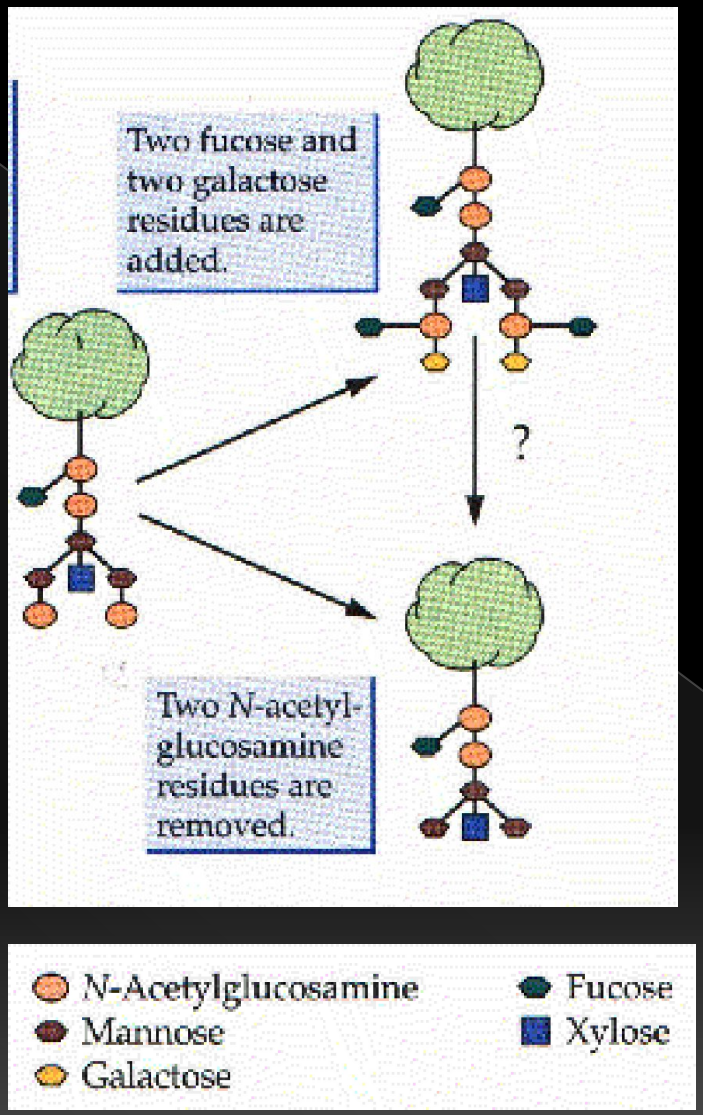


Маннозидаза I
отщепление 4 молекул маннозы

GlcNAc-трансфераза I
присоединяет N-ацетилглюкозамин к одной из оставшихся молекул маннозы;

