

Поляризация: зигота фукуса

Как однородность
сменяется полярностью?

Почему фукус?

- Зигота находится в воде, а не в толще материнских тканей
- Ее легко рассматривать и манипулировать
- Она подвергается воздействию множества экзогенных стимулов, таких, как свет, температура, и пр.
- Водоросли легко выращивать и собирать «урожай зигот»
- Популяция зигот прочно прикрепляется к субстрату и развивается синхронно на ранних этапах.

Как живет фукус?



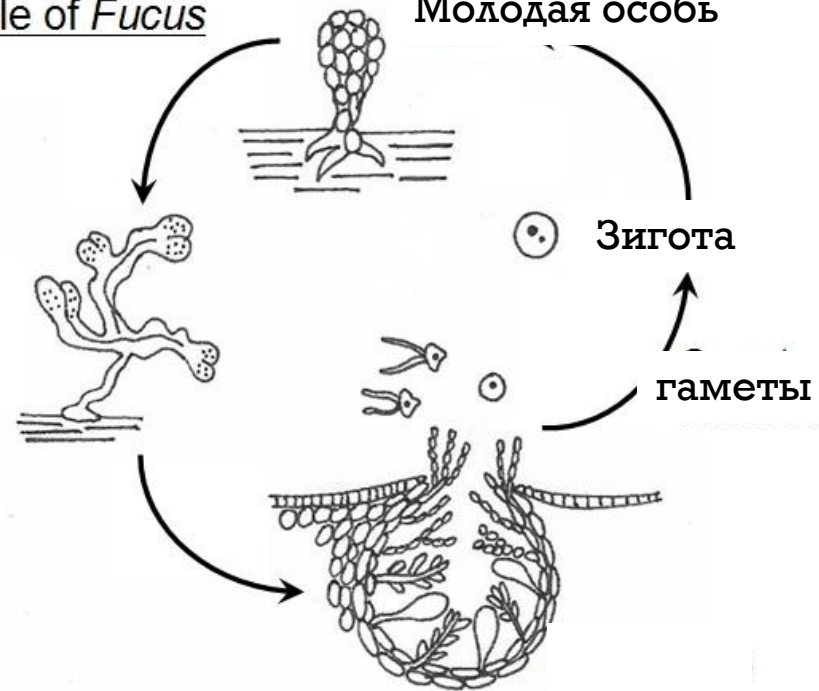
Литораль на ББС



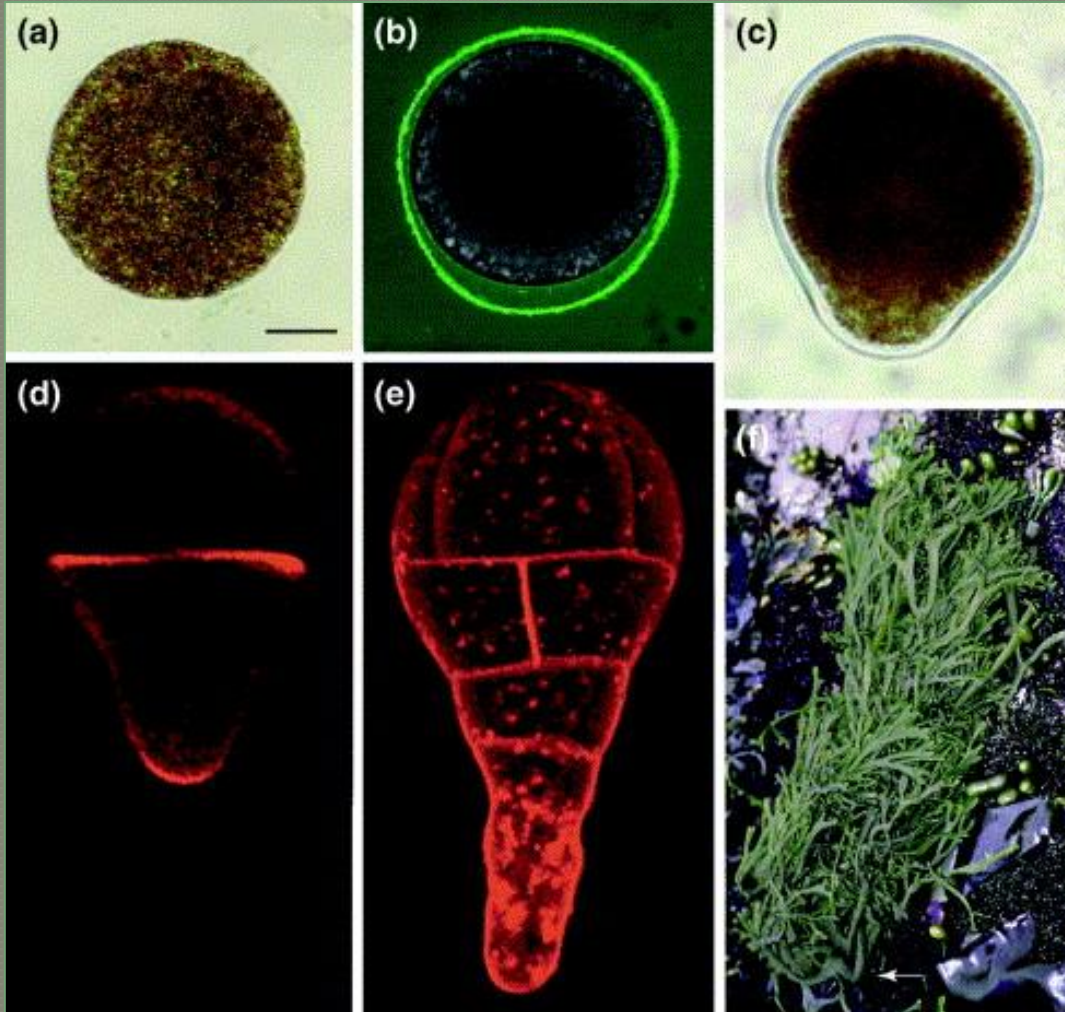
Life-cycle of *Fucus*

Молодая особь

Половозре
лая особь



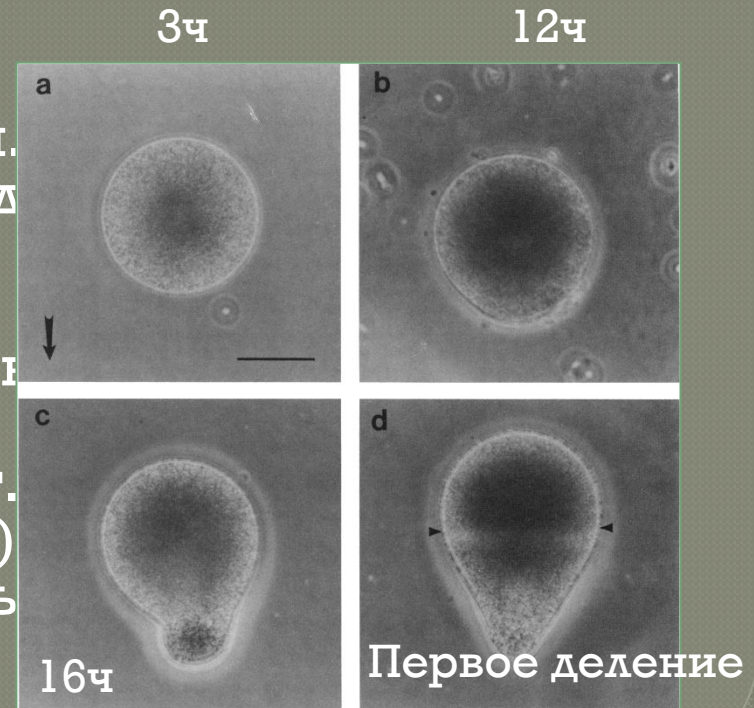
Экскурс в развитие фукуса



- Яйцеклетка лишена каких-либо признаков полярности
- После **оплодотворения** зигота должна определить «свое место в мире», ориентируясь на сигналы окружающей среды
- Происходит **становление оси** – оно обратимо (при изменении сигналов о.с.)
- Происходит **фиксация оси** – необратимо
- Происходит 1 **неравное деление** на слоевище и ризоид
- Происходит развитие слоевища (вверх) и полярный рост ризоида (вниз).

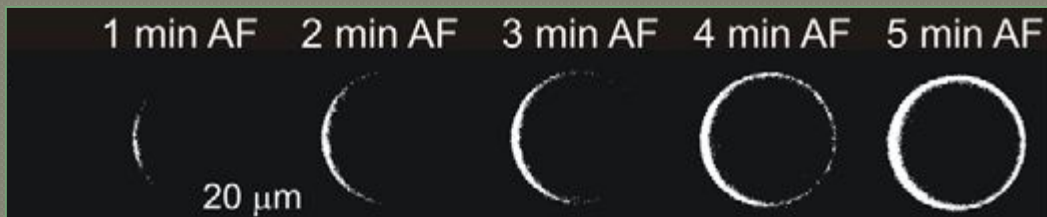
Установление оси

- Яйцеклетка неполярна: ядро находится посередине, микротрубочки расходятся от него радиально к поверхности, органеллы распределены равномерно.
- Становление ростовой оси происходит после оплодотворения. Поэтому первое влияние – это вход сперматозоида.
- Позже зигота подвергается воздействию целого ряда факторов среды.
- Первый и самый изученный – свет.
- Также: градиент ионов (солености) гравитация, направление тока воды градиент температуры.
- К каждому из факторов зигота проявляет чувствительность лишь в какой-то определенный период



