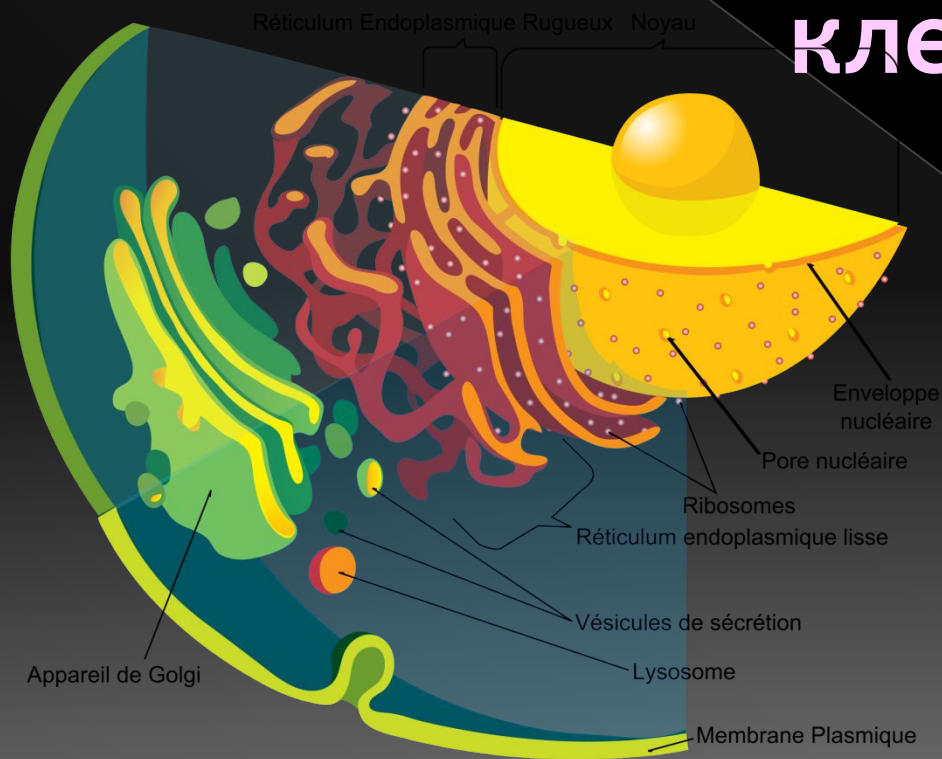


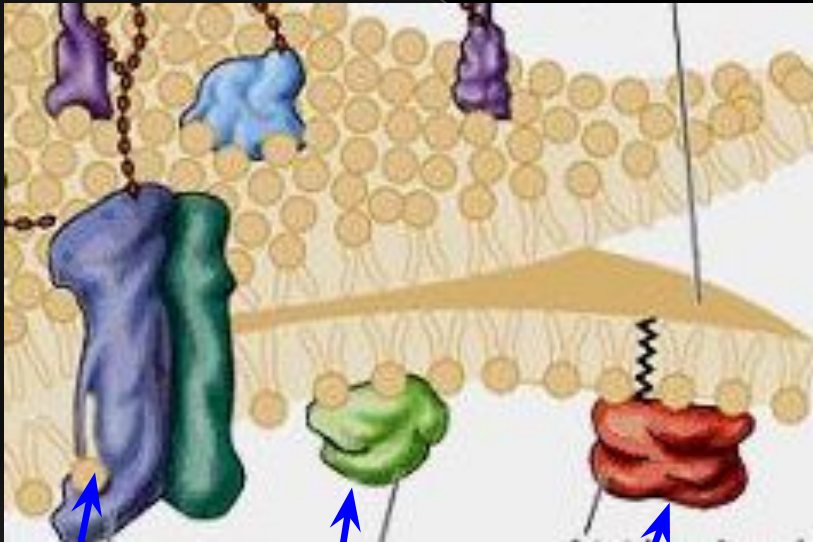
Система мембран растительной клетки



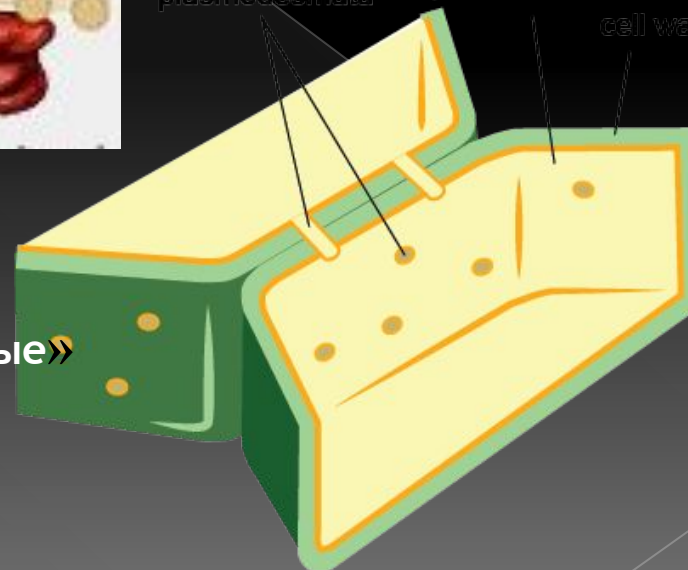
Строение мембраны. Белки.

Липиды : белки : углеводы
40 : 40 : 20

Мембраны соседних
клеток образуют
непрерывн



plasmodesmata
plasma membrane
cell wall



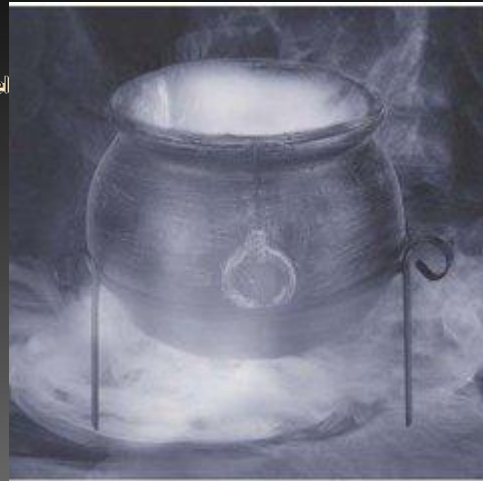
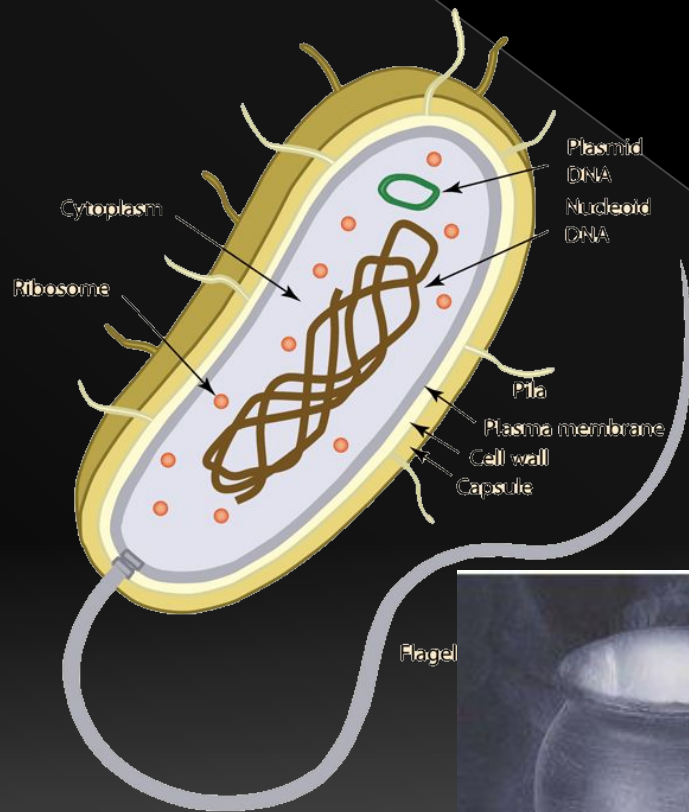
TEM image of cell wall
structure in plant roots

Интегральные

Периферийные

«Заякоренные»

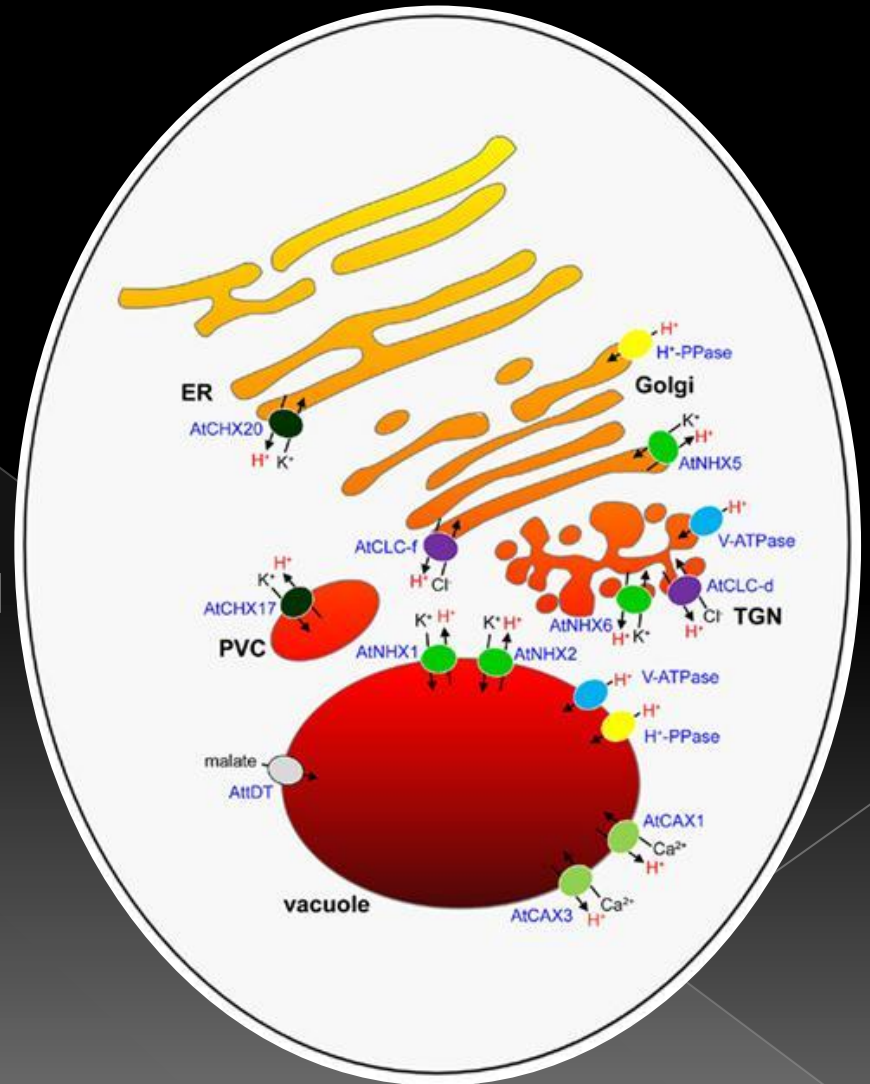
Принцип компартиментации. Элементарный компартимент.



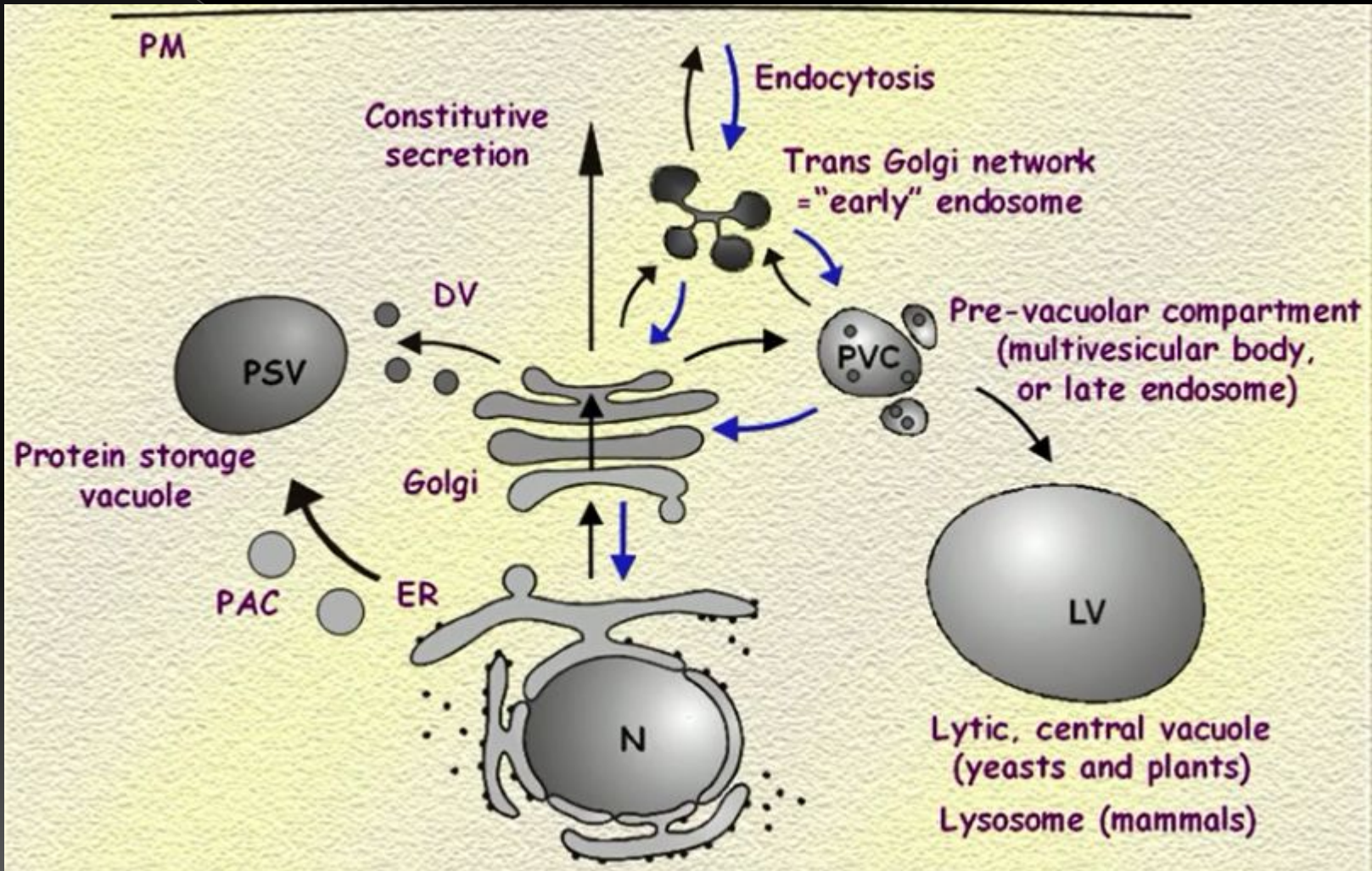
- ◎ Примитивная прокариотическая клетка представляет собой простейшую однокомпартиментную систему.
- ◎ Одна оболочка, одна ДНК, одна цитоплазма - один «котёл»

