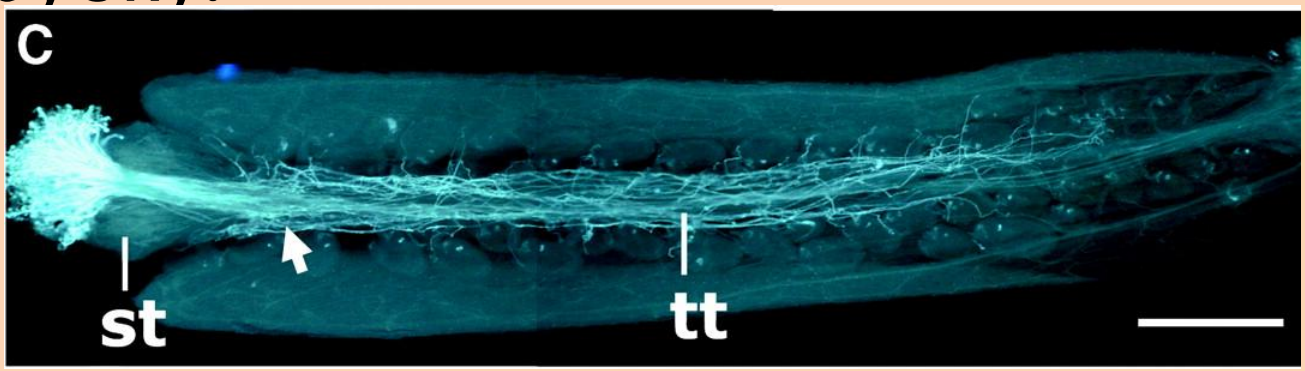
Сигналинг в овулярной фазе

Диалог гаметофитов от А до Я

Сигнальные механизмы в пестике

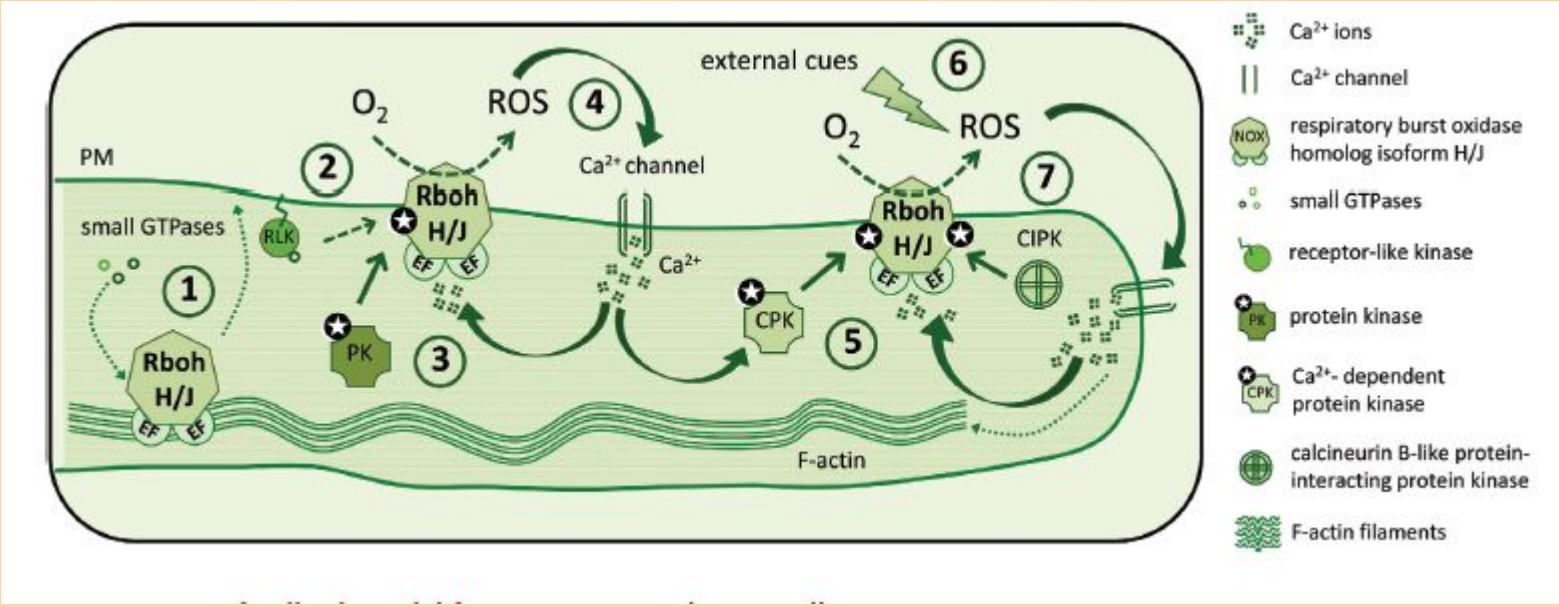
- Преовулярные механизмы направляют рост пыльцевой трубки к завязи.
- Овулярные механизмы контролируют ее движение к семяпочке, действуя прицельно и индивидуально – каждая семяпочка «ведет» одну пыльцевую трубку.



«Центр вселенной» - АФК

- Как мы помним, АФК контролируют 3 этапа прогамной фазы: собственно прорастание, рост трубки и… разрыв трубки
- АФК продуцируются в ответ на сигнальные пептиды, выделяемые семяпочкой
- Основными источниками АФК являются НАДФН-оксидаза плазмалеммы и ДЦ в митохондриях, но первая больше работает «на сигнал»
- Относительно «новый» участник сигнальной схемы в связи с АФК - полиамины

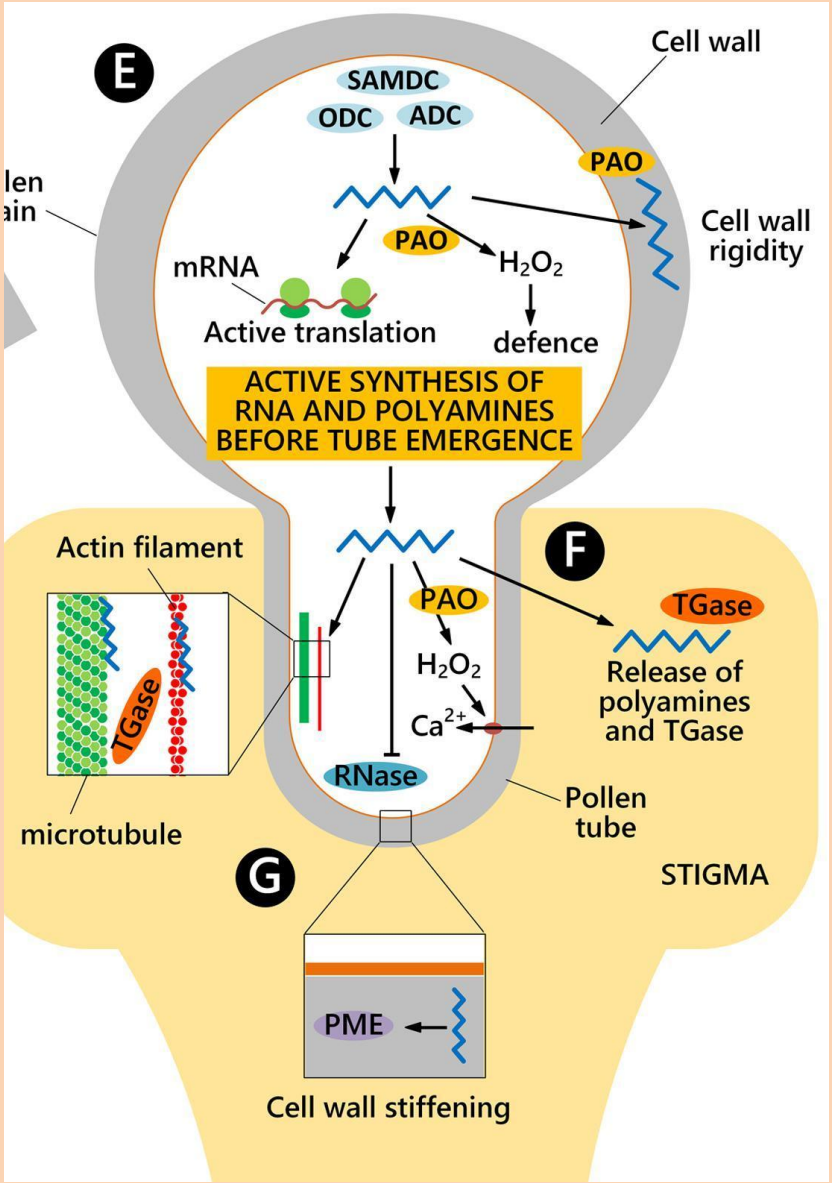
Классика жанра - Ca^{2+} и АФК



- Фосфорилирование НАДФН-оксидазы Rboh придает ей способность связывать Ca^{2+}
- Присоединение Ca^{2+} через EF-руки запускает процесс образования АФК.
- АФК активируют Ca^{2+} каналы, увеличивается концентрация Ca^{2+} в цитозоле.
- Это приводит к активации Ca^{2+} -зависимых протеинкиназ и амплификации сигнала фосфорилирования.

Полиамины

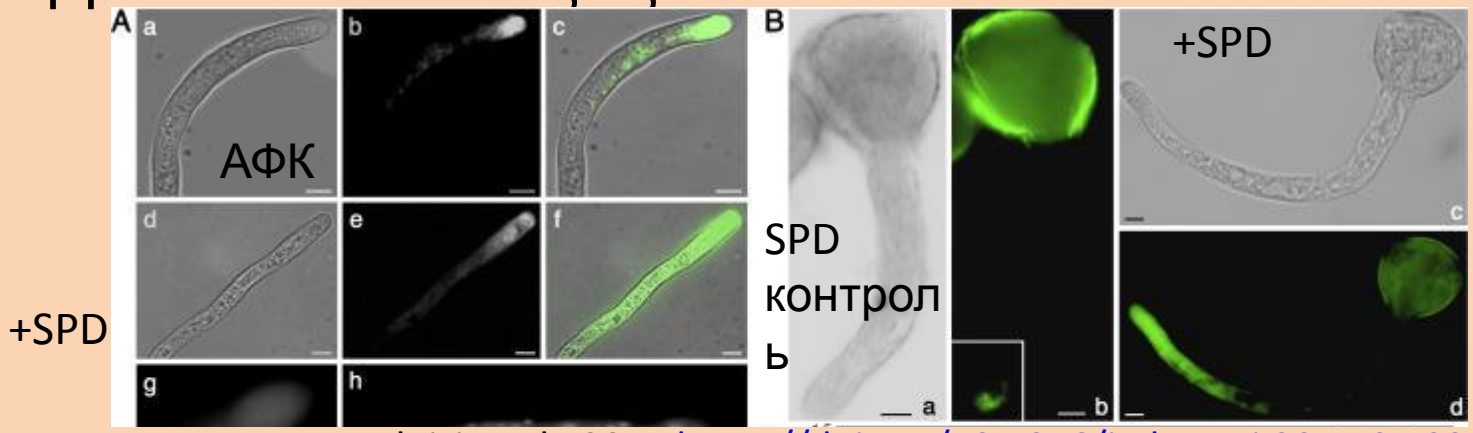
- Полиамины являются источником АФК через полиаминоксидазу (PAO)
- При прорастании на пестике, ПА активируют трансляцию запасенных транскриптов, они также выделяются в апопласт вместе с трансглутаминазой (Tgase)
- ПА контролируют организацию цитоскелета, отложение КС, функции ПМЭ, ионный транспорт
- ПА ингибируют РНКазы



Front. Plant Sci. 08 February 2016
https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00155

ПА – АФК - Ca^{2+}

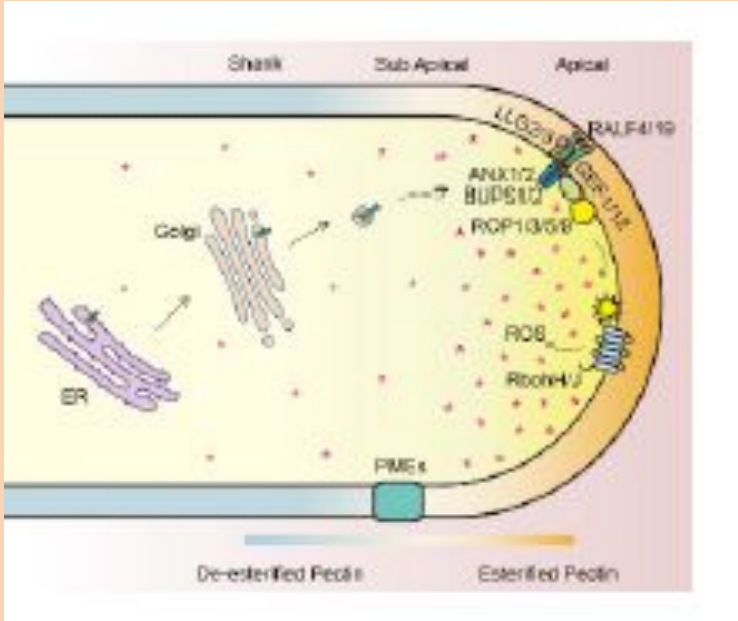
- Спермидин сильно действует на пыльцевые трубки, всегда – через АФК.
- Spd окисляется PAO, при этом образуется H_2O_2,
- H_2O_2 активирует вход Ca^{2+}
- У *pao* этого не происходит, но воздействие спермидином можно имитировать путем добавления H_2O_2

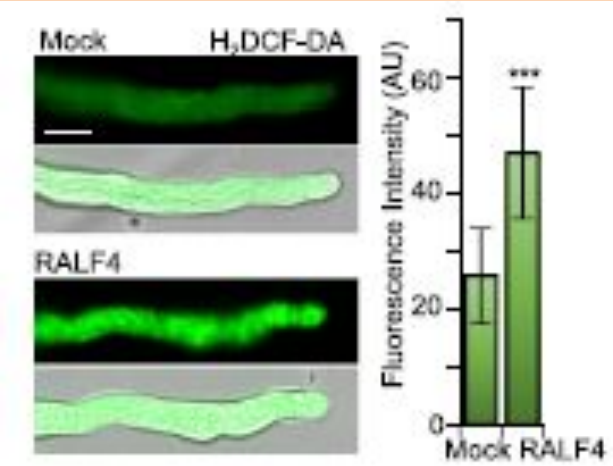


Aloisi et al., 2015 https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.07.008

RALF4 – сигнальный пептид

- RALF4 - контроль роста трубки со стороны пестика
- АФК участвуют в сигнальном каскаде, который запускается в ответ на RALF4.
- Воздействие RALF4 на трубки, растущие *in vitro*, вызывало резкое повышение уровня АФК, одновременно стимулируя рост трубок и предотвращая их разрыв.
- Тушители H_2O_2 иодид калия и пируват натрия, наоборот, ингибировали рост пыльцевых трубок и вызывали их разрыв.

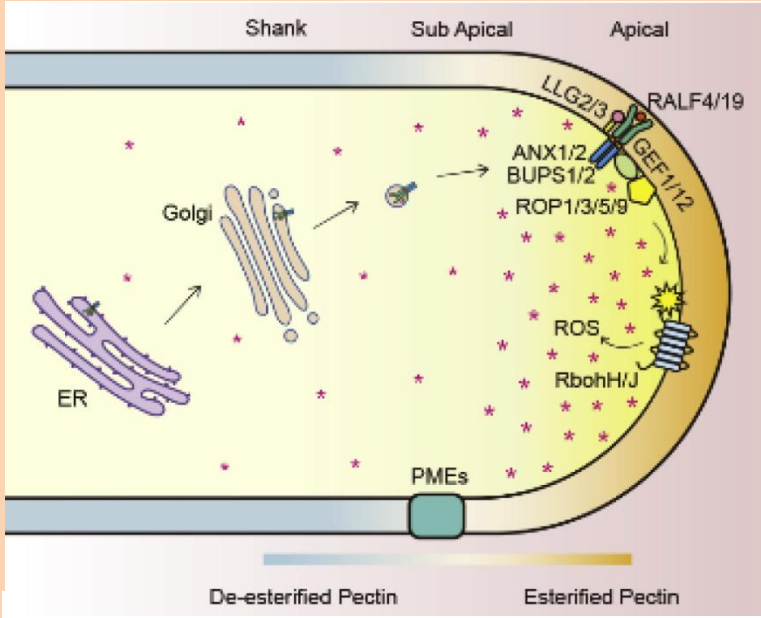


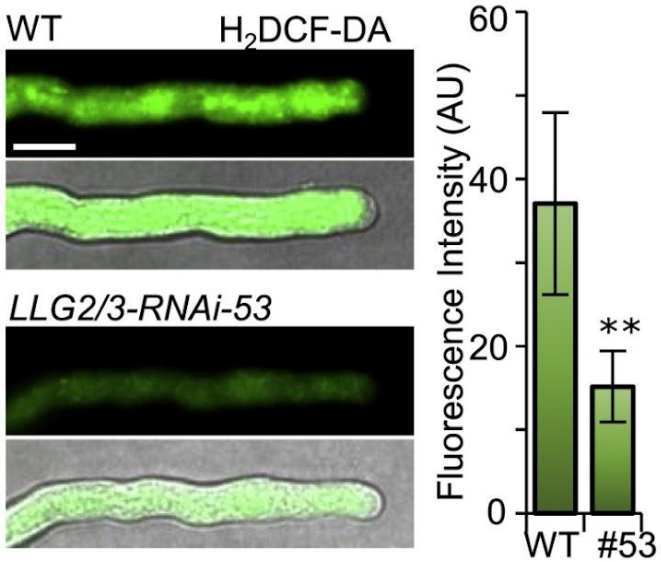


Feng H., Liu C., Fu R., Zhang M., Li H., Shen L., Wei Q., Sun X., Xu L., Ni B., and Li C. (2019). LORELEI-LIKE GPI-ANCHORED PROTEINS 2/3 Regulate Pollen Tube Growth as Chaperones and Coreceptors for ANXUR/BUPS Receptor Kinases in *Arabidopsis*. Mol. Plant. **12**, 1612–1623.

LORELEI-LIKE GPI-ANCHORED PROTEINS 2/3

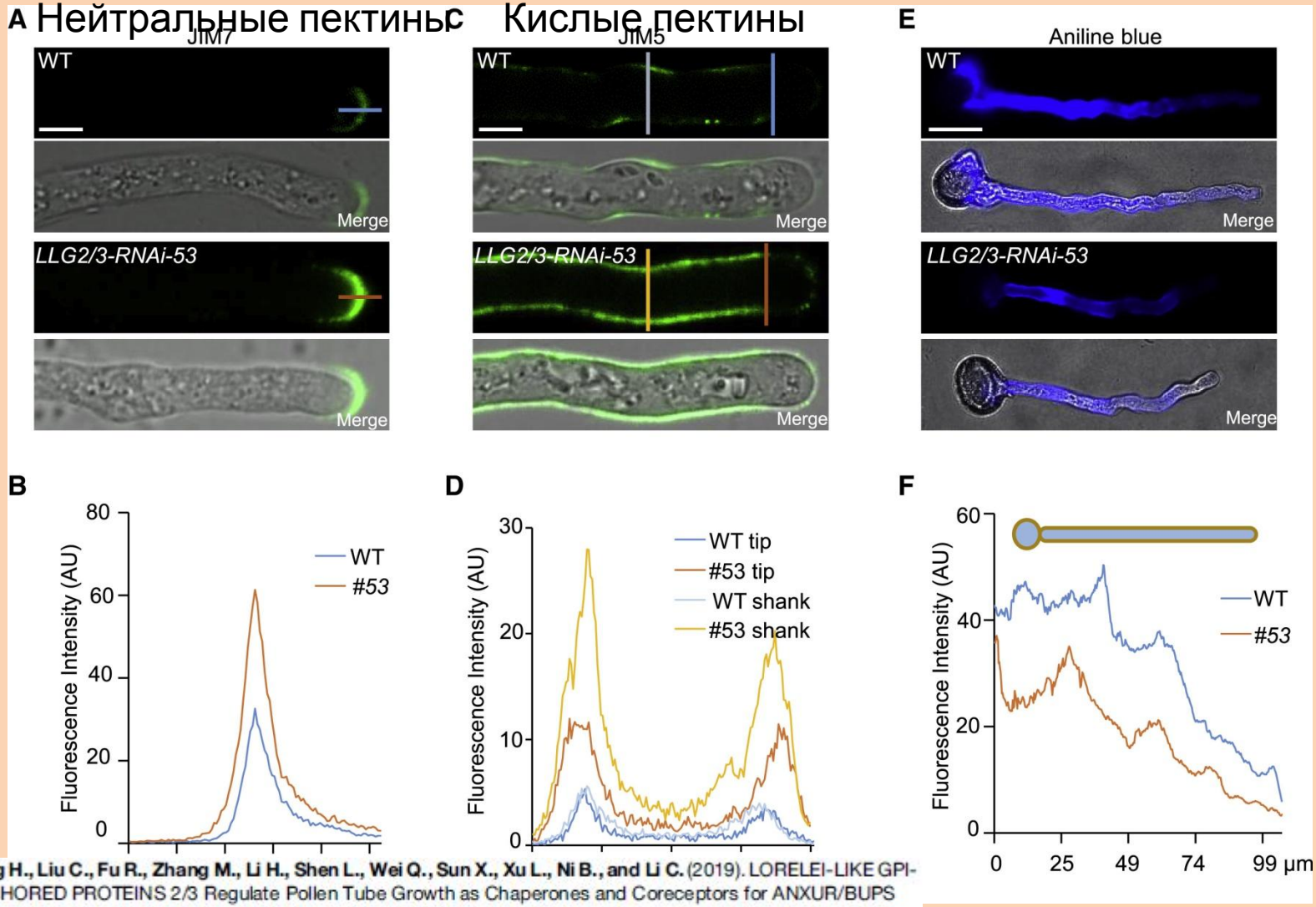
- Это белки, участвующие в восприятии сигнала RALF и, предположительно, входящие в рецепторный комплекс на плазмалемме трубок.
- В линиях LLG2/3 RNAi уровень АФК был значительно снижен, а рост нарушен. Добавление экзогенного пероксида водорода частично восстанавливало эти нарушения
- Одним из предложенных механизмов действия АФК была регуляция механических свойств клеточной стенки





