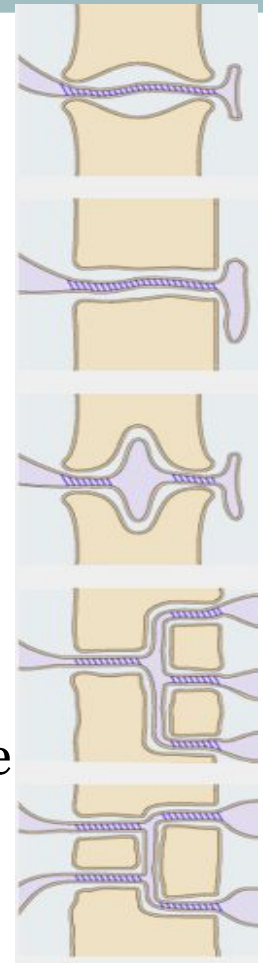
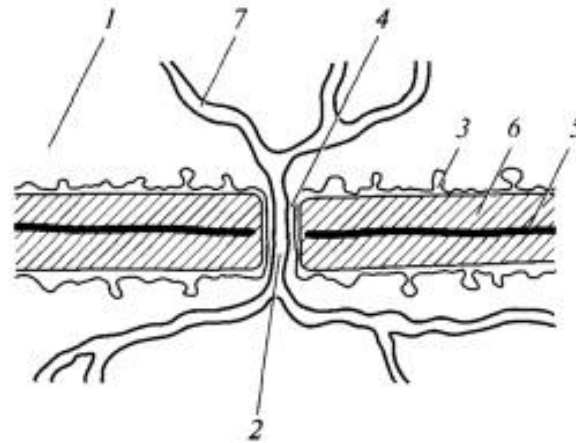


Плазмодесмы

И вместе, и по отдельности...

Что и у кого?

- 1 - цитоплазма
- 2 - десмотрубочка
- 3 - плазмалемма
- 4 - плазмодесма
- 5 - пектиновая межклеточная пластинка
- 6 - клеточная стенка
- 7 - ЭР



Плазмодесмы – микроскопические каналы, пронизывающие клеточную стенку и обеспечивающие межклеточную коммуникацию.

У кого есть плазмодесмы?

Высшие растения (land plants or embryophytes) + **Водоросли**:

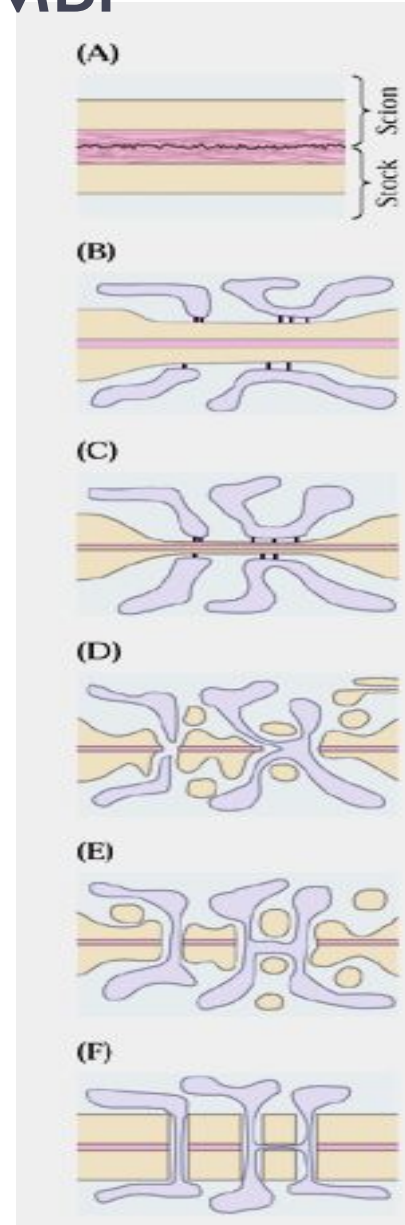
Класс: Charophyceae

Порядки: Charales (**Харовые**), Coleochaetales (**Колеохетовые**)