Компартменты растительной клетки

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

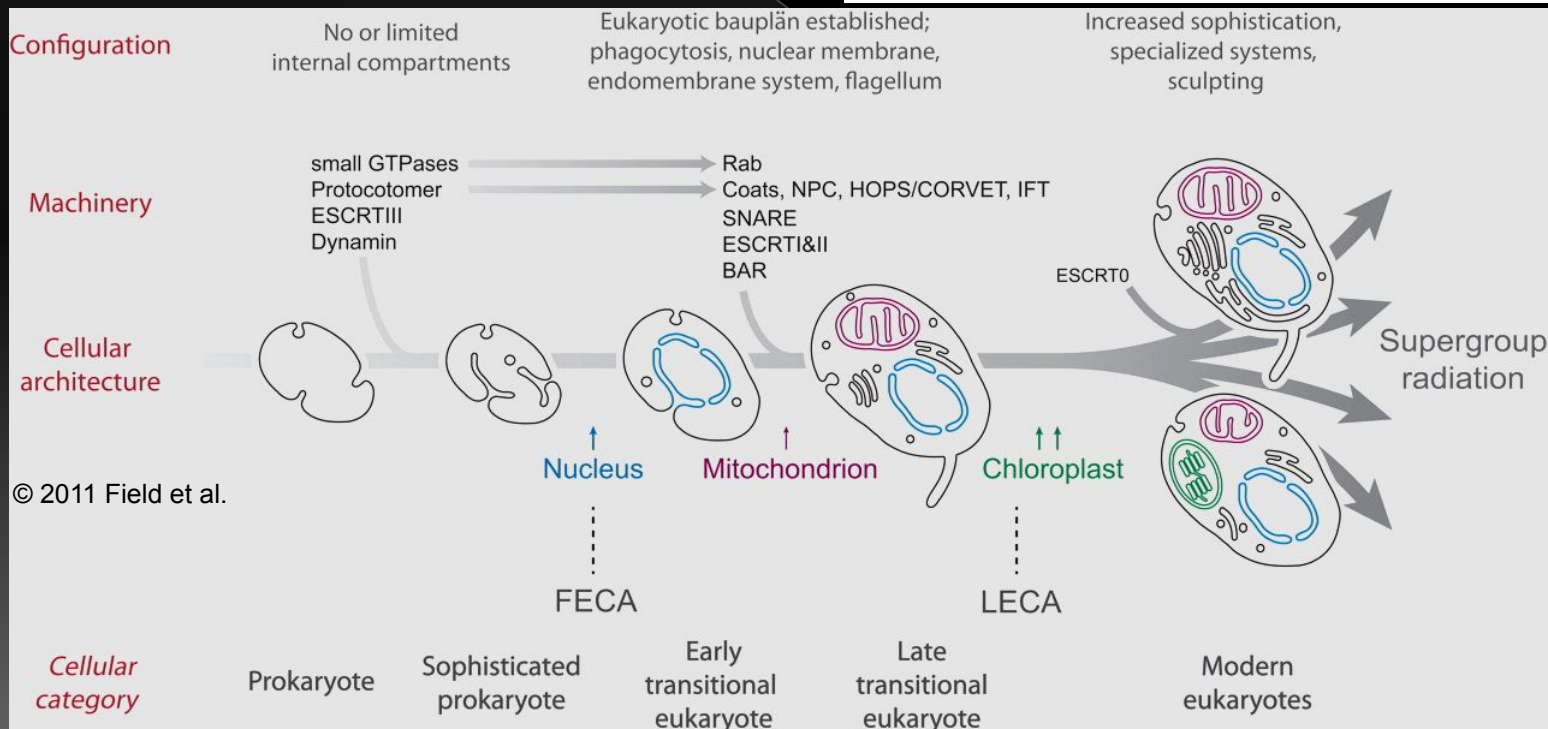
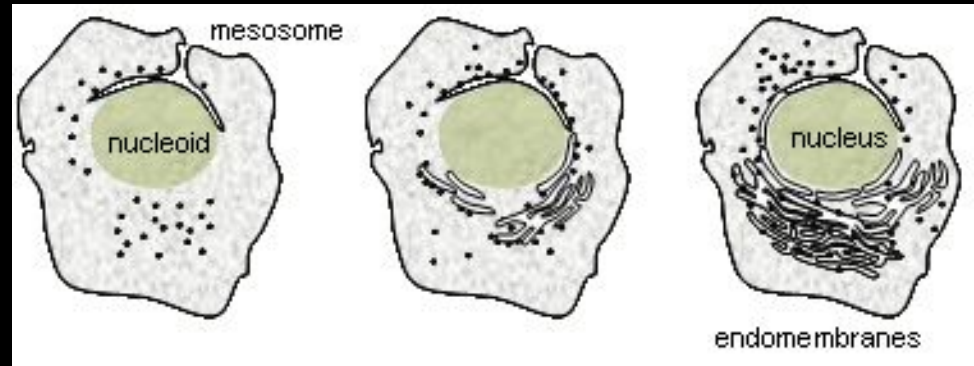


Как сейчас представляют ЭМС



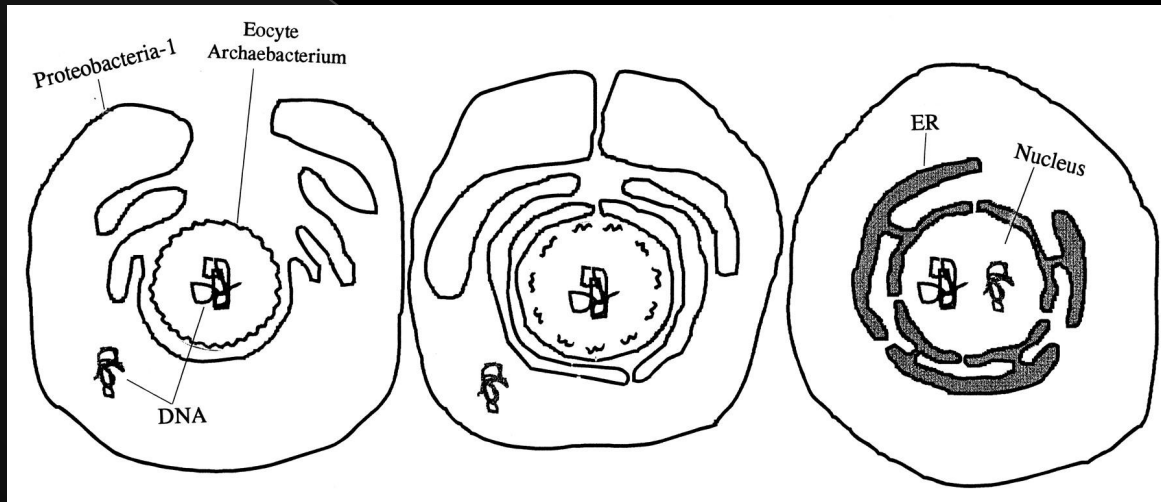
Гипотеза о возникновении ЭМС от плазмалеммы

Как всё это великолепие появилось в эволюции?



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 archaeobacterium 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

Онтогенетическая непрерывность ЭМС

> Плазмалемма

> Вакуоль (тонопласт)