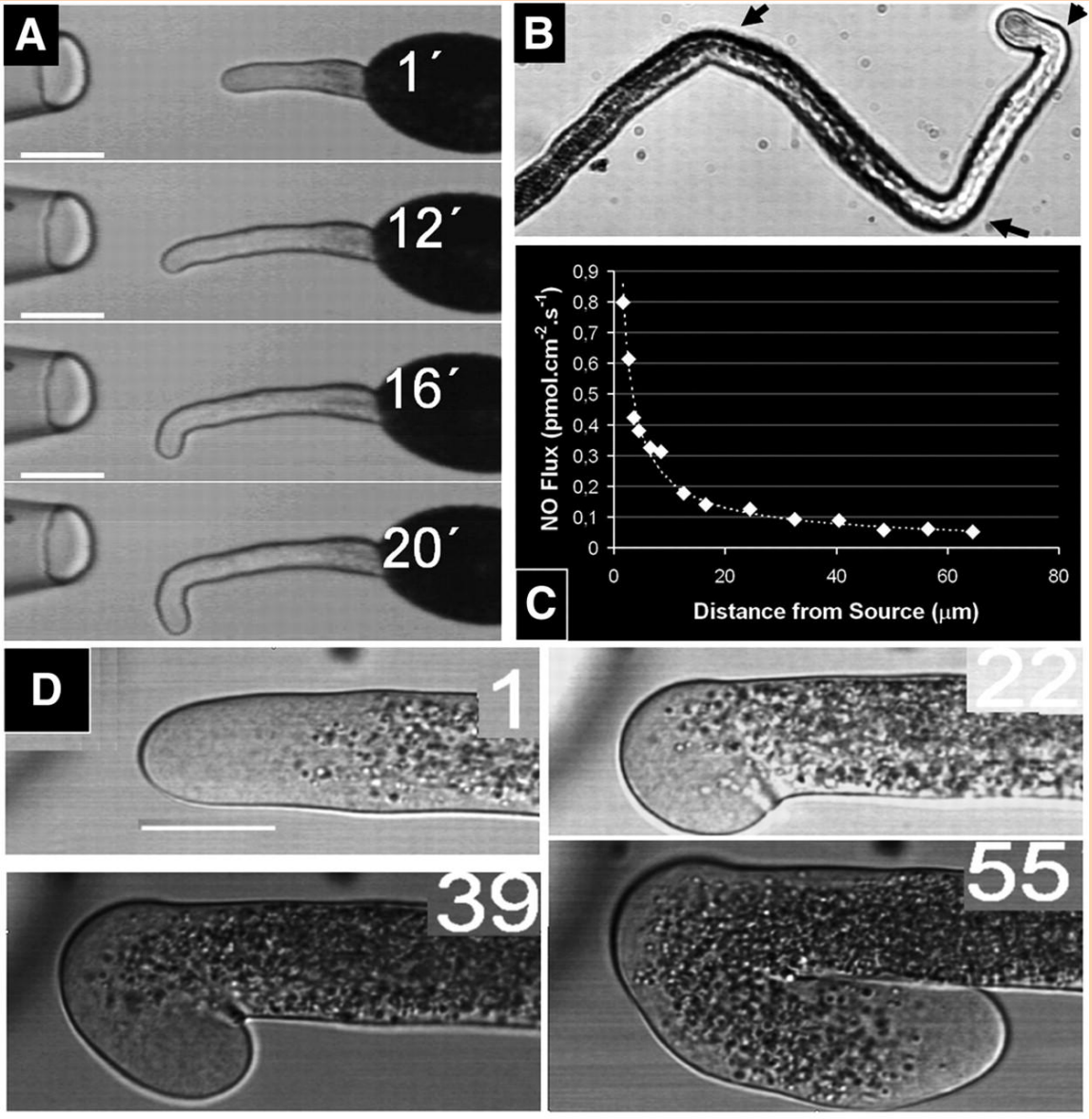
Клеточные стенки мутанта *llg2,3*

Пектинов больше, каллозы - меньше

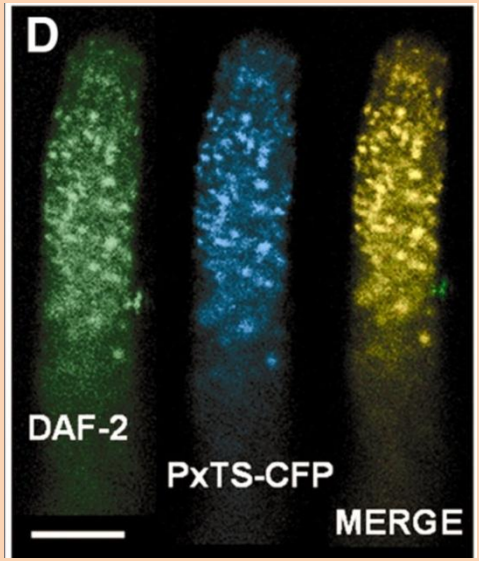


Feng H., Liu C., Fu R., Zhang M., Li H., Shen L., Wei Q., Sun X., Xu L., Ni B., and Li C. (2019). LORELEI-LIKE GPI-ANCHORED PROTEINS 2/3 Regulate Pollen Tube Growth as Chaperones and Coreceptors for ANXUR/BUPS Receptor Kinases in *Arabidopsis*. Mol. Plant. **12**, 1612–1623.

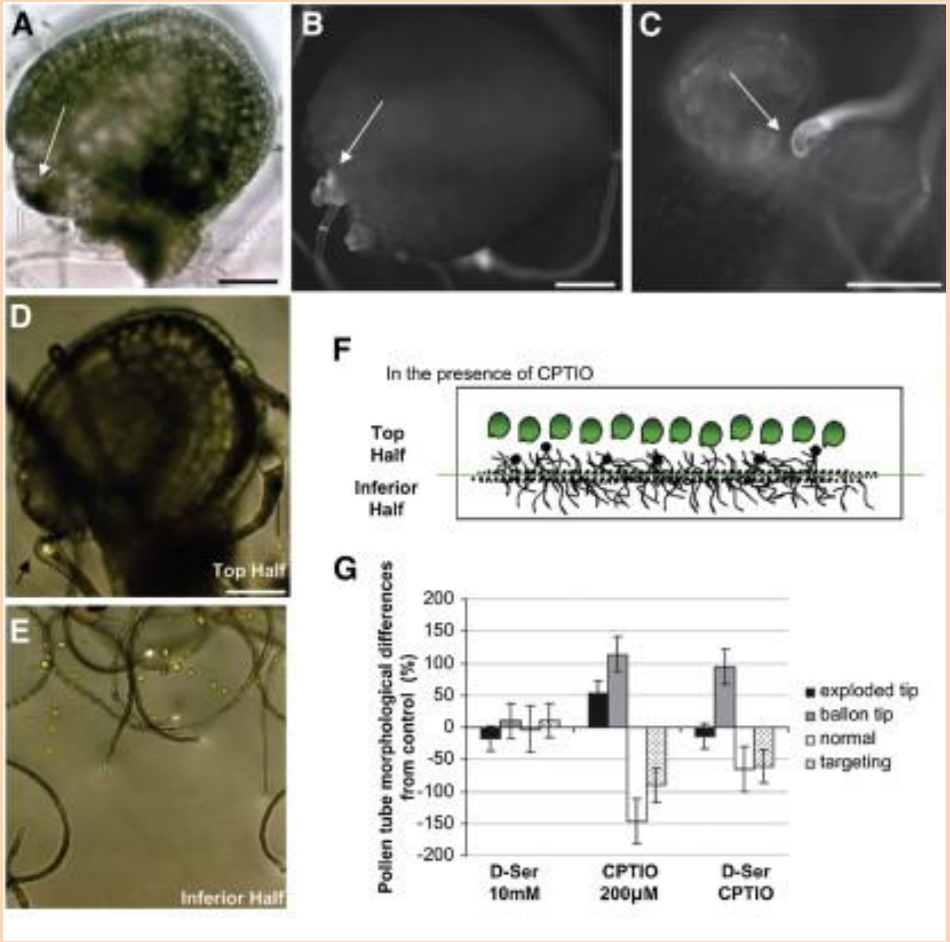
Убегание от NO? YES



- Оксид азота содержится в пероксисомах ПТ и выделяется пыльцой.
- Трубки «убегают» от NO *in vitro*

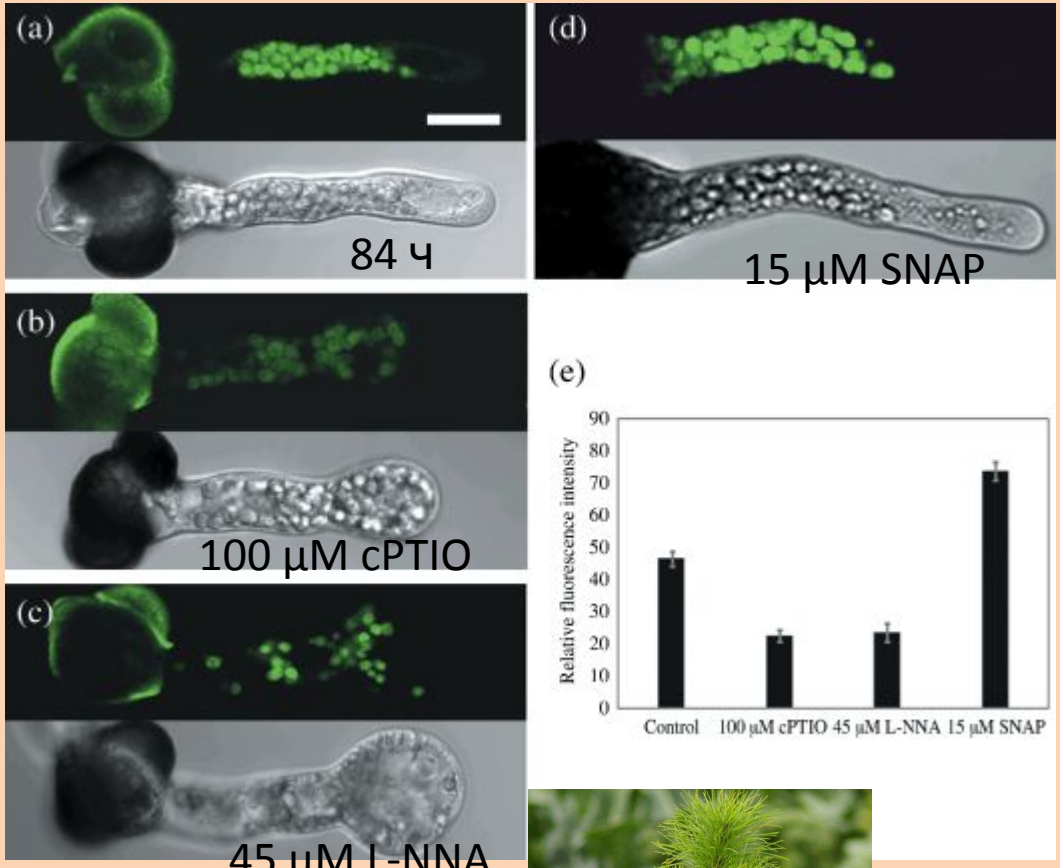


NO как сигнал от семяпочки



- Нацеливание трубки на микропиле происходит с помощью NO, который образуется в узкой зоне вокруг входа.
- В присутствии реагента, инактивирующего NO (cPTIO), нарушалось врастание ПТ в микропиле, трубки раздувались и лопались.
- Активация тока Ca^{2+} с помощью D-Ser частично восстанавливала нормальную морфологию пыльцевых трубок
- Похоже, этот путь также зависит от Ca^{2+}

NO играет роль уже у хвойных!



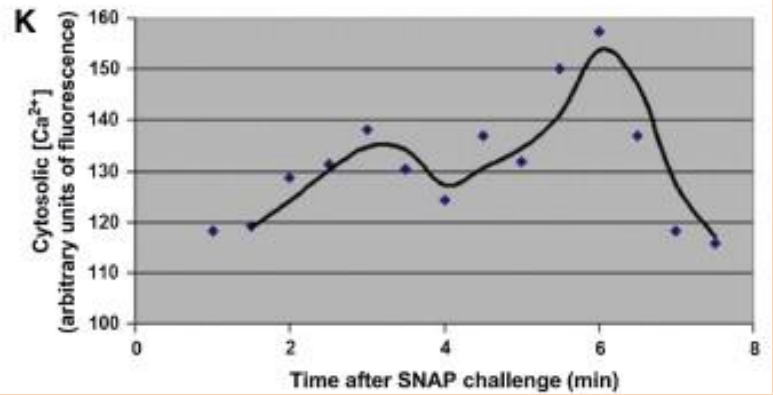
Pinus bungeana

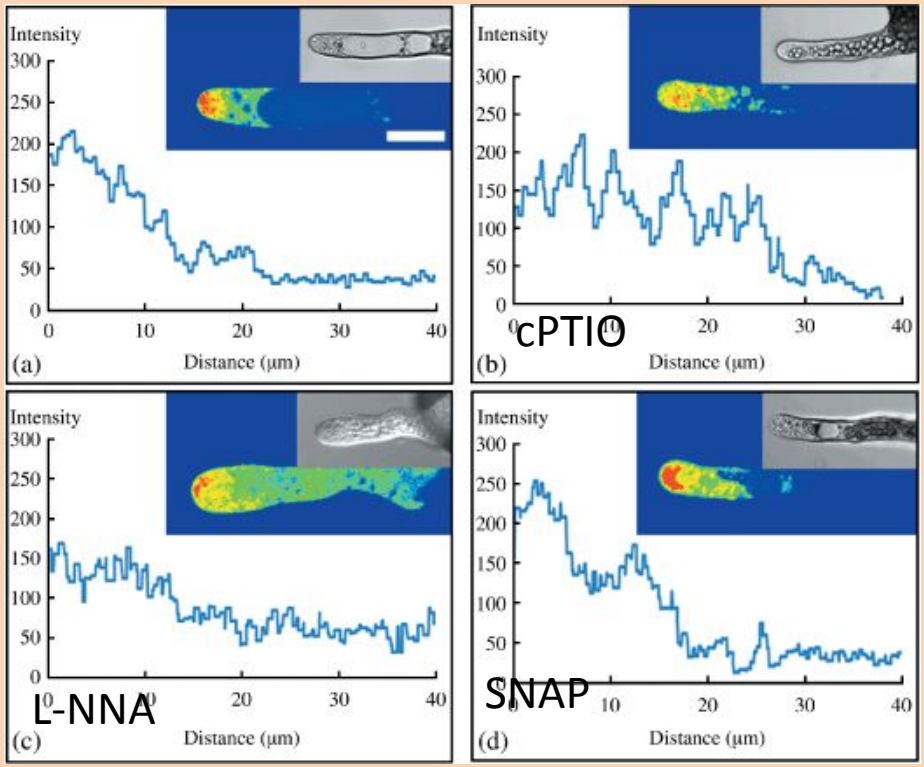
- Ингибиторы синтеза NO уродовали трубки
- активатор делал их вытянутыми и красивыми
- Флуоресценция локализована преимущественно в амилопластах!

NO synthase (NOS) inhibitor N_{ω}-nitro-L-arginine (L-NNA)

NO и кальций у сосны

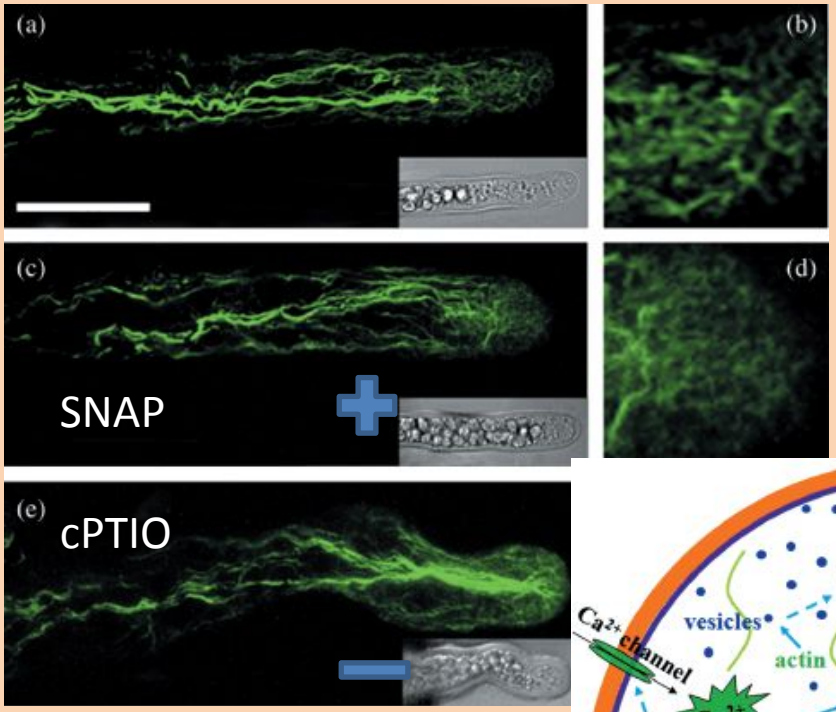
- При «убегании» трубок лилии от источника NO сначала концентрация Ca^{2+} возрастала, при этом рост замедлялся и останавливался, потом был максимум, который накладывался на реориентацию и восстановление роста
- У сосны подавление и активация эндогенного синтеза NO вызывали также изменение кальциевого тока и кальциевого градиента

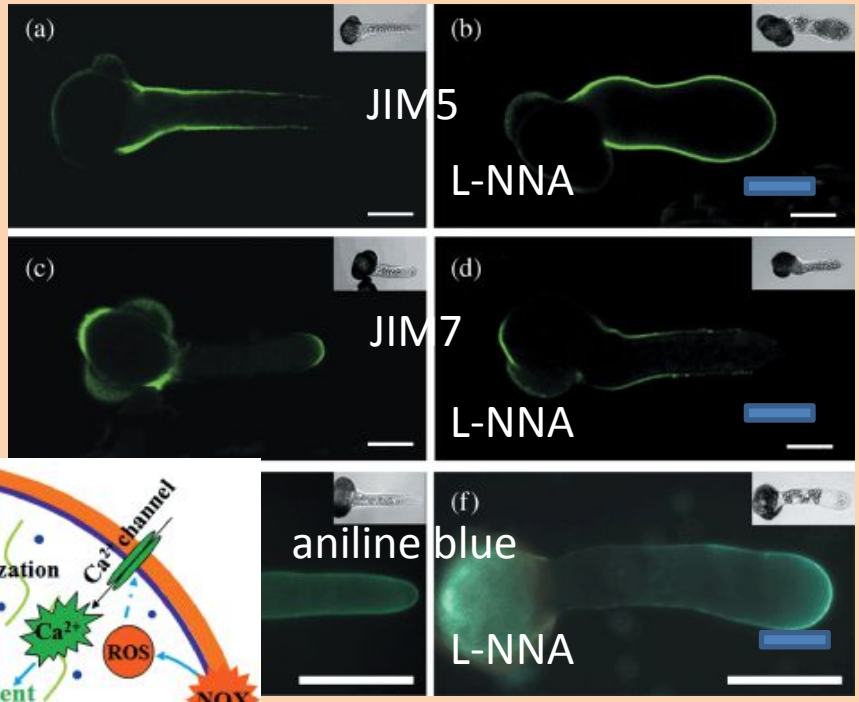


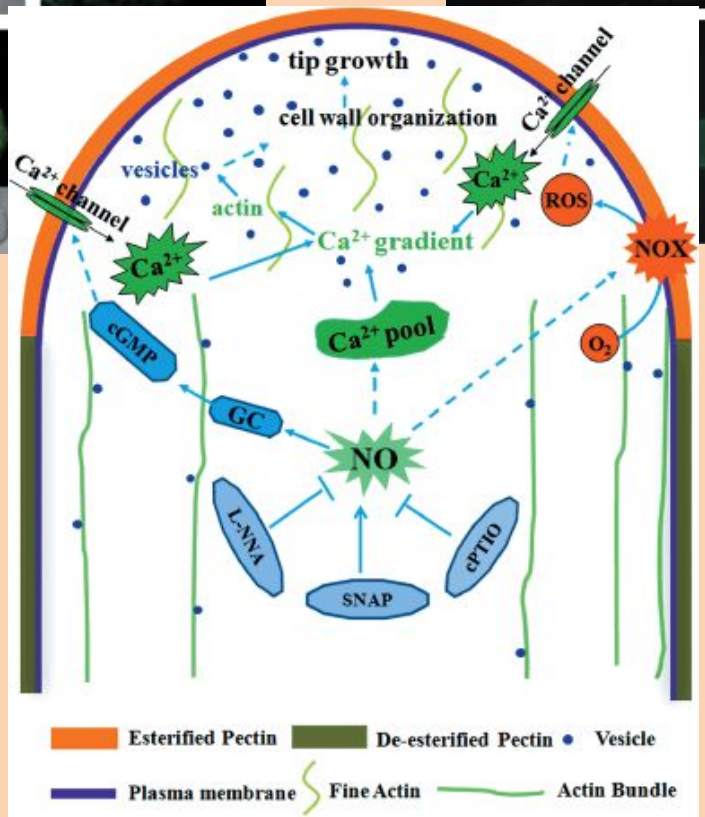


New Phytologist
Volume 182, Issue 4, pages 851-862, 31 MAR 2009 DOI: 10.1111/j.1469-8137.2009.02820.x