Тайна оплодотворения

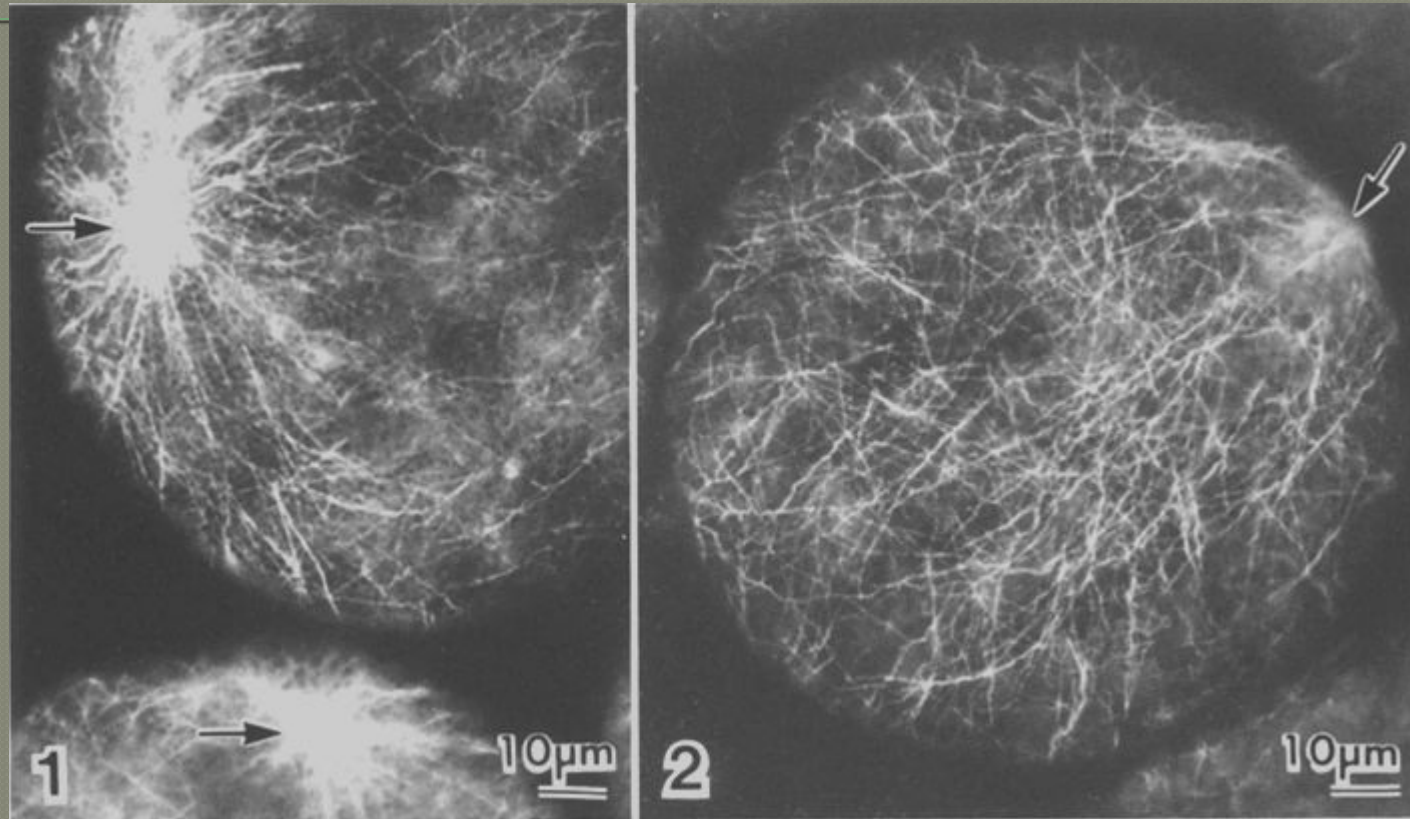
- Самое раннее событие после слияния гамет – отложение клеточной стенки



- Далее ♂ ядро совершает сложный танец, который заканчивается слиянием ядер.

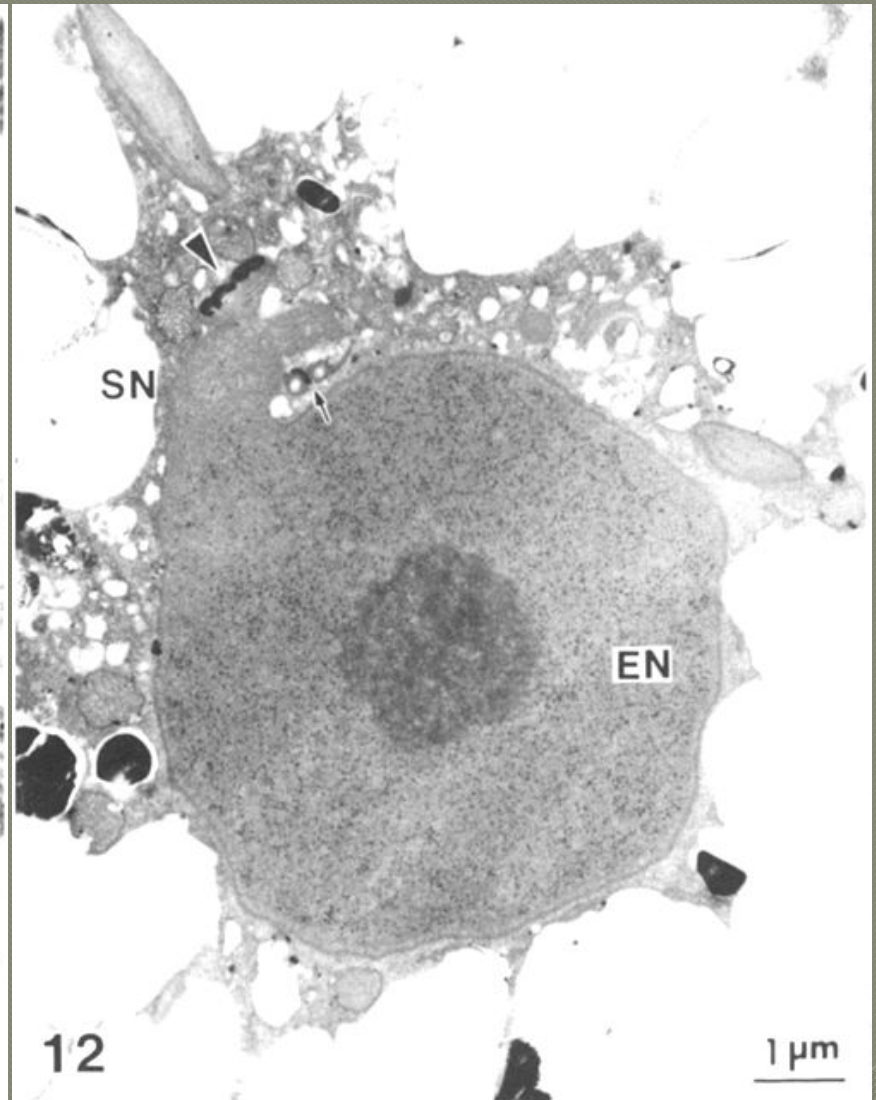
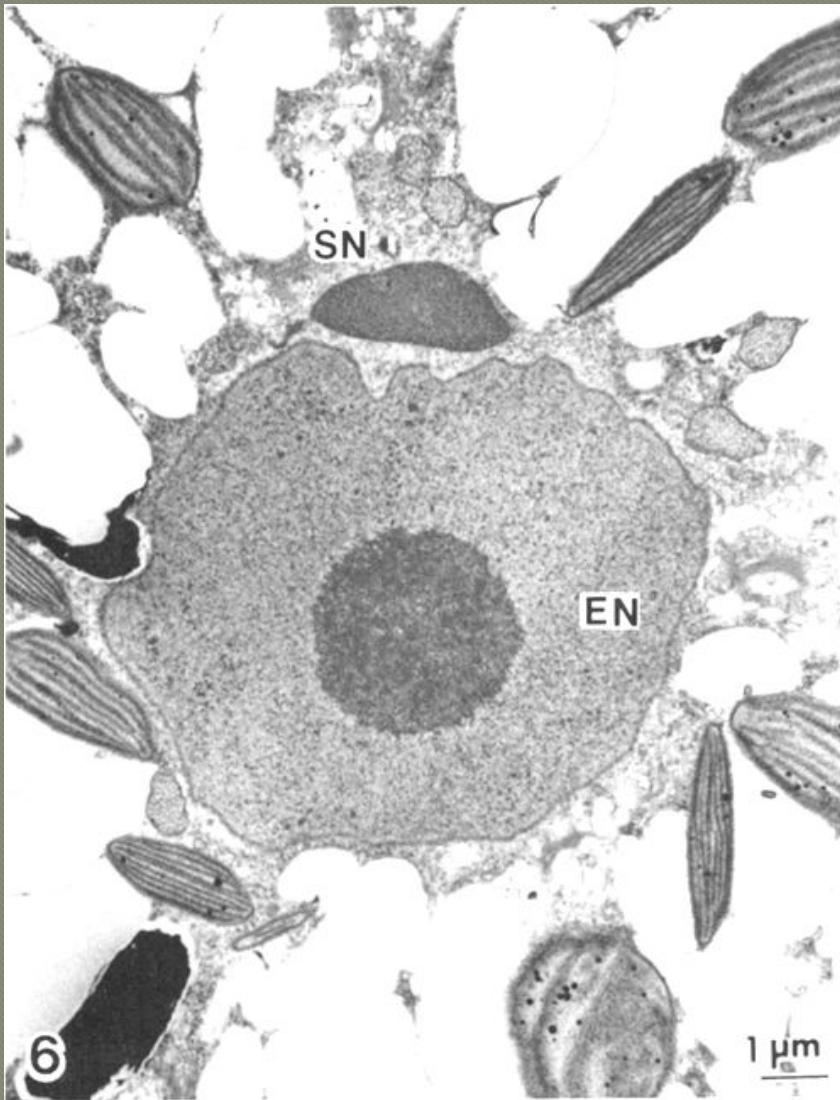


Плазмогамия



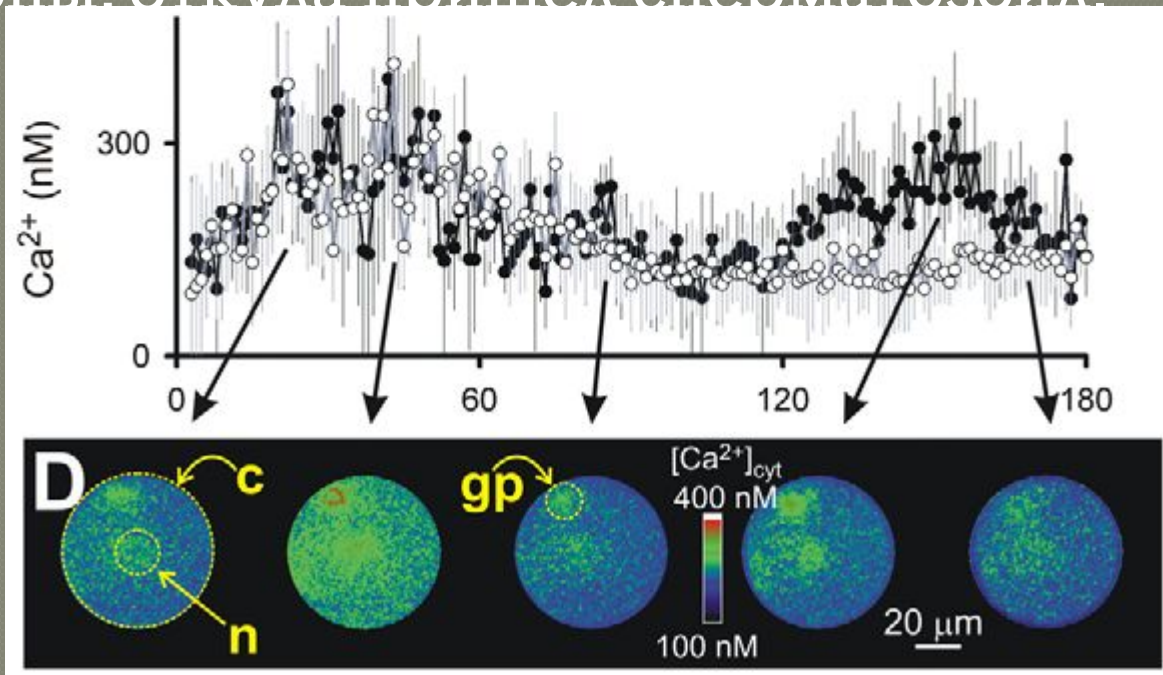
- Если внешних сигналов не будет, место плазмогамии станет ризоидальным полюсом зиготы