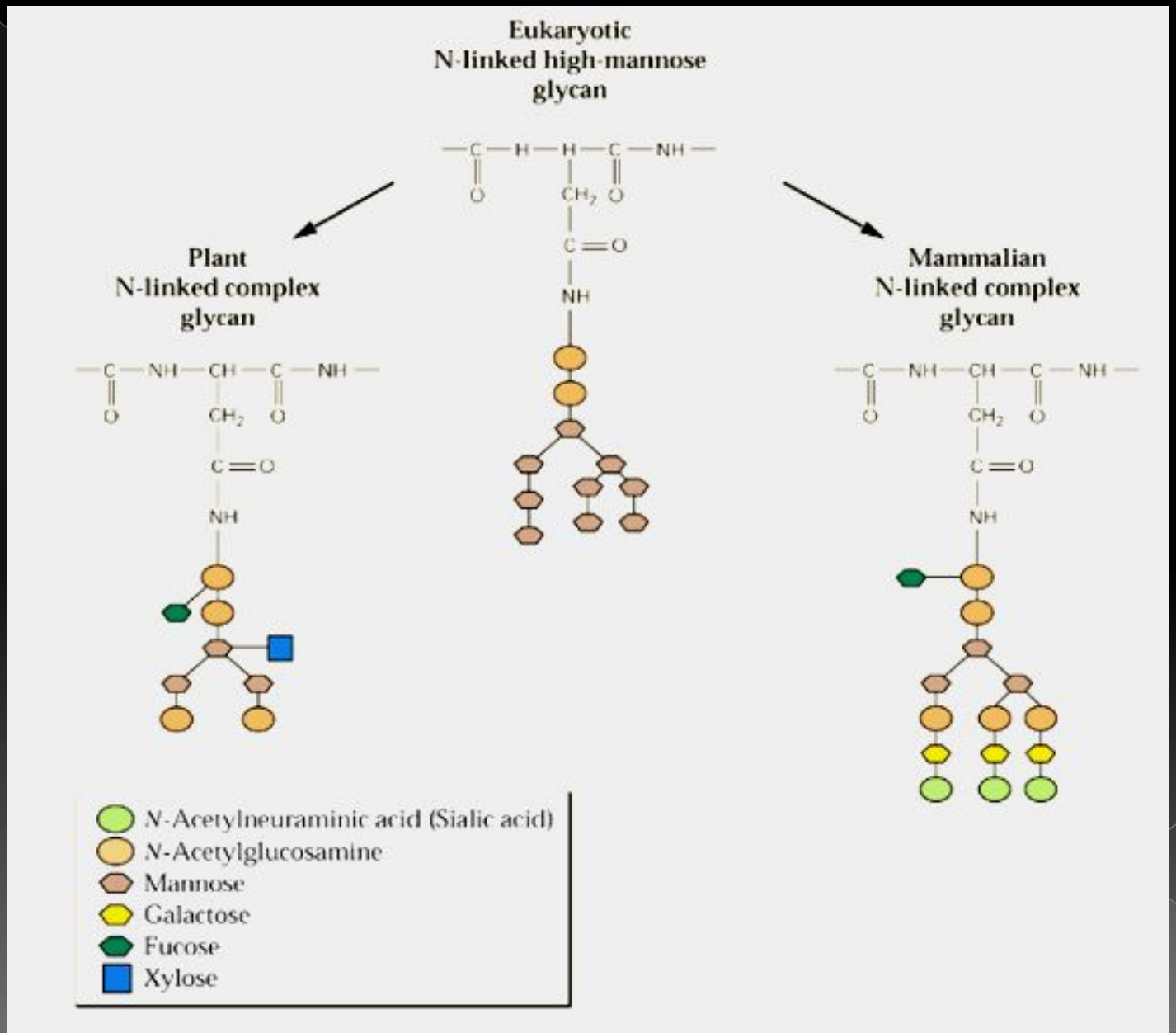
Маннозидаза II отщепляет еще два маннозных остатка;

Присоединение фукозы, ксилозы и второй молекулы ацетилглюкозамина GlcNAc-трансферазой II