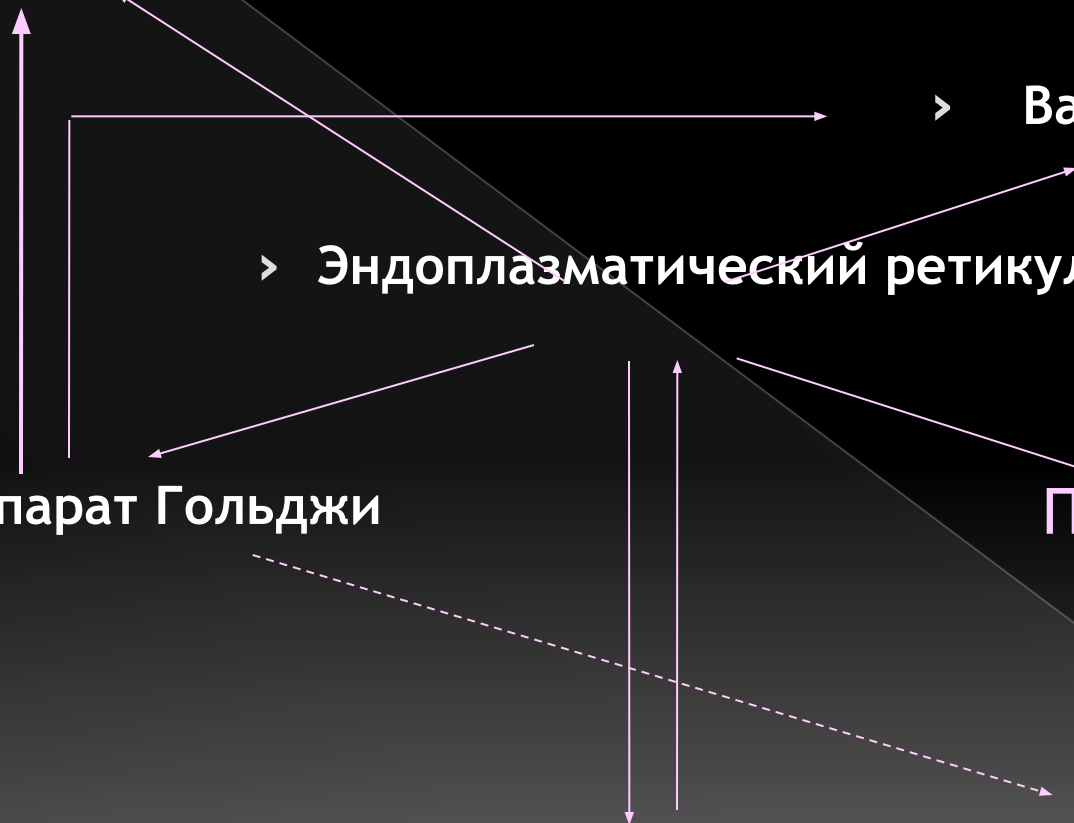
> Эндоплазматический ретикулум

> Аппарат Гольджи

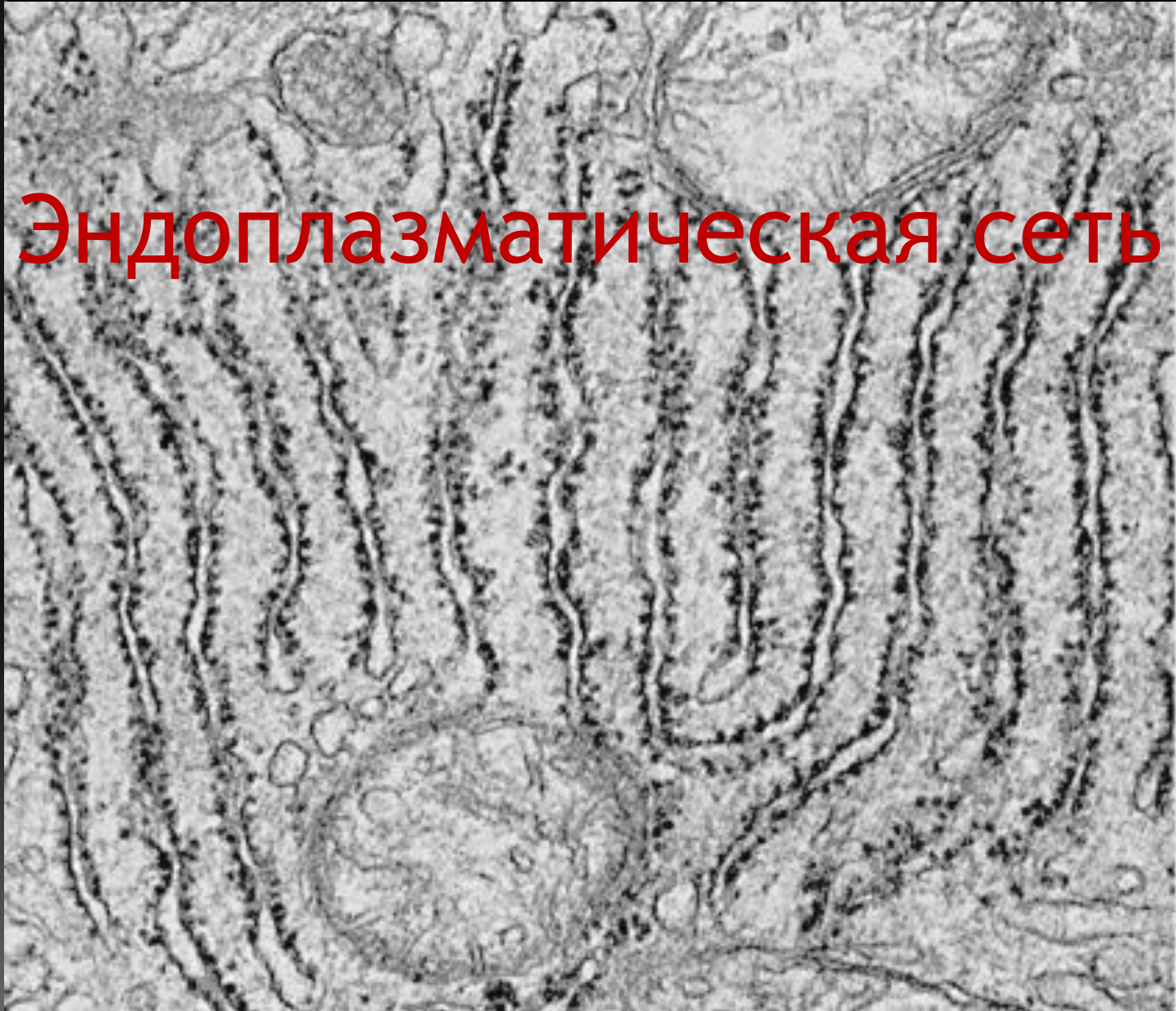
Плазмодесмы

> Глиоксисомы

> Ядерная мембрана

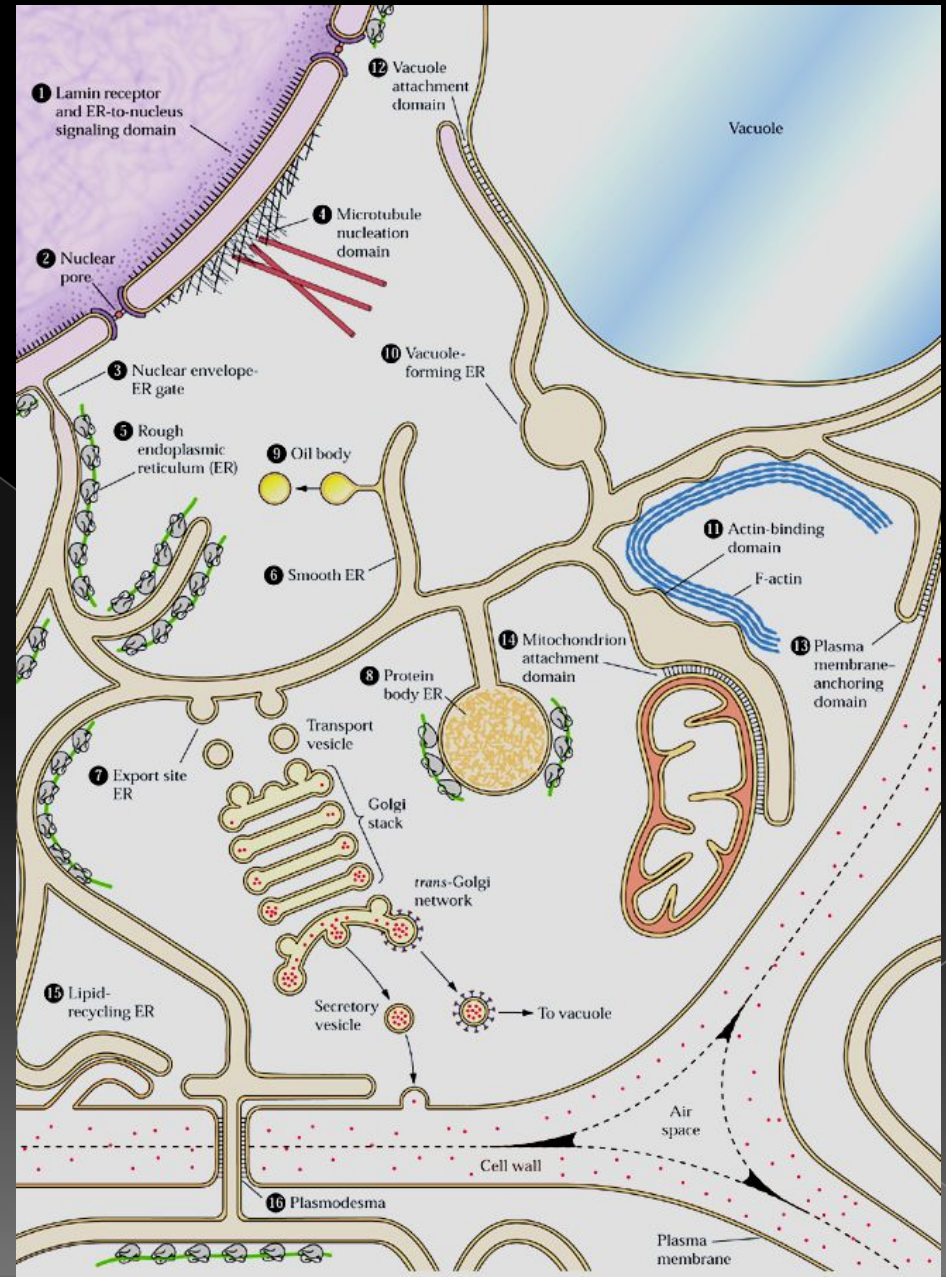


Эндоплазматическая сеть

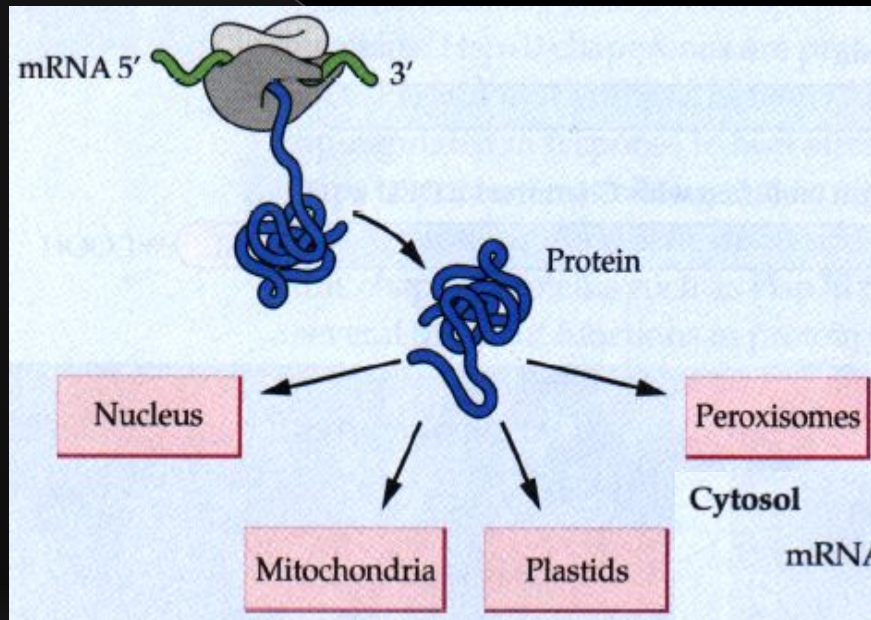


Контакты

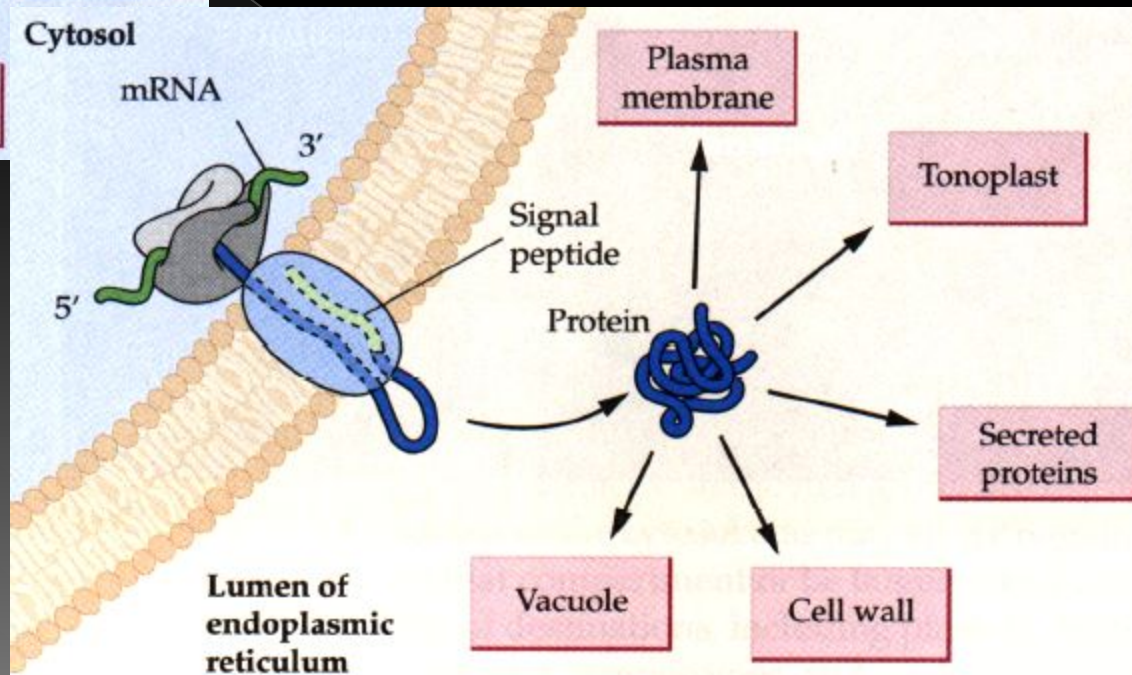
- ЭПР наиболее тесно взаимосвязан с двумя структурами: ядерной оболочкой и аппаратом Гольджи.
- Между ЯО и ЭПР замечены многочисленные зоны контакта.
- Однако недавно такие же зоны контакта были замечены между ЭПР и Гольджи (ранее считалось, что транспорт веществ между ними возможен только путём упаковки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



Два пути для белка: цитоплазматический и секреторный

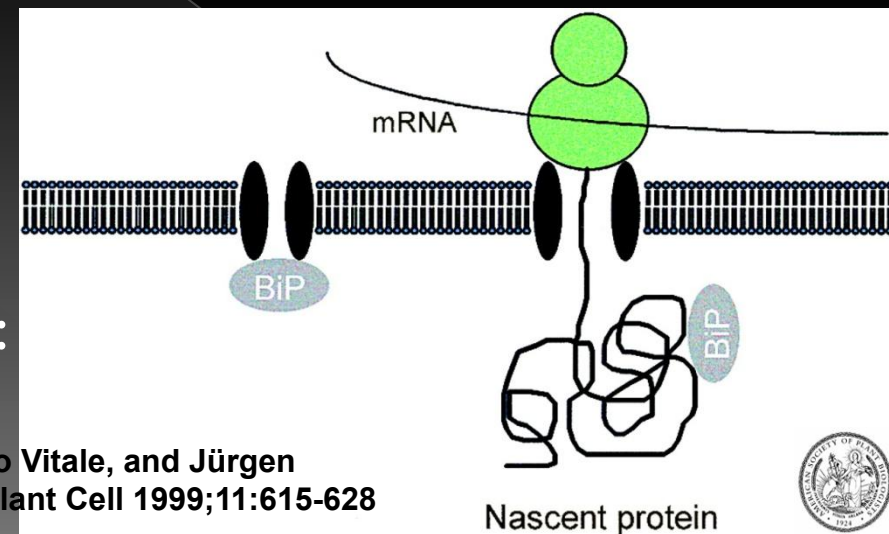
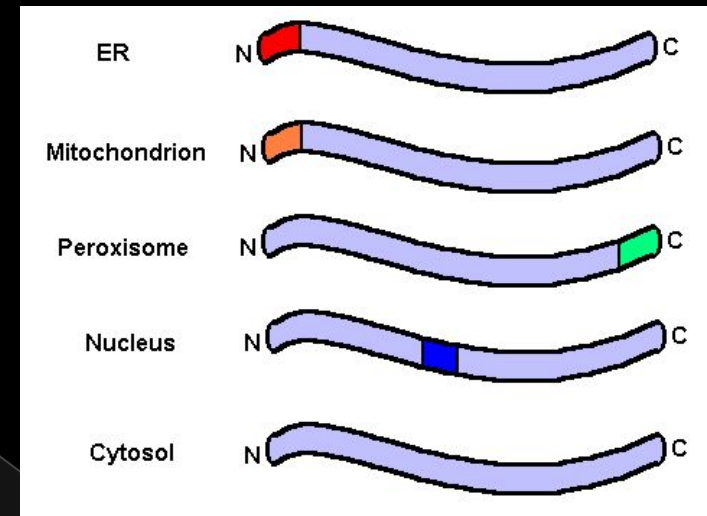


У *Arabidopsis thaliana* чуть более 17% белков имеют сигнальный пептид, и 33% имеют хотя бы один трансмембранный домен, а значит, вероятно, ассоциированы с ЭПР и другими компонентами секреторного пути.



Шероховатый ЭПР - добро пожаловать на секреторный путь!

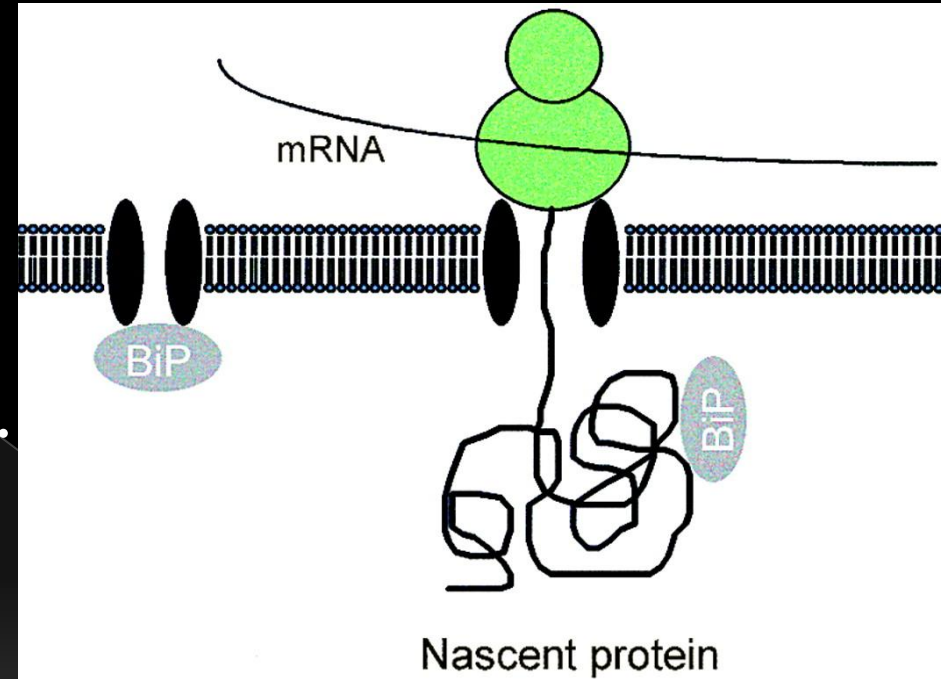
- Около 13 миллионов рибосом «украшают» поверхность ЭПР.
- Все рибосомы одинаковы (цитоплазматические и ЭПР). Прикрепится она или нет, зависит от сигнальной последовательности мРНК (N - концевой лидерный пептид).
- Перенос полипептида происходит котрансляционно.
- Затем происходит сворачивание белка.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



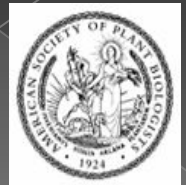
Котрансляционный перенос

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.

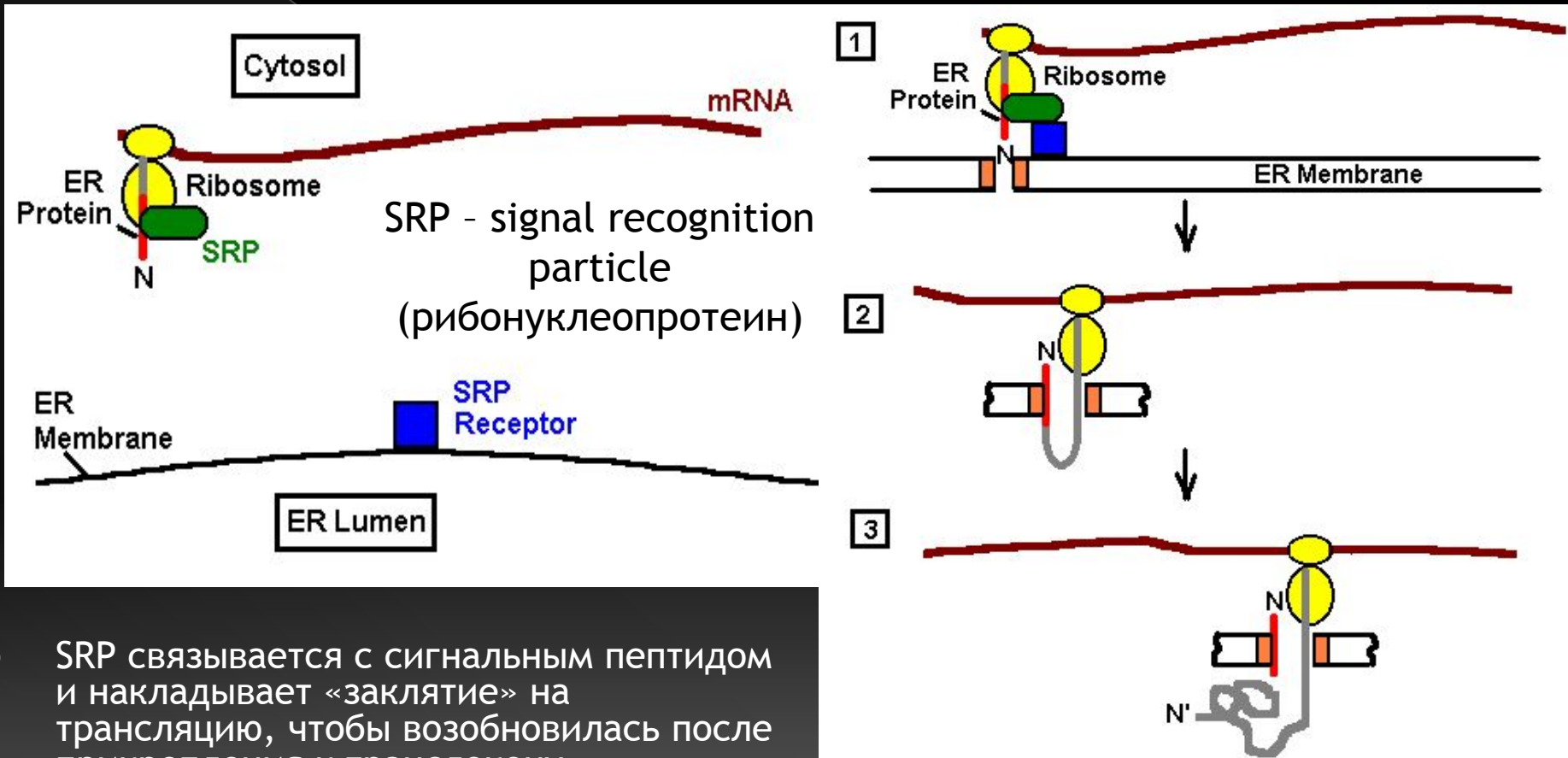
luminal binding protein (BiP) закрывает пору с люменальной стороны. Когда он занят транслокацией белка, пору прикрывает рибосома.