Кариогамия



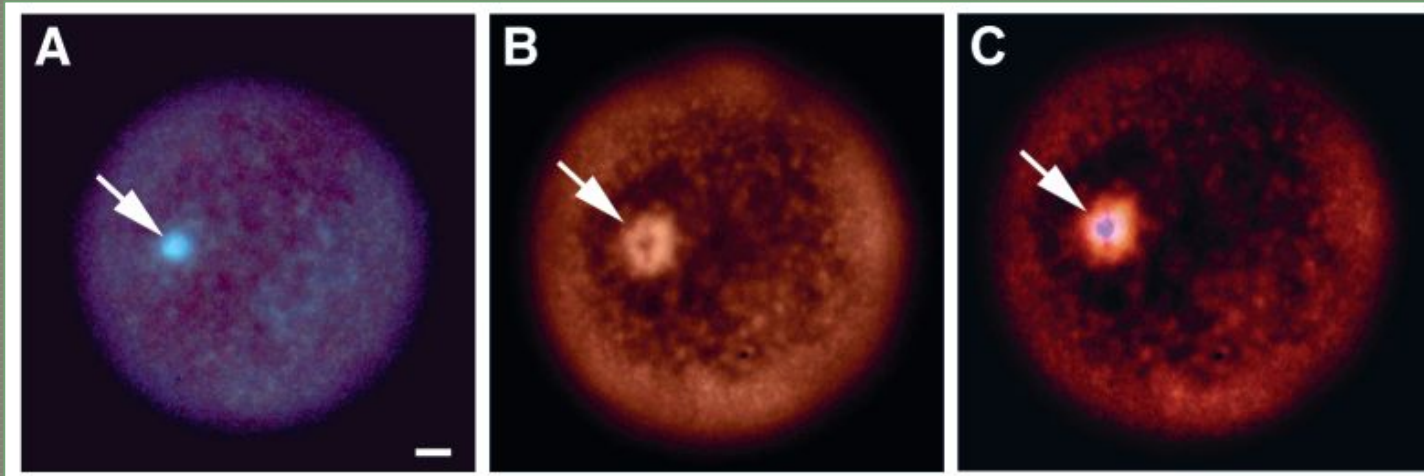
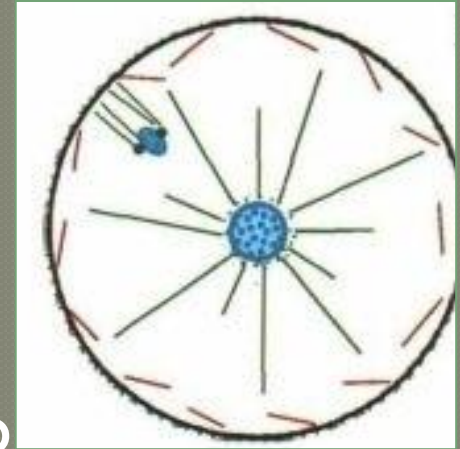
Тайна оплодотворения (2)

- Момент оплодотворения маркируется пиком кальция, который имеет форму волны (в пространстве)
- Вместе с ♂ ядром в цитоплазму яйцеклетки мигрируют центриоли и митохондрии.
- Они откладываются сбоку от ядра зиготы с той стороны, откуда пришел сперматозоид.



Откуда пришел сперматозоид?

- В течение 30 минут возникает актиновый «пэтч», маркирующий место входа сперматозоида.
- Позже он может служить маркером ризоидального полюса
- Если ситуация меняется, пэтч разбирается и переносится на место «нового ризоидального полюса»

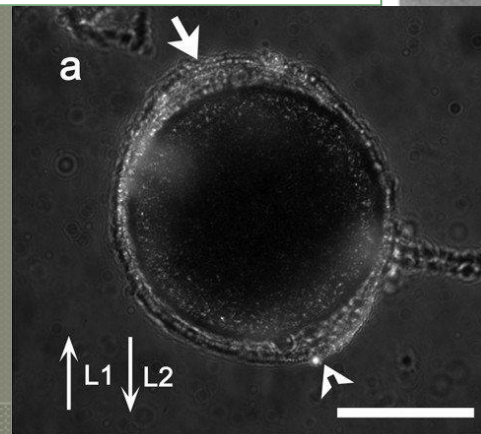
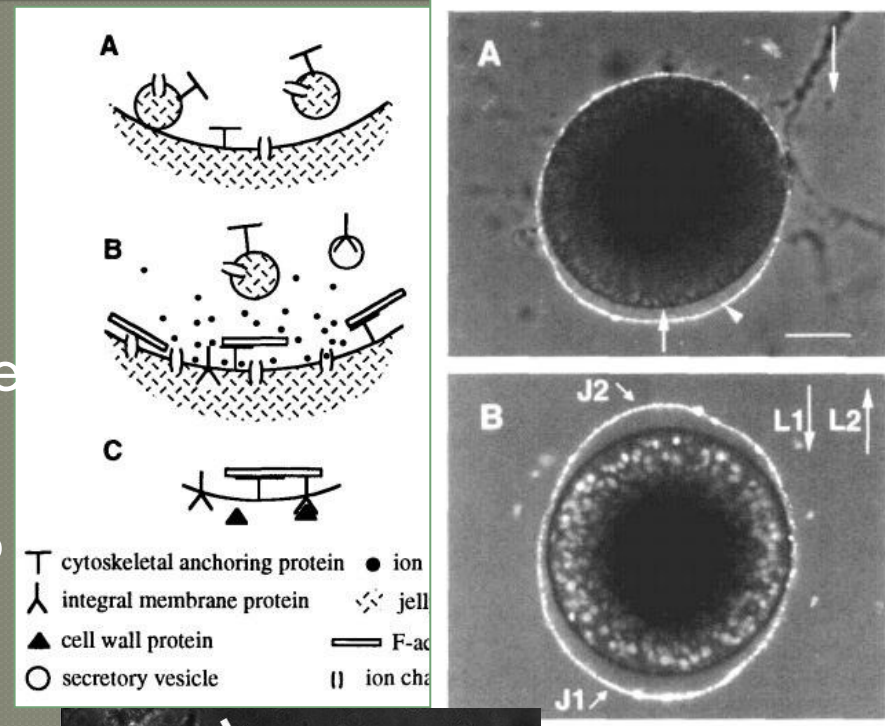


Загадочное желе

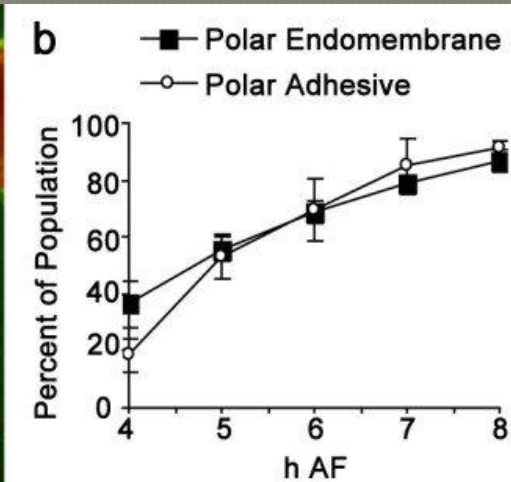
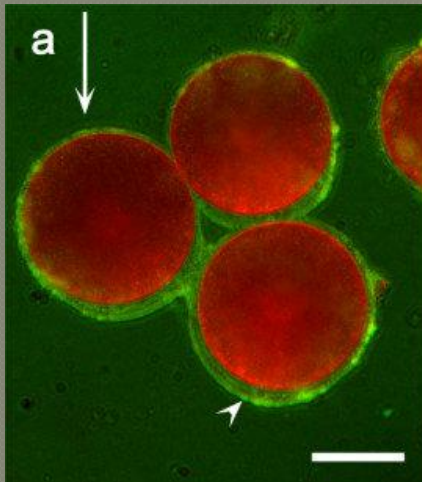
Примерно через 3 часа ПО зигота выделяет клейкие вещества равномерно по поверхности и закрепляется на субстрате.

В это время начинается влияние внешних факторов, и через пару часов зигота «намечает» место будущего ризоидального полюса: из этого места выделяется «желе». Этот аморфный, прозрачный слой – первое заметное глазу проявление полярности.