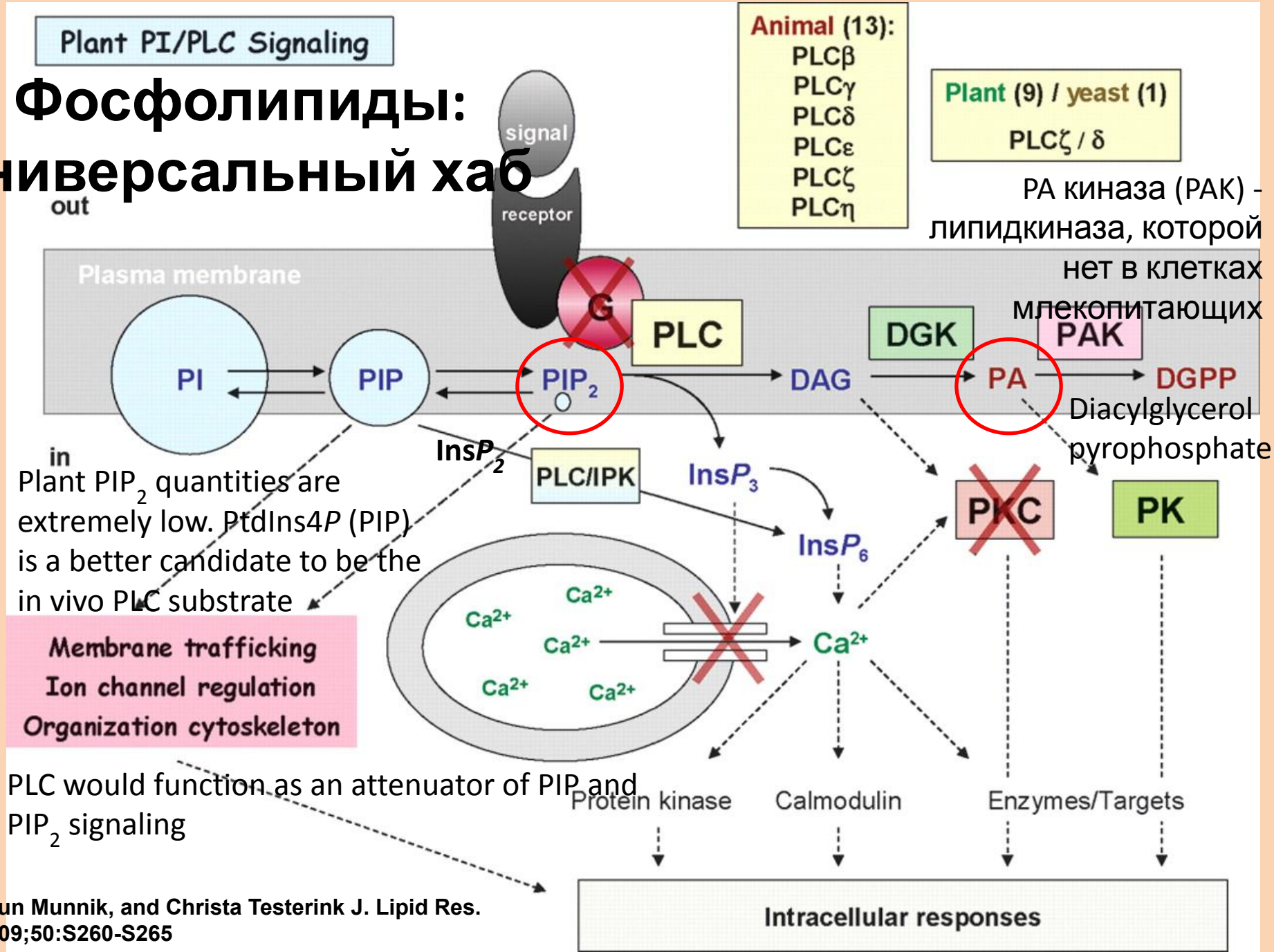
NO, актин и пектины







Фосфолипиды: универсальный хаб



PA киназа (PAK) - липидкиназа, которой нет в клетках млекопитающих

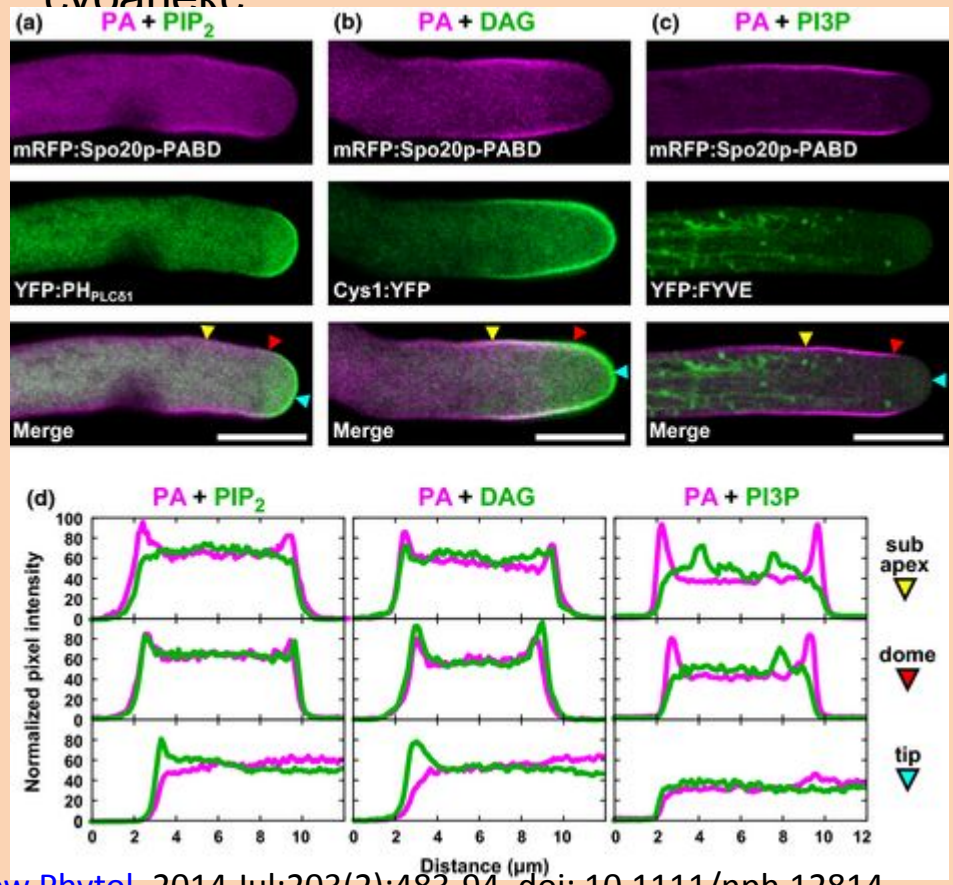
Plant PIP_2 quantities are extremely low. PtdIns4*P* (PIP) is a better candidate to be the in vivo PLC substrate

PLC would function as an attenuator of PIP and PIP_2 signaling

Teun Munnik, and Christa Testerink J. Lipid Res. 2009;50:S260-S265

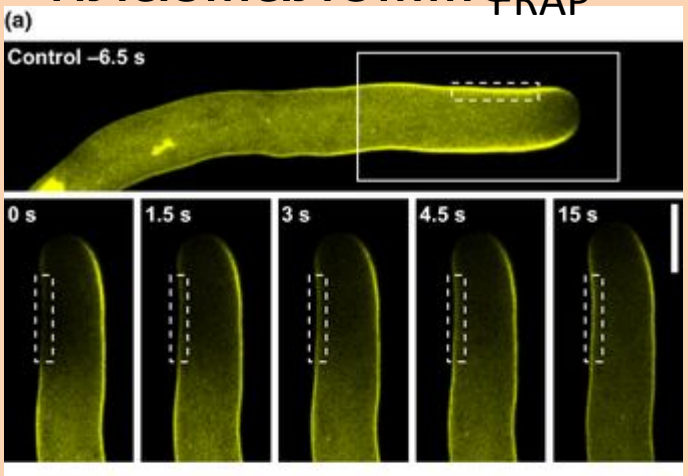
Распределение фосфолипидов

Фосфатидная к-та - субапекс



- Фосфатидная кислота сосредоточена в субапикальной плазмалемме, т.е. в зоне расположения актинового кольца.
- PI(4,5)P2 локализован в плазмалемме

FRAP



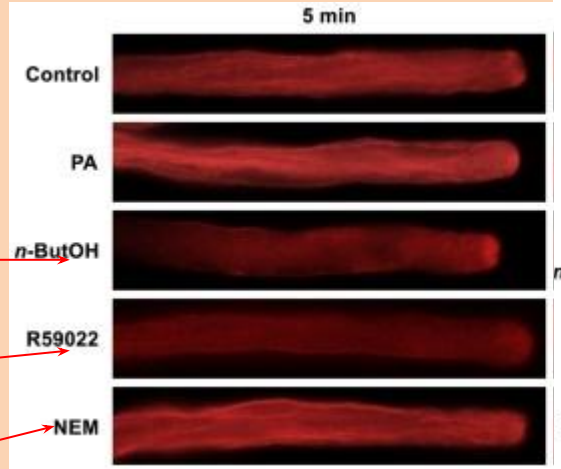
New Phytol. 2014 Jul;203(2):483-94. doi: 10.1111/nph.12814

Фосфолипиды и везикулярный транспорт

Вез.тр-т

актин

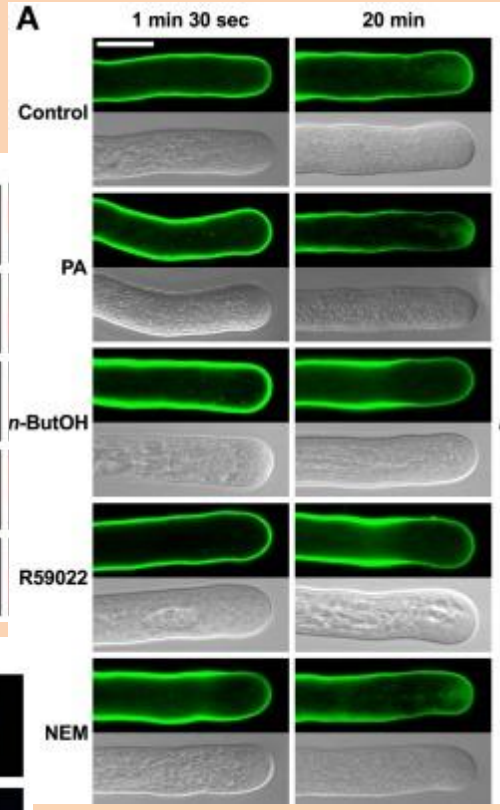
- Экзогенная PA и ингибитор деградации PA стимулировали образование пучков актиновых филаментов, везикулярный транспорт и отложение стенки.
- Подавление синтеза фосфатидной кислоты нарушало эти процессы.



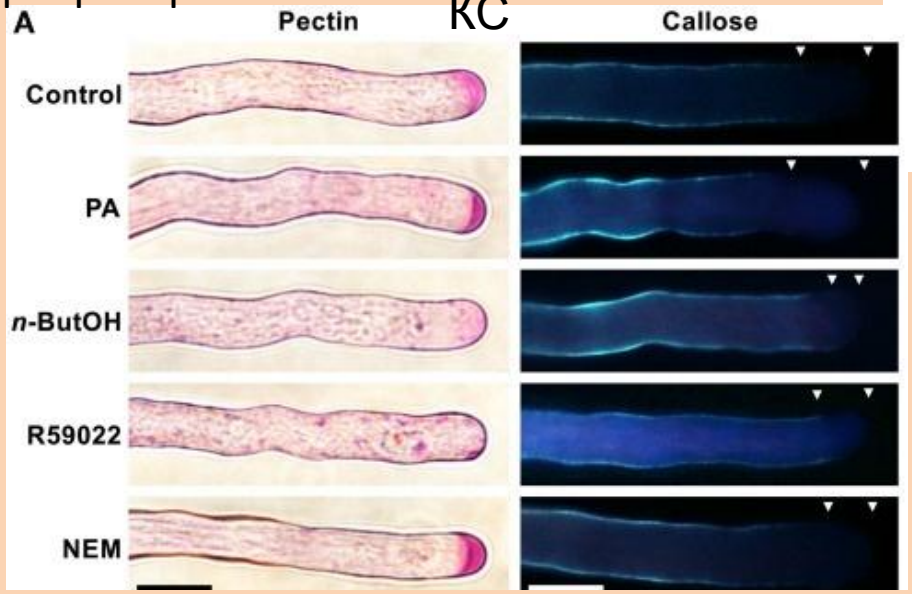
~~PLD~~

~~diacylglycerol kinase~~

~~lipid phosphate~~



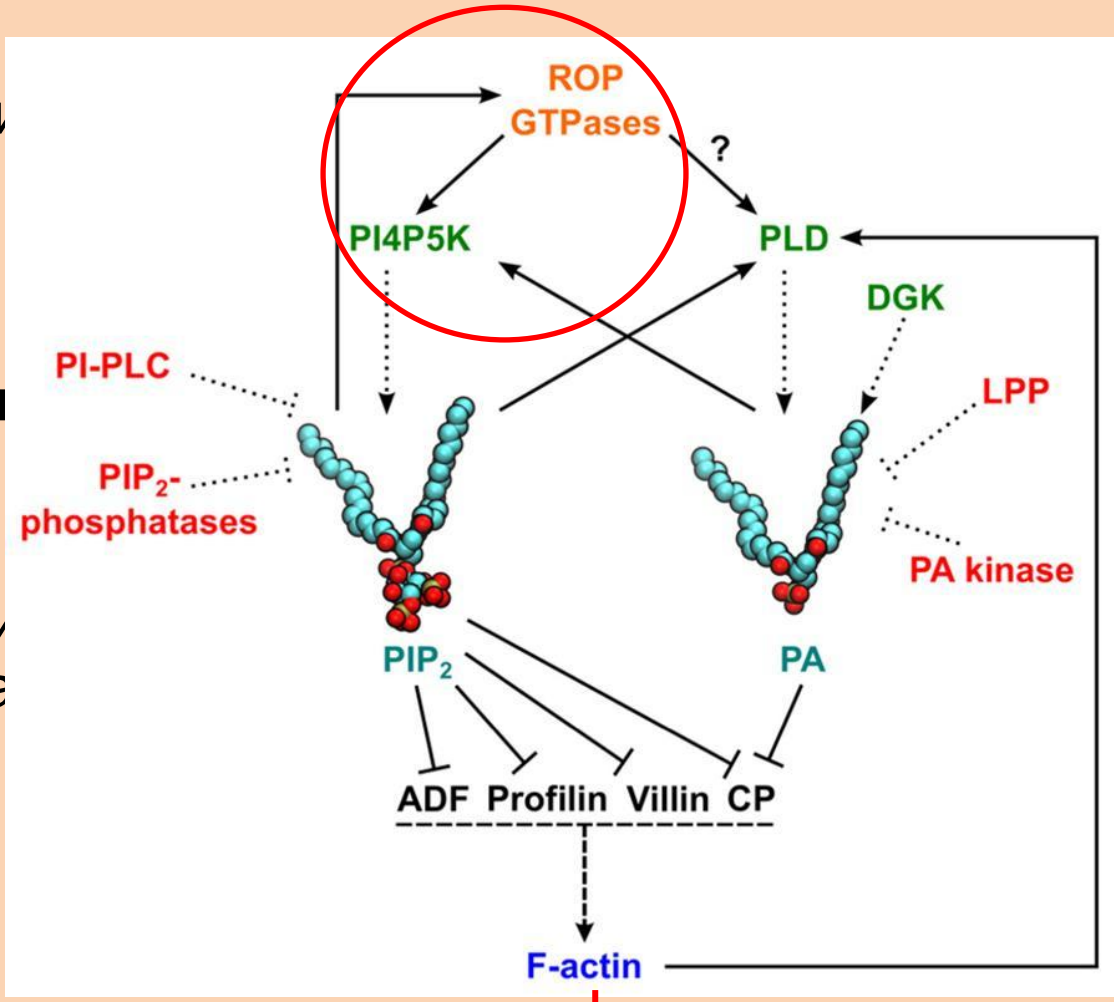
КС



Front Plant Sci. 2012; 3: 54.

Фосфолипиды и актин

- PI(4,5)P2 может различными способами влиять на динамику актина и его связь с мембраной: непосредственно взаимодействуя с актин связывающими белками, или опосредованно, регулируя активность и локализацию ROP ГТФа
- Киназа, катализирующая образование PI(4,5)P2, физически связана с ROP ГТФазой. Этот комплекс также локализован в кончике пыльцевой трубки.



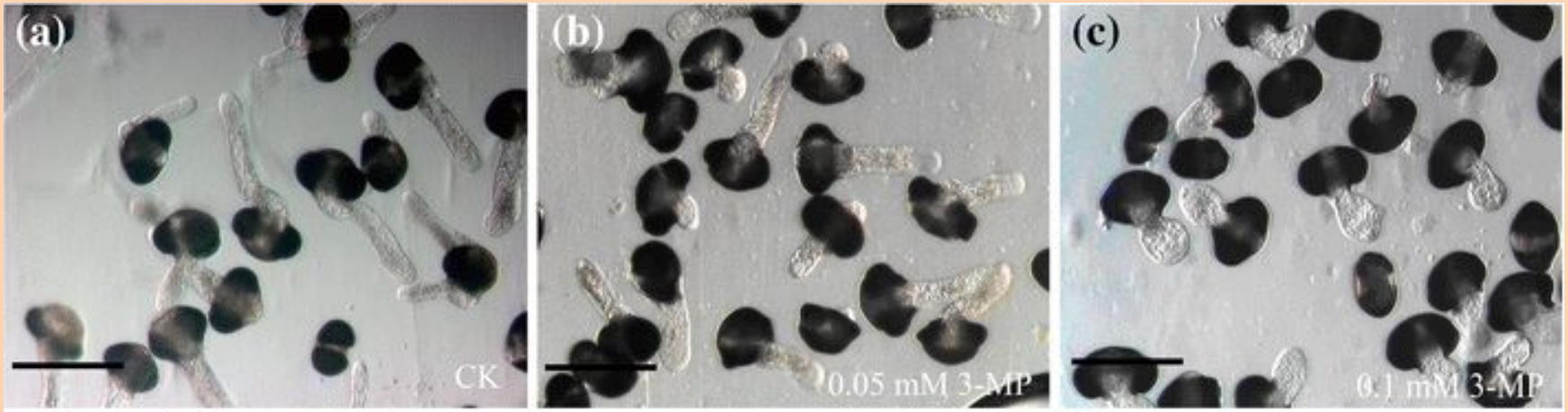
Везикулярный транспорт

Итак, приближаемся к семяпочке

- **Овулярный этап** разделяют на две **фазы** регуляции роста пыльцевой трубки:
- **фуникулярная** и **микропилярная**.
- Фуникулярная регуляция включает сигналы, исходящие из семяпочки, которые заставляют трубку выйти из проводникового тракта и расти к семяпочке по поверхности фуникулуса.
- Микропилярная регуляция направляет трубку к микропиле и яйцевому аппарату.
- Фуникулярная регуляция у *Arabidopsis,* как полагают, осуществляется совместными усилями спорофита и женского гаметофита.
- Микропилярную регуляцию осуществляет женский гаметофит.

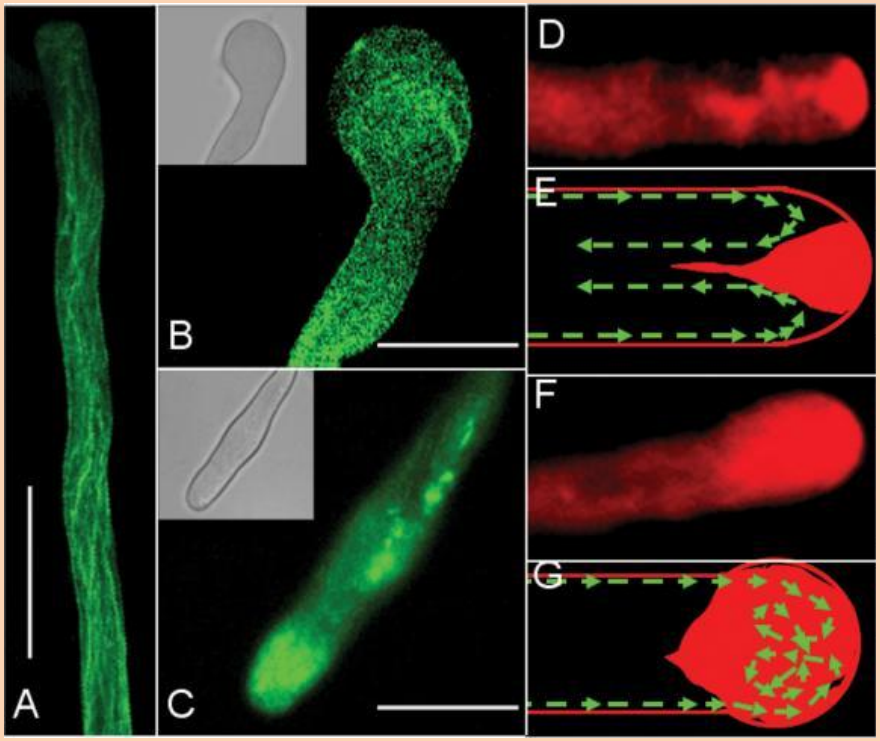
Фуникулярные сигналы

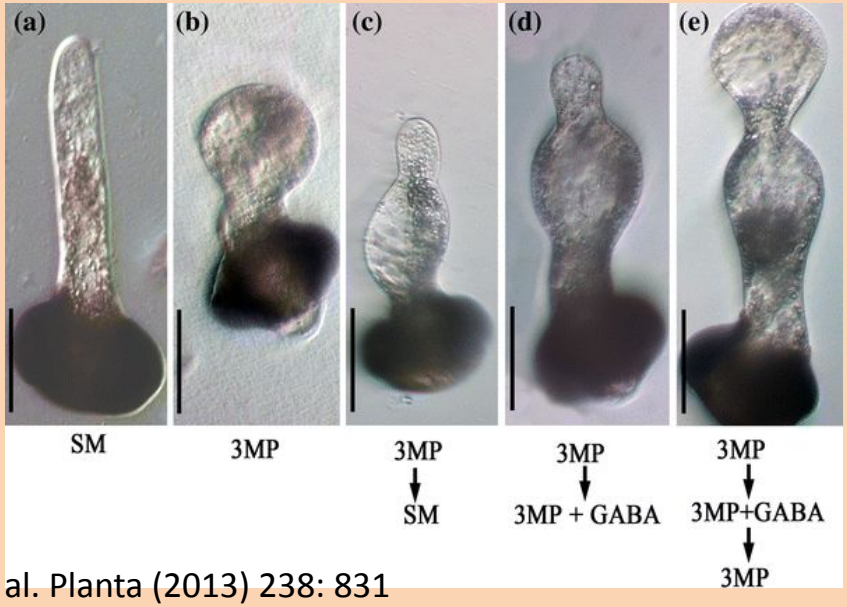
- Природа фуникулярных сигналов, исходящих из семяпочки, неясна. В числе кандидатов рассматривают NO и D-серин, о которых мы говорили ранее, а также γ-аминомасляную кислоту (GABA)
- Работа на сосне показала, что возможность такого сигналинга существовала уже у голосеменных. Использовалась ли она? Пока неизвестно…



GABA

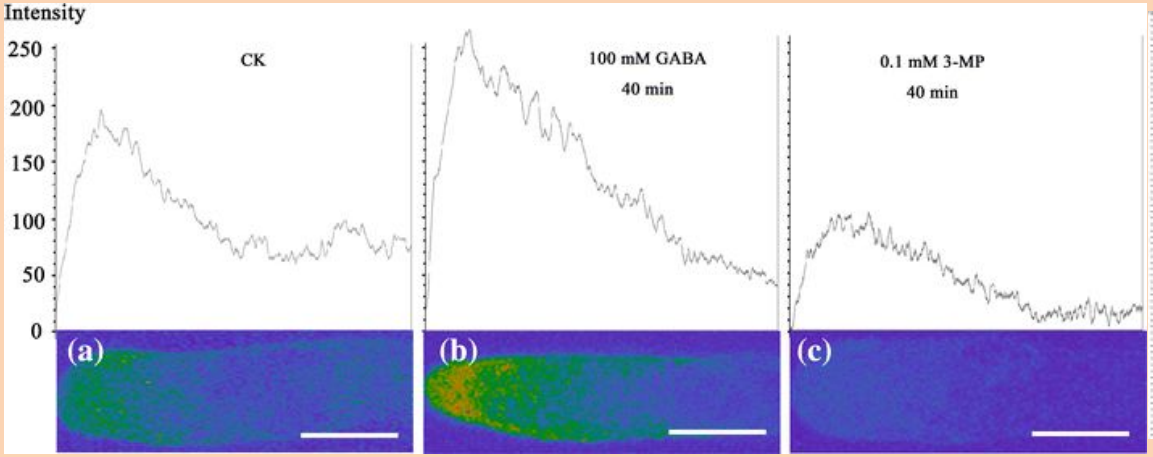
- Ингибирование **глутаматдекарбоксилазы** – фермента, лимитирующего скорость биосинтеза GABA, – вызывало в пыльцевой трубке дезорганизацию актинового цитоскелета, нарушения везикулярного транспорта и строительства клеточной стенки.
- Как следствие, происходило подавление прорастания пыльцы и роста трубки.
- Эффекты частично снимались при добавлении GABA.
- Экзогенная GABA, добавленная в оптимальной концентрации, стимулировала рост пыльцевых трубок ели и табака, высокие концентрации GABA, ингибировали.