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



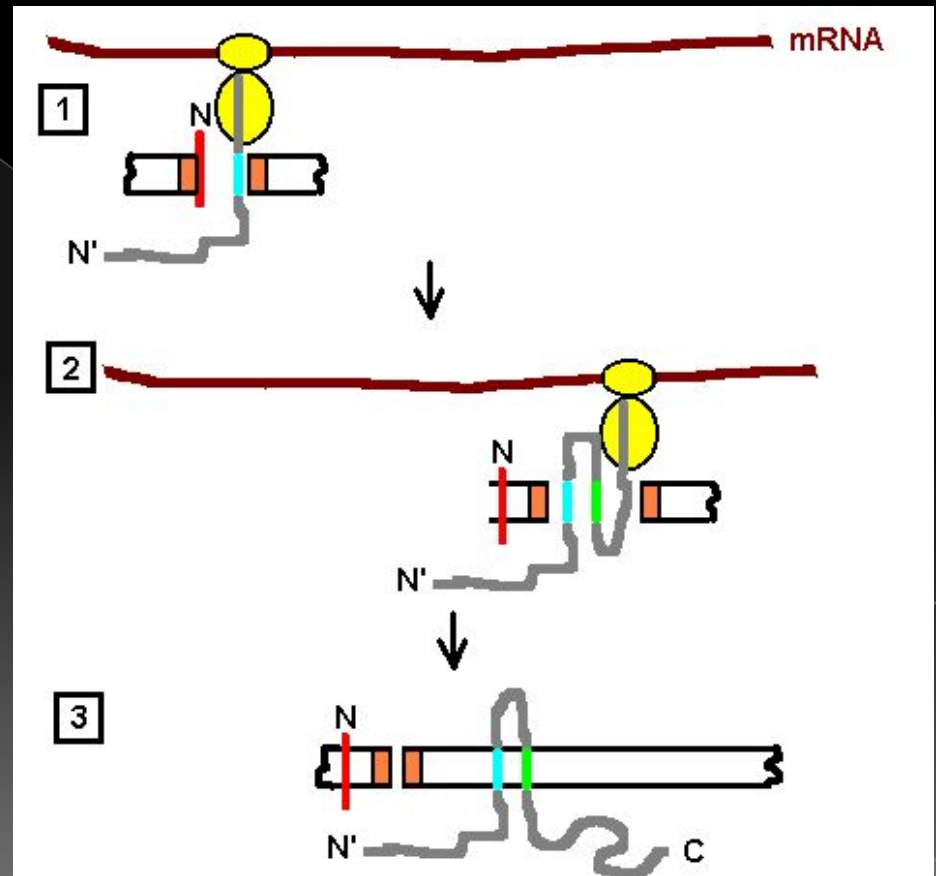
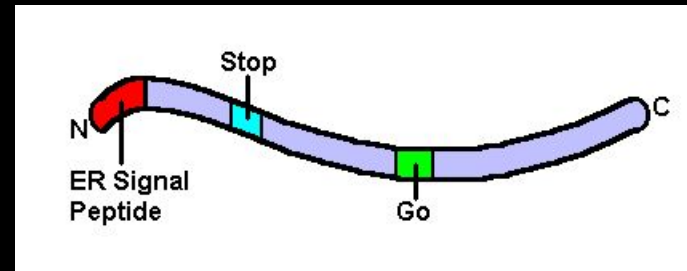
Откуда рибосома узнает?



- 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).

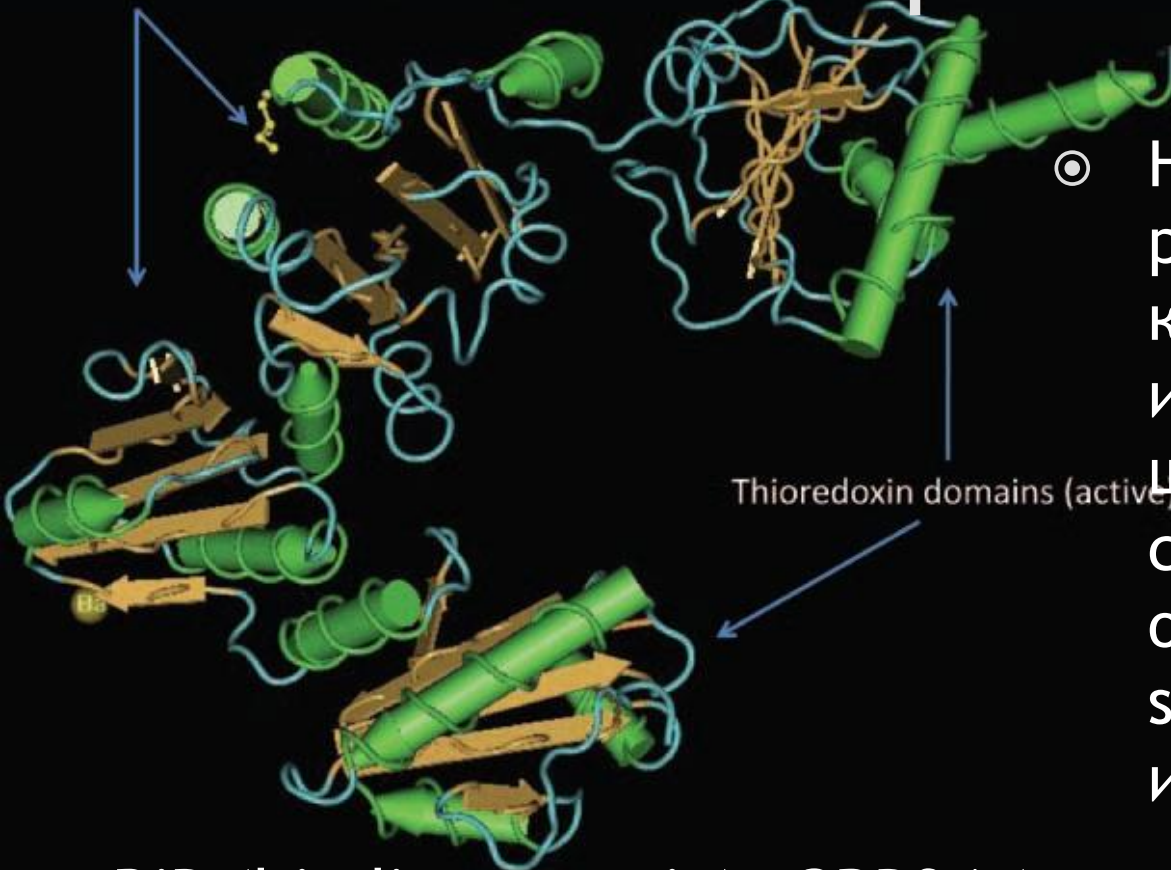
А если белок мембранный?

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



Thioredoxin domains (inactive)

Шапероны и фолдины



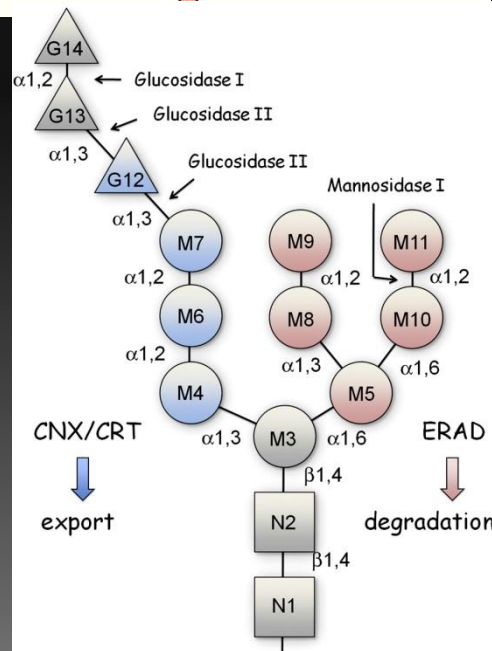
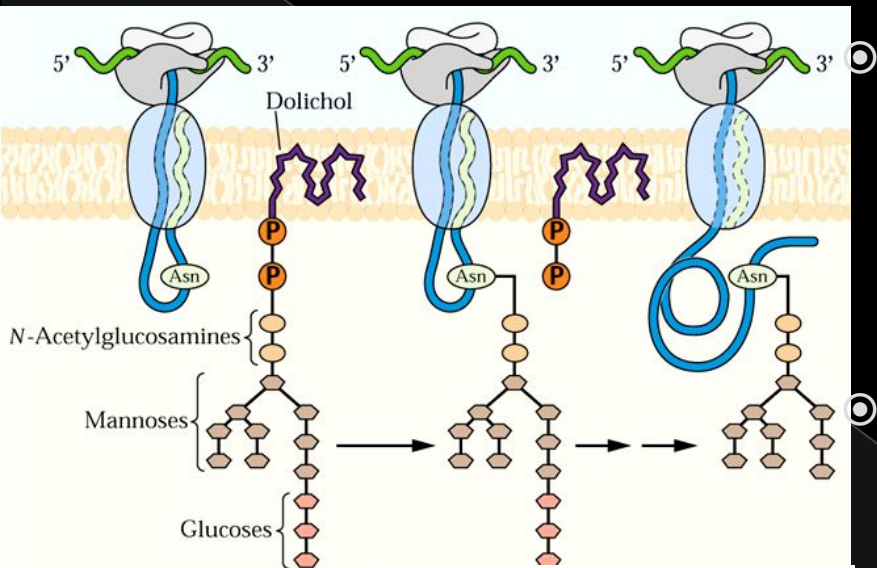
- Некоторые шапероны работают в ЭПР конститутивно, а другие индуцируются тепловым шоком. При этом все семейства называются очень похоже: Heat shock protein (HSP)70,90, и т.п.

- 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. ВiP 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.

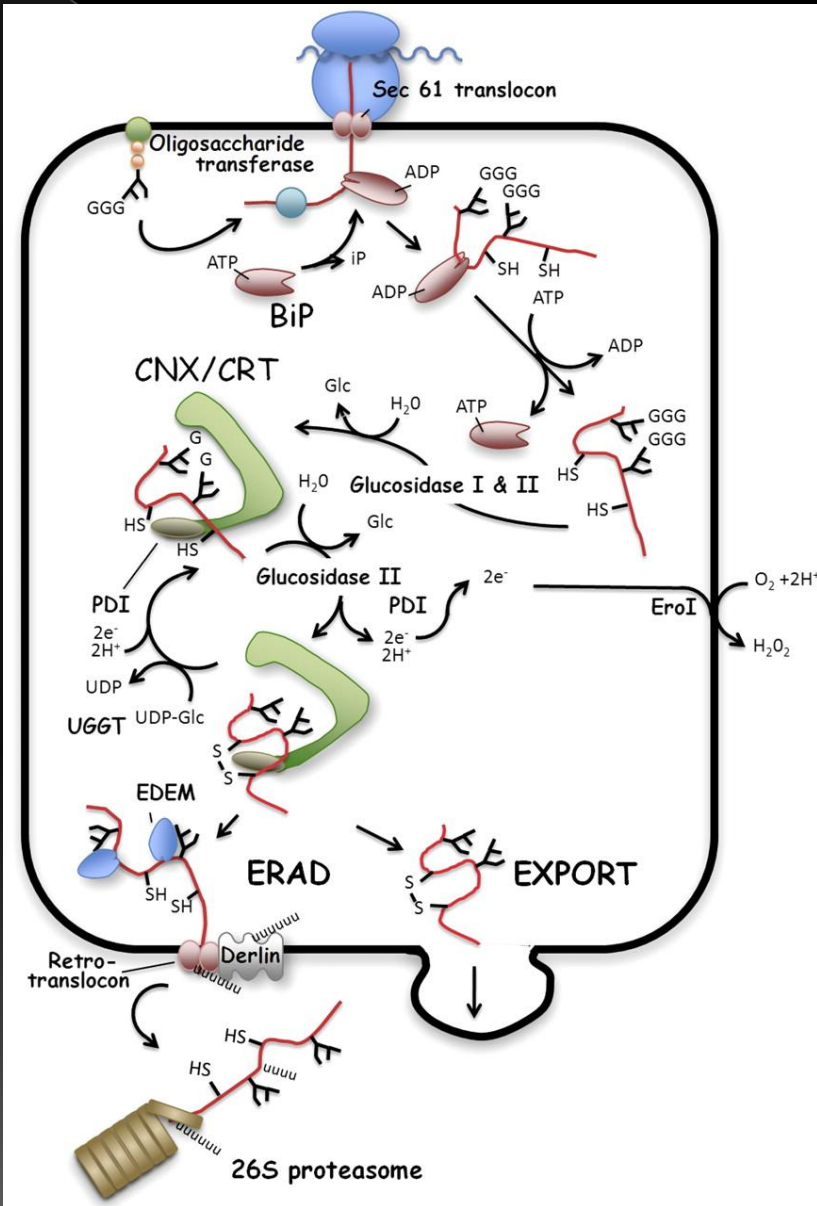
N-гликозилирование заключается в связывании с разветвленным олигосахаридом $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$. Мультисубъединичный фермент олигосахарил-трансфераза, который активен на люменальной стороне поры транслокатора, переносит олигосахарид с липида, сидящего в мембране. Более распространено котрансляционное 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

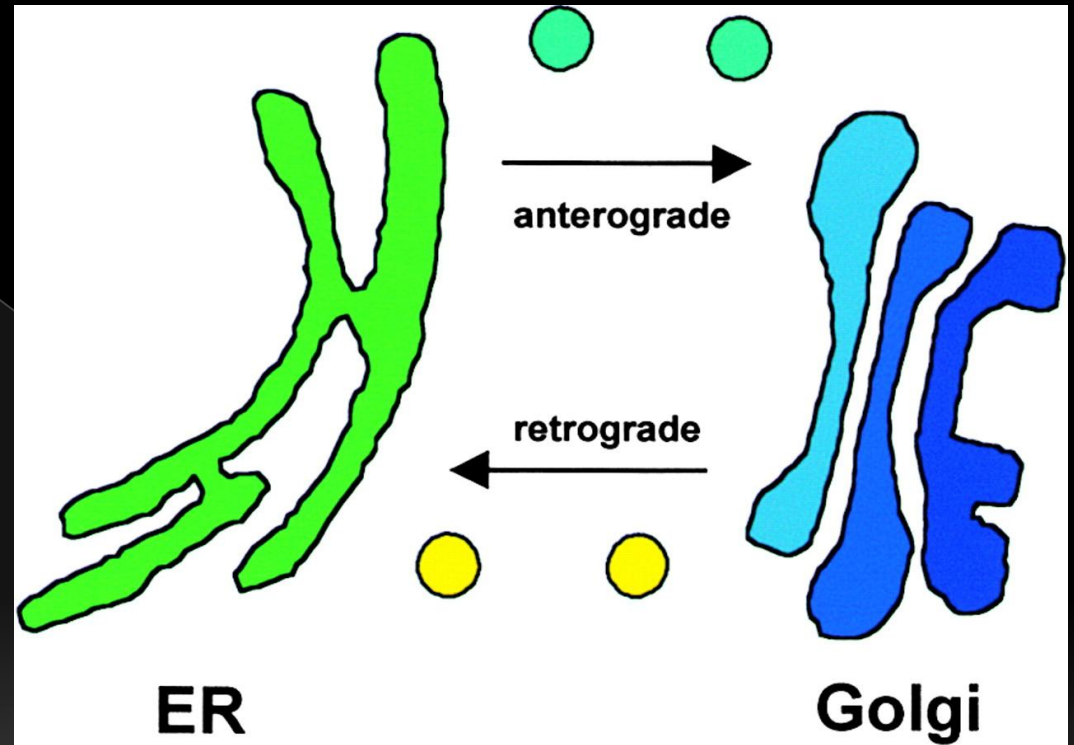


Функции ЭПР в процессинге белков

- 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

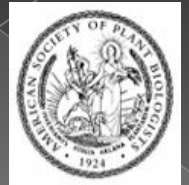
Куда дальше?