Само собой, источником желе является АГ, затем везикулы – классическая направленная секреция



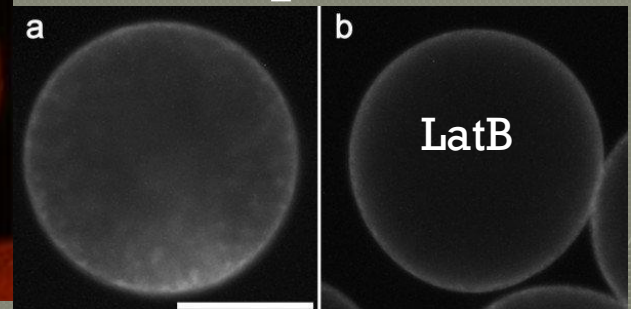
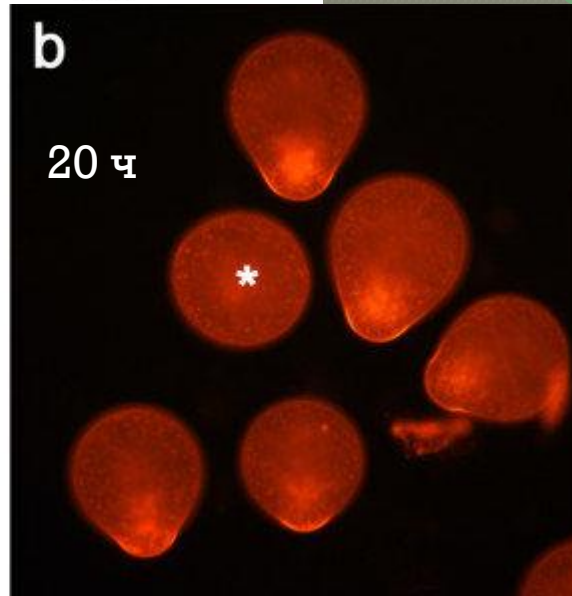
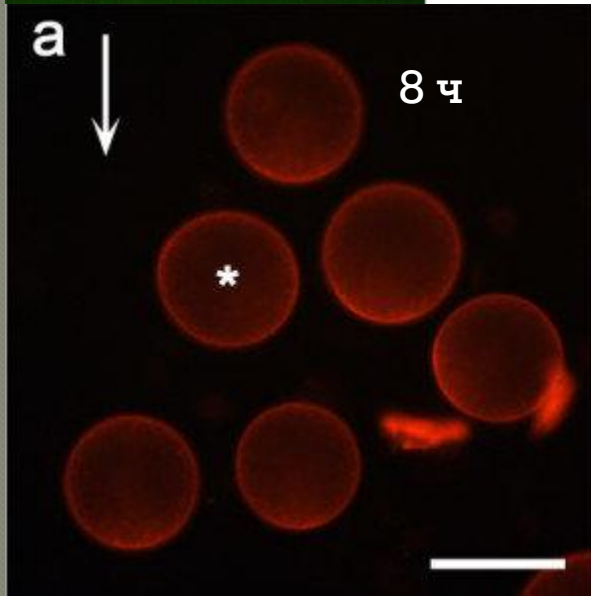
Ассиметрия эндомембран



6 ч
Зеленый –
желе
Красный –
FM4-64

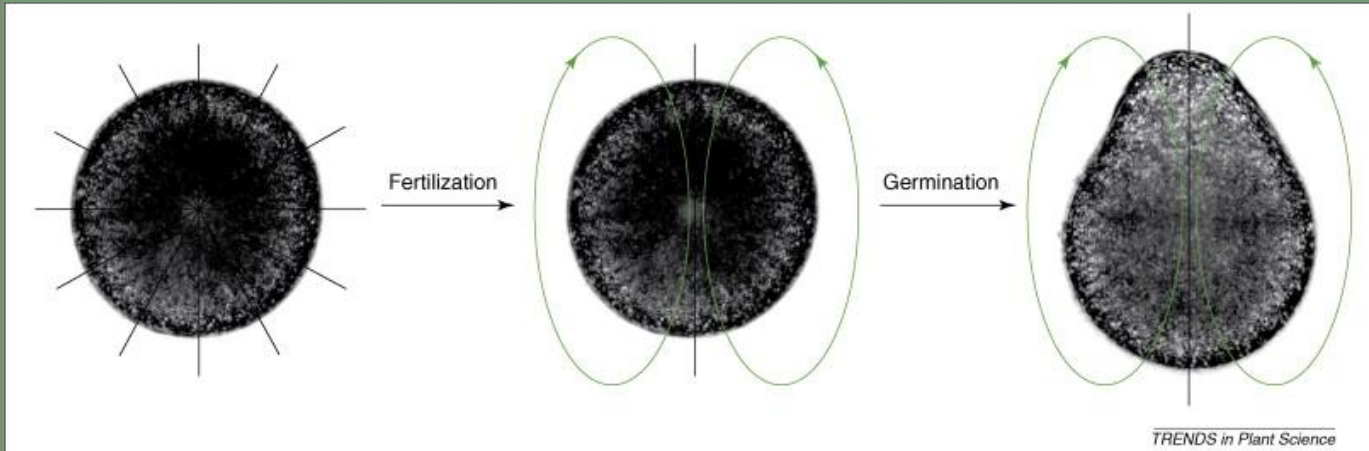
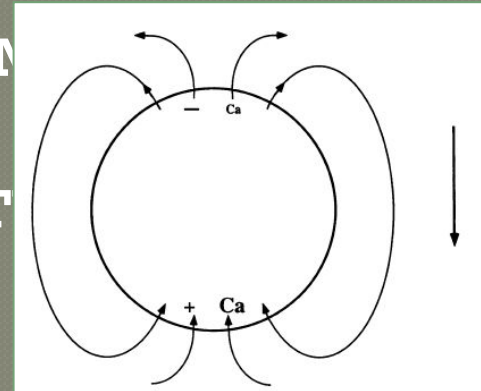
● Адгезив и эндомембраны накапливаются на ризоидальном полюсе.

● В присутствии ингибитора сборки актина процесс блокировался



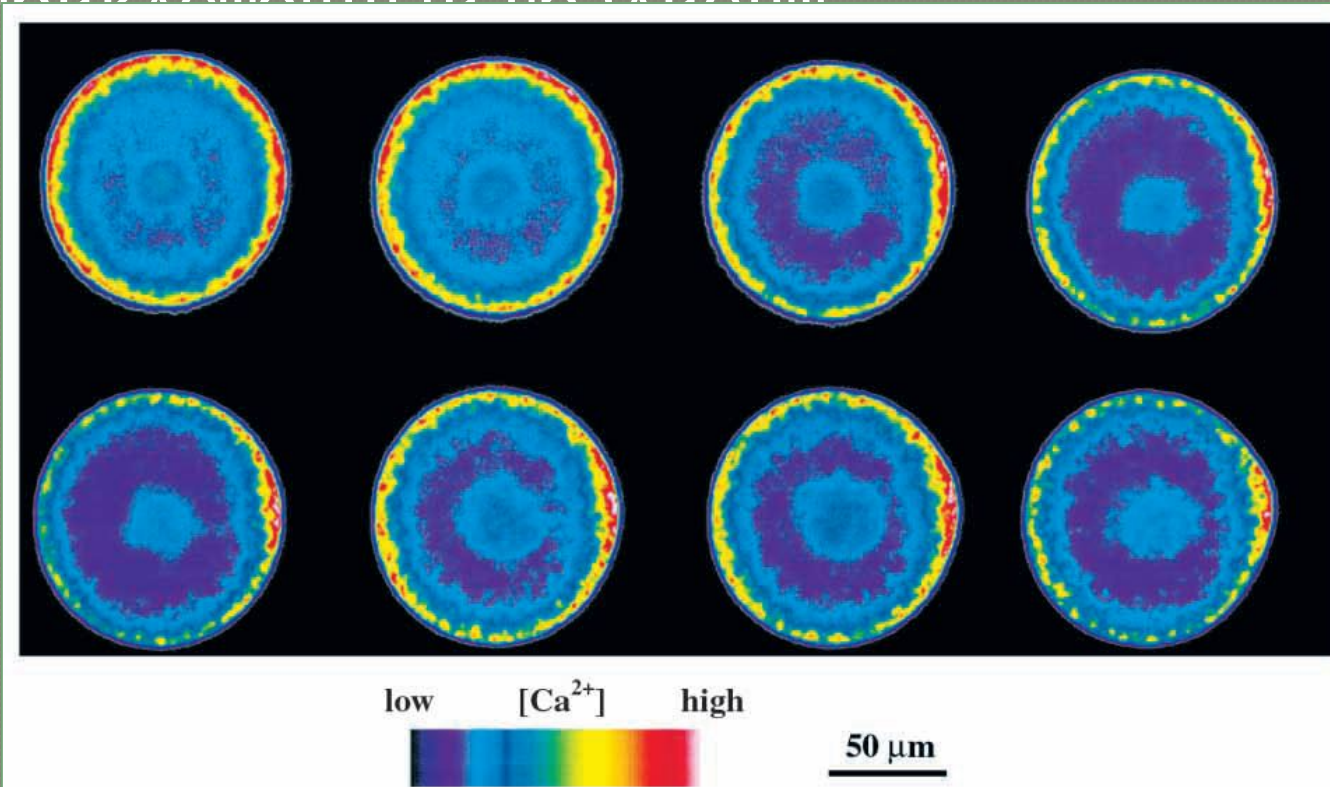
Горячие события на R- полюсе

- В области ризоидального полюса связь ПМ и стенки ослабляется – в гипертоничной среде именно там происходит плазмолиз
- Ионные токи пронизывают зиготу
- Какие ионы в этом участвуют?



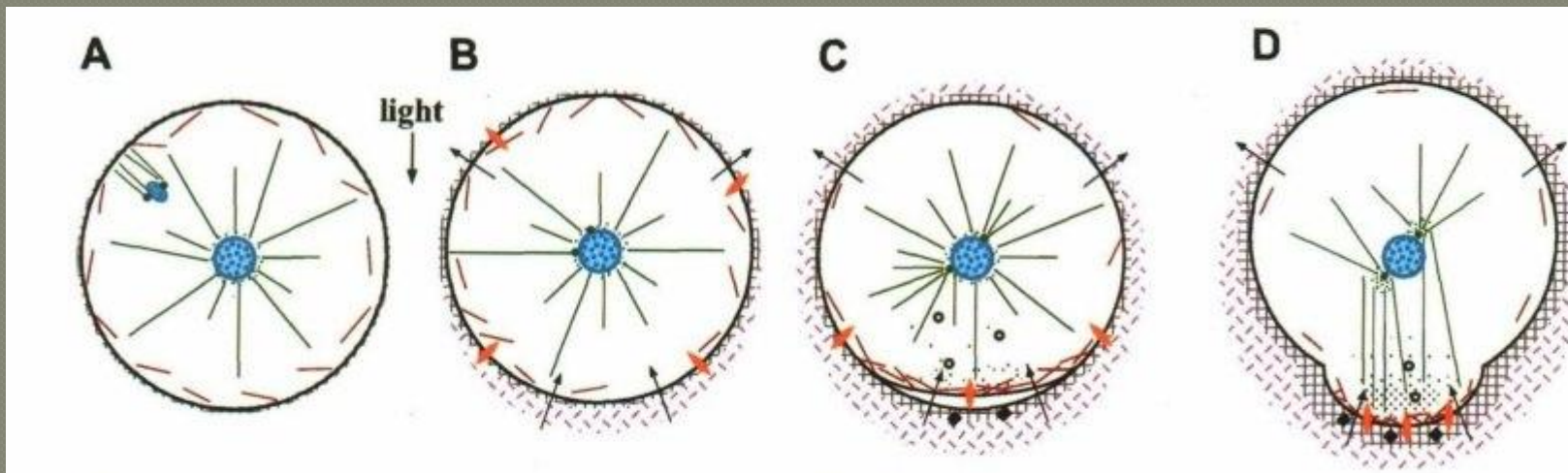
Конечно, это кальций!