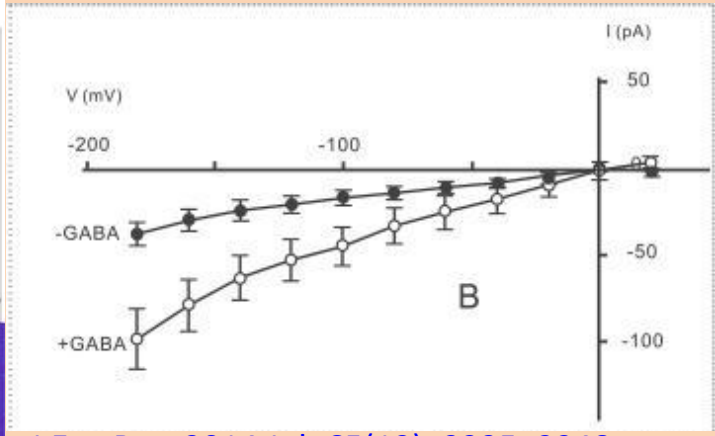




Ling, Y., Chen, T., Jing, Y. et al. Planta (2013) 238: 831

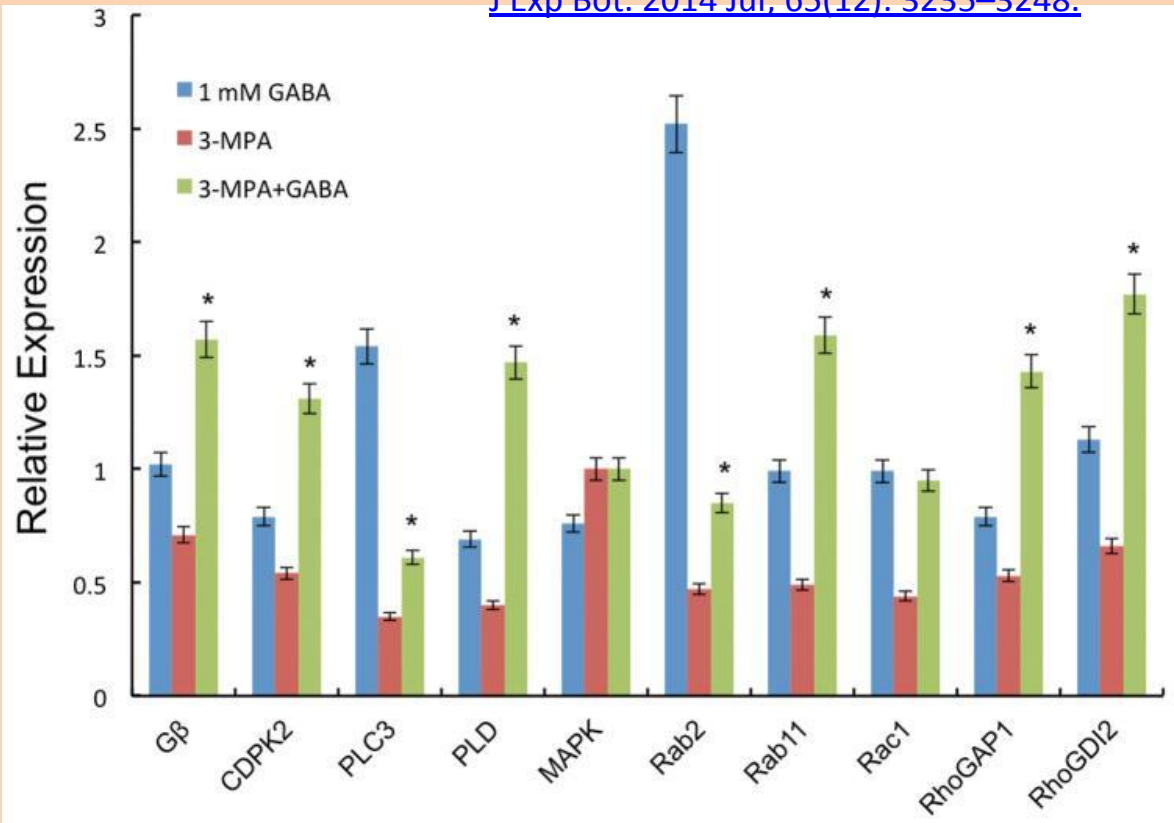
Как действует GABA?





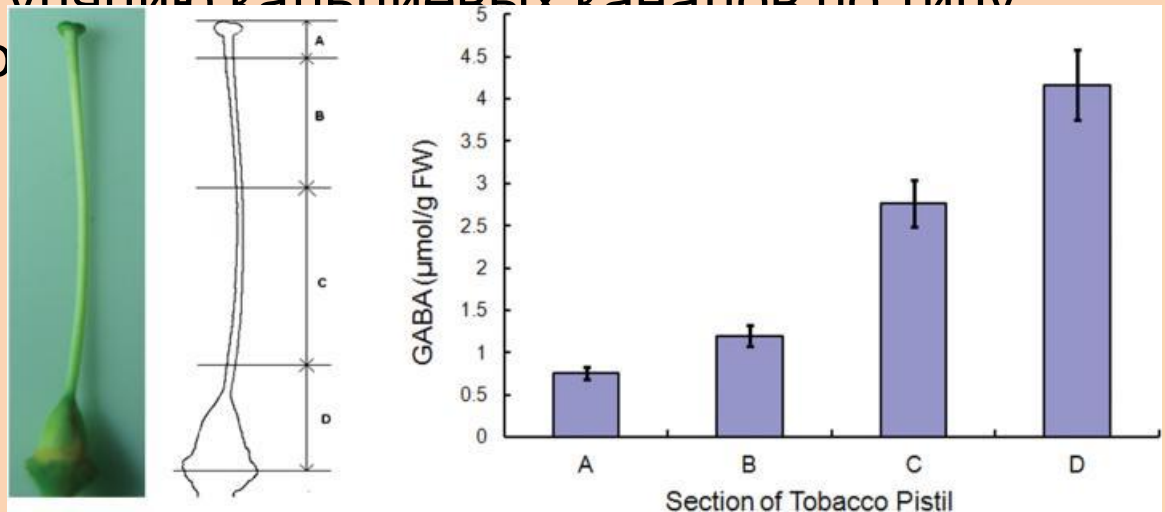
J Exp Bot. 2014 Jul; 65(12): 3235–3248.

- Активирует вход кальция
- Регулирует экспрессию ряда генов, включая ГТФазы и ферменты липидного сигналинга



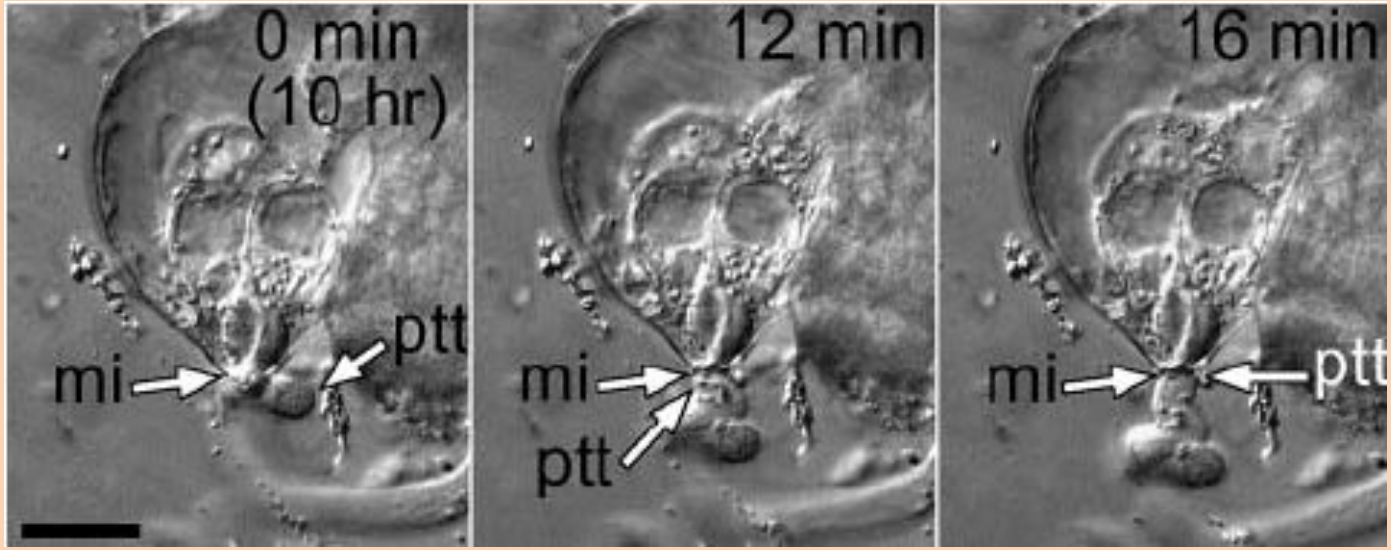
GABA в пестике

- В пестике табака обнаружен градиент концентрации GABA.
- Предполагается, что секретируемая пестиком GABA активирует кальциевые каналы плазмалеммы трубки и индуцирует приток Ca^{2+}.
- **Глутаматдекарбоксилаза** может связываться с кальмодулином и действовать как реостат, изменяя уровень внутриклеточной GABA, а через нее и активность кальциевых каналов.
- Когда пыльцевая трубка растет в зоне низких концентраций GABA, ее кальциевые каналы активируются.
- Когда трубка попадает в зону высоких концентраций, GABA ингибирует эти каналы.
- Глутаматдекарбоксилаза играет ключевую роль в этом процессе, обеспечивая регуляцию кальциевых каналов по типу отрицательной о



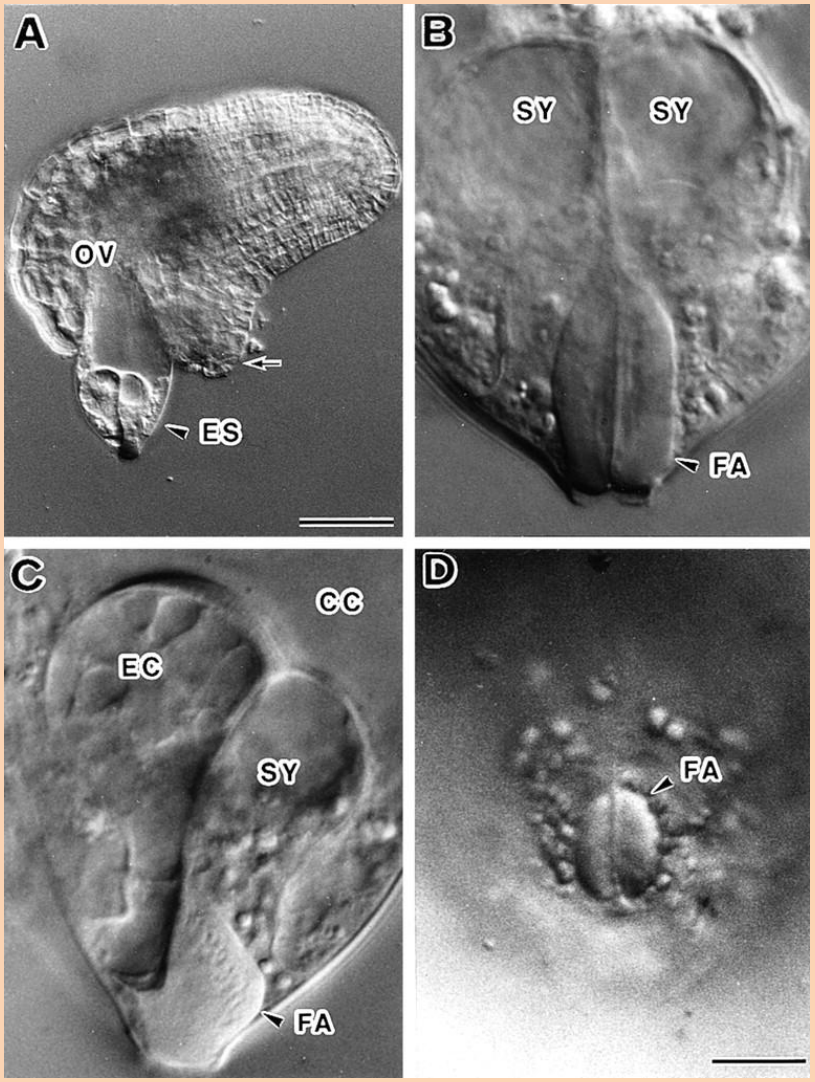
Микропилярные сигналы

- Эти сигналы имеют короткий радиус действия (100-200 мкм от микропиле), значит, здесь могут работать достаточно крупные молекулы, например, небольшие белки.
- Любимый объект - *Torenia fournieri,* у которой «полуголый» зародышевый мешок выступает из семяпочки, так что синергиды, яйцеклетка и част центральной клетки находятся в гнезде завязи



Микропилярные сигналы

- Эксперименты с последовательной лазерной абляцией (удалением) клеток ЗМ показали, что для привлечения пыльцевой трубки к женскому гаметофиту необходимо и достаточно, чтобы сохранялась хотя бы одна синергида.
- Судя по всему, синергида - главный источник хемоаттракции пыльцевых трубок

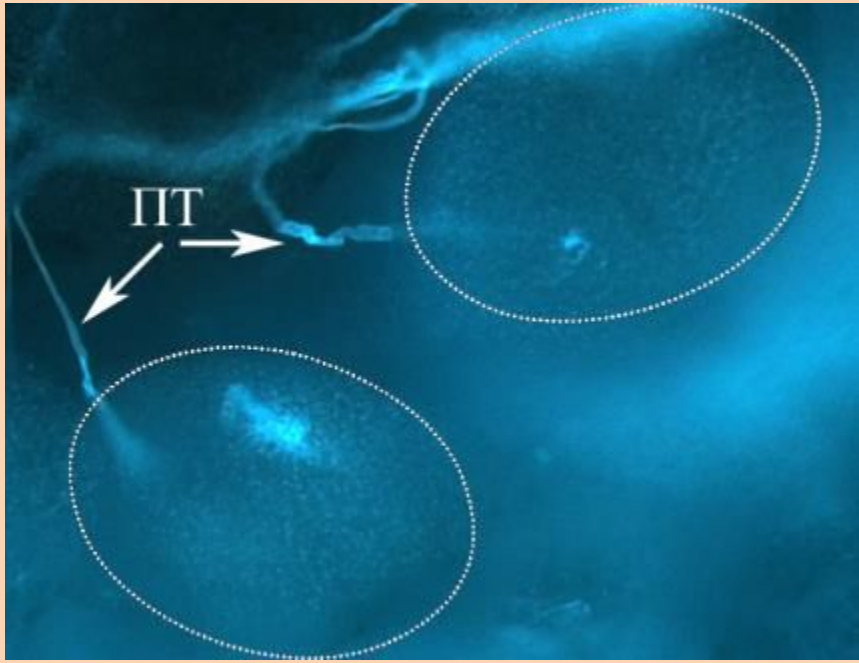


Механика врастания

- В конце своего пути пыльцевая трубка замедляет рост и проникает в одну из синергид (рецептивную) через нитчатый аппарат или рядом с ним.
- В синергиде рост пыльцевой трубки прекращается, она лопается, и спермии высвобождаются.

Зона взаимодействия гамет

- Цитоплазмы ВК и С смешиваются
- Плазмалемма С разрушается, и спермии в составе MGU перемещаются в узкое пространство между плазмалеммами яйцеклетки и ЦК.
- Его обозначают как зону взаимодействия гамет.
- В этой зоне, где встречаются синергиды, яйцеклетка и центральная клетка, клеточные стенки полностью или частично отсутствуют, открывая плазмалеммы

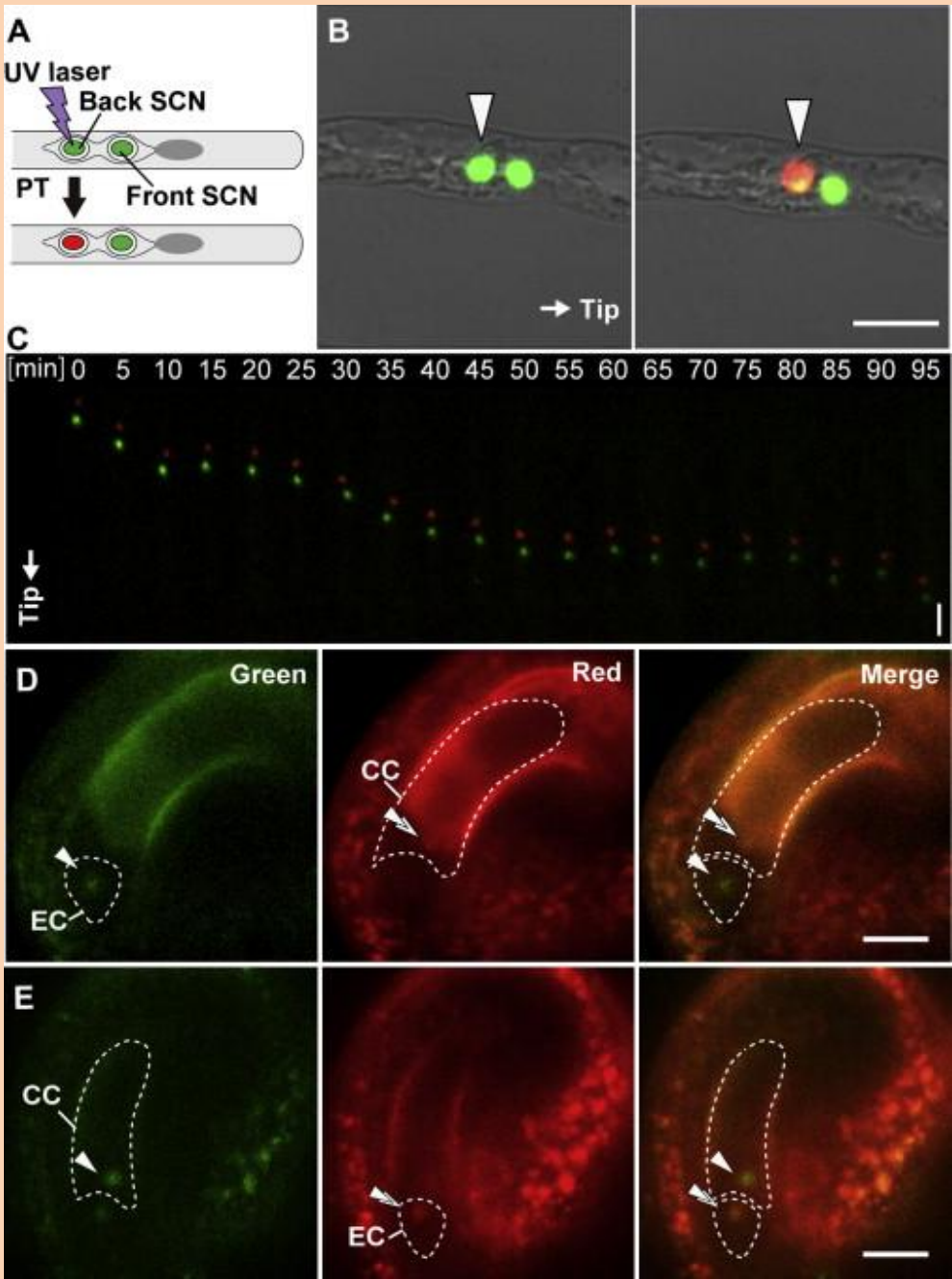


Оплодотворение

- После разрыва трубки, скорость движения спермиев возрастает примерно в 100 раз.
- Неизвестно, используется ли на этом этапе активный транспорт или спермии перемещаются с потоком цитоплазмы, выходящей из лопнувшей пыльцевой трубки.
- После такого быстрого движения спермии останавливаются в зоне взаимодействия гамет. У *Arabidopsis* эта «остановка» длится около 7 мин.
- В этот период дегенерирует ядро вегетативной клетки, происходит активация спермиев, адгезия плазматических мембран и объединение цитоплазмы в обеих парах гамет (плазмогамия).
- После чего ядра спермиев перемещаются к ядрам женских гамет и сливаются с ними (кариогамия).

К вопросу о шансах

- Экспрессировали в спермиях флуоресцентный белок, способный к фотоконверсии: облучение УФ сдвигало спектр флуоресценции этого белка.
- Один и тот же спермий связан с вегетативным ядром на протяжении роста пыльцевой трубки.
- Анализ большого числа оплодотворений показал, что «передний» спермий (связанный с вегетативным ядром), как и «задний», с равной вероятностью оплодотворяли как яйцеклетку, так и центральную клетку.