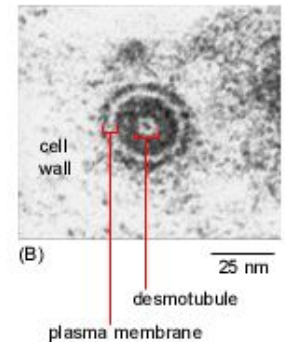
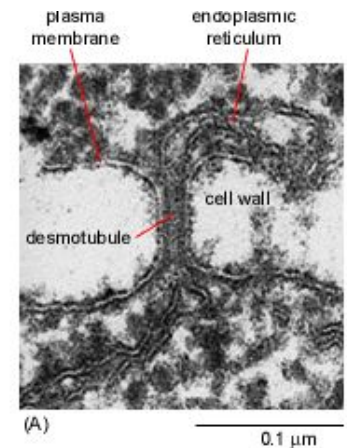
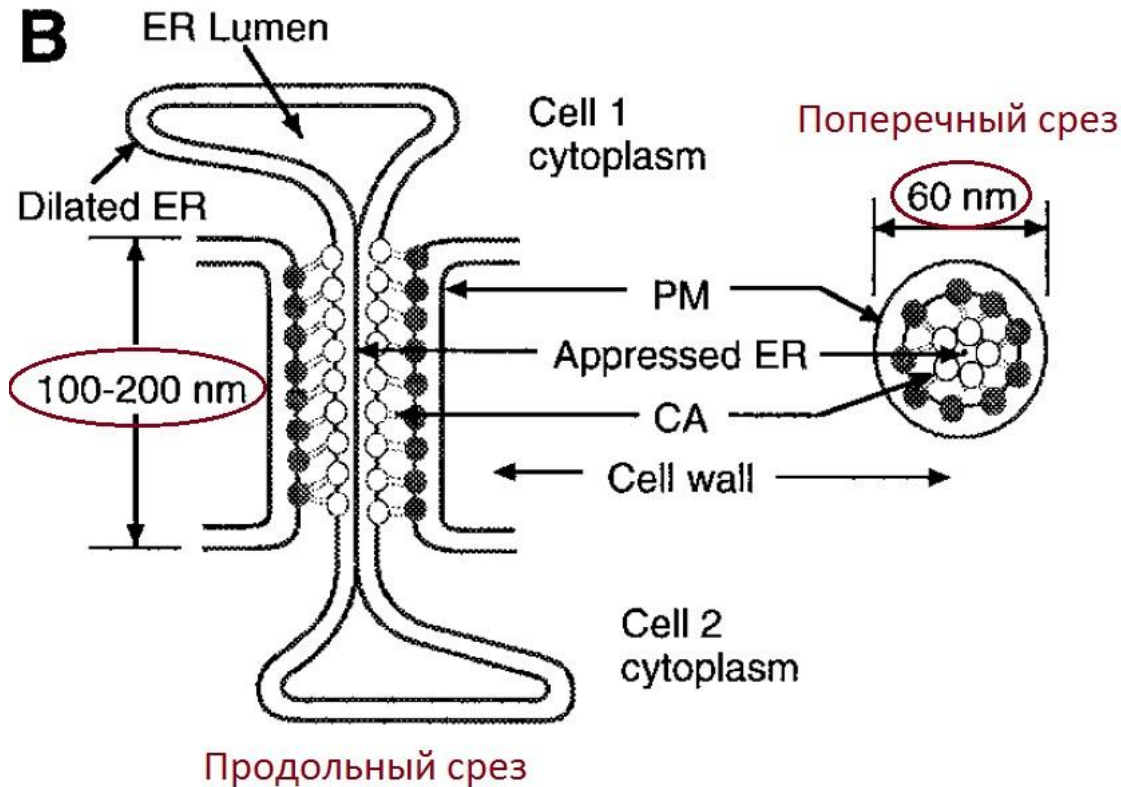
По происхождению плазмодесмы делятся на:

Первичные – формируются между сестринскими клетками, развиваются из канальцев в фрагмопласте во время цитокинеза.