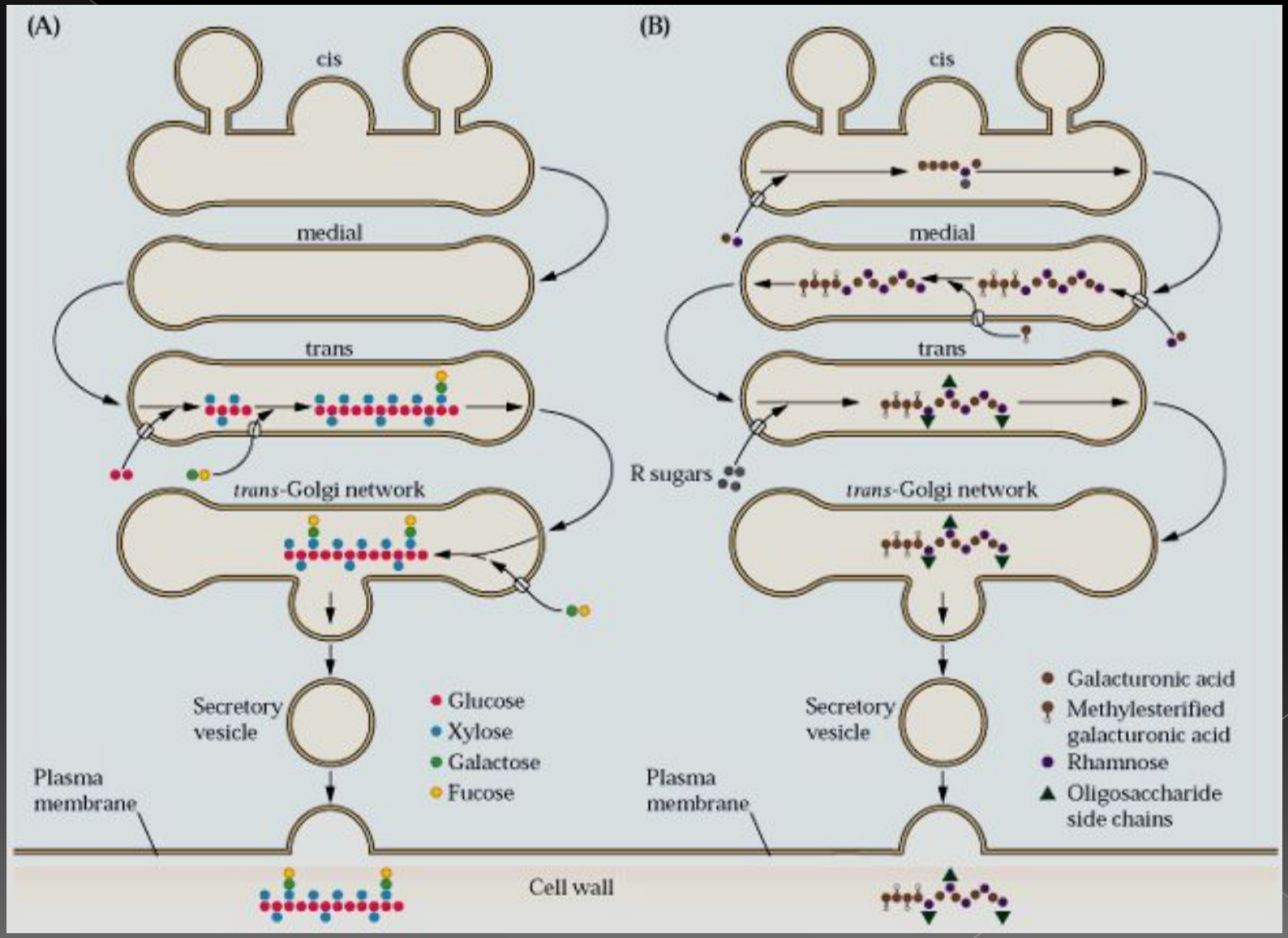


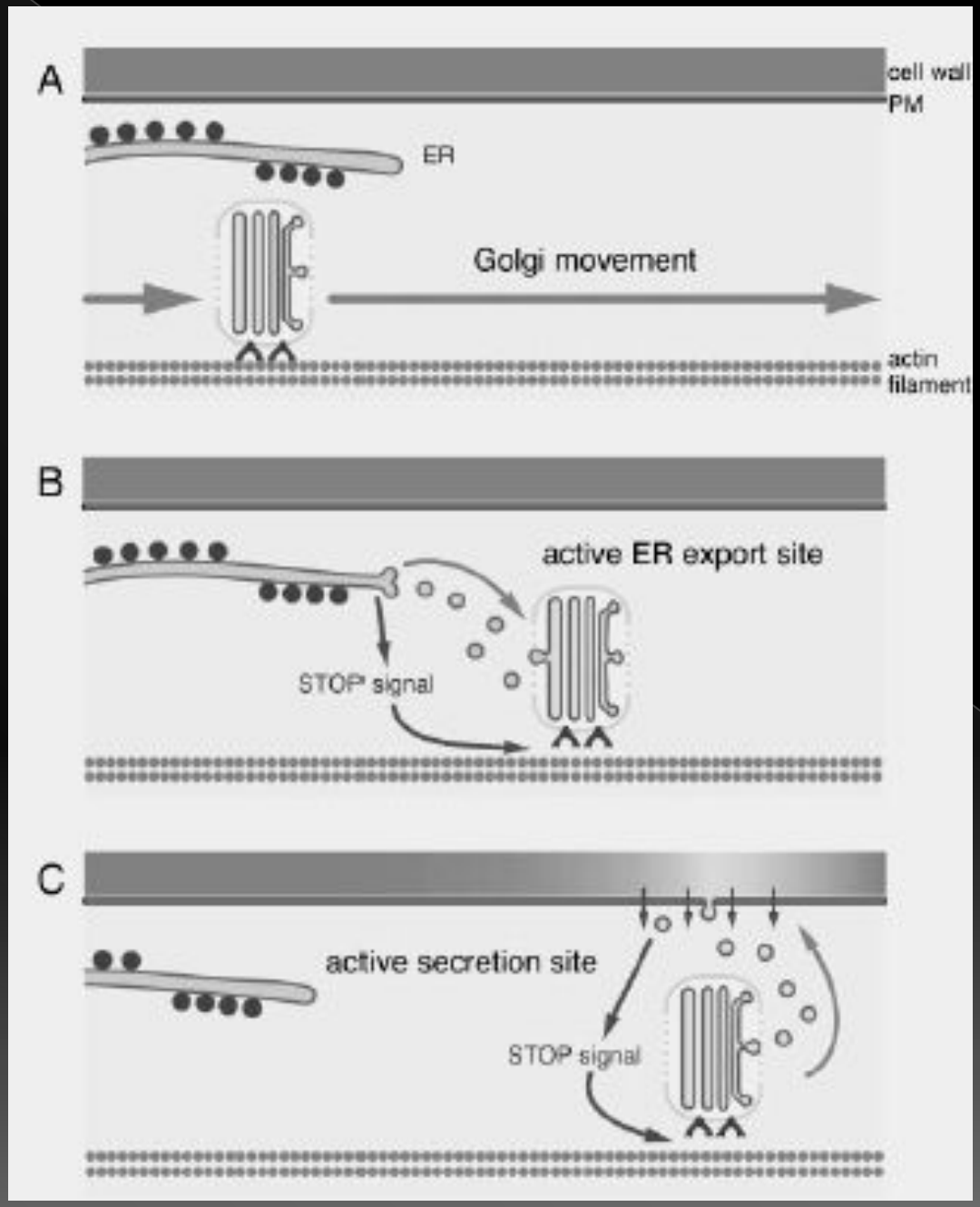
Фракция 3 (наименее плотная): содержит ферменты присоединения двух молекул фукозы и двух молекул галактозы;