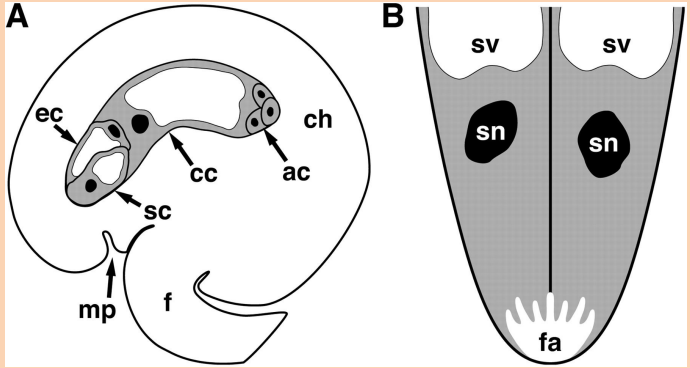
Curr Biol. 2011 Mar 22;21(6):497-502
http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2011.02.013

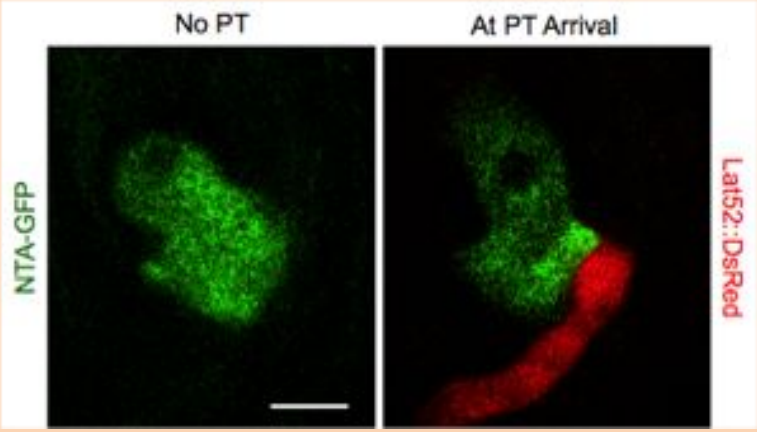
Одинаковые ли синергиды?

- Две синергиды в зрелом зародышевом мешке многих растений неразличимы, и выбор трубкой рецептивной синергиды, по-видимому, происходит случайным образом.
- Гибель рецептивной синергиды у *Arabidopsis*, например, запускается после непосредственного контакта с пыльцевой трубкой.
- А гибель второй синергиды происходит после оплодотворения.
- У других видов растений, таких как табак, рецептивная синергида определена до прибытия трубки и отличается по ультраструктуре; кроме того, в ней накапливаются значительные количества мембранно-связанного кальция

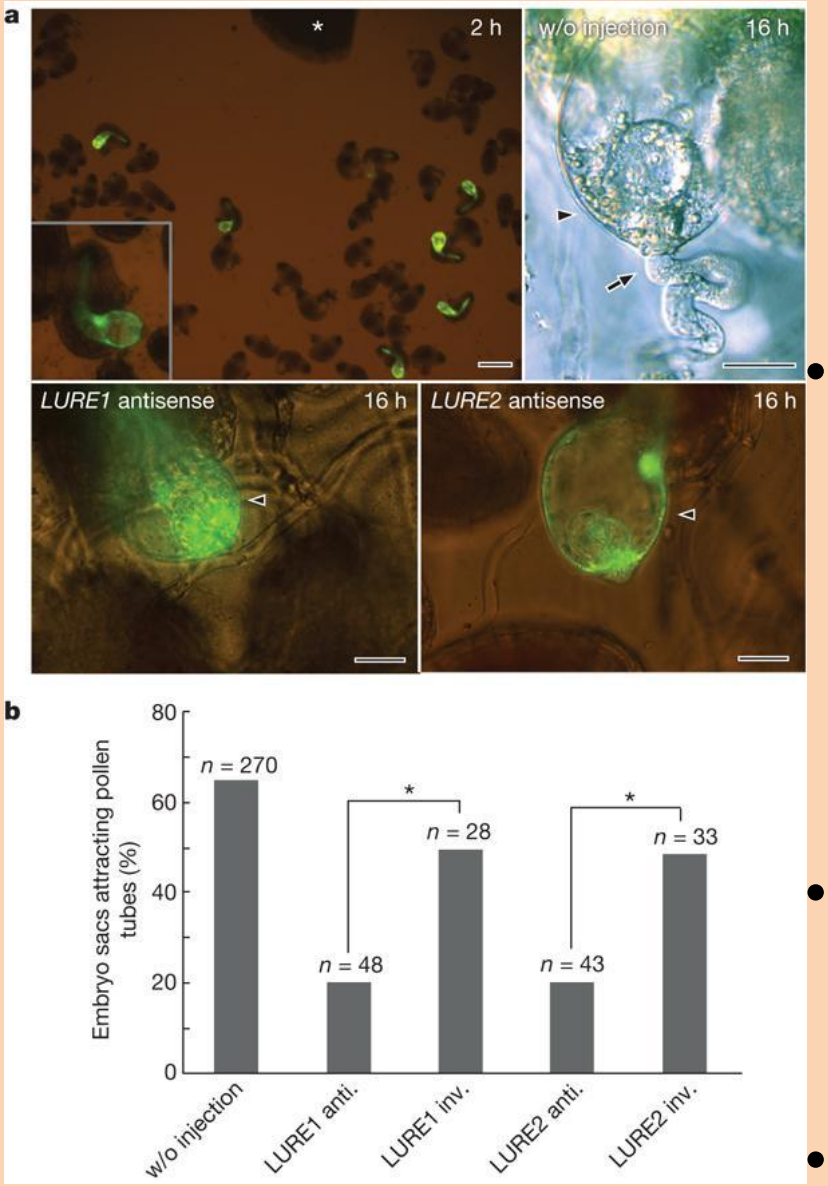
Нитчатый аппарат

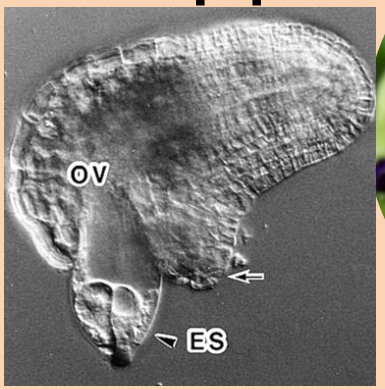
- Нитчатый аппарат представляет собой систему извилистых и разветвленных впячиваний клеточной стенки в цитоплазму.
- Они существенно увеличивают поверхность плазмалеммы и суммарную толщину клеточной стенки.
- Вблизи нитчатого аппарата концентрируются митохондрии с хорошо выраженными кристами.





Сигнальные пептиды



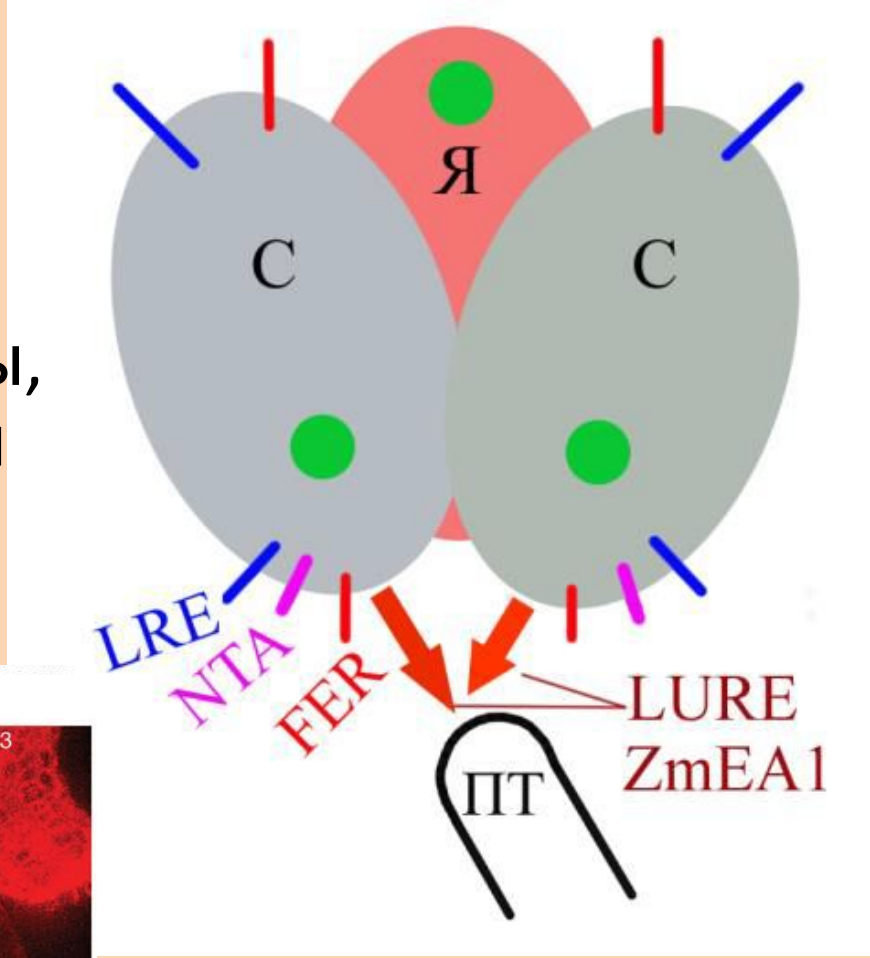


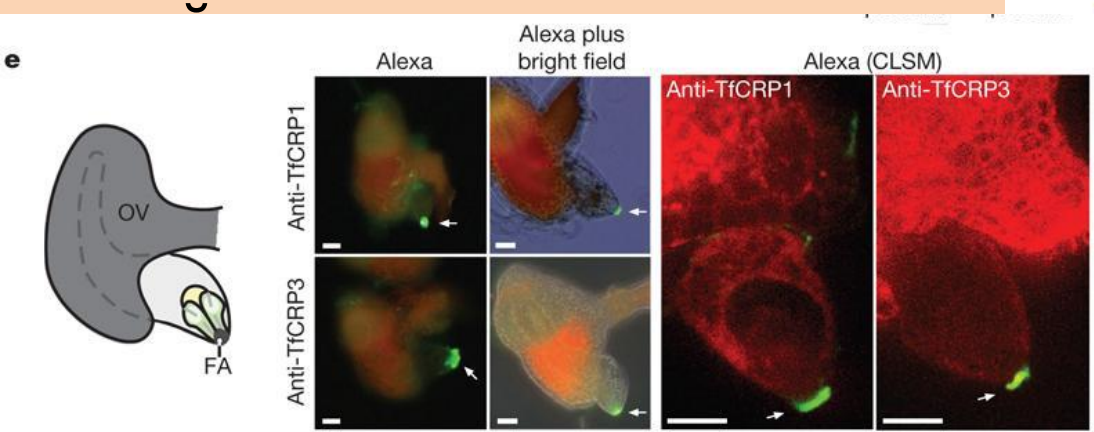
- В числе первых аттрактантов, синтезируемых синергидами, были идентифицированы цистеин-богатые полипептиды LURE, обнаруженные у *Torenia fournieri*
- Антисенс конструкции для пептидов *LURE* мешают зародышевому мешку привлечь трубки
- Врастания и оплодотворения не происходит

S Okuda *et al. Nature* **458**, 357-361 (2009) doi:10.1038/nature07882

Сигнальные пептиды

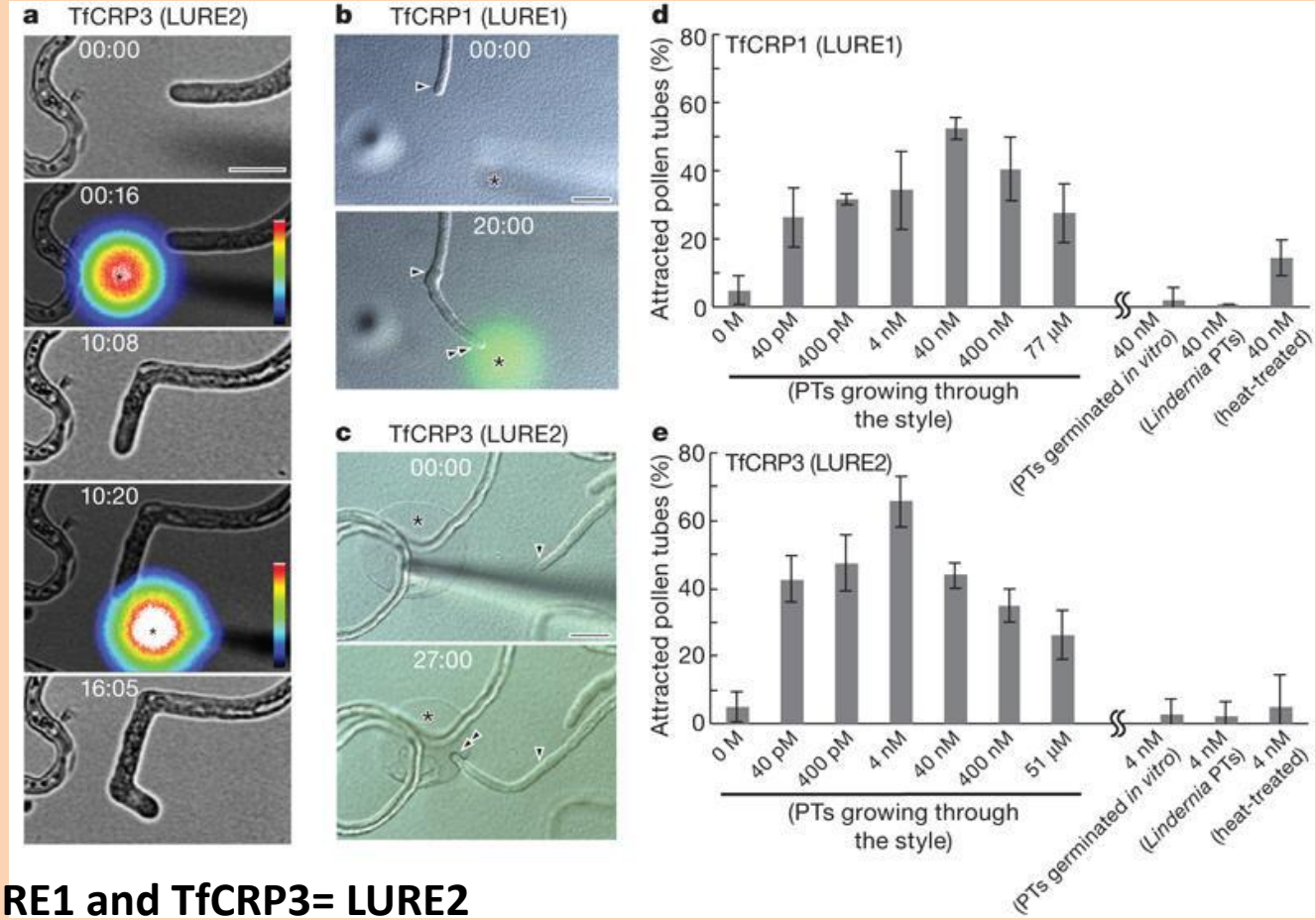
- LURE (CRP) секретируются в микропилярной части женского гаметофита (в области нитчатого аппарата).
- Пептиды видоспецифичны, причем пыльцевые трубки приобретают компетентность к их





зел.- CRP пептид

Сигнальные пептиды привлекают трубки



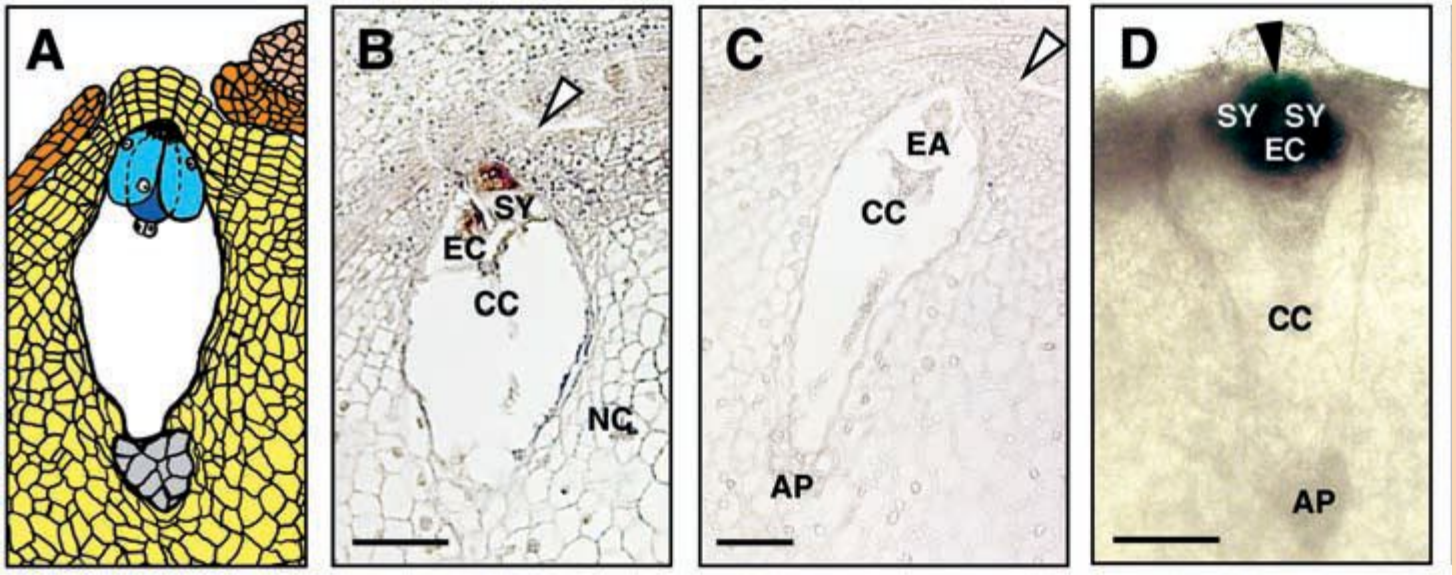
TfCRP1=LURE1 and TfCRP3= LURE2

nature

S Okuda *et al.* ***Nature* 458**, 357-361 (2009) doi:10.1038/nature07882

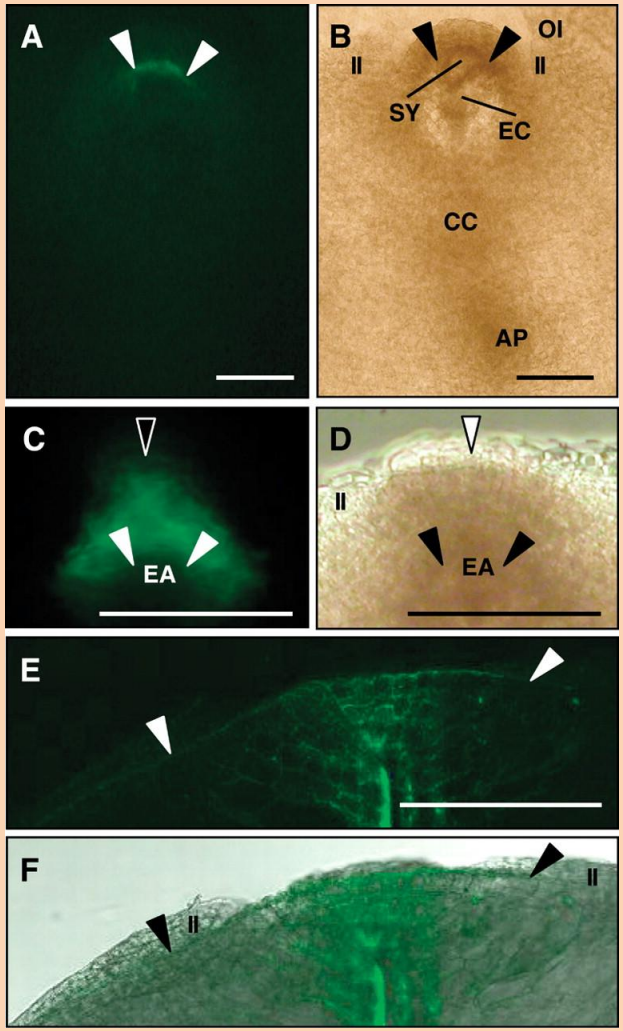
А у однодольных?

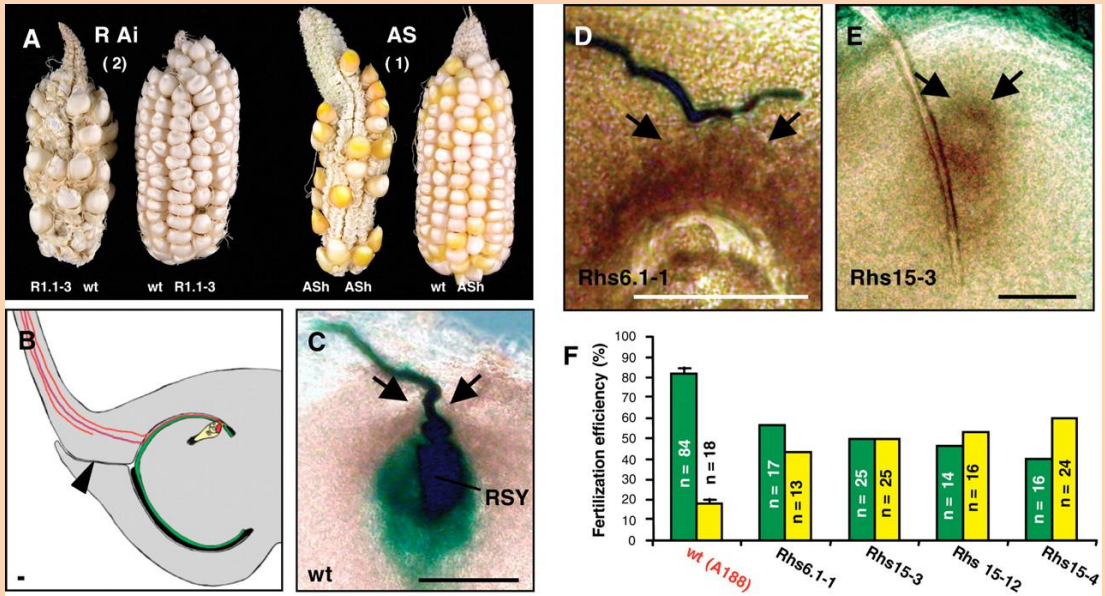
- У кукурузы *Z. Mays* EGG APPARATUS 1 (ZmEA1).
- Радиус его аттрагирующего действия составляет 100-150 мкм.
- Транскрипты *ZmEA1* накапливались перед оплодотворением, но после оплодотворения их уровень резко снижался.