- Входящий ток на R-полюсе создается кальцием. Он входит через каналы, локализованные на полюсе, формируя внутриклеточный градиент



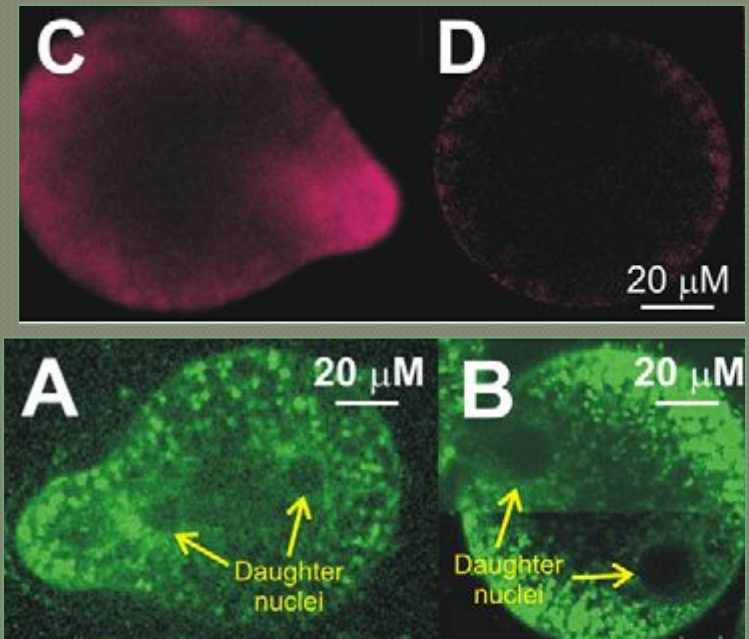
Где кальций, там и актин

- В основе полярных токов, локализованных на ризоидальном полюсе, лежит *неравномерное распределение ионных каналов*.
- Основу для такого распределения создает F-актин.
- В свою очередь, кальций регулирует сборку микрофиламентов. Т.о. система *регулируется по принципу обратной связи*.

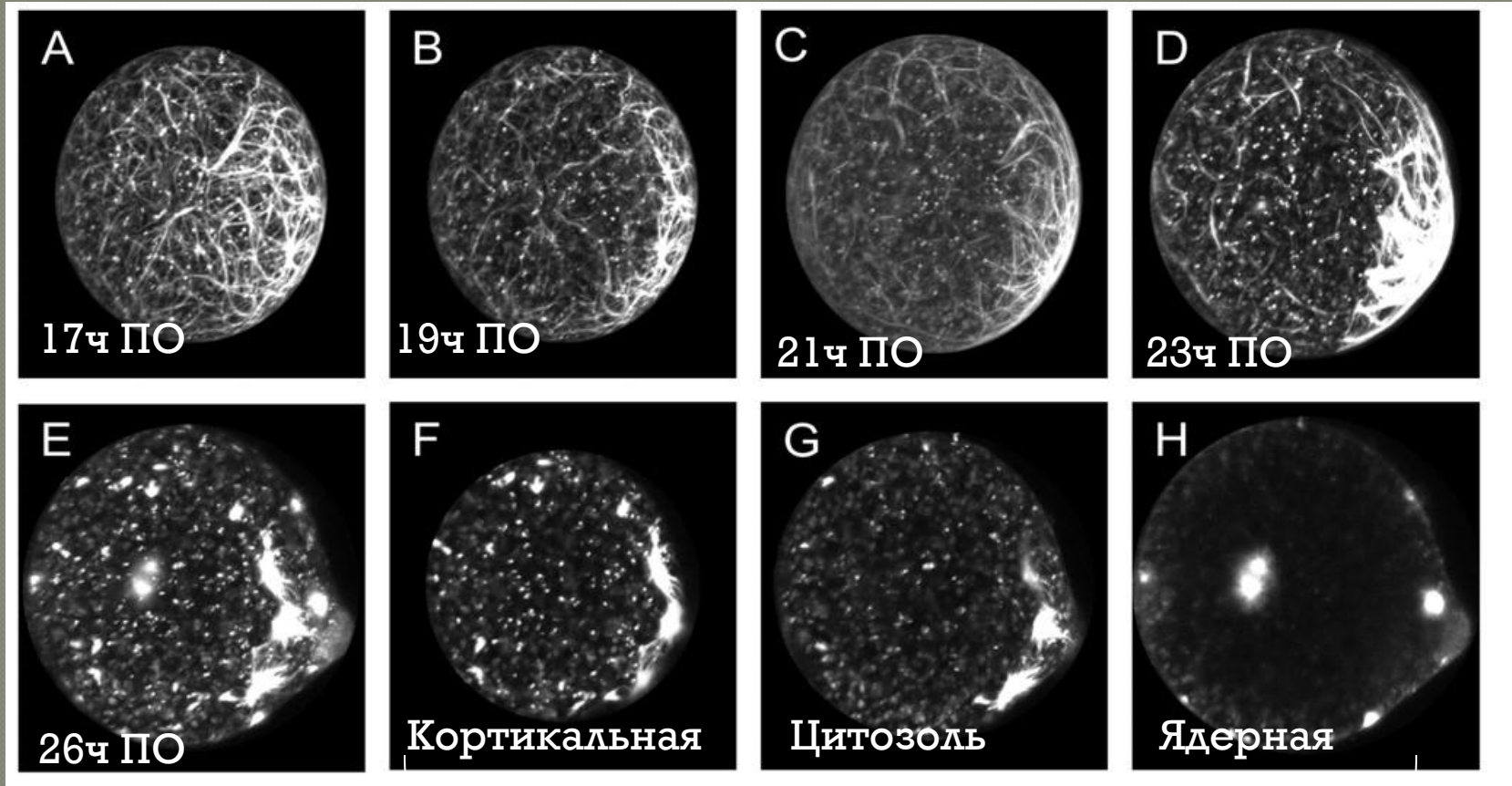


Если убрать то или другое?

- При хелатировании кальция ядра сливаются, но полярность не устанавливается. Блокируется сборка цитоскелета.
- При разрушении микрофиламентов исчезает направленный ток кальция и поляризации не происходит, хотя клетка может делиться.
- Получается *равное* деление (неправильное!)