два N-ацетилгюкозамина удаляются

Сравнение биохимической модификация углеводной части белков у растений и животных



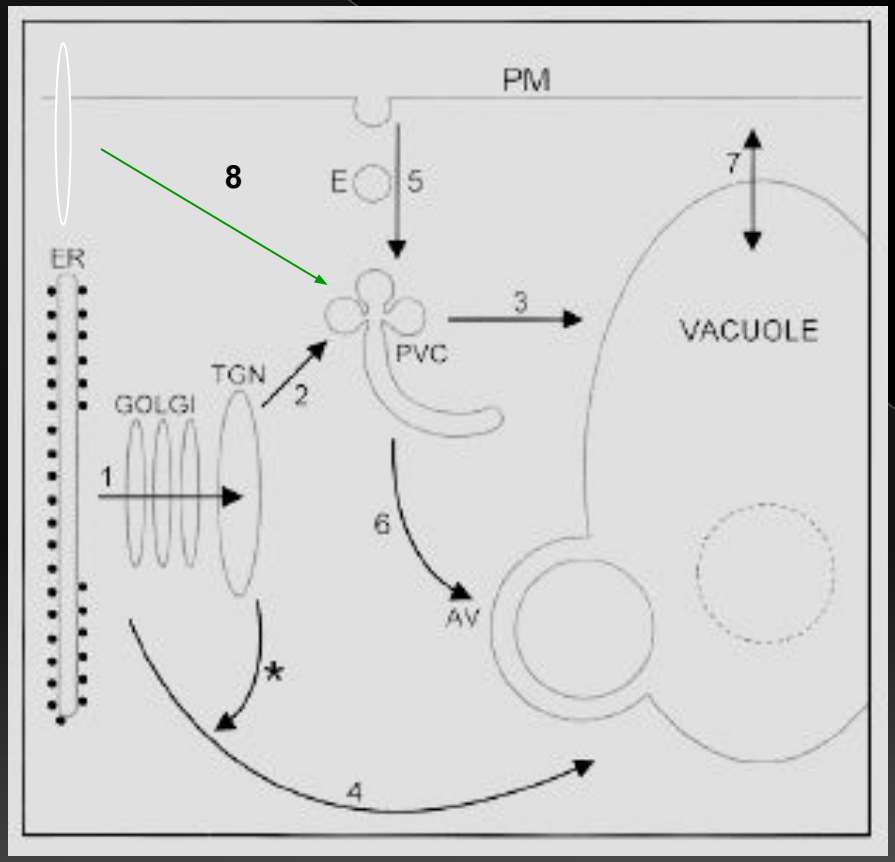
Биосинтез полисахаридов КС: гликанов и пектиновых в-в