Кукуруза

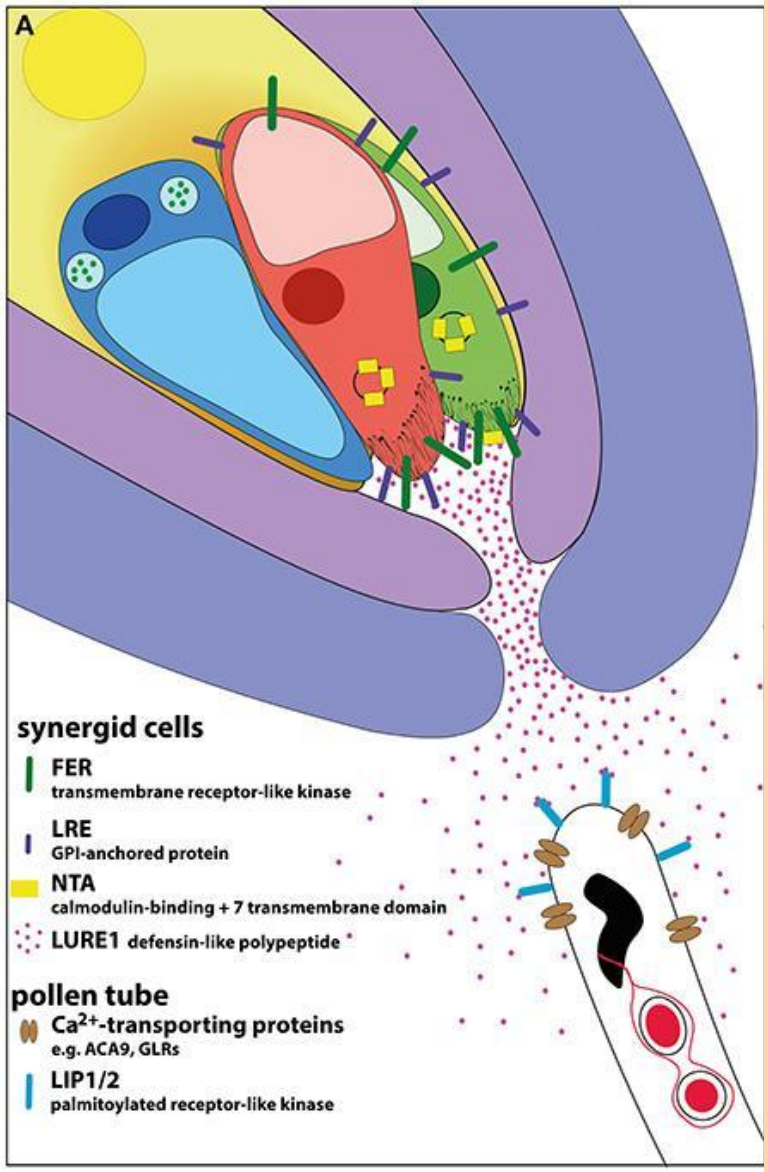
- Флуоресцентно меченый белок EA1-GFP накапливался между стенками синергид (и поверхностью клеток нуцеллуса, расположенных вокруг микропиле.
- Подавление синтеза этого пептида с помощью антисмысловой РНК блокировало процесс вхождения трубки в семяпочку.





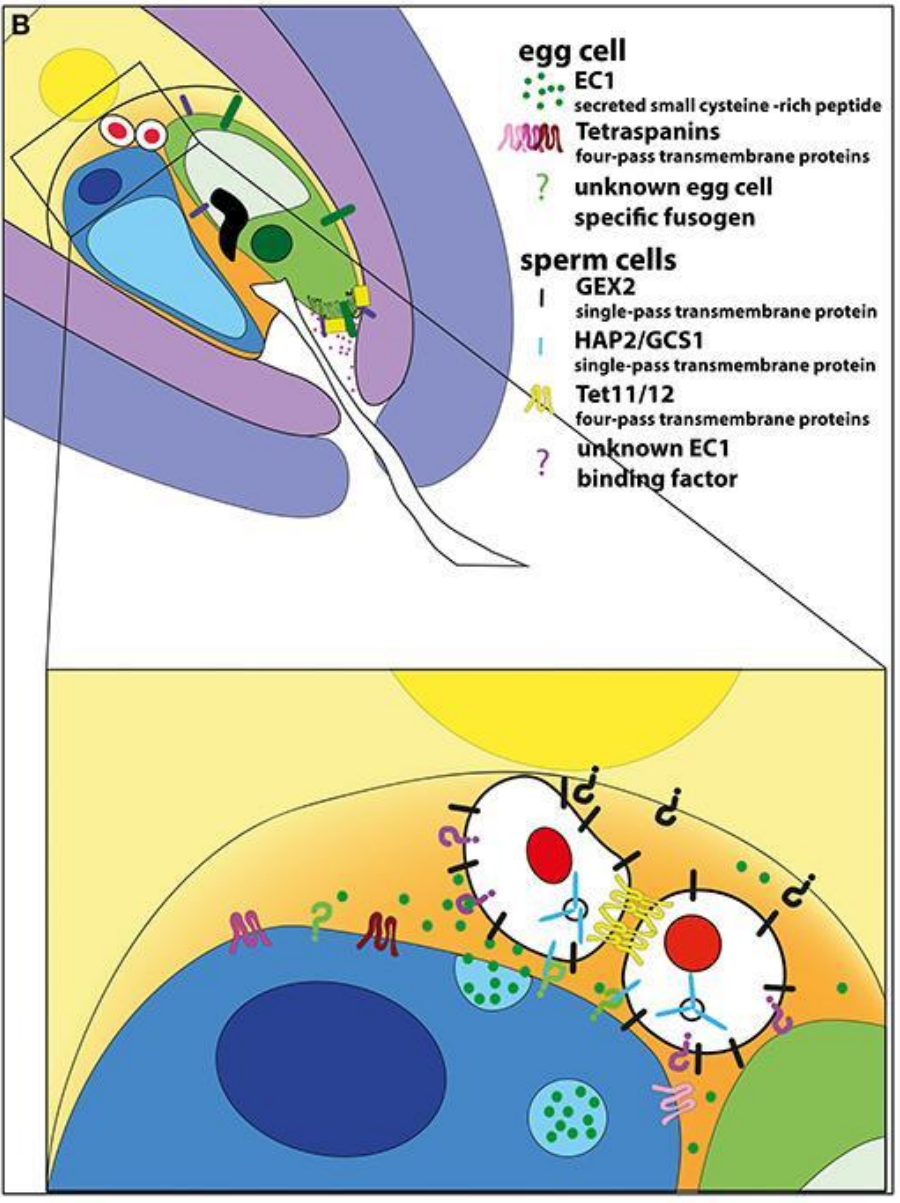
Marton, M. L. (2005). Micropylar Pollen Tube Guidance by Egg Apparatus 1 of Maize. **Science**, 307(5709), 573–576.

О том же, но красиво



Синергиды являются основными источниками аттрактантов пыльцевых трубок. Они секретируют пептиды LURE, которые связываются с рецепторами LIP1/2, экспрессируемыми пыльцой, тем самым направляя рост ПТ. Транспортеры кальция участвуют в контроле роста пыльцевых трубок. На ПМ синергид высока концентрация FER и LRE, особенно в области нитчатого аппарата. При установлении связи с ПТ NTA перемещается на плазматическую мембрану за счет активности FER, вероятно, регулируемой колебаниями Ca^{2+} внутри синергид.

О том же, но красиво

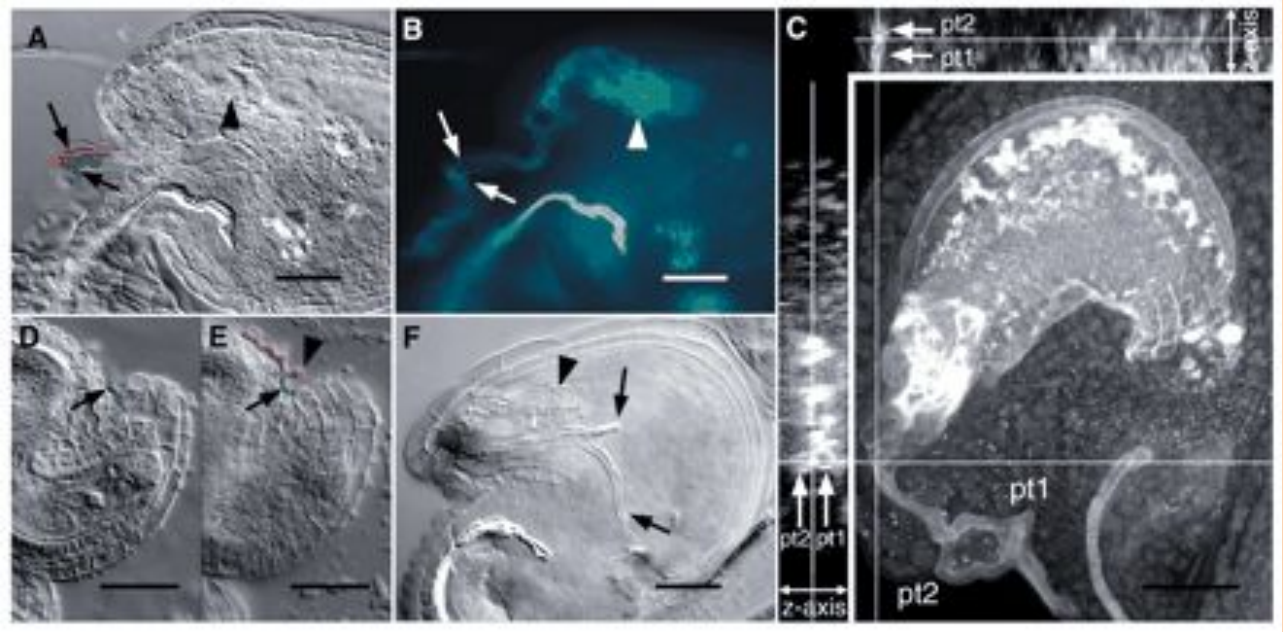


Пыльцевая трубка лопается, когда входит за пределы нитчатого аппарата, и высвобождает спермии. Разрыв ПТ зависит от присутствия и активации FER-, LER-, NTA- и VDD-зависимых сигнальных каскадов, результатом которых является гибель рецептивной синергиды. Освободившиеся спермии расположены в зоне встречи гамет. Они связаны друг с другом, вероятно, с участием тетраспанинов.

Мужские гаметы прикрепляются к женским за счет GEX2, расположенного на их поверхности. После активации яйцеклетка секретирует EC1, что приводит к активации спермиев и локализации HAP2/GCS1 на ПМ. HAP2 / GCS1 и тетраспанины на

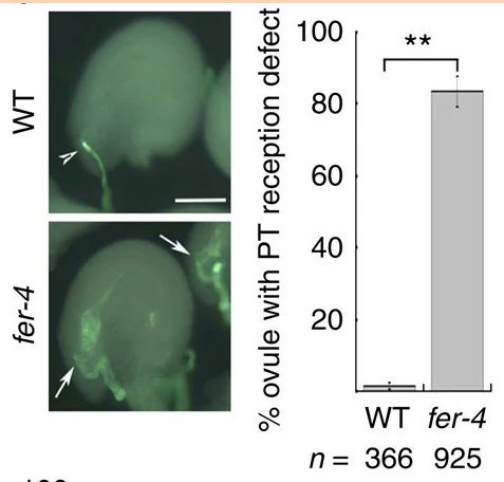
Богиня плодородия

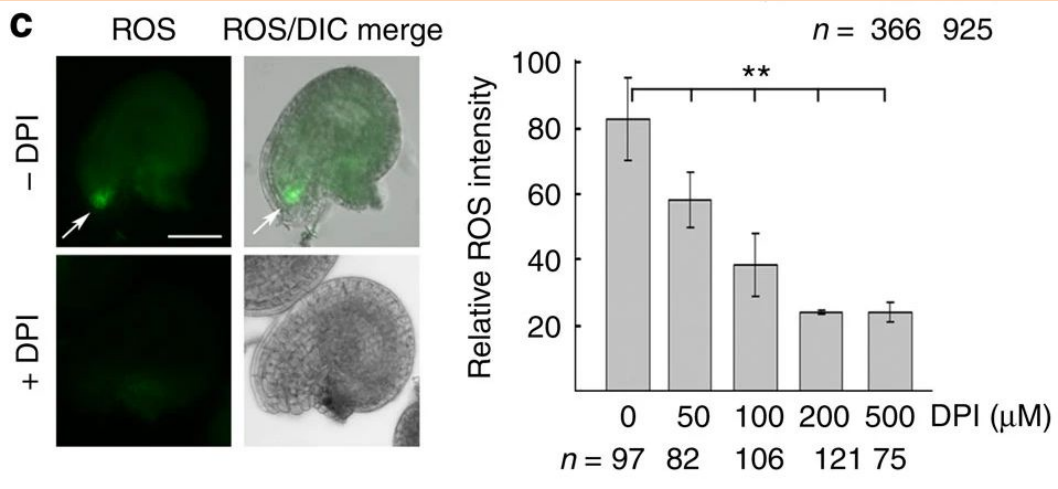
- Ключевую роль в разрыве трубки играют рецепторные киназы.
- Первая РК синергиды названа в честь богини плодородия этрусков, FERONIA. Она локализована в плазмалемме в области нитчатого аппарата.
- У мутантных растений *fer* не происходит оплодотворения. Пыльцевые трубки не могут остановить свой рост.
- Семяпочка не снижает свою аттрагирующую активность и привлекает новые пыльцевые трубки.



Причем тут АФК?

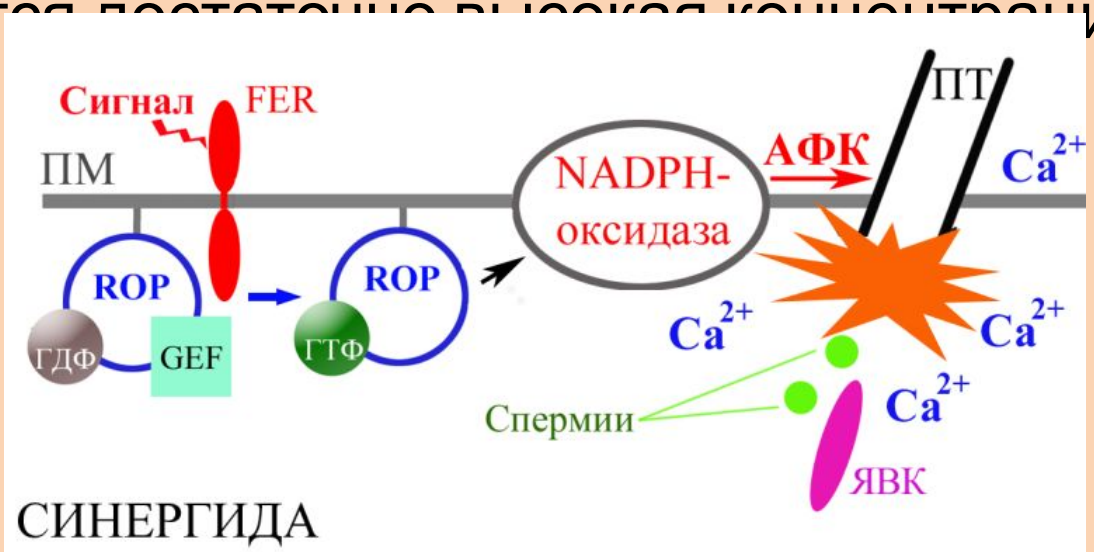
- Итак, FERONIA должна вызвать разрыв пыльцевой трубки, она же должна прекратить аттракцию новых пыльцевых трубок
- АФК, продуцируемые NADPH-оксидазой, локализованы там же, где и FER – в нитчатом аппарате.
- Развитие семяпочки дикого типа сопровождалось накоплением FER и АФК в нитчатом аппарате, достигая максимума в период готовности семяпочки принять пыльцевую трубку.
- В процессе развития семяпочек мутанта *Arabidopsis fer-4* уровень АФК не повышался.
- DPI (ингибитор NADPH-оксидазы) и антиоксиданты эффективно снижали содержание АФК в семяпочке и блокировали разрыв пыльцевых трубок, они продолжали расти.





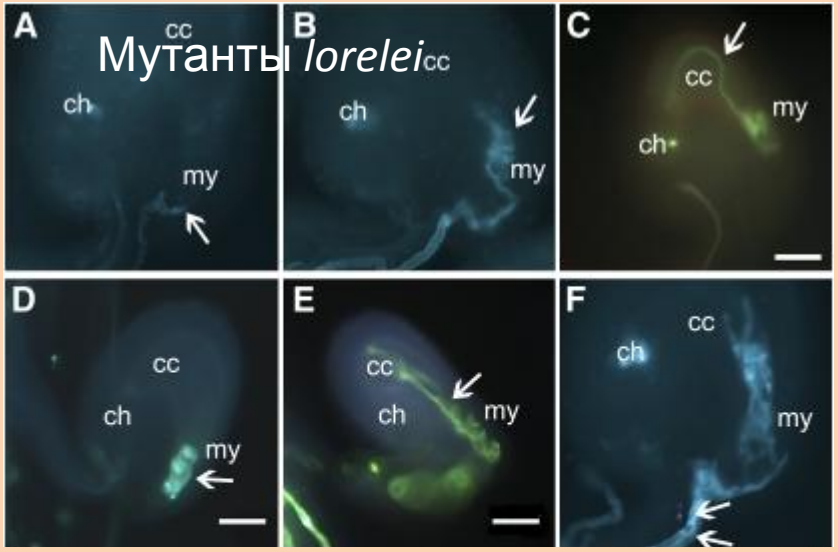
Сигнал на поверхности синергиды

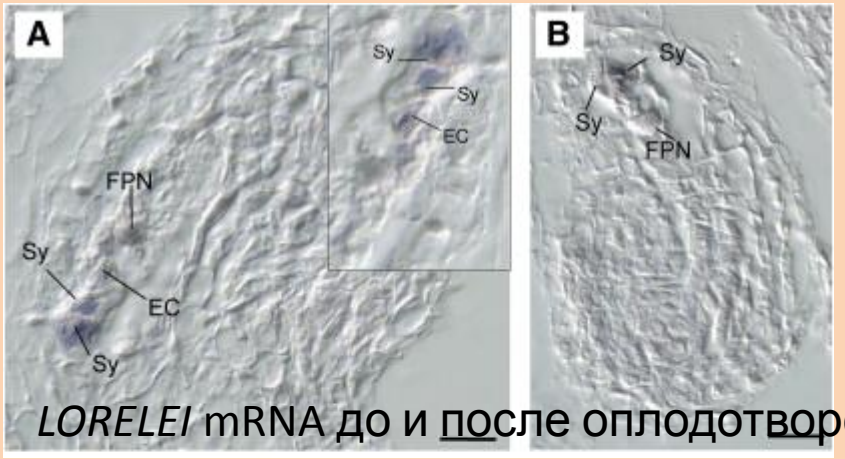
- РК FER взаимодействует с неизвестной сигнальной молекулой и запускает остановку роста трубки и активацию сигнального модуля ROP–АФК–Ca^{2+}.
- В молекуле ROP ГДФ заменяется на ГТФ, ROP-ГТФ стимулирует работу NADPH-оксидазы плазмалеммы, что приводит к увеличению уровня внеклеточных АФК в нитчатом аппарате.
- АФК могут ослаблять стенку пыльцевой трубки, подготавливая ее к разрыву. Однако разрыв трубки наступает только после ее врастания в синергиду, где достигается достаточно высокая концентрация Ca^{2+}.