- 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.



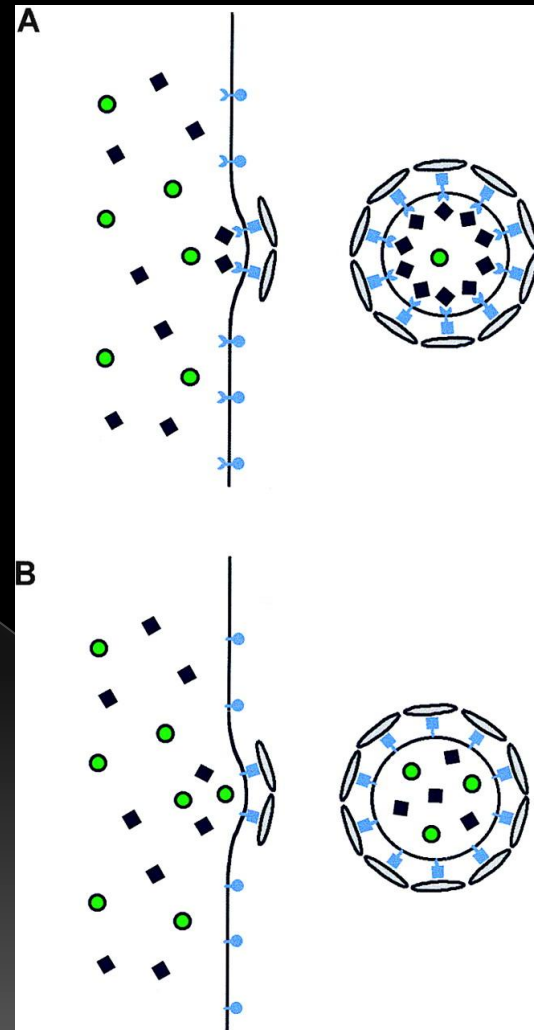
Alessandro Vitale, and Jürgen Denecke *Plant Cell* 1999;11:615-628

Люмен ЭПР, Гольджи и вакуоли топологически эквивалентен межклеточному пространству.

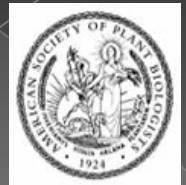


Экспорт

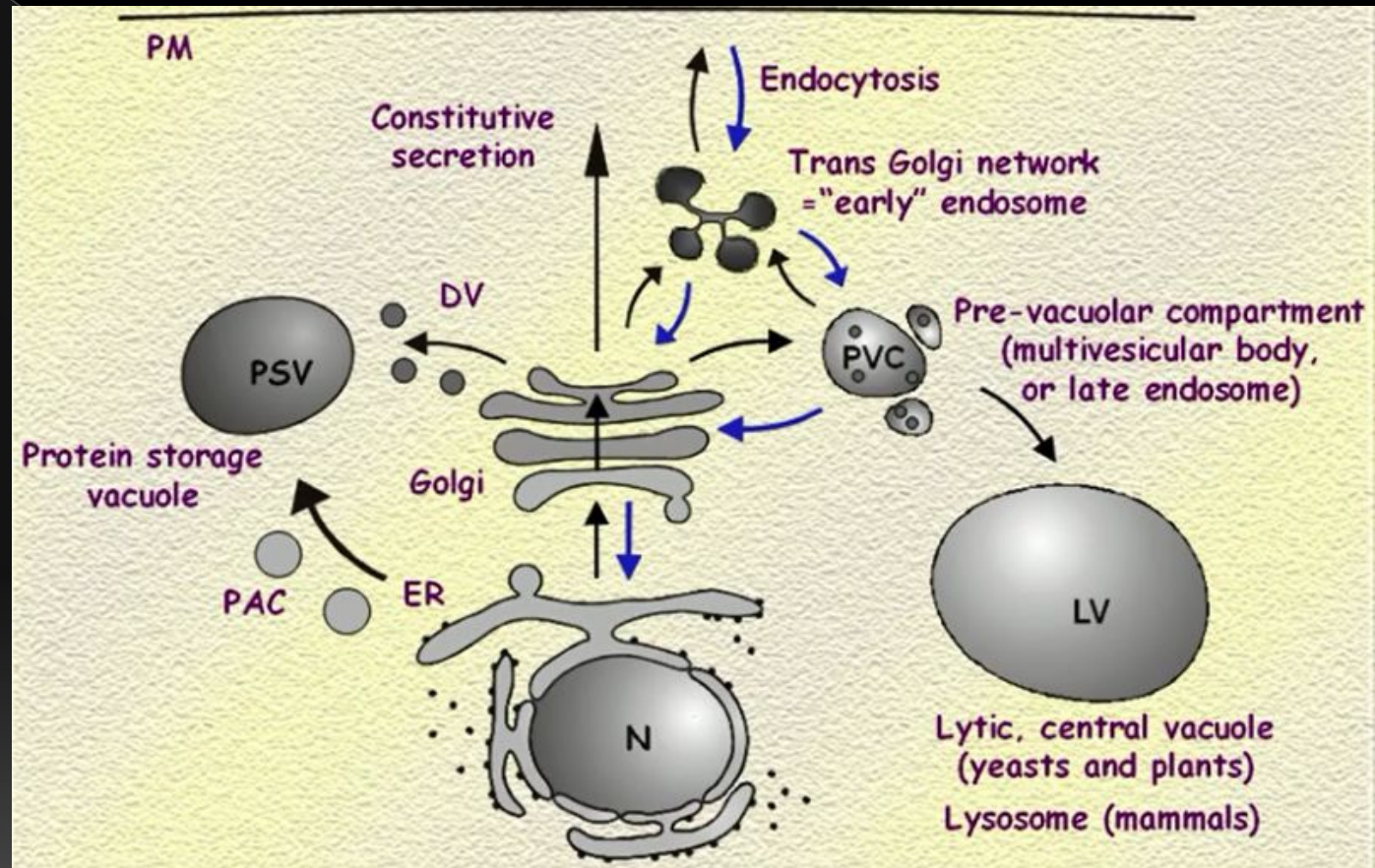
- Рассматриваются две модели: активный отбор и случайное попадание.
- Активный отбор подразумевает, что есть сигнал экспорта и рецептор, а белки ЭПР не попадают в Гольджи.
- Случайное попадание подразумевает, что белки пакуются в везикулы по умолчанию, а ЭПР-резиденты затем возвращаются ретроградно.



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



Куда могут идти везикулы?



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

Возврат ЭПР-резидентов

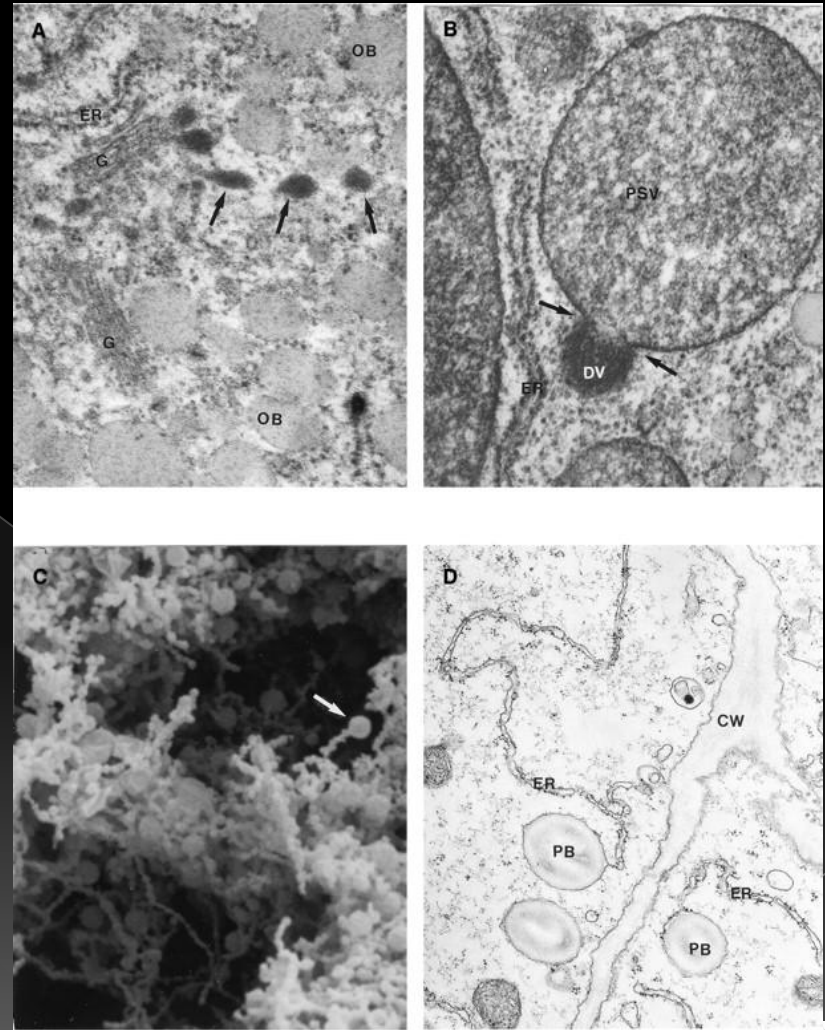
- ◎ Был обнаружен рецептор, который опознает ЭПР-резидентные белки на входе в Гольджи - ERD2 (ER-retention defective).
- ◎ Он помогает возвращать такие белки, как ВіР, попавшие в везикулы, обратно в ЭПР, узнавая их сигнальную последовательность.
- ◎ Вместе с ВіР в ЭПР возвращаются и дефектные белки, 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 РВ.



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



Проламины

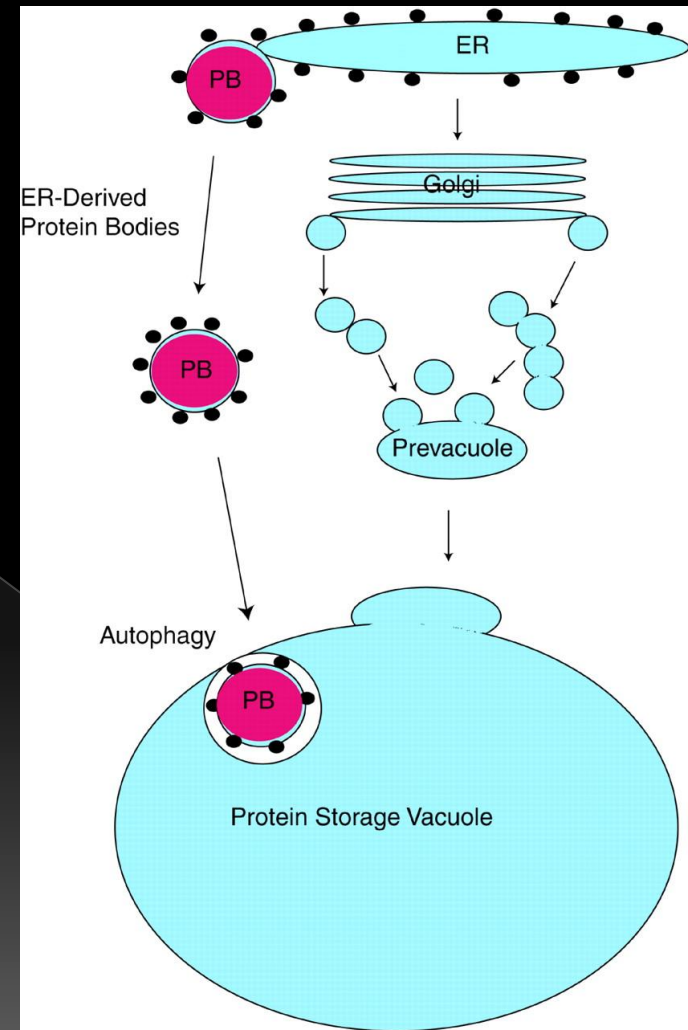
- ◎ Проламины - запасные белки у злаков.
- ◎ Они гидрофобны.
- ◎ Богаты пролином и глутамином (30-70%): повторяющиеся гидрофобные последовательности из 20 аминокислот
- ◎ Однако, агрегация обусловлена не только неспецифическими гидрофобными взаимодействиями (модель «ЭПР-сосиска»), а специфическими взаимодействиями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

Пример: эндосперм кукурузы

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

Транспорт белков в PSV

- РВ 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.