Актиномиозиновая система клетки обеспечивает движение стопок Гольджи в клетке по принципу «остановились – пошли».

Перемещение стопок Гольджи связано с функционированием секреторного пути транспорта везикул.



Семь основных путей используются при формировании вакуолей.

1: ранний секреторный путь: от ЭПР до транс-Гольджи

2: Сортировка vacuolar белков в транс-Гольджи сети (TGN) для превакуолярного компартмента

(PVC) и доставка через ранний секреторный путь.

3: транспорт от превакуолярного компартмента PVC до вакуоли через поздний секреторный путь

4: транспорт от раннего секреторного пути (ЭПР - Гольджи) к вакуоли через альтернативный маршрут с возможным дополнительным обеспечением материалом от Golgi (обозначенный Звездочкой).

5: эндоцитоз от поверхности клетки к вакуоли через эндосомы

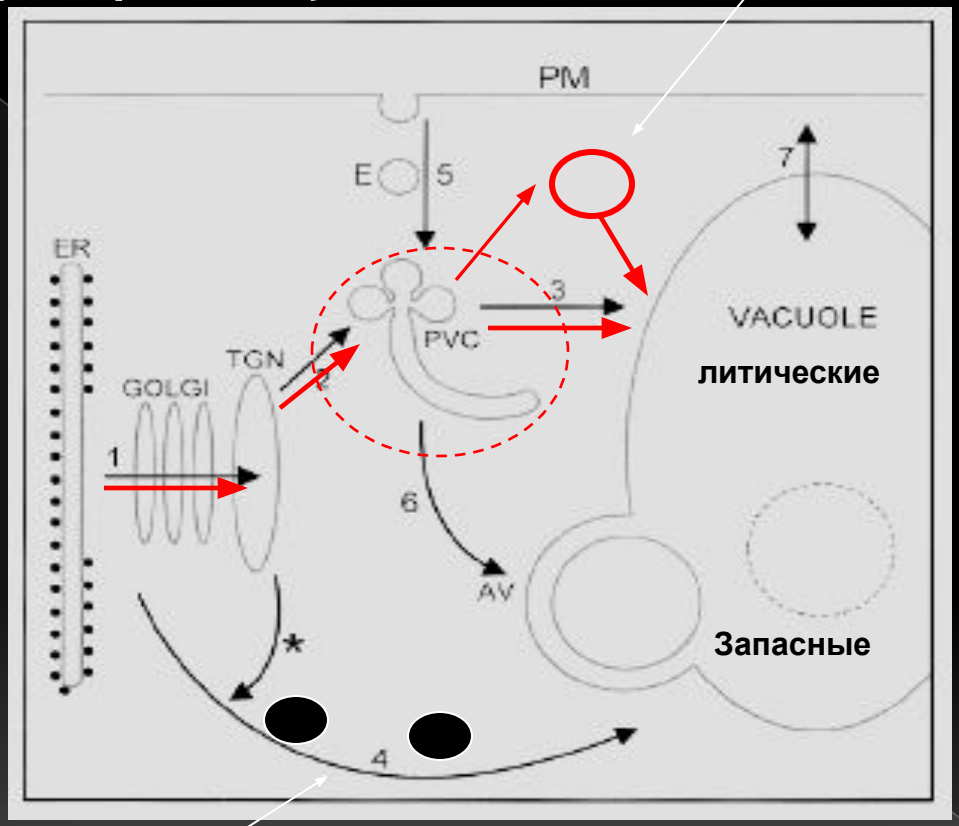
6: аутофагия цитоплазмы

7: транспорт ионов и растворов через тонопласт.