Вторичные – формируются между соседними клетками, развиваются в результате ферментативной деградации материала клеточной стенки, срединной пластинки, слияния плазмалеммы соседних клеток и развития десмотрубочки в цитоплазматическом канале плазмодесмы.



Ультраструктура плазмодесм



Спицеобразные линкерные белковые структуры (миозин + актин) разделяют цитоплазматическое кольцо на микроканалы. По ним идет диффузия ионов, небольших органических метаболитов (АК, сахара), возможно, гормонов.

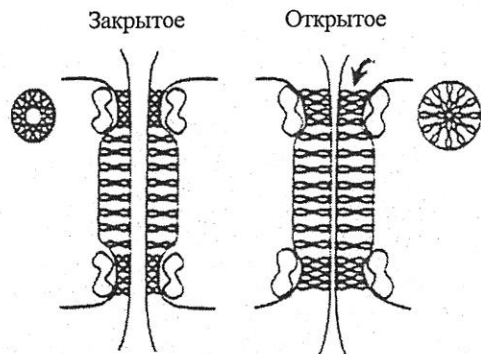
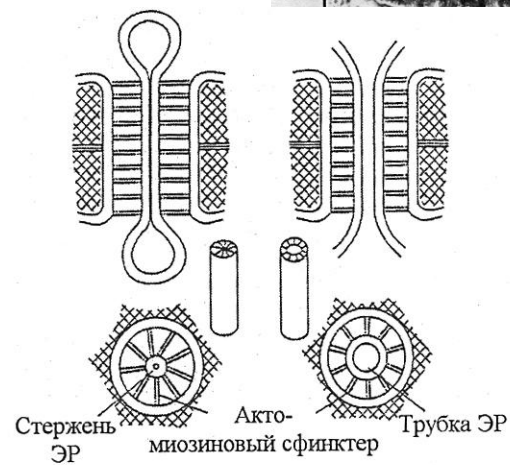
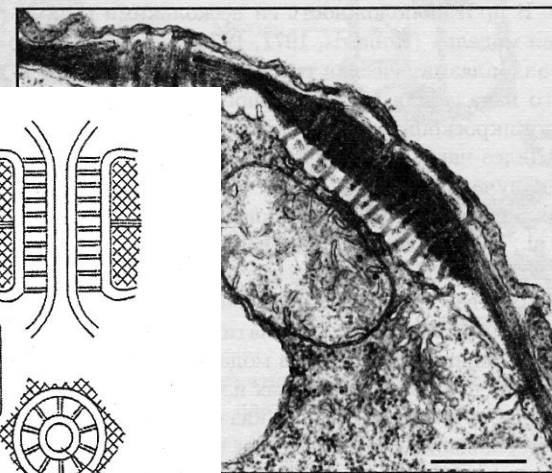
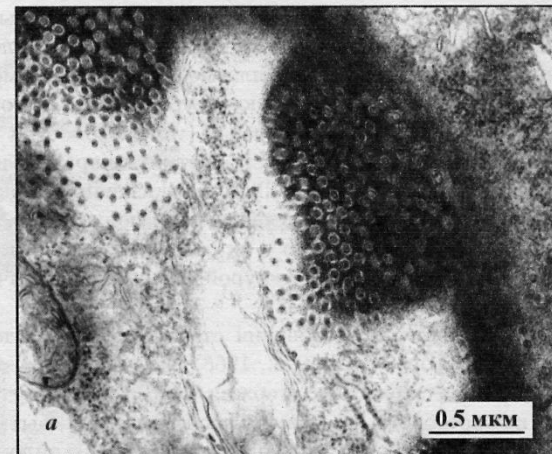
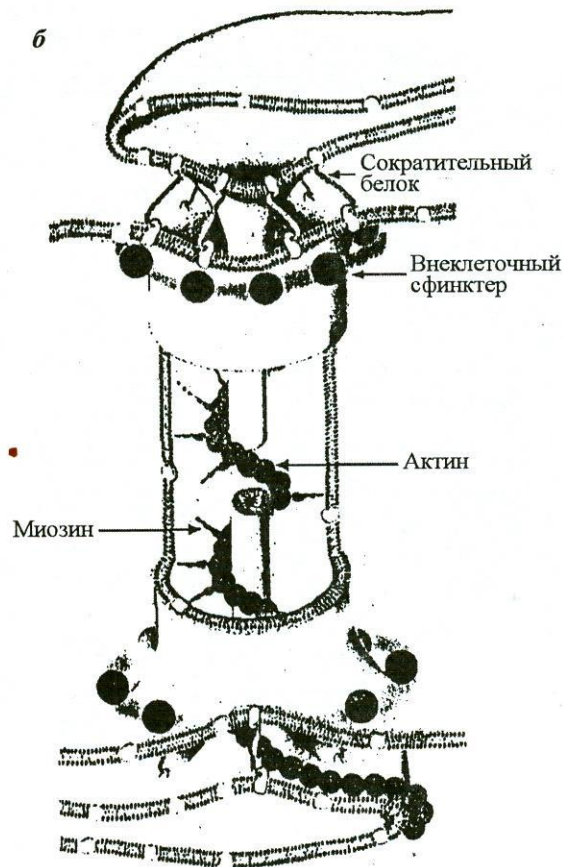
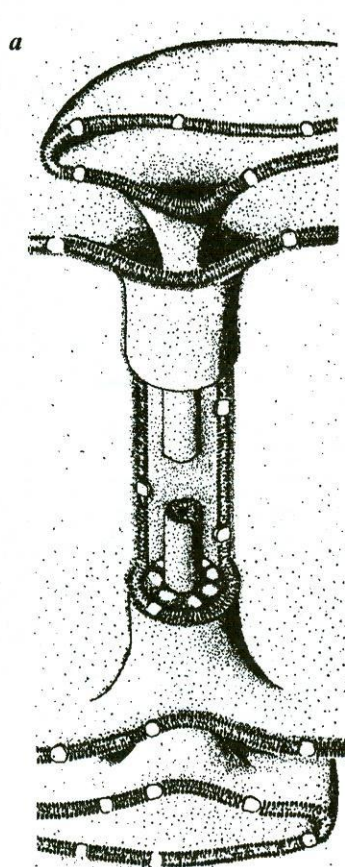
Плазмалемма, выстилающая плазмодесму, и мембрана ЭПР десмотрубочки отличаются по своим физико-химическим параметрам от плазмалеммы, подстилающей клеточную стенку, и мембраны кортикального ЭПР, соответственно. На этом основании вводятся термины:

1. PDom (outer membrane) – участок плазмалеммы, выстилающей плазмодесму;
2. PDim (inner membrane) – участок мембраны ЭПР десмотрубочки (сжатый ЭПР = appressed ER)

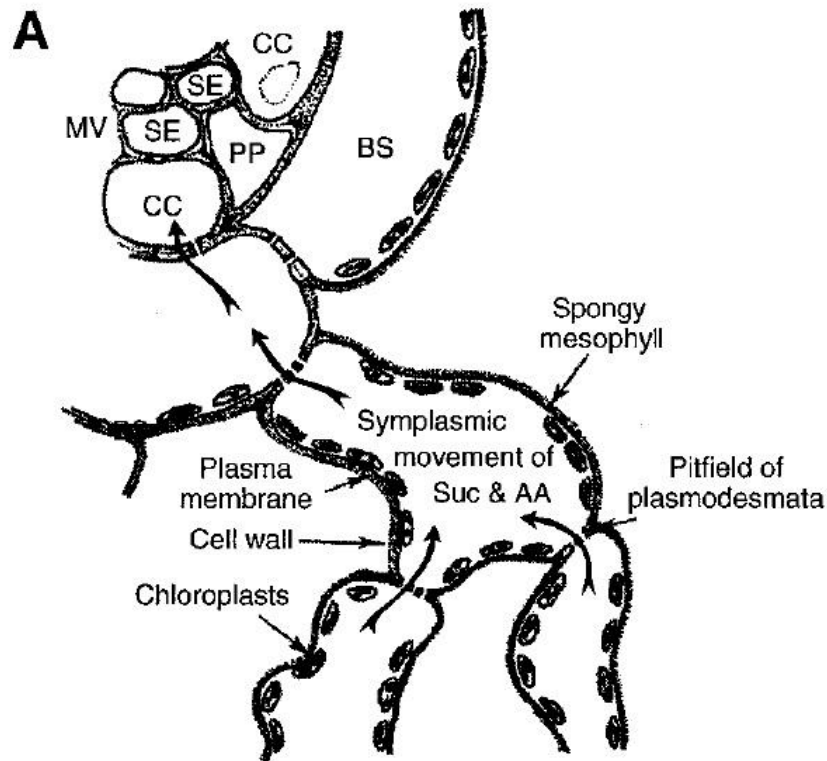
Характеристики плазмодесм

- **Плотность** ($= N \text{ плазмодесм} / S \text{ поверхности КС}$)
- **Пространственное распределение** плазмодесм на поверхности клетки (в ткани / органе) растения
 - Показатели наличия и интенсивности транспортных межклеточных потоков, используются во многих физиологических исследованиях (напр.: загрузка/разгрузка ассимилятов в системе дальнего транспорта, поглощение и транспорт по растению элементов минерального питания)
- **SEL** (**s**ize **e**xclusion **l**imit, kDa) – максимальная масса молекул, способных проникать через плазмодесму - не является постоянной величиной: 700 -1000 Da ~ 1.5 - 2.0 nm.