Красивые имена NORTIA и LORELEI

- Для NTA, как и FER, характерна полярная локализация – в нитчатом аппарате.
- У мутантов *nta и lre* так же, как *fer,* пыльцевые трубки своевременно не прекращают свой рост и не высвобождают спермии
- Небольшой белок LRE транспортируется в плазмалемму синергиды посредством секреторной системы и заякоривается снаружи с помощью гликозилфосфатидилинозитола – якорного домена на С-конце

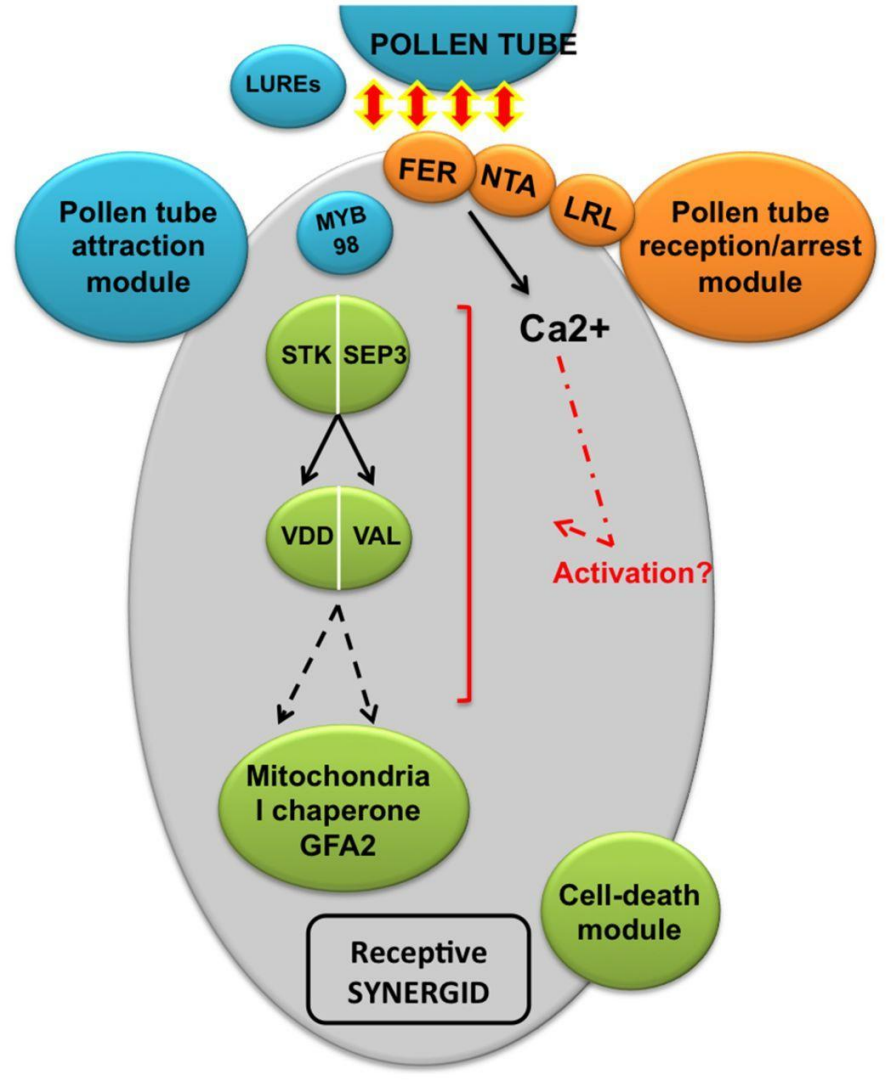




LORELEI mRNA до и после оплодотворен

Plant Cell. 2008 Nov; 20(11): 3038–3049

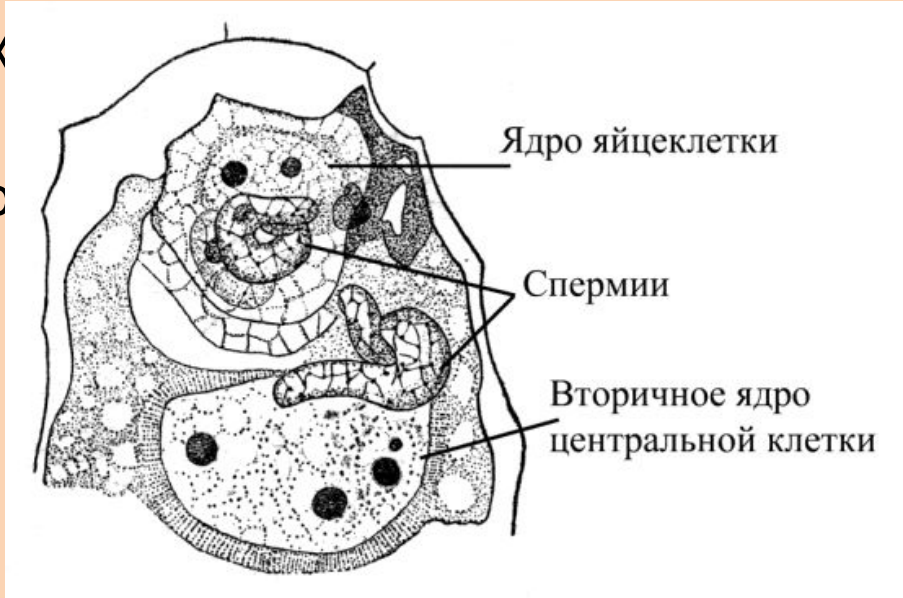
Сигнальный модуль «хлеб-соль»

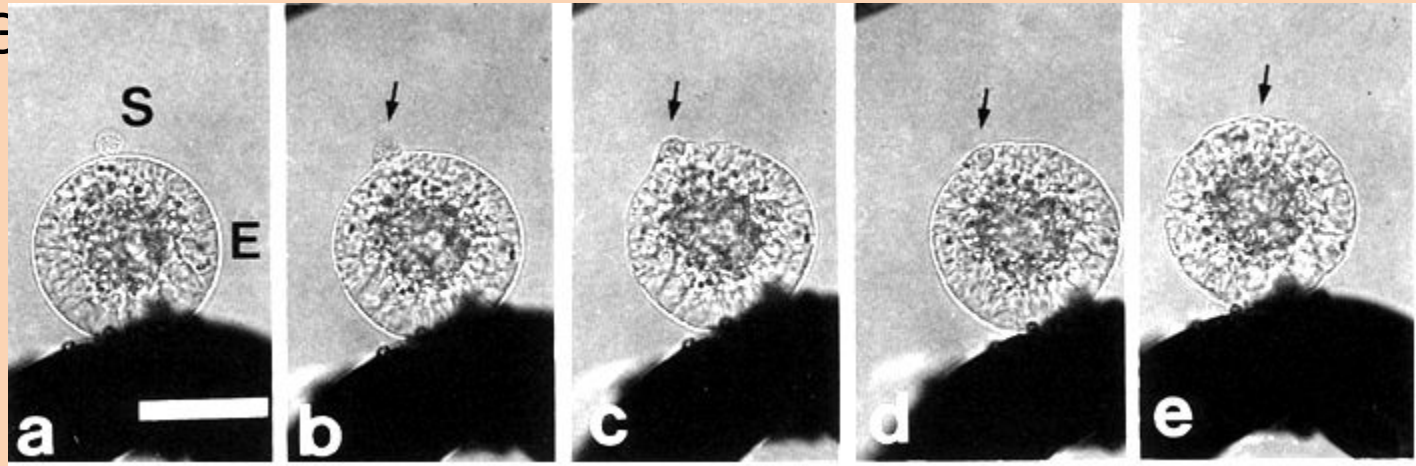


- LRE, как и FER, индуцирует образование АФК в нитчатом аппарате
- NTA перемещается в плазмалемму из цитоплазмы лишь с появлением в зародышевом мешке пыльцевой трубки.
- Процесс перемещения NTA происходит под контролем FER.
- LRE, наряду с FER, входит в сигнальный модуль, который включает ROP ГТФазу и обеспечивает высокий уровень АФК на входе в женский гаметофит

Оплодотворение

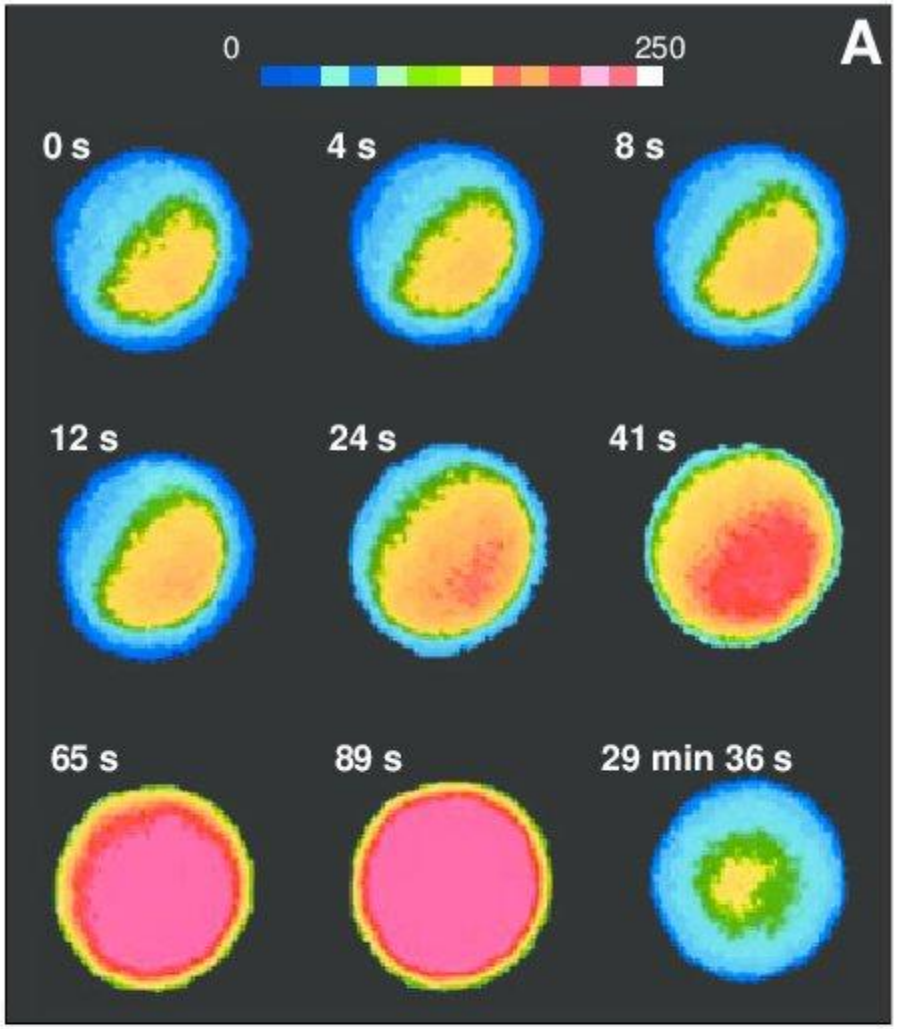
- Двойное оплодотворение было открыто С.Г. Навашиным в конце XIX в.
- Первые успешные эксперименты по оплодотворению *in vitro* были поставлены в начале 1990х.
- Kranz с коллегами индуцировали слияние спермия и яйцеклетки кукурузы с помощью электрических импульсов.
- Далее научились использовать для слияния Ca^{2+}, ПЭ (2005)!





Гаметы и Ca^{2+} (*in vitro*)

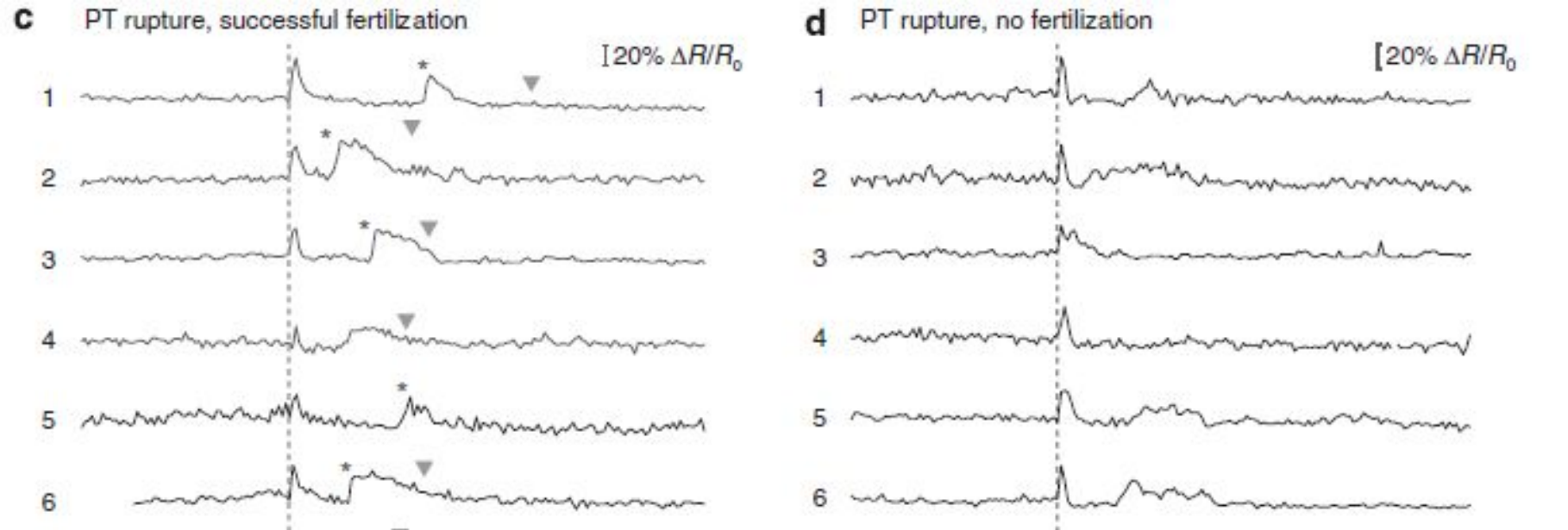
- При слиянии спермия и яйцеклетки кукурузы *in vitro* наблюдали временное увеличение цитозольной концентрации кальция.
- Кальций поступал в яйцеклетку извне. Этот процесс начинался сразу после слияния гамет в месте входа спермия.
- Затем он распространялся в виде волны по поверхности яйцеклетки со скоростью около 1 мкм/с, и в итоге охватывал всю клетку



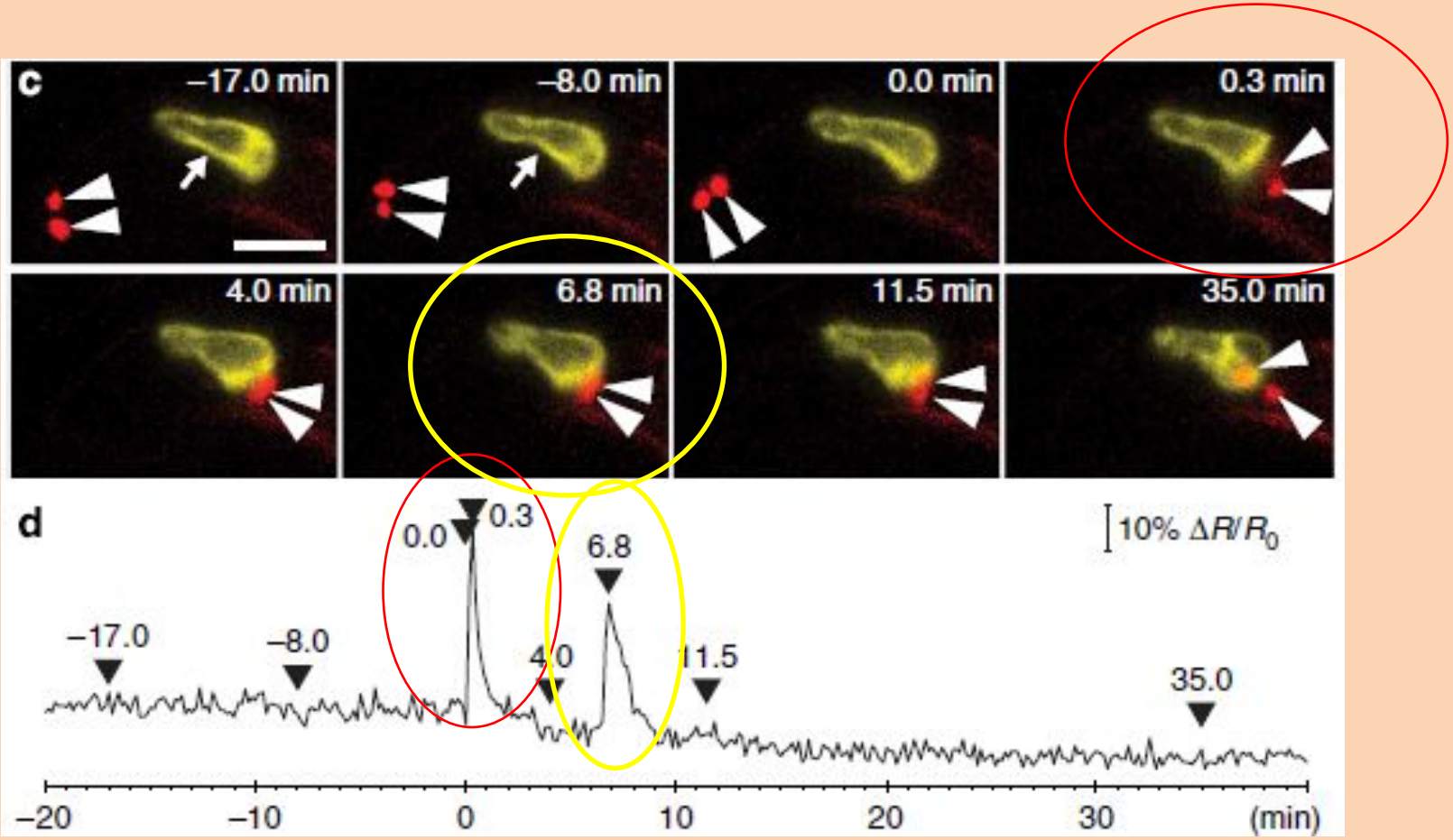
First evidence of a calcium transient in flowering plants at fertilization 1997

In vivo 2 пика

- Однако позже картина усложнилась: *in vivo* существует 2 пика, а значит, зачем-то это нужно!
- Первый пик соответствует высвобождению спермиев.
- Значение этого спайка не выяснено. Он предшествует секреции белка EC1, активирующего спермии. Возможно, этот спайк связан с активацией яйцеклетки.

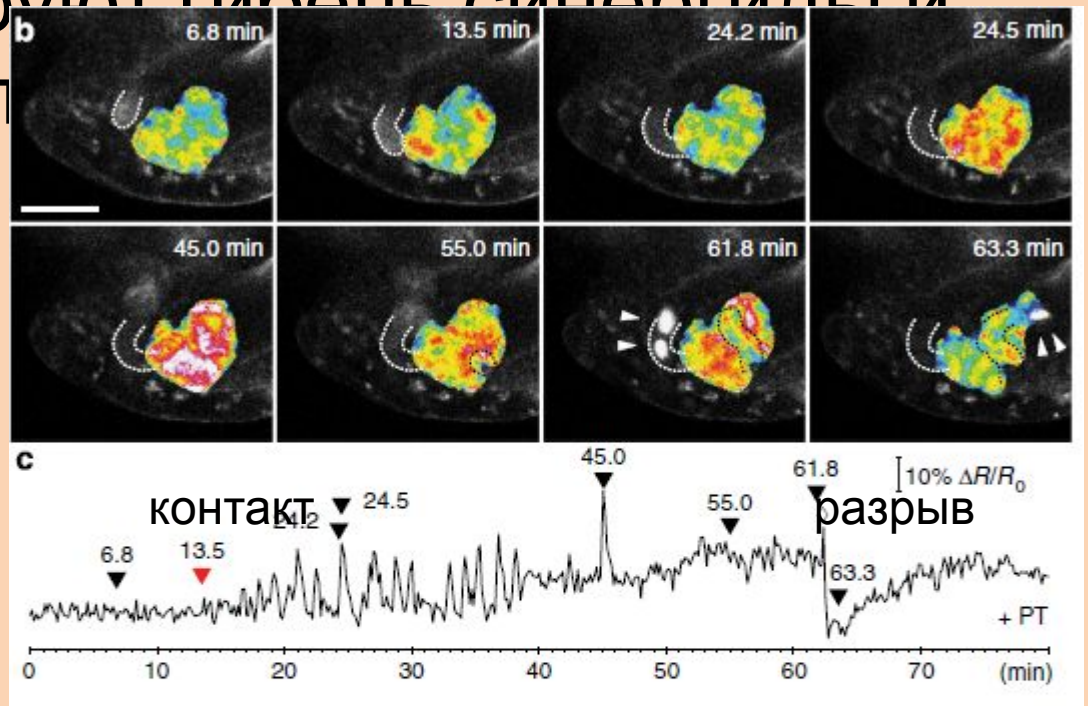


Кальциевая подпись *in vivo*



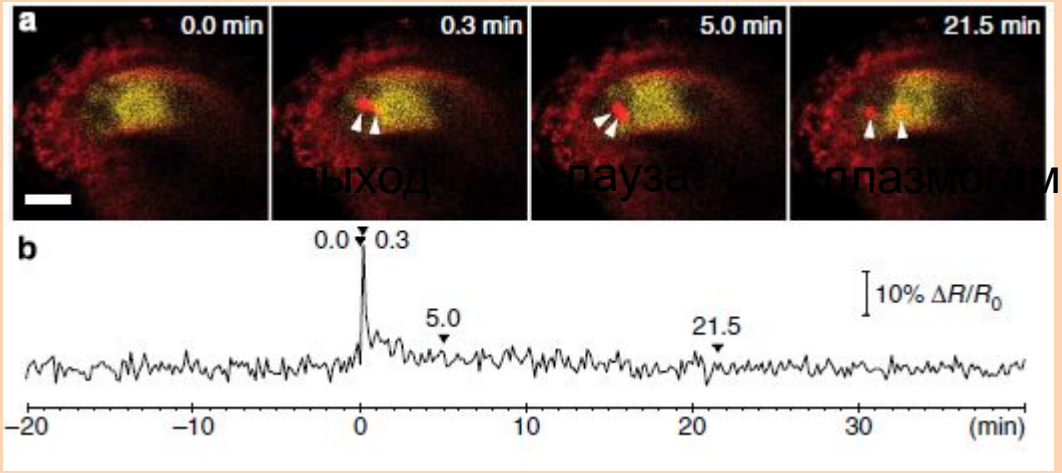
А что в синергидах?

- В синергиде при непосредственном контакте с ней апекса пыльцевой трубки возникали кальциевые осцилляции.
- Возможно, именно эти осцилляции индуцируют гибель синергиды и разрыв т



Центральная клетка

- В ЦК наблюдается один короткий пик, соответствующий выходу спермиев из трубки.



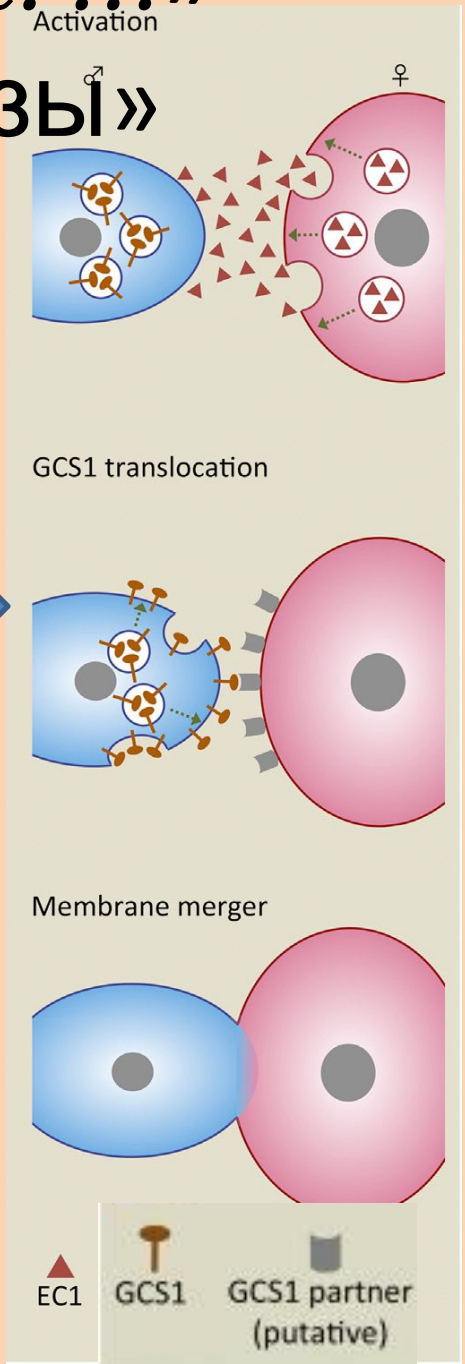
выход пауза плазмогамия

Denninger, P. et al. Male–female communication triggers calcium signatures during fertilization in Arabidopsis. Nat. Commun. 5:4645 doi: 10.1038 (2014).