8: расширение полостей гладкого ЭПР

Вакуоль – конечный пункт секреторного пути

Клатриновые везикулы



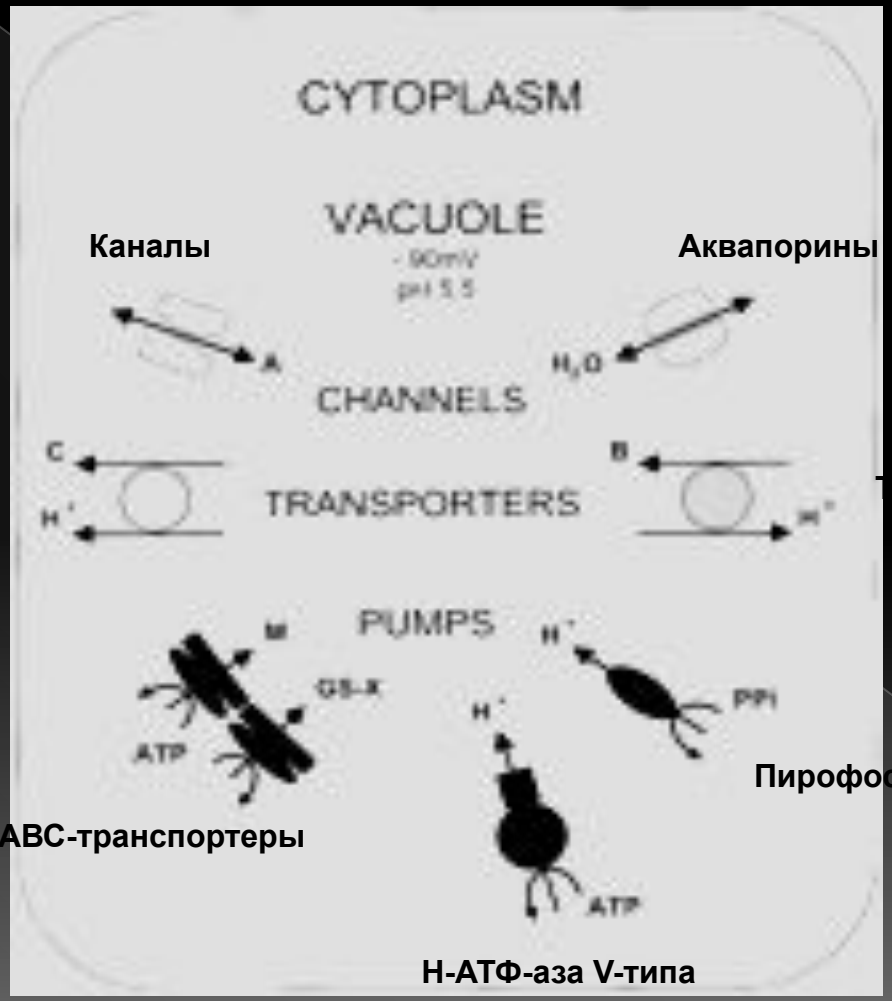
Транспорт оптически плотных везикул: ЭПР------зап.В

Формирование белок запасающих вакуолей

Функции вакуоли

- поддержание тургора
- гомеостатирование цитоплазмы
- запасание продуктов метаболизма
- изолирование ксенобиотиков
- разложение компонентов цитоплазмы
- защита от патогенов и травоядных
- пигментация

Функции вакуоли во многом определяются транспортными свойствами тонопласта



http://www.plantcell.org/content/early/2015/03/27/tpc.114.135731.short?rss=1
Три по кинезинам
http://www.nature.com/articles/nplants201587
http://www.cell.com/molecular-plant/abstract/S1674-2052(15)00091-X
http://www.plantphysiol.org/content/early/2015/02/02/pp.114.251462
Обзор по виллинам
http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jipb.12293/pdf
Обзор по экстенсинам
http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369526615000655