Структура и работа плазмодесм

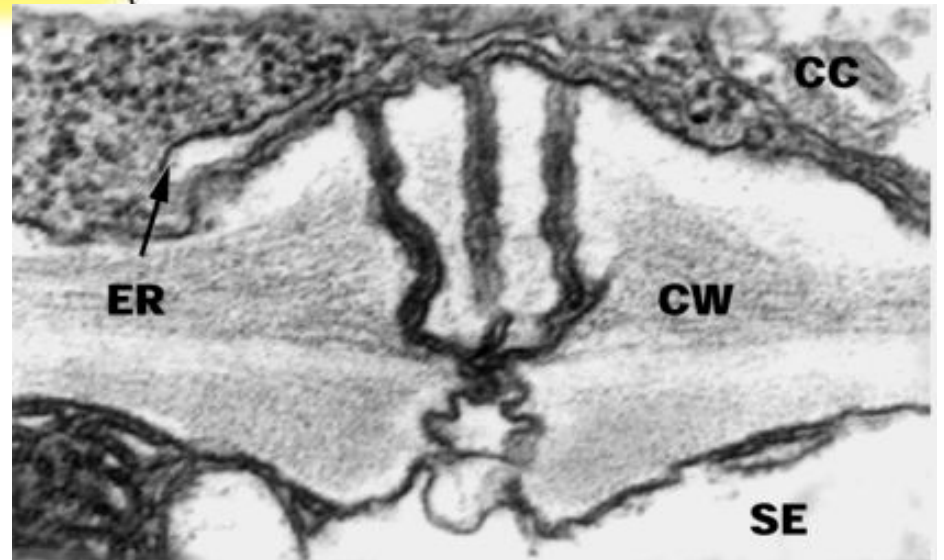
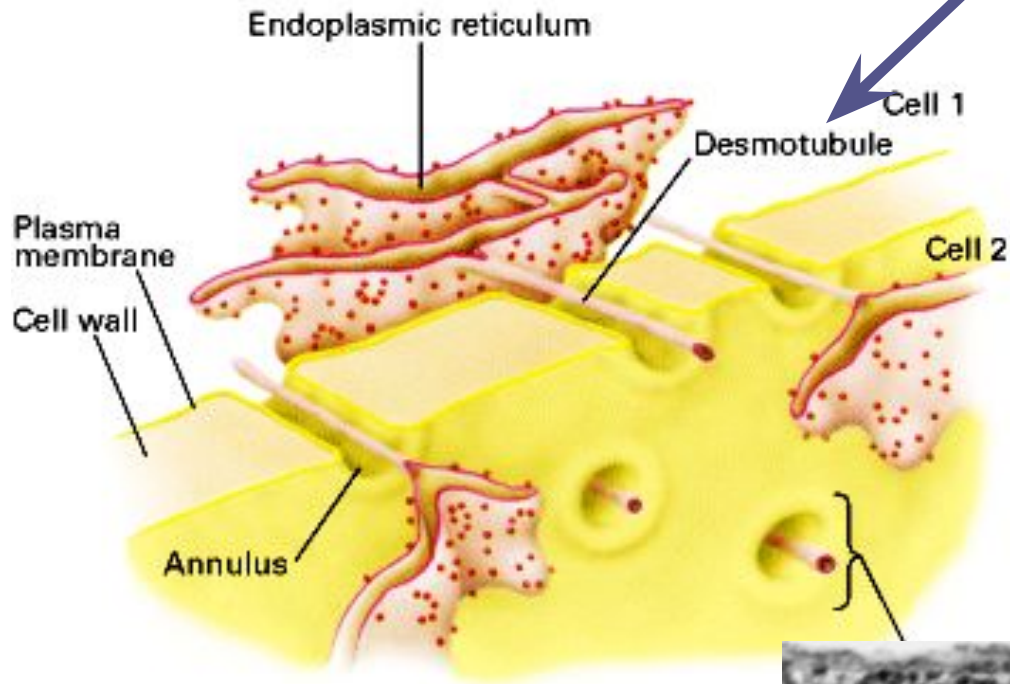


Надклеточная организация тела высших растений («supracellular organisms»)



- **Апопласт** – непрерывный континуум клеточных стенок, межклеточных пластинок и межклетников
- **Симпласт** – общеорганизменная система сообщающихся через плазмодесмы протопластов клеток
- **Эндопласт** – межклеточный континуум эндоплазматических сетей
- «Клетка» высших растений представляет собой в большинстве случаев **не полностью изолированный** компартмент тела, включающий участки общеорганизменных систем: апопласта, симпласта (+эндопласта)
- В теле растения существуют изолированные клетки/ группы клеток (напр.: замыкающие клетки устьиц)

ЭНДОПЛАСТ



Через плазмодесмы возможен межклеточный транспорт растительных и вирусных белков

- **Использование радиоактивной метки** – ^{35}S -метионин (при введении в лист метка была зарегистрирована как в клетках-спутницах, так и в безъядерных ситовидных элементах)
- Проверяли гипотезу, что белки, синтезированные в клетках-спутницах, транспортируются в ситовидные элементы
- Транспорт белков в безъядерные членики ситовидных трубок необходим для поддержания их функциональной активности

Плазмодесмы между клетками-спутницами и ситовидными элементами - точки интенсивного транспорта веществ

- Для исследования белкового состава флоэмного экссудата необходимо получить его образцы. Метод – использование стилетов тлей!
- Микроинъекции отдельных белков, полученных при фракционировании флоэмного экссудата (PP1, PP2, Ubiquitin), и белков, полученных в культуре клеток *E. coli*, вызывают увеличение SEL, и наблюдается транспорт этих белков в соседние клетки.