Микротрубочки



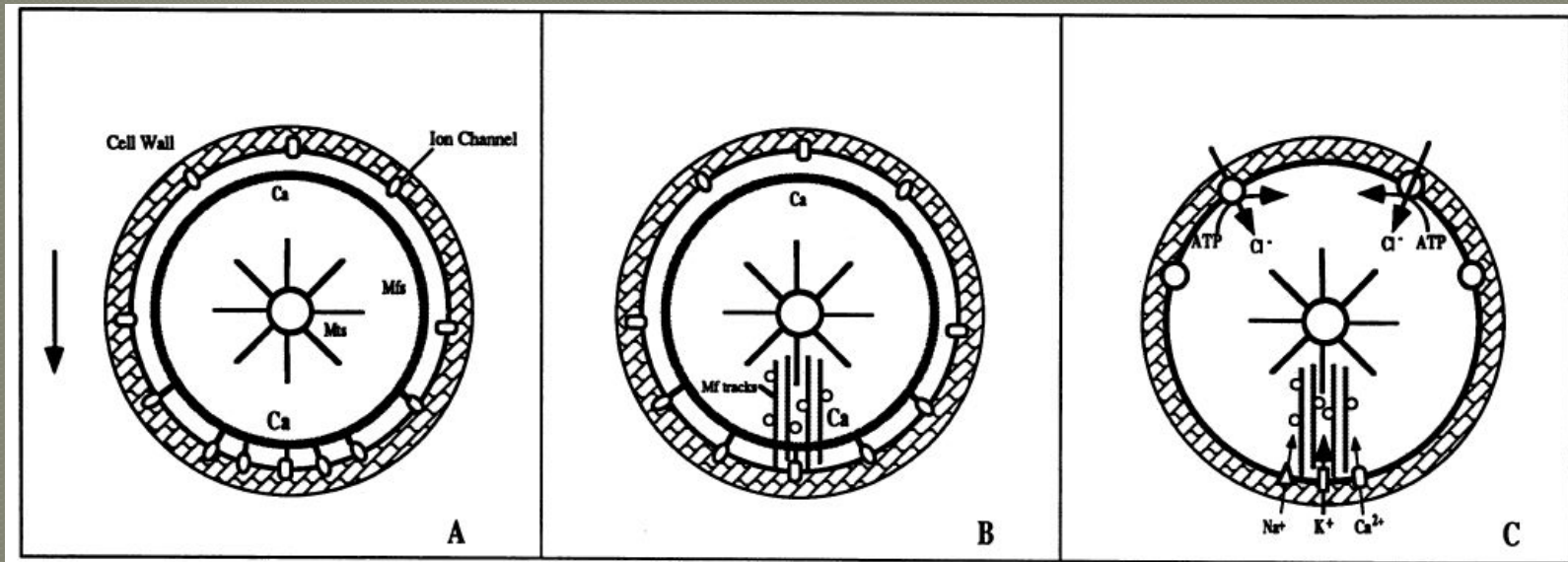
часть

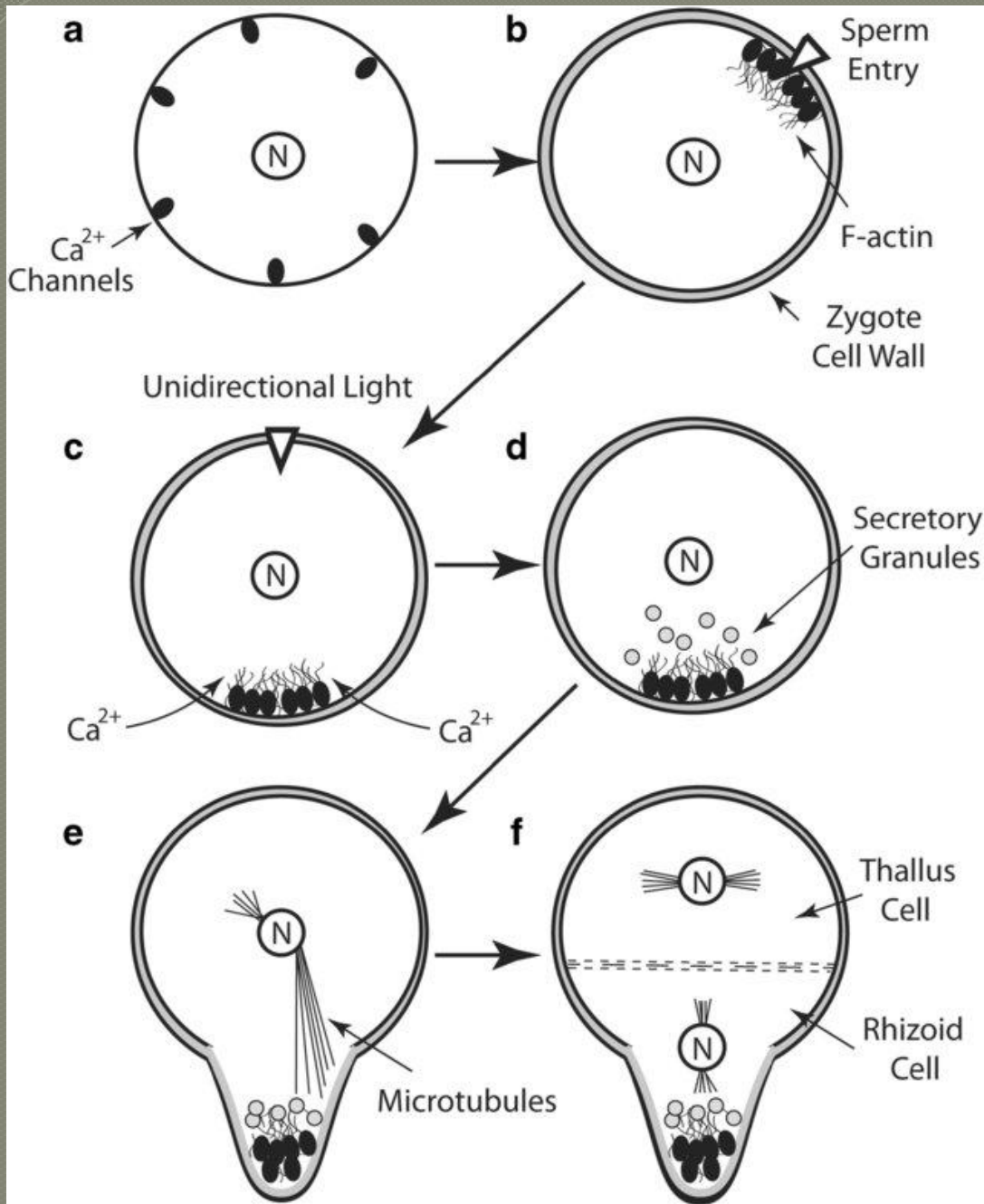
плоскость

26ч ПО

Итак, у нас есть ось

- Ее поддерживают ионные токи, структура цитоскелета, снаружи она маркирована отложением желе.
- Ось на этой стадии ещё обратима.

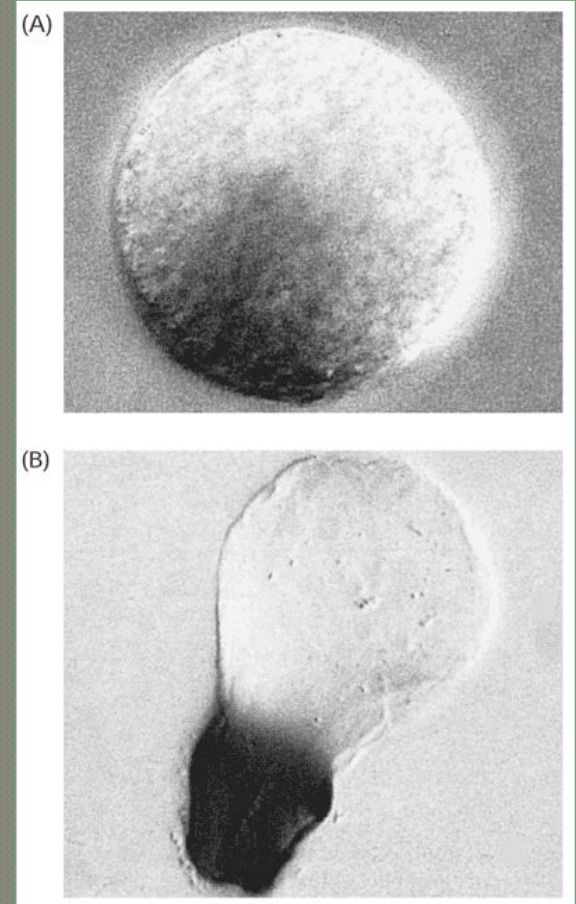




Niklas, K.J., Wayne, R., Benítez, M. *et al.* Polarity, planes of cell division, and the evolution of plant multicellularity. *Protoplasma* **256**, 585–599 (2019).
<https://doi.org/10.1007/s00709-018-1325-y>

Фиксация оси

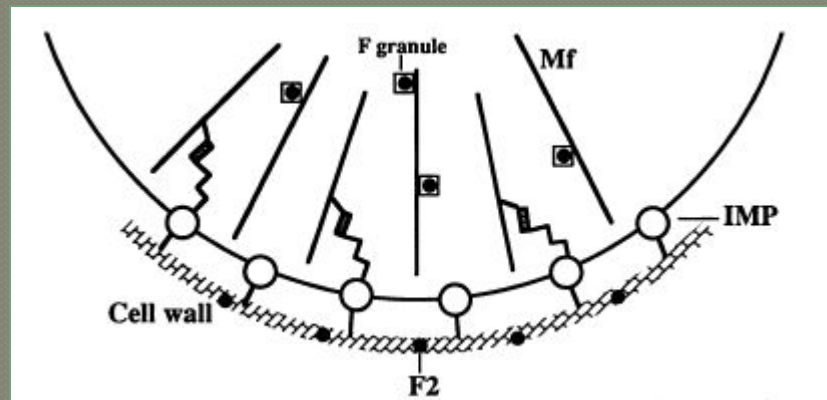
- Фиксация оси происходит через 10-12 часов ПО.
- После этого никакие стимулы не могут поменять полюса местами.
- Фиксацию обеспечивают 2 основных компонента:
- Поляризованная секреция и
- Неравномерное



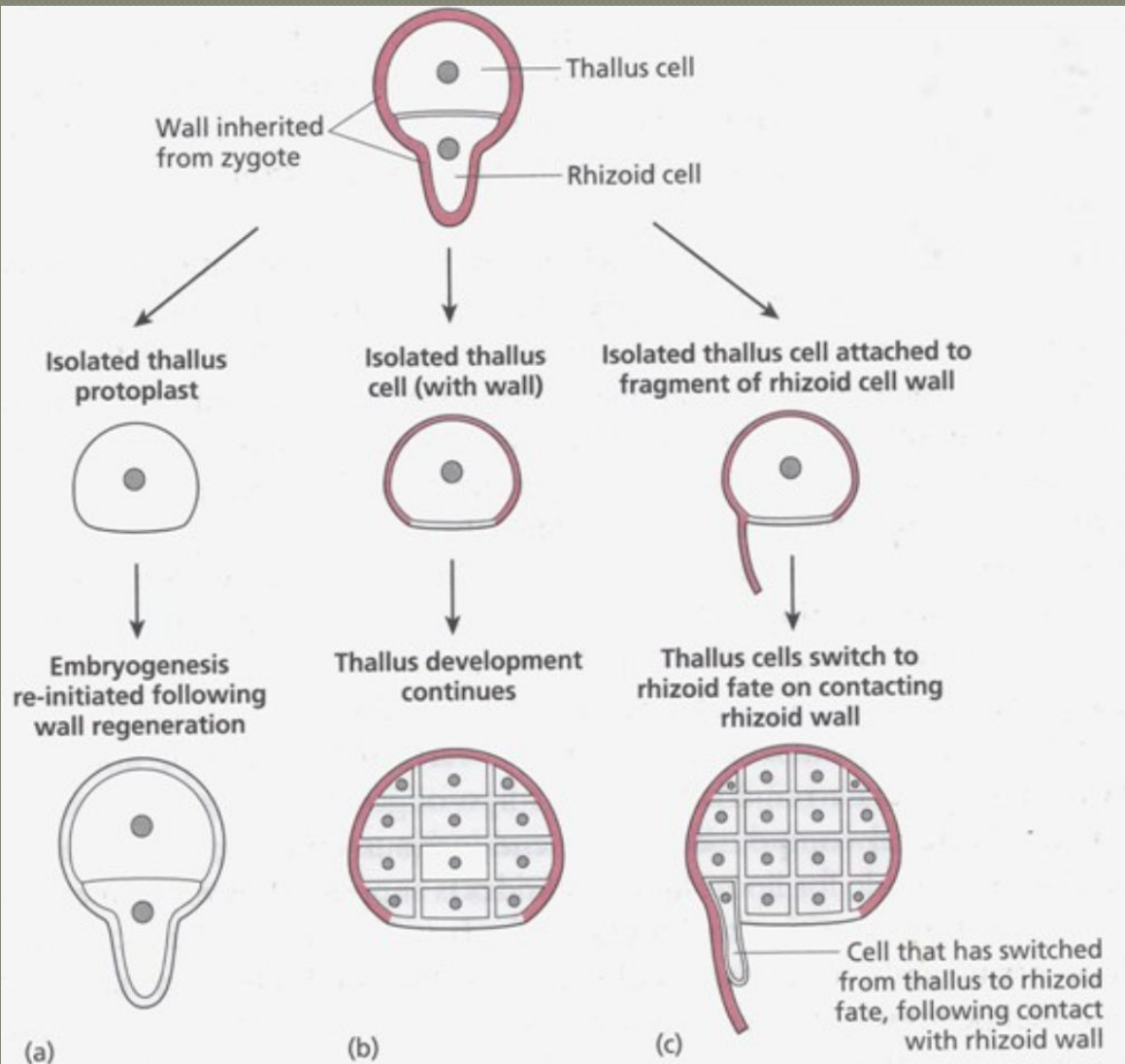
Аппарат Гольджи в зиготе

Признаки фиксации

- Фиксацию оси отслеживают по отложению специального стеночного компонента – F2.
- Его предшественники находятся в везикулах (F-гранулы), которые являются производными аппарата Гольджи и собираются в области R-полюса.
- АГ накапливаются в перинуклеарной зоне со стороны R-полюса.
- В полярный транспорт R-гранул вовлечены микрофиламенты.