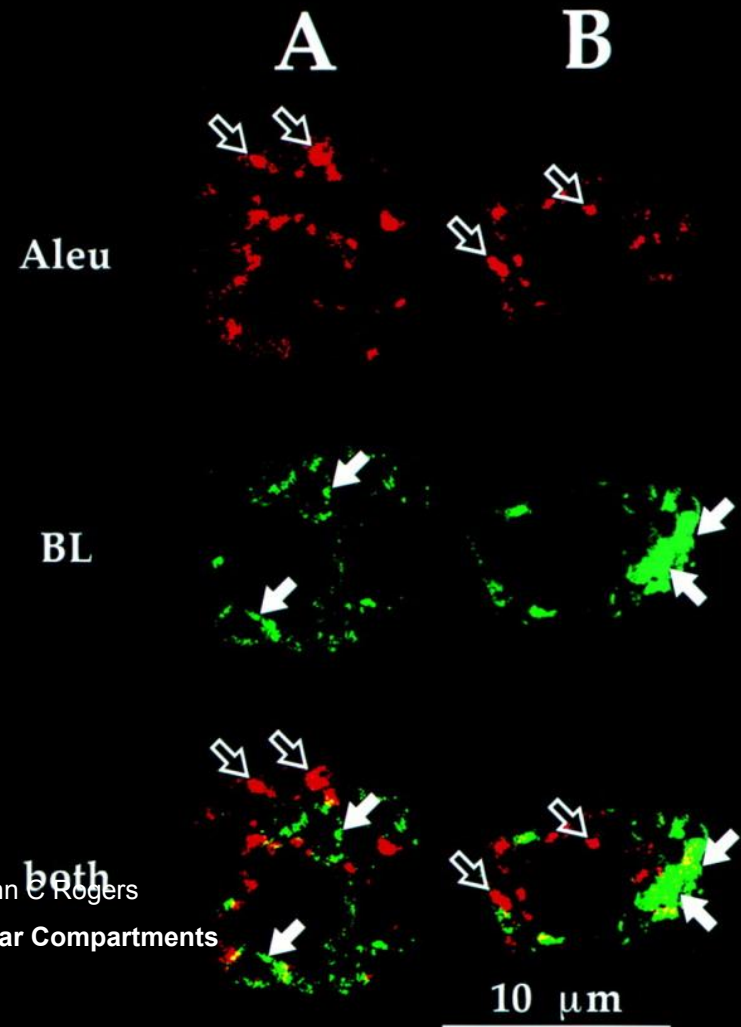


Eliot M. Herman, and Brian A. Larkins *Plant Cell*
1999;11:601-613

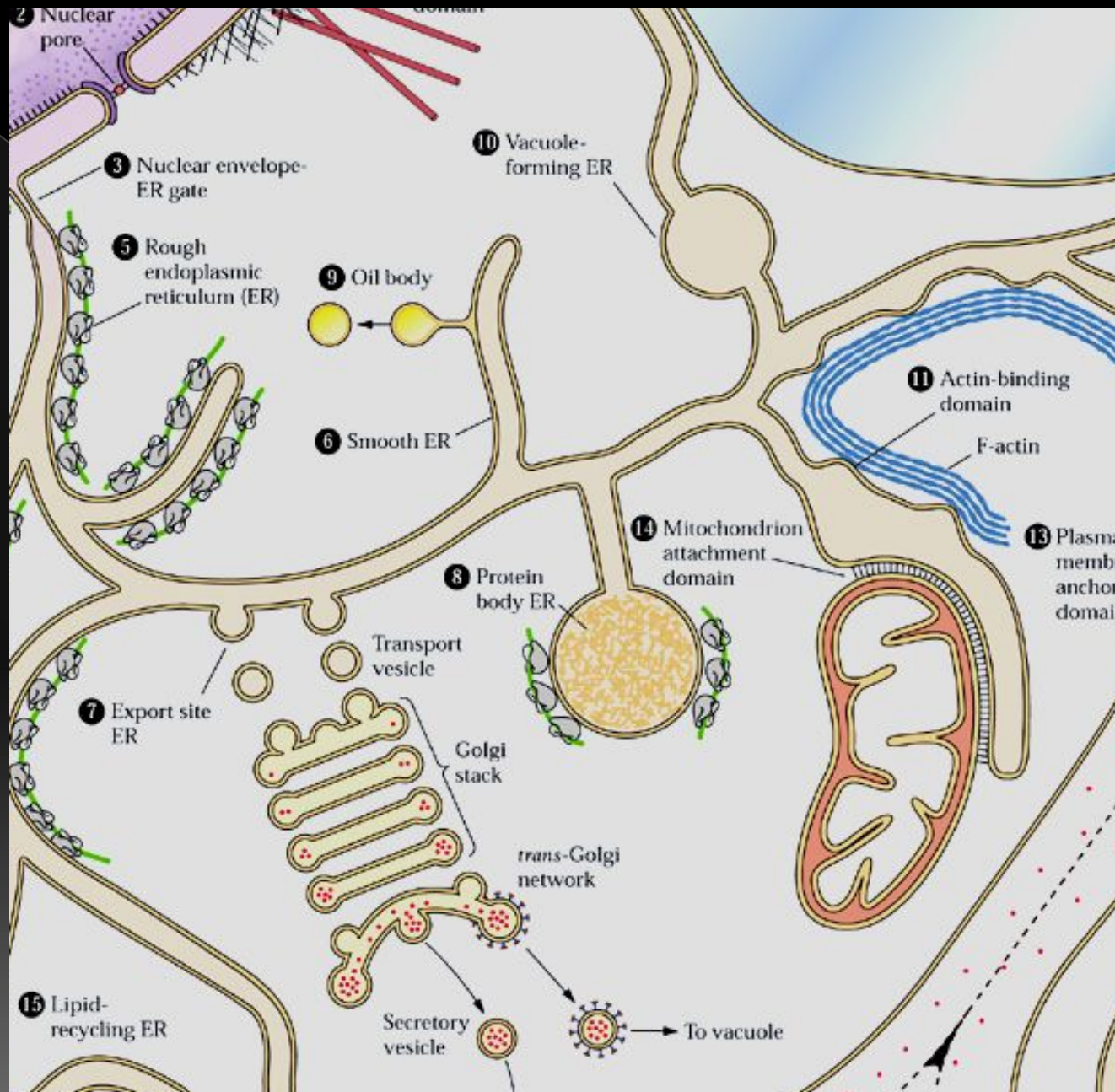


Вакуолярные компартменты

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



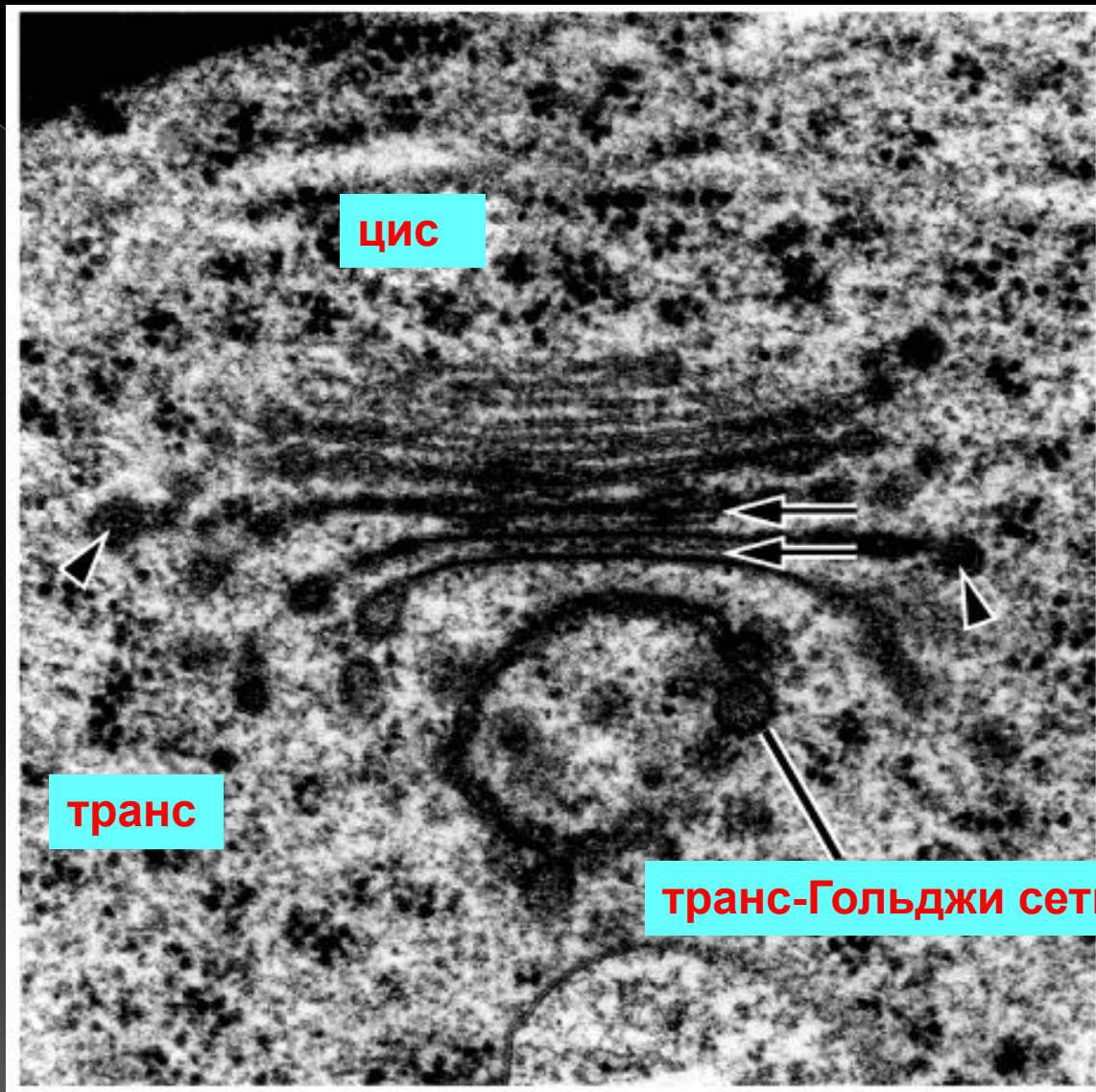
Nadine Paris, C. Michael Stanley, Russell L Jones, John C Rogers
Plant Cells Contain Two Functionally Distinct Vacuolar Compartments
Cell, Volume 85, Issue 4, 1996, 563–572



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





Tansley review

Cell biology of the plant Golgi apparatus

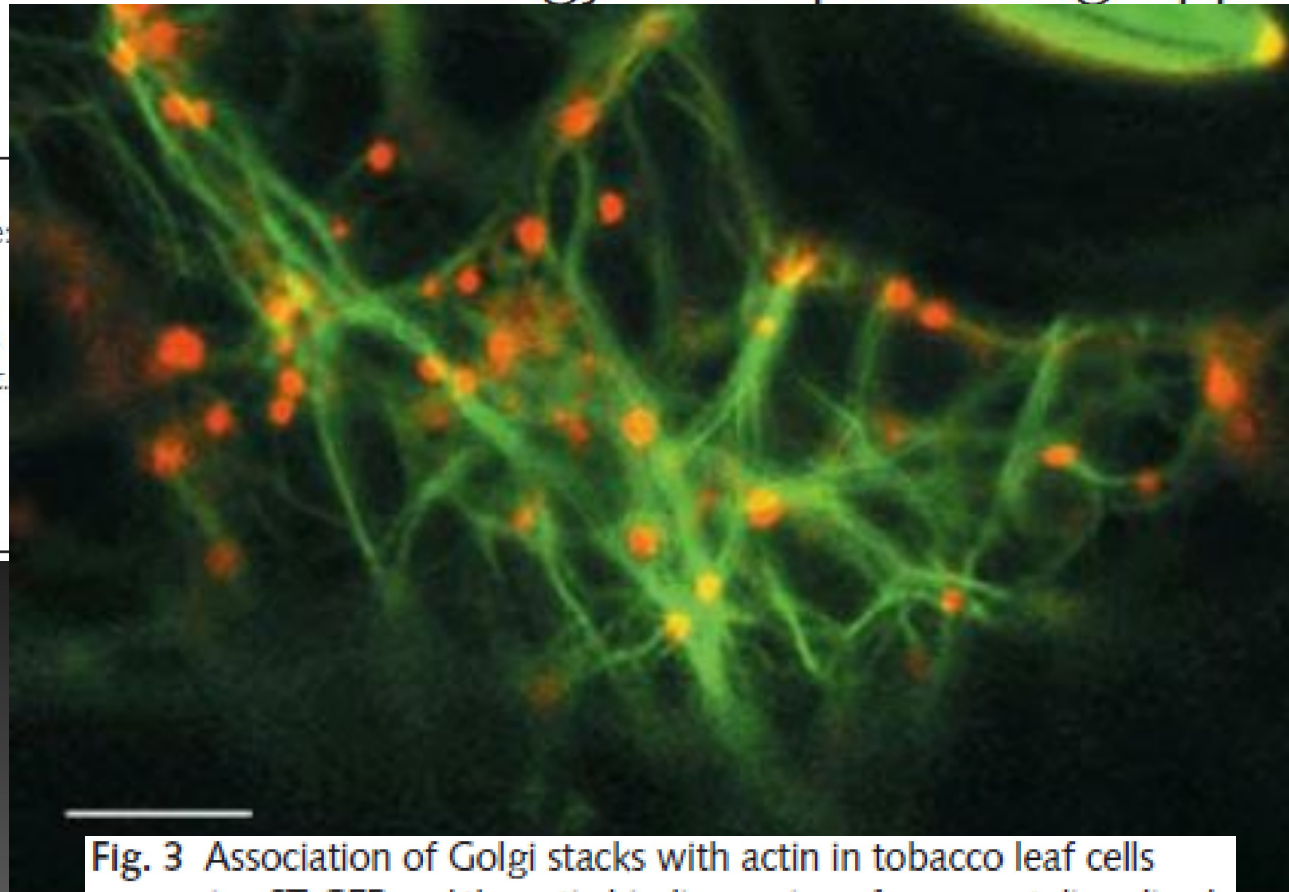


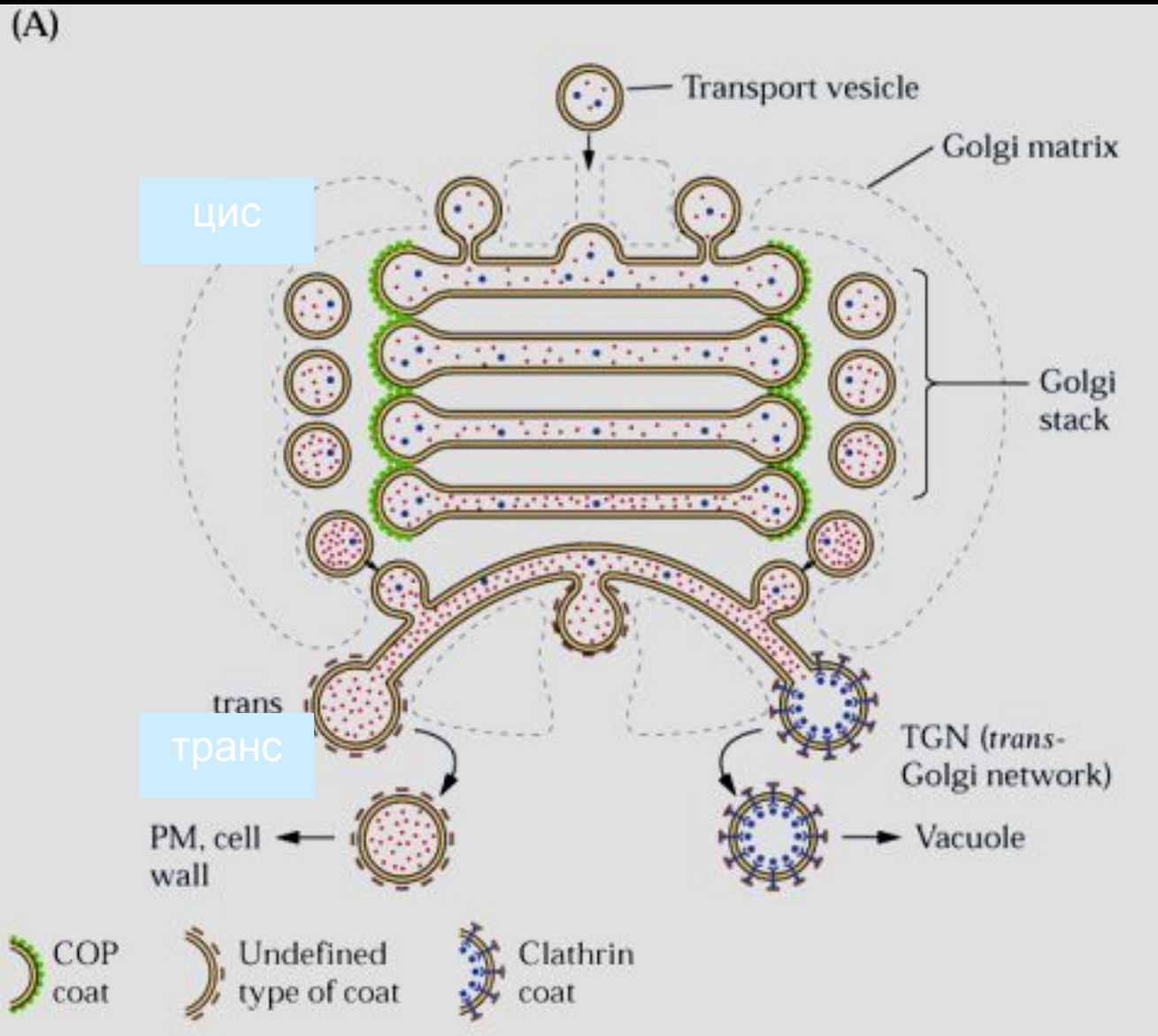
Fig. 3 Association of Golgi stacks with actin in tobacco leaf cells expressing ST-GFP and the actin binding region of a mouse talin spliced to YFP (red channel). Bar, 10 μm . (Courtesy of Federica Brandizzi.)