«*Давай сначала поговорим?...*»

Диалог гамет во время «паузы»

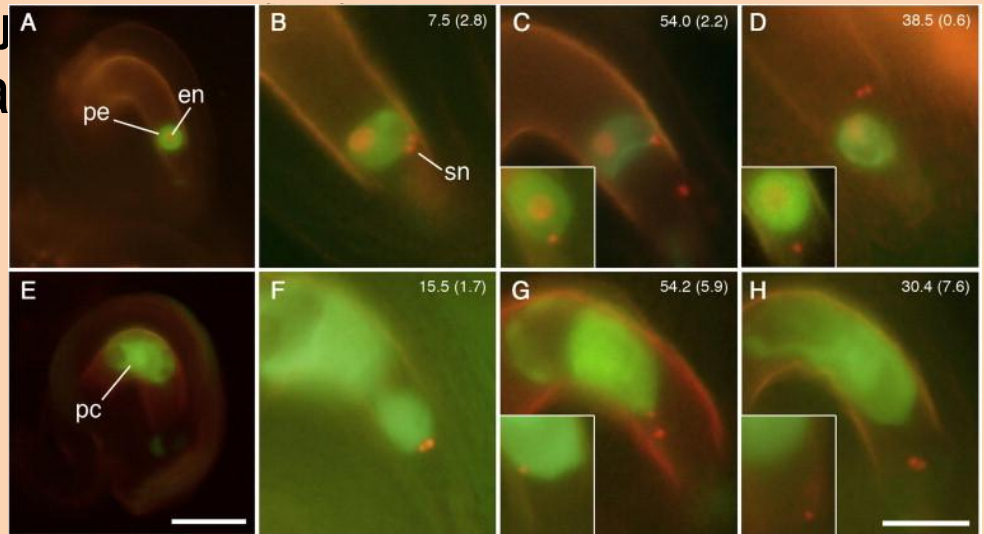
- *GENERATIVE CELL SPECIFIC 1 (GCS1)* у *Lilium* и его ортолог у *Arabidopsis HAPLESS2 (HAP2)* экспрессируется только в генеративной клетке и спермиях.
- GCS1 – это трансмембранный белок, переносится на плазмалемму после активации!
- GCS1 играет ключевую роль в слиянии спермиев с женскими гаметами
- Оказалось, что адгезия мембран и их слияние – разные процессы.
- Гаметы мутантных растений *hap2/gcs1* успешно проходили стадию адгезии мембран, но они были не способны к слиянию



Mori T., (2015). Gamete Dialogs in Green Lineages. Mol. Plant. 8, 1442–1454.

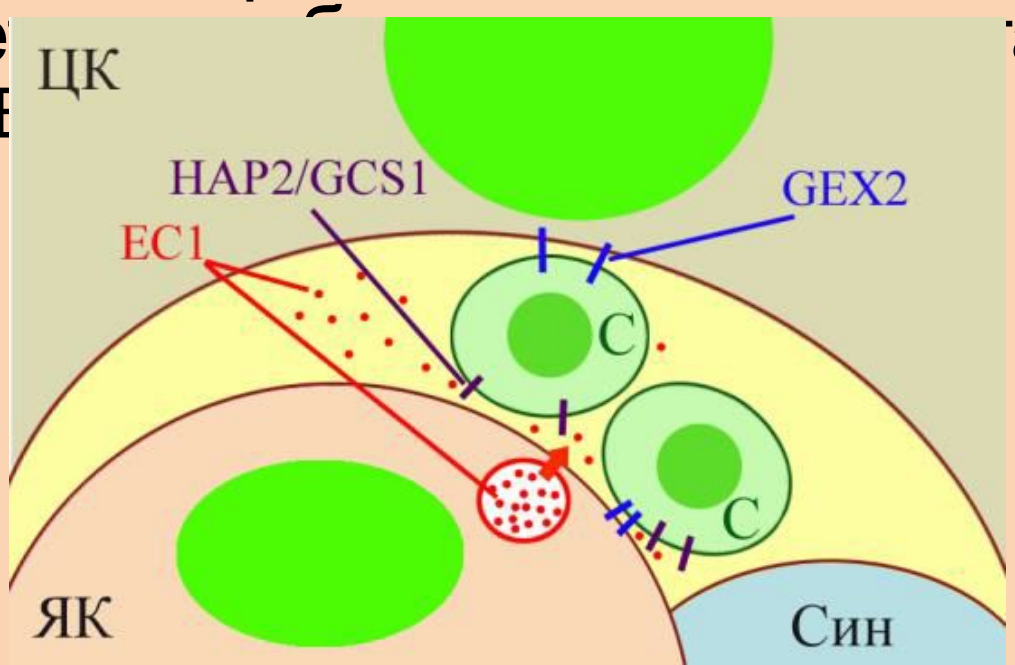
Адгезия и слияние

- *GAMETE EXPRESSED 2 (GEX2)* экспрессируется только в спермиях.
- У *gex2* нарушено прикрепление спермиев к одной из женских гамет или к обеим, что не характерно для мутантов *gcs1.*
- По-видимому, *GEX2* контролирует этап адгезии гамет, а не их слияния.
- Остается открытым вопрос о белках-партнерах на поверхности яйцеклетки и ЦК, с которыми взаимодействует GEX2.
- У белка GEX2 есть N-клонцевая сигнальная последовательность, формин 1 homolog (FLMN), и C-концевой трансмембранный домен.



Опыт с плазмолизом ЯК (pe) и ЦК (pc). Возможно ли прикрепление спермия?

- На протяжении роста пыльцевой трубки *Arabidopsis* белок HAP2/GCS1 локализован в эндомембранной системе спермиев.
- Он выходит на поверхность в процессе активации спермиев, которую инициирует яйцеклетка.
- Когда пыльцевая трубка лопается, высвобождая спермии, яйцеклетка секретирует [illegible] гамет белки EC1 (E[illegible]



Активация гамет

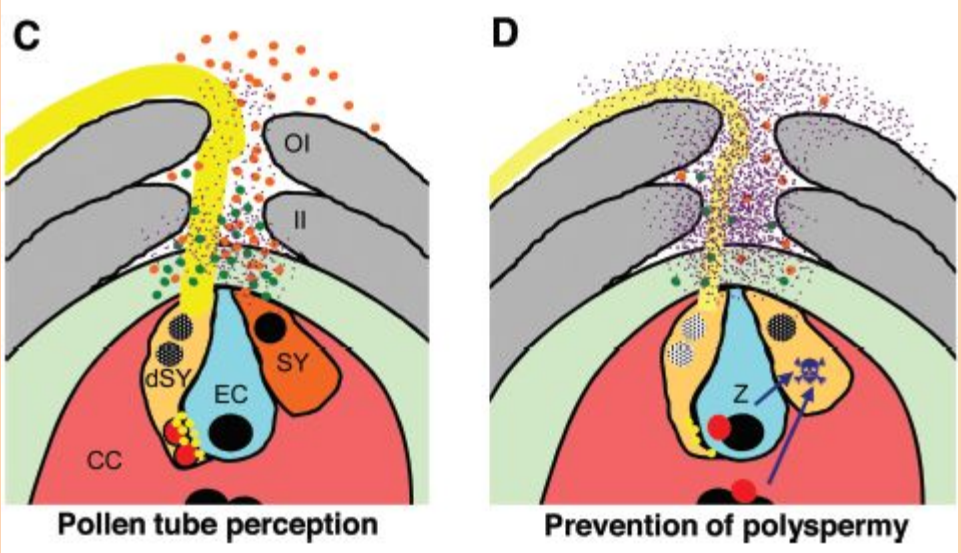
- При этом из эндомембранной системы на поверхность спермия выходят белки HAP2/GCS1.
- Это происходит одновременно с распадом MGU и разделением спермиев и предшествует плазмогамии.
- Таким образом, гаметы растений, как и других эукариот, приобретают компетентность и способность к слиянию, лишь пройдя этап предварительной активации

Яйцеклетка: скромная или активная?

- В целом, слияние гамет у растений происходит почти так же, как у животных, однако при другом распределении ролей.
- У животных яйцеклетка остается в состоянии покоя до тех пор, пока не сливается со сперматозоидом.
- У *Arabidopsis* перед слиянием активируются обе гаметы, причем ведущую роль играет

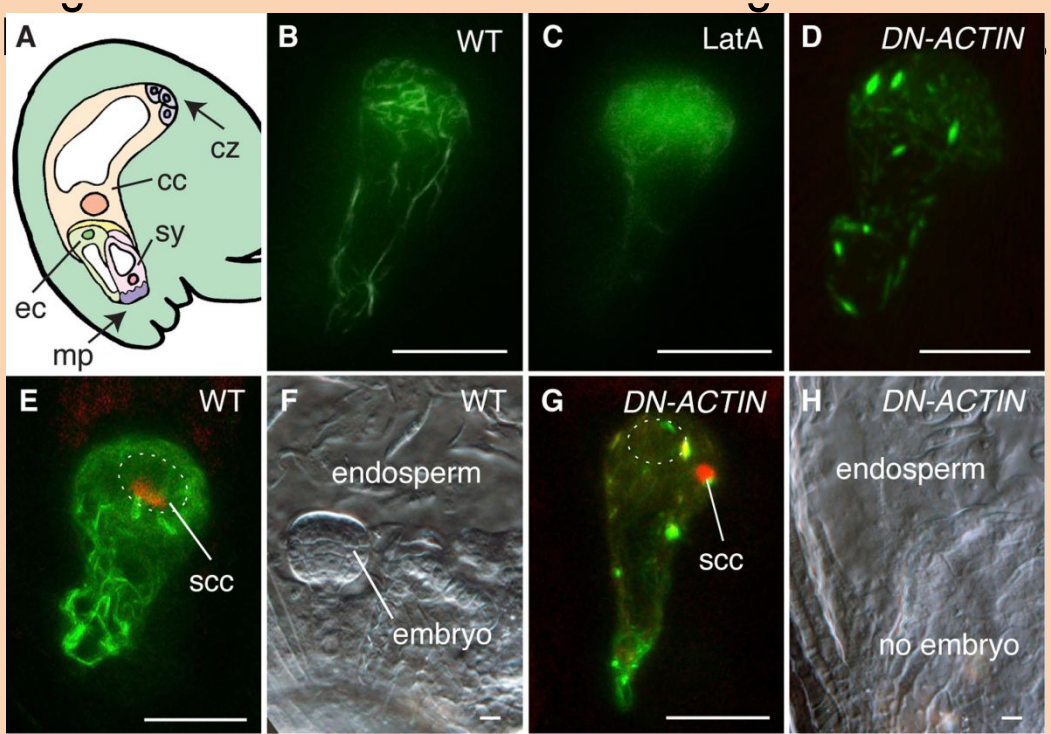
Предотвращение полиспермии

- После высвобождения спермиев быстро прекращается аттракция новых ПТ.
- Если слияния гамет почему-либо не произошло, первичный блок снимается, и сохранившаяся синергида привлекает в семяпочку дополнительные ПТ.
- Таким образом, семяпочка получает еще один шанс на оплодотворение.
- В случае успешного слияния гамет запускается дегенерация второй синергиды, и тем самым завершается процесс аттракции пыльцевых трубок в данную семяпочку.



Итак, слияние

- Каким образом ядро спермия транспортируется к ядру женской гаметы? В яйцеклетках животных эту функцию осуществляют микротрубочки и центросомы, но у покрытосеменных растений нет центросом.
- Перемещение ядер спермиев у них осуществляет актинов



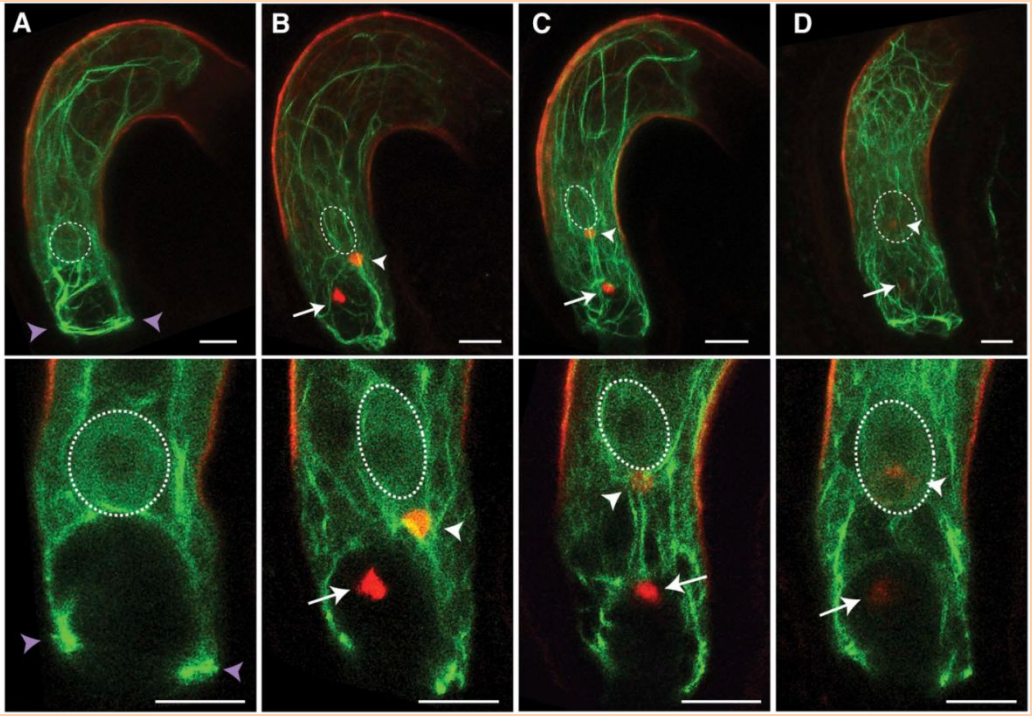
Успешная кариогамия в ДТ

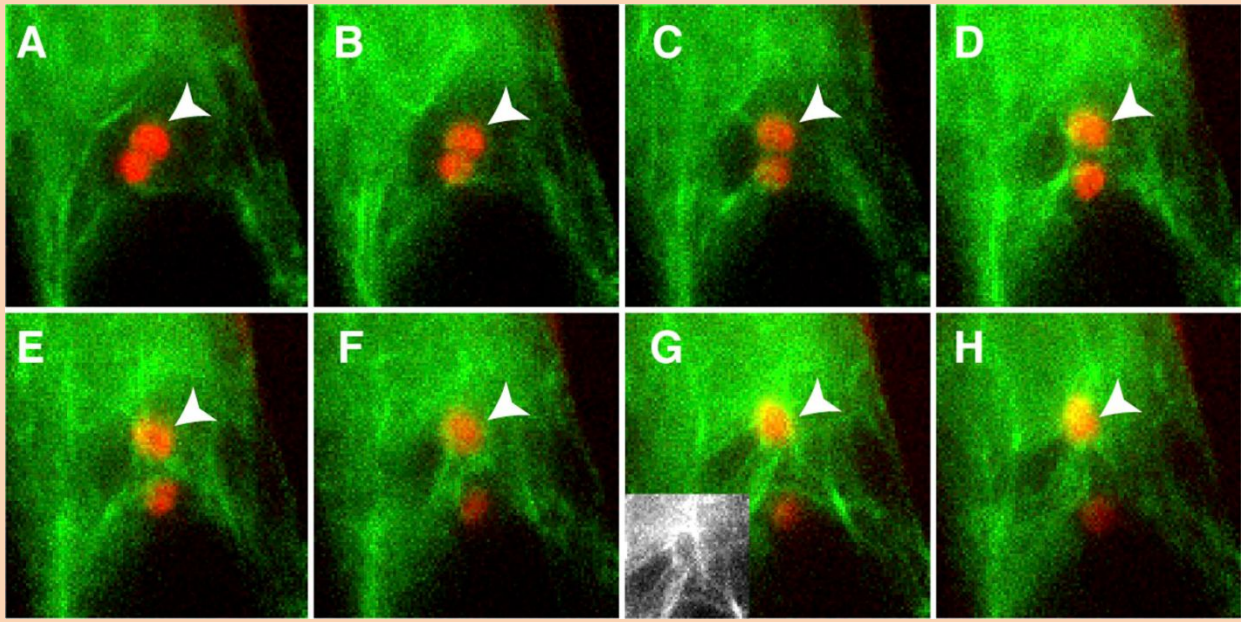
Нет кариогамии баз актина

Kawashima et al. eLife 2014;3:e04501. DOI: 10.7554/eLife.04501

Актин в ЦК

- Актин – основной участник движения ядер спермиев как в ЯК, так и в ЦК
- Его разрушение блокирует



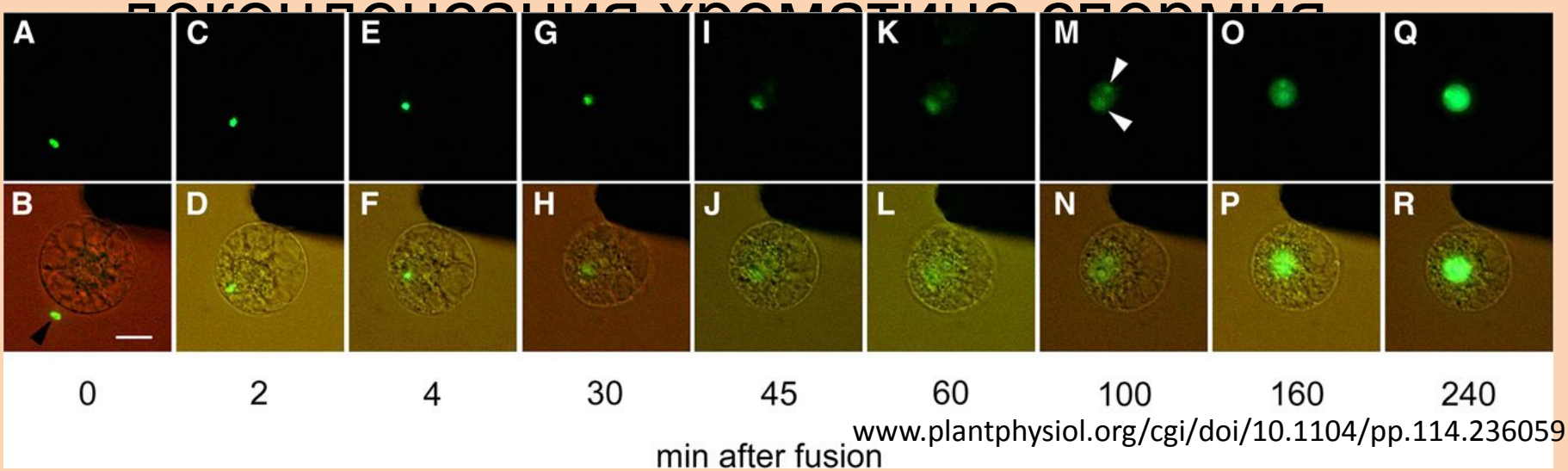


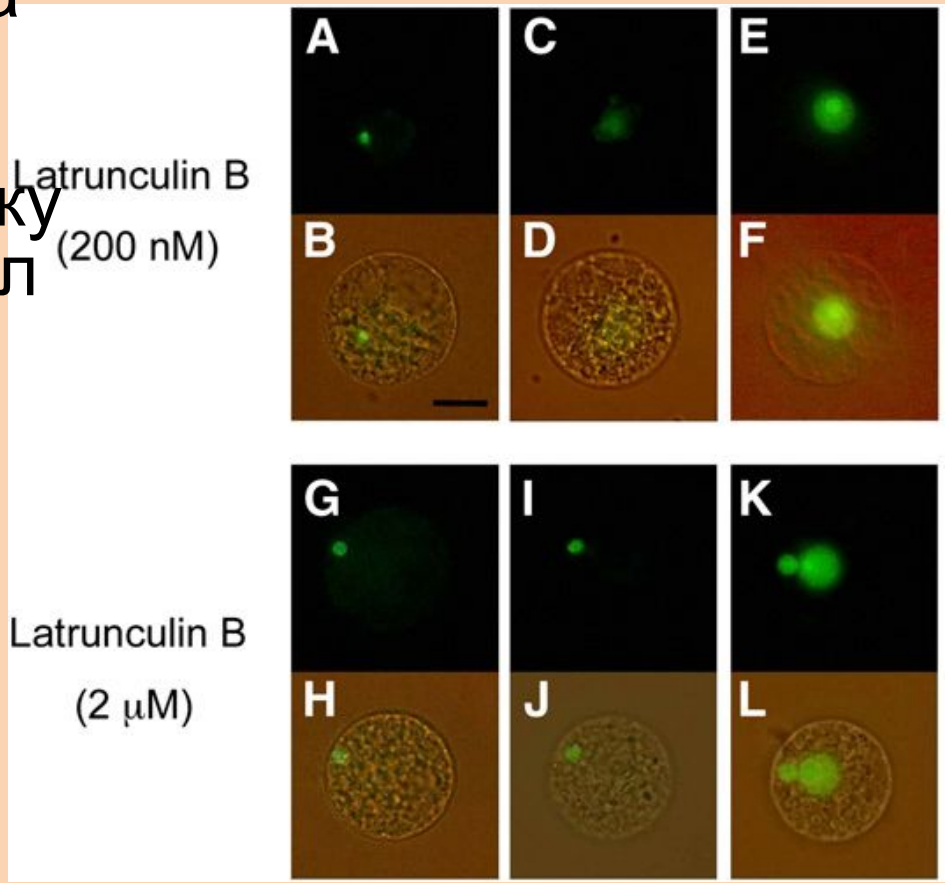
Детали

- Ядро спермия, войдя в цитоплазму ЦК, окружалось волокнами F-актина с образованием звездообразной структуры.
- Вся эта структура вместе с ядром спермия мигрировала по направлению к ядру ЦК.
- Актиновая сеть в центральной клетке постоянно движется внутрь – от периферии клетки к ее ядру.
- Этот процесс, по-видимому, играет важную роль в перемещении ядра спермия.

Кариогамия

- 1) наружные ядерные мембраны гамет соприкасаются и затем сливаются,
- 2) внутренние ядерные мембраны сливаются, и формируются мостики между ядрами,
- 3) мостики увеличиваются, и начинается деконденсация хроматина спермия



www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.114.236059

- В системе *in vitro* у риса путь ядра спермия до ядра яйцеклетки занимал 5-10 мин, причем, как и у *Arabidopsis,* транспортировку ядра спермия осуществлял актиновый цитоскелет.
- Затем начинался процесс кариогамии, и хроматин яйцеклетки переходил в ядро спермия, увеличивая его объем.
- В интервале 30-70 мин после плазмогамии хроматин спермия деконденсировался, и кариогамия завершалась.