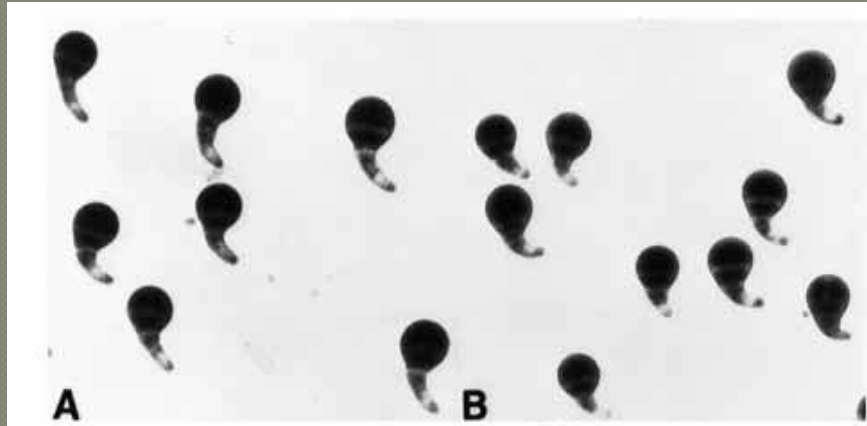


Фиксация оси. Стенка



- Судьба клеток у фукуса во многом определяется контактом между КС
- Поэтому КС играет ключевую роль в фиксации оси

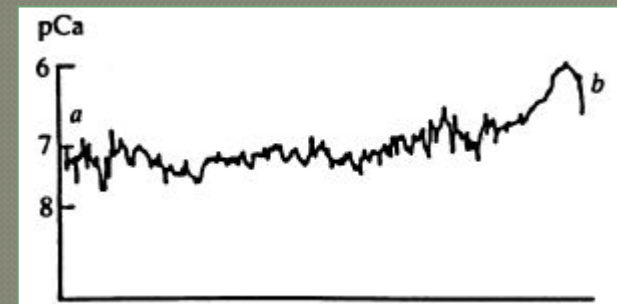
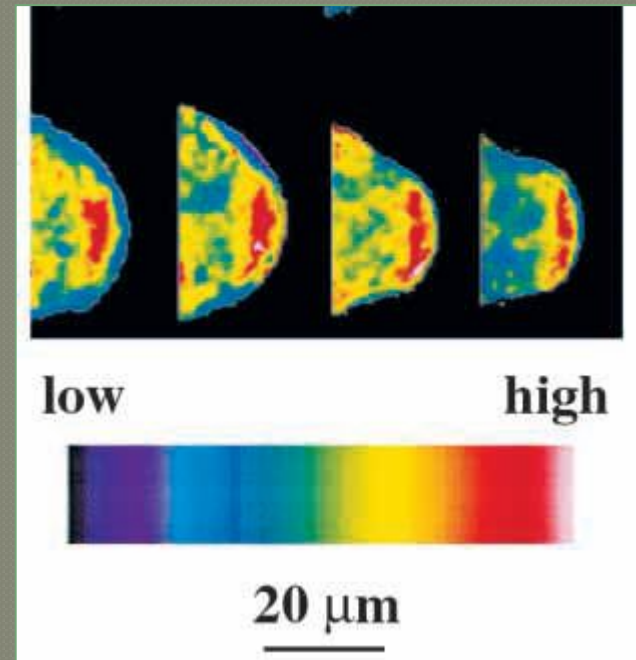
Полярный рост



- Вскоре после фиксации оси начинается полярный рост на ризоидальном полюсе.
- Он происходит сходно с ростом пыльцевой трубки и корневого волоска.
- Ключевыми факторами являются ионные градиенты, поляризованная секреция материалов КС, актиновые филаменты.

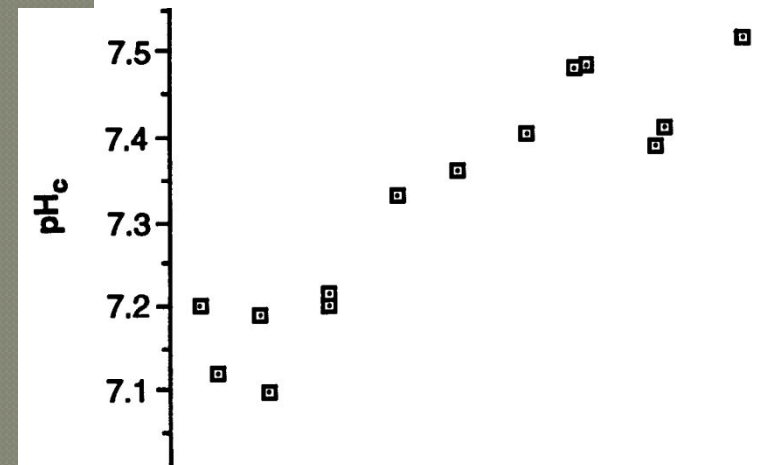
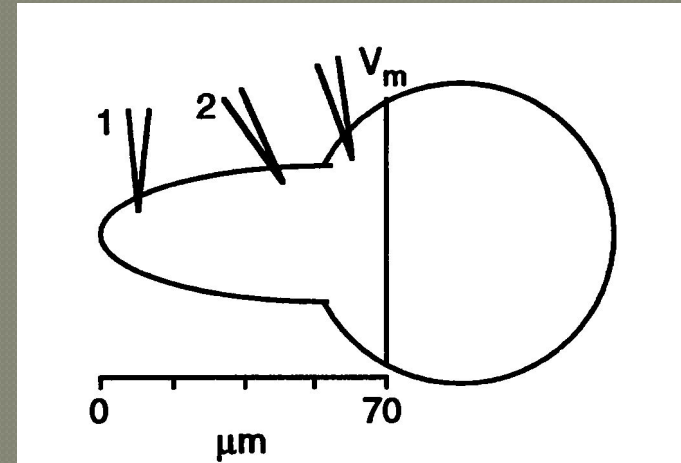
Градиенты Ca^{2+} и pH

- Градиент внутриклеточной концентрации кальция усиливается при запуске полярного роста.
- Предполагают, что вход кальция происходит через каналы, чувствительные к растяжению.
- Усиливается и протонный градиент, который был очень слабым до прорастания.



Градиент рН

- Растущий кончик ризоида на 0,3-0,5 ед. рН кислее, чем дистальная часть.
- Чем сильнее градиент, тем быстрее рост
- Разрушение градиента останавливает рост.
- Ингибирование Ca^{2+} каналов снимает ОБА градиента и останавливает рост

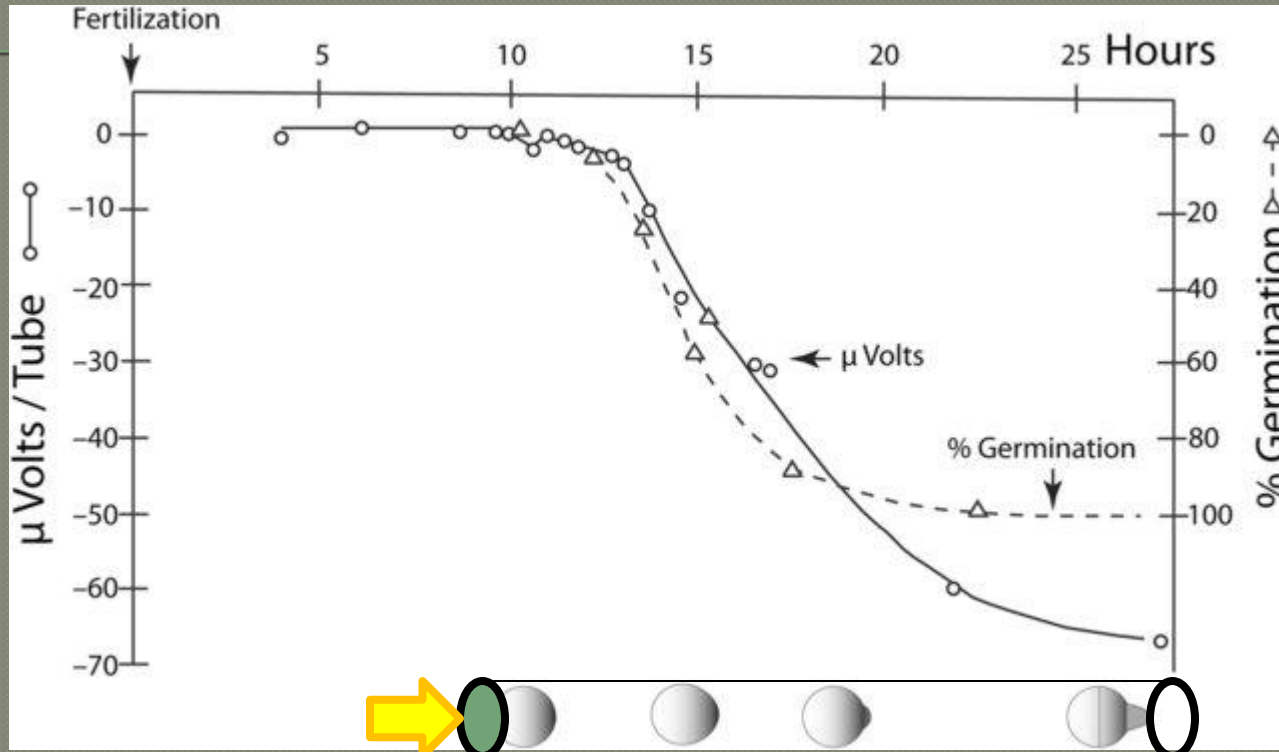


Cytosolic pH Gradients Associated with Tip Growth

Author(s): Bryan C. Gibbon and Darryl L. Kropf

Source: Science, New Series, Vol. 263, No. 5152 (Mar. 11, 1994), pp. 1419-1421

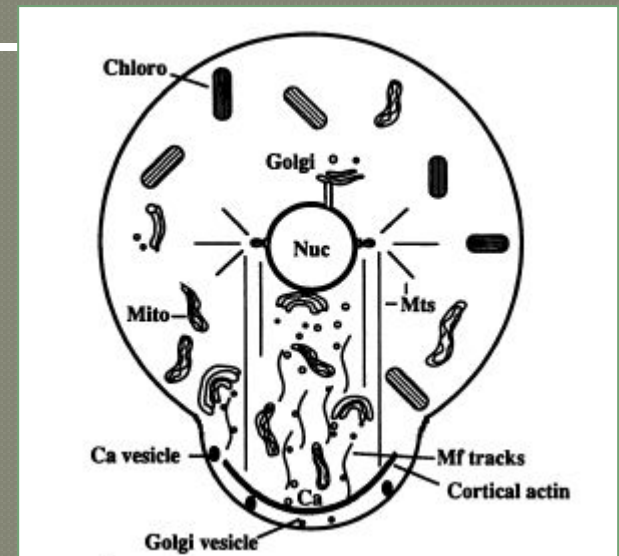
Электрическая полярность



- Электрическое поле нагнеталось зиготами по мере установления оси и последующего прорастания