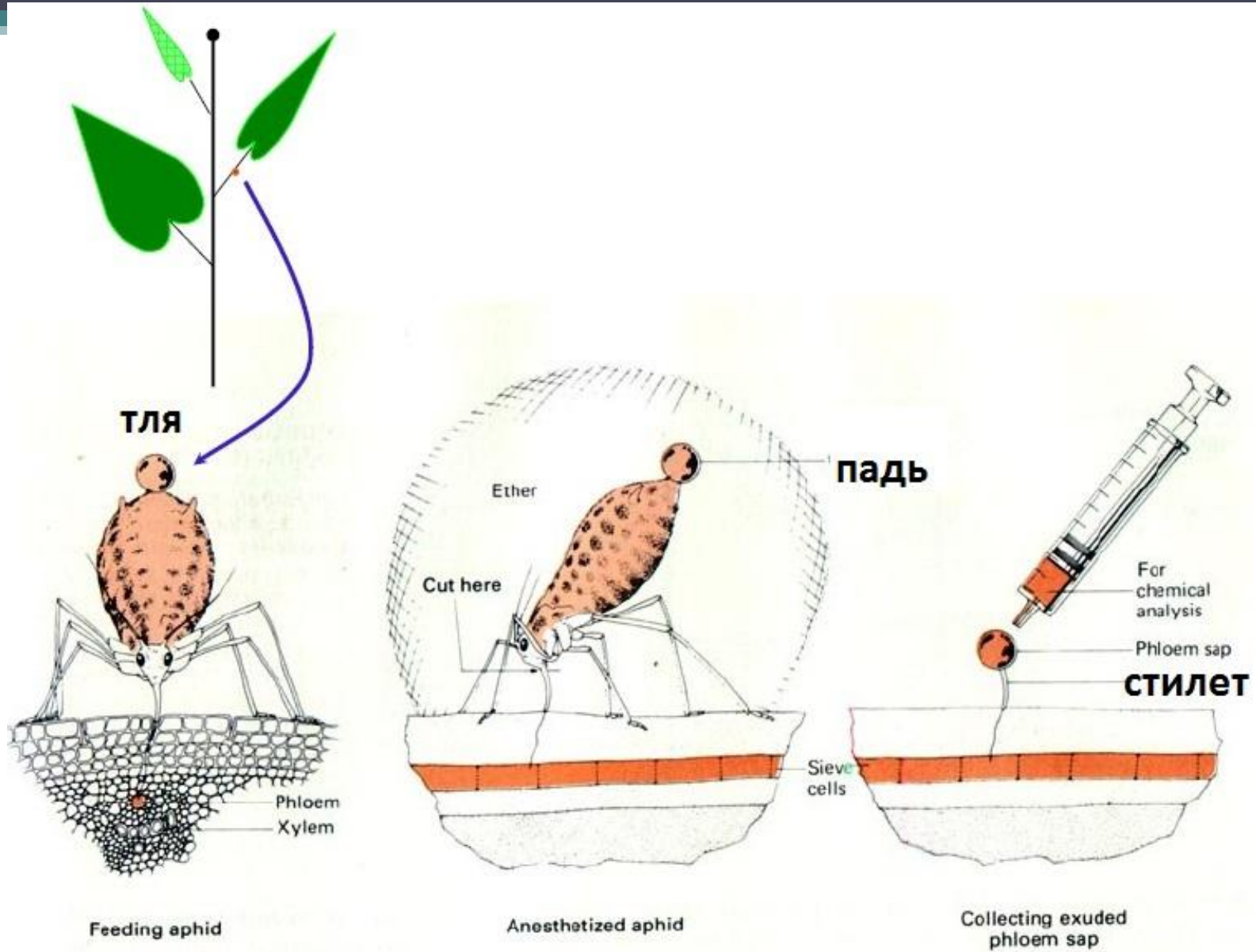