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

Received: 6 May 2004
Accepted: 15 July 2004

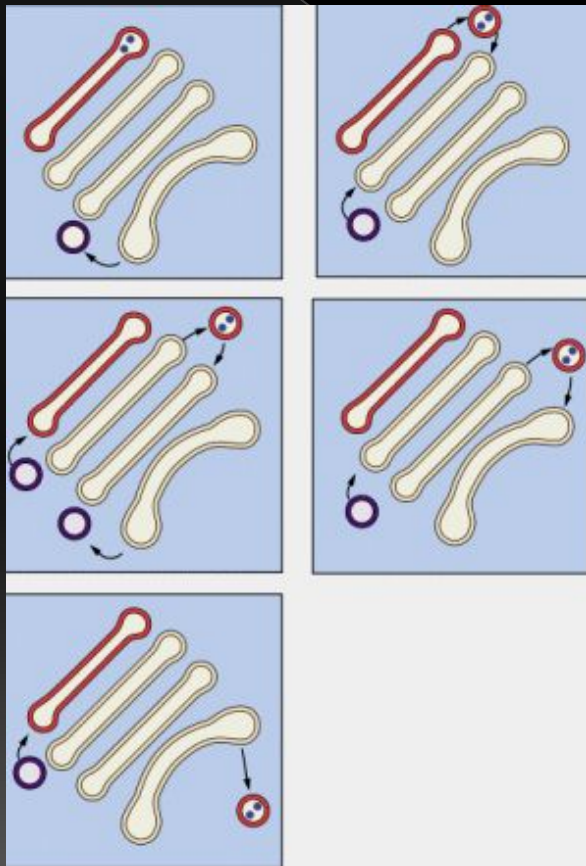
© 2005 British Ecological Society,
Journal of Ecology, 93, 1089–1100

Аппарат Гольджи в виде схемы

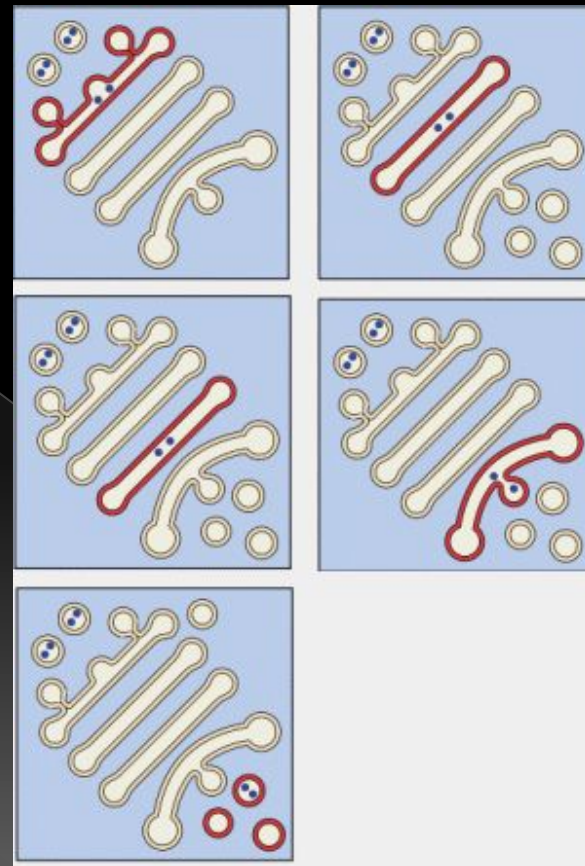


Гипотезы о природе транспорта материала через ап.Гольджи

а) челночный транспорт

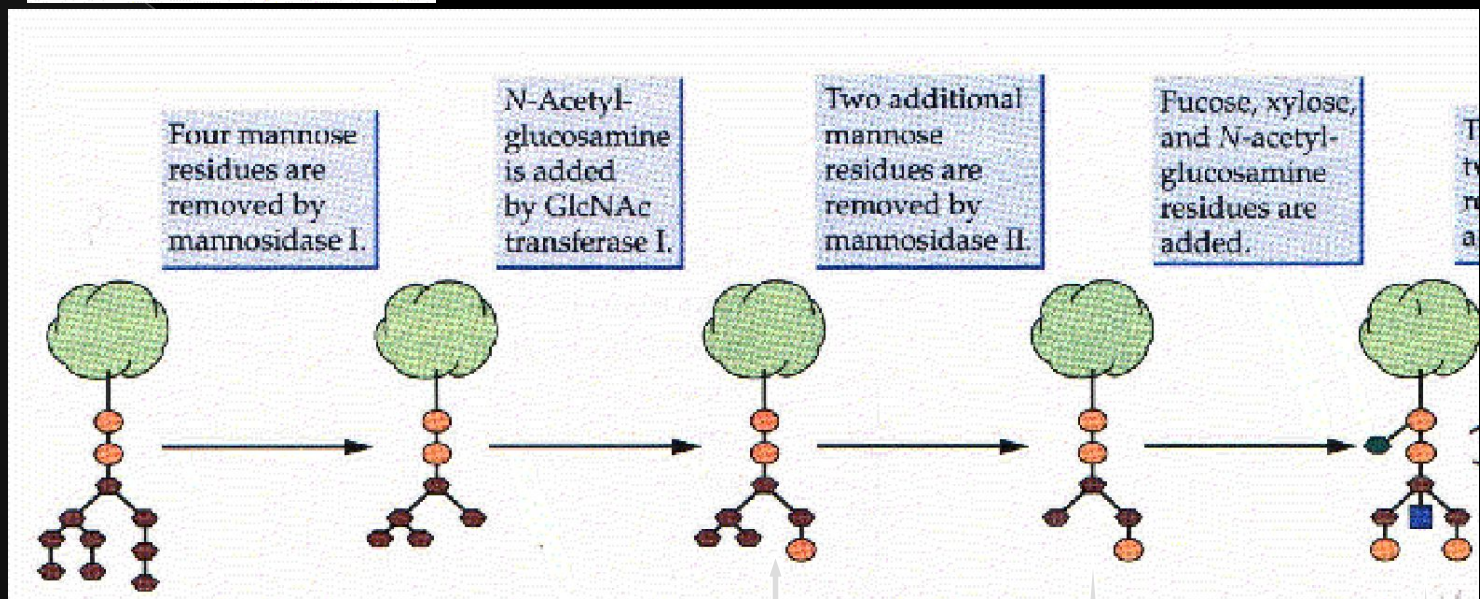


б) перемещение цистерн



Функции аппарата Гольджи в процессинге белков

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



Four mannose residues are removed by mannosidase I.

N-Acetylglucosamine is added by GlcNAc transferase I.

Two additional mannose residues are removed by mannosidase II.

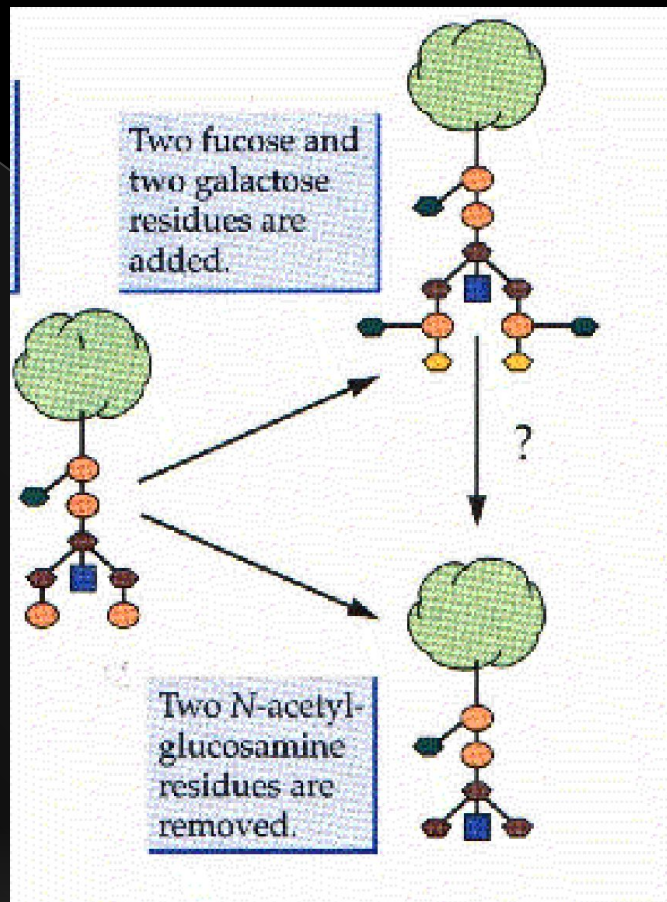
Fucose, xylose, and N-acetylglucosamine residues are added.

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;

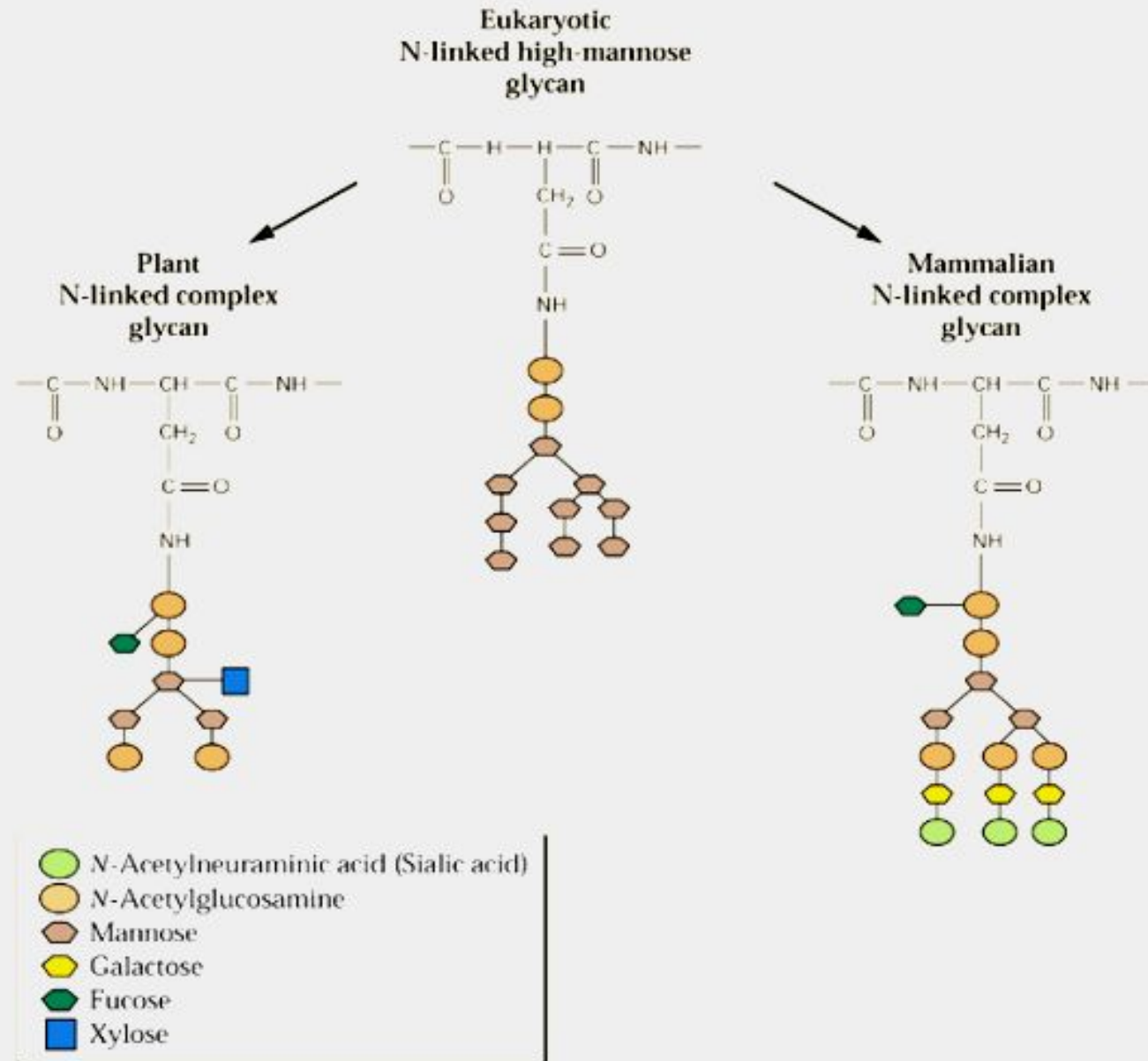
Присоединение фукозы, ксилозы и второй молекулы ацетилглюкозамина **GlcNAc-трансферазой II**