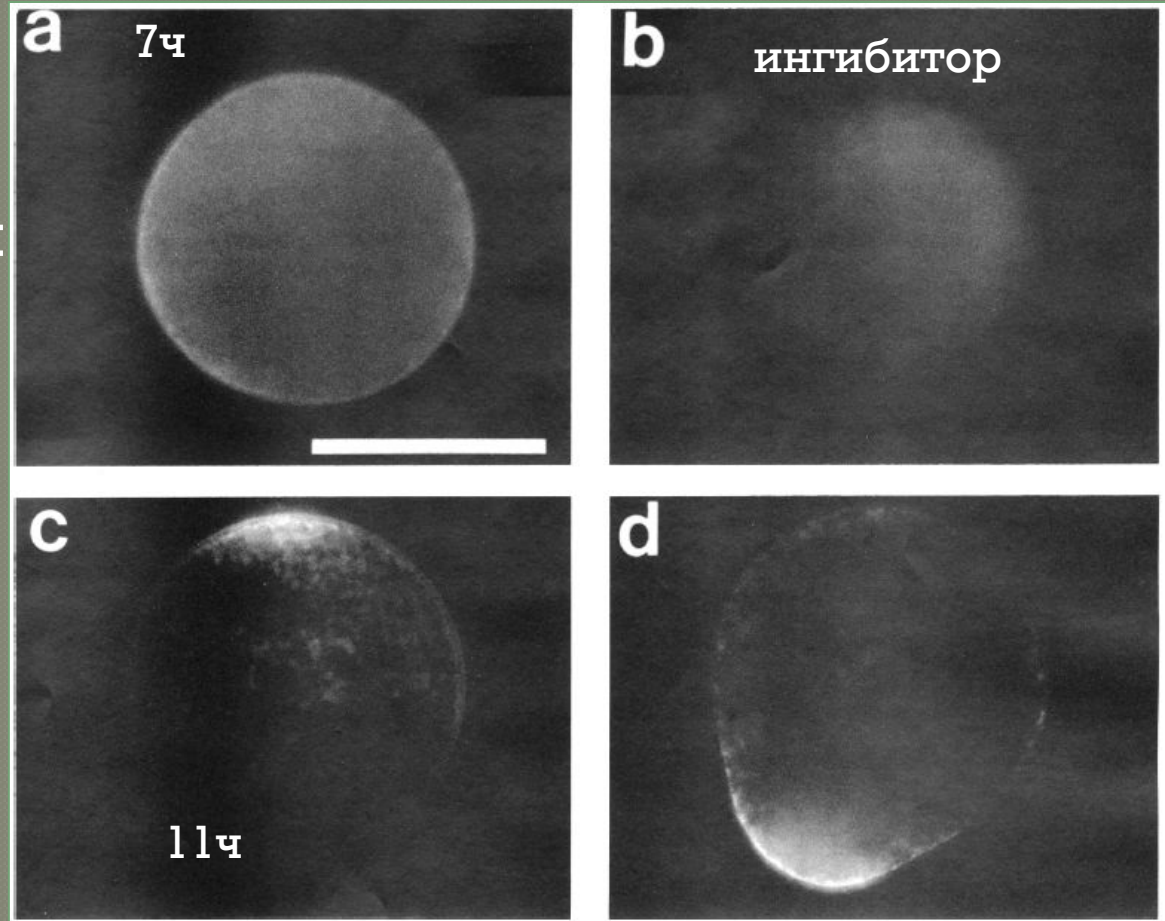
Механическая составляющая

- Механически направляет рост тандем цитоскелет - стенка.
- Сайты адгезии содержат контакты между ПМ и стенкой, а также кортикальный F-актин.
- Именно в них сосредоточены Ca^{2+} каналы.



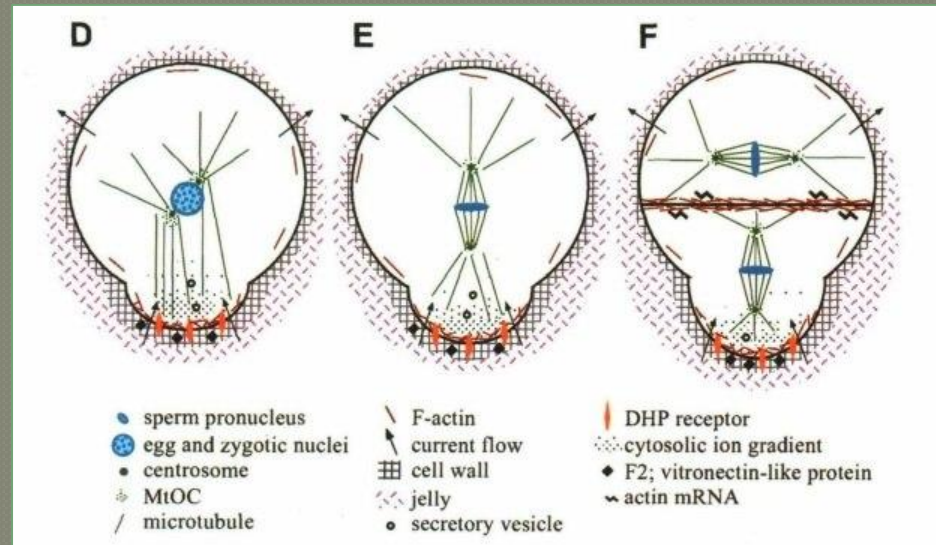
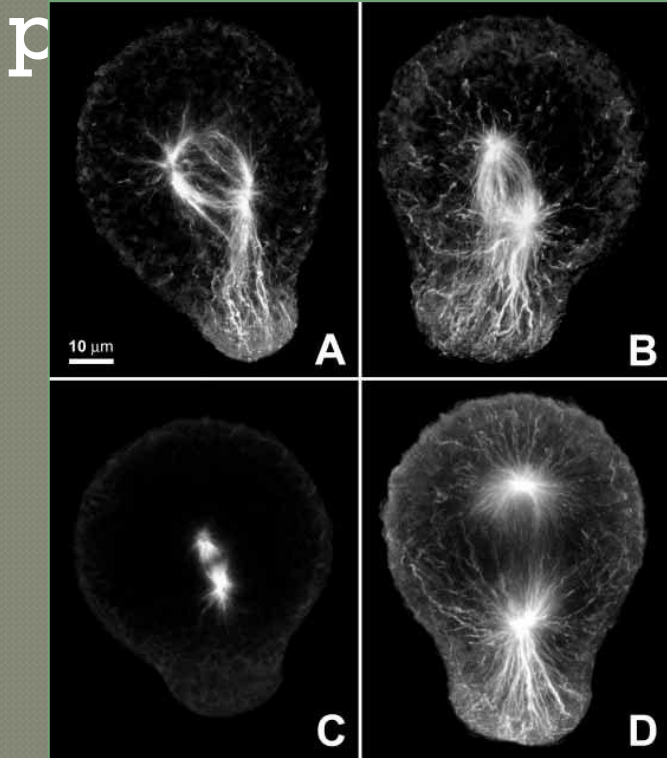
Актин формирует поляризованную структуру

- Актиновые филаменты формируются преимущественно на ризоидальном полюсе.



Подготовка к делению

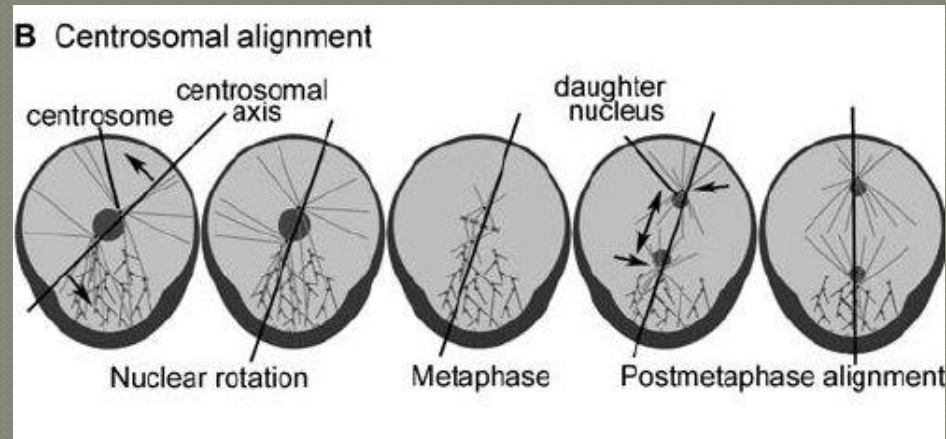
- Первое деление зиготы ассиметричное. Его плоскость перпендикулярна оси



Роль центриолей

- Центриоли сначала сидят на ядре со стороны входа спермия.
- Во время раннего развития отцовские центросомы мигрируют на противоположные стороны ядерной оболочки, обеспечивая нуклеацию микротрубочек, но МТ играют лишь косвенную роль в поляризации.
- Незадолго до прорастания ядро и центриоли вращаются, приводя свои полюса в соответствие с закрепленной осью роста.

Выравнивание



- «Центросомное выравнивание» начинается с премитотического вращения ядра, которое частично совмещает центросомную ось (определяемую линией, проведенной через две центросомы) с осью ризоид/таллом.
- Когда образуется метафазное веретено, оно дополнительно подравнивается.
- Постметафазное выравнивание приводит ядра телофазы в почти идеальное совмещение с осью.

-
- Образуется кортикальный актиновый пэтч, который отмечает ризоидный полюс оси по умолчанию. Фотополяризация вызывает его разборку и сборку нового пэтча на р- полюсе.
 - Циркуляция эндомембран затем фокусируется на р-полюсе, поскольку возникающая ось усиливается, и генерируются ионные градиенты.
 - При прорастании актин собирается в конус, при участии Arp2/3.