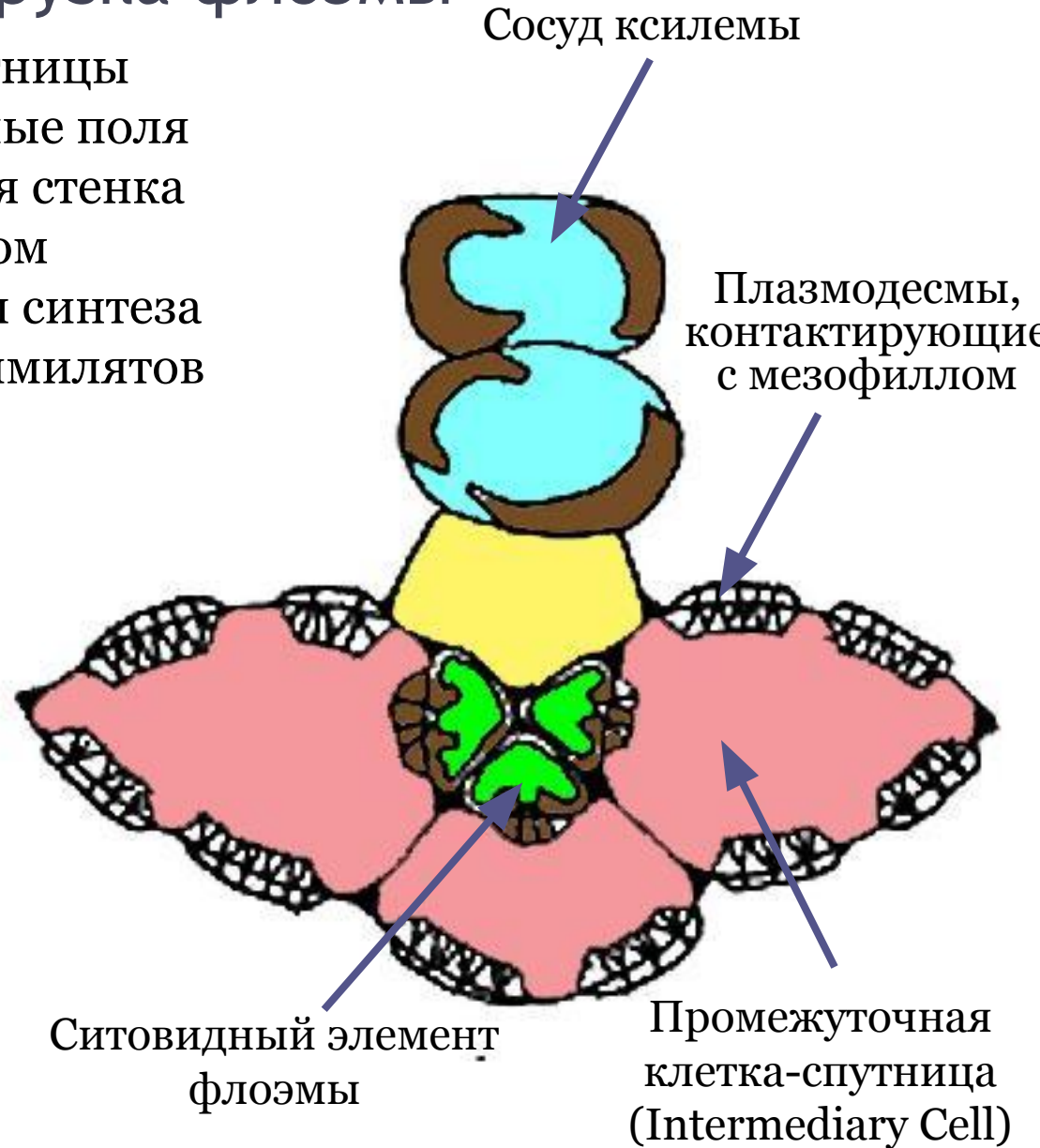