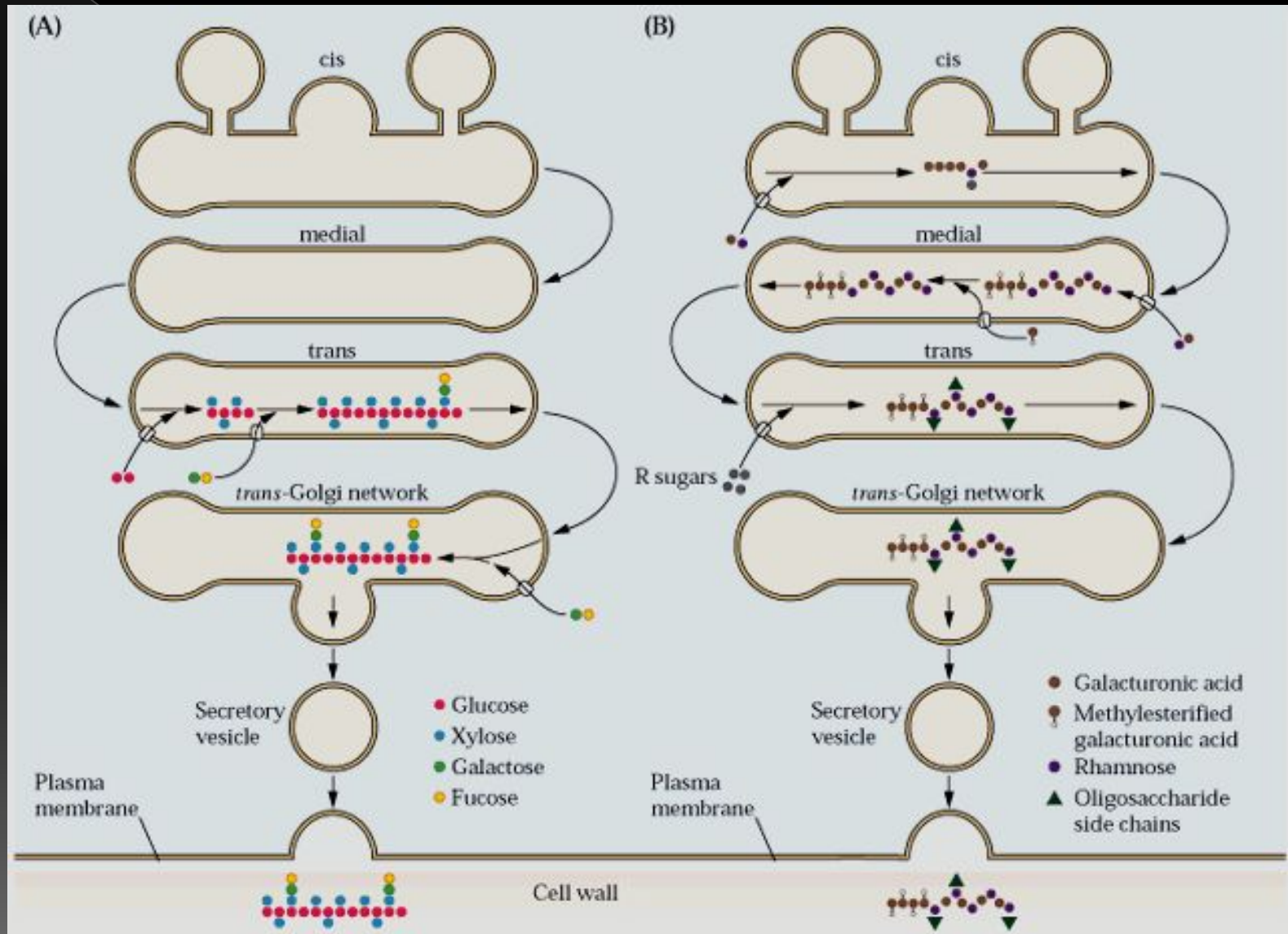
- | | | | |
|---|-----------------------------|---|--------|
|  | <i>N</i> -Acetylglucosamine |  | Fucose |
|  | Mannose |  | Xylose |
|  | Galactose | | |

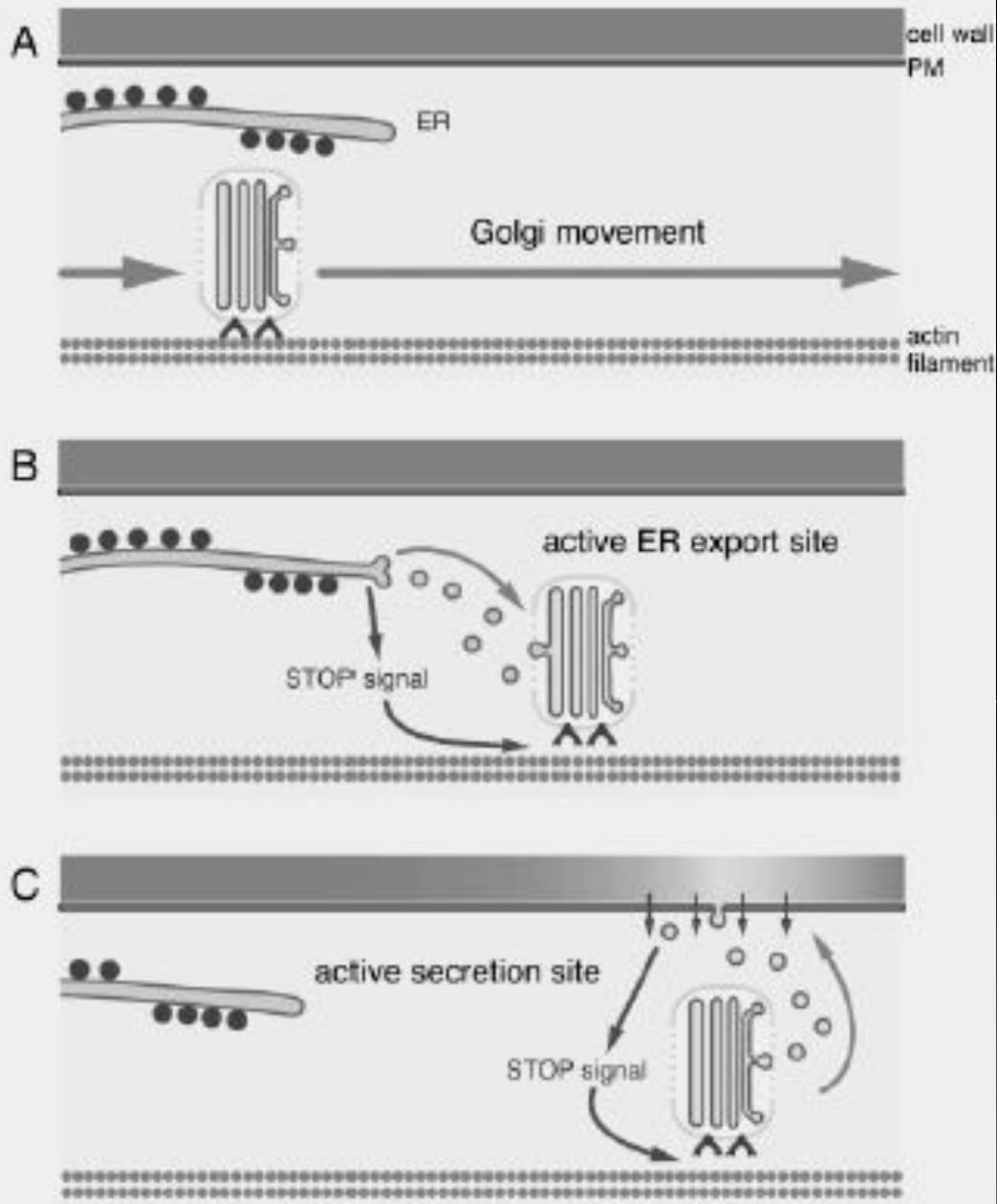
Фракция 3 (наименее плотная): содержит ферменты присоединения двух молекул фукозы и двух молекул галактозы; два *N*-ацетилглюкозамина удаляются

Сравнение биохимической модификация углеводной части белков у растений и животных



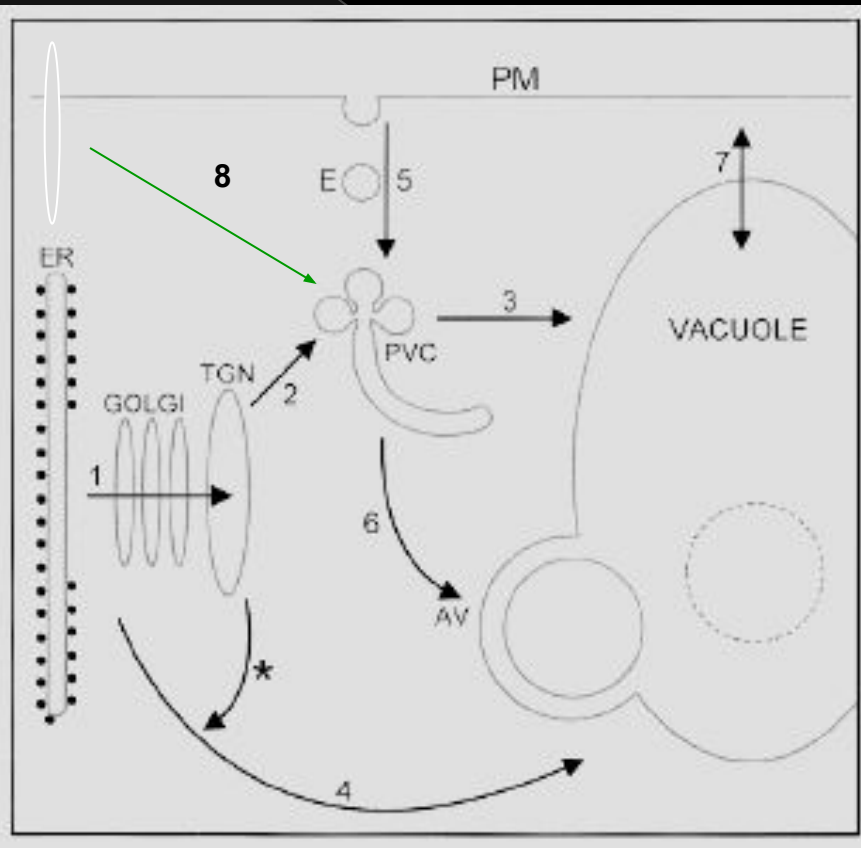
Биосинтез полисахаридов КС: гликанов и пектиновых В-В





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

Перемещение стопок Гольджи связано с функционированием секреторного пути транспорта везикул.

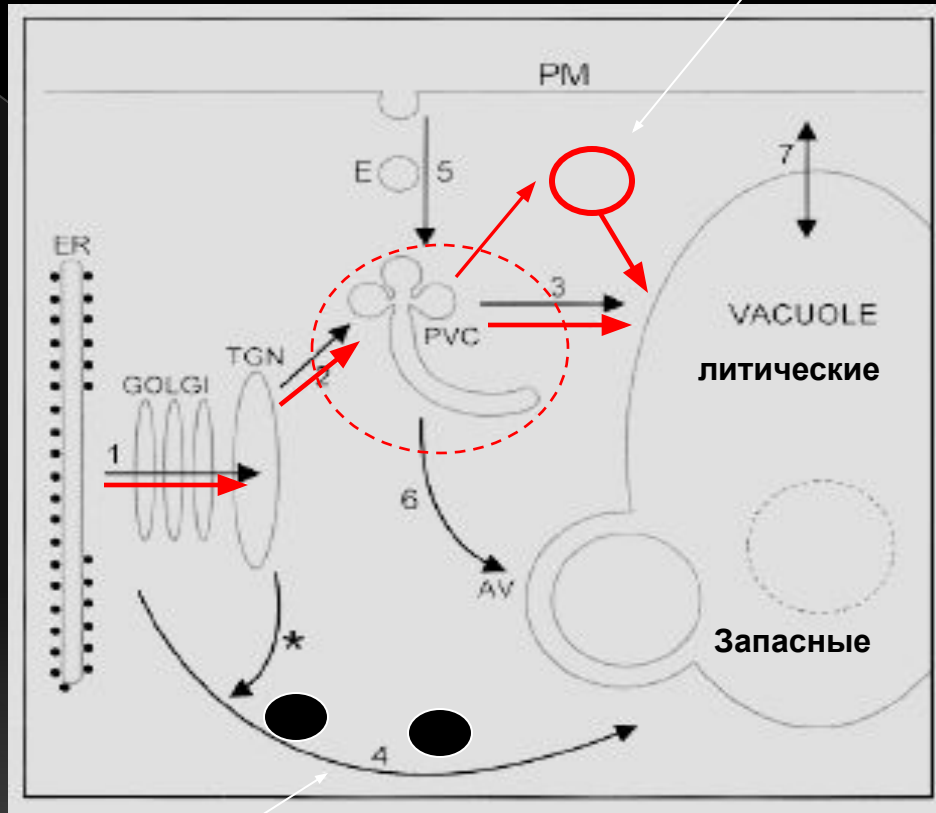


Семь основных путей используются при формировании вакуолей.

- 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

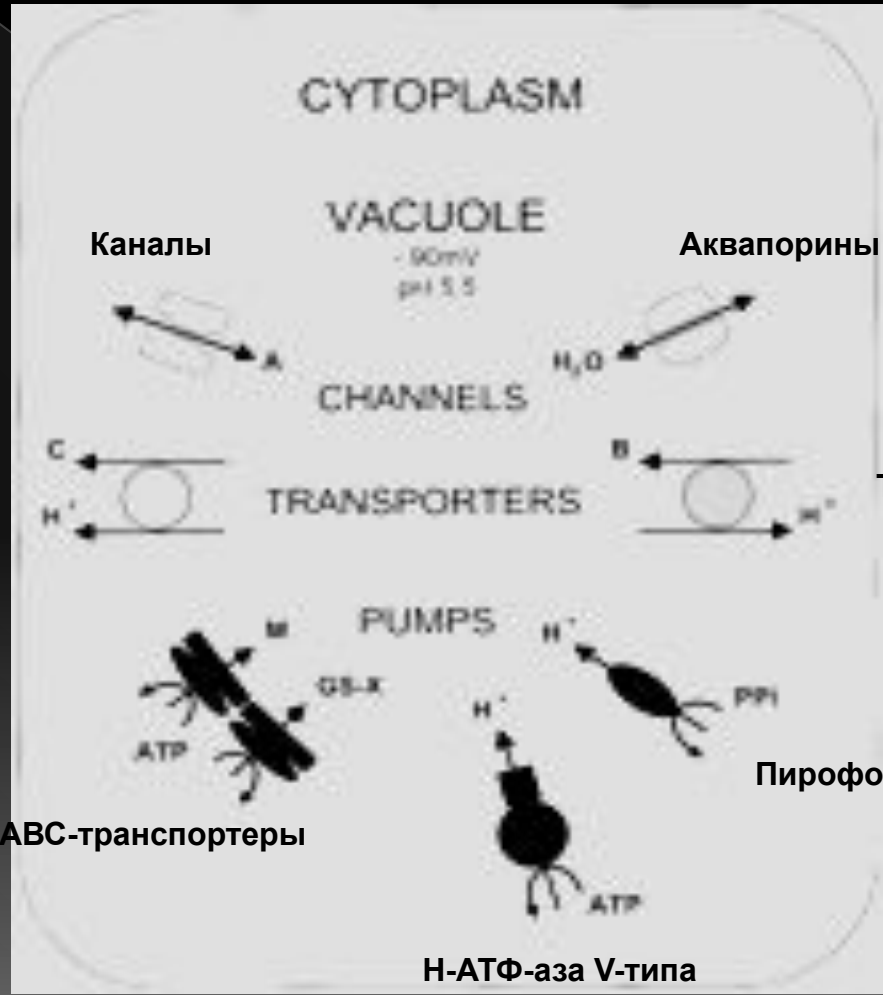


Транспорт оптически плотных везикул: ЭПР-----зап.В
Формирование белок запасяющих вакуолей

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



Транспортеры

АВС-транспортеры

Н-АТФ-аза V-типа

Пирофосфатаза

<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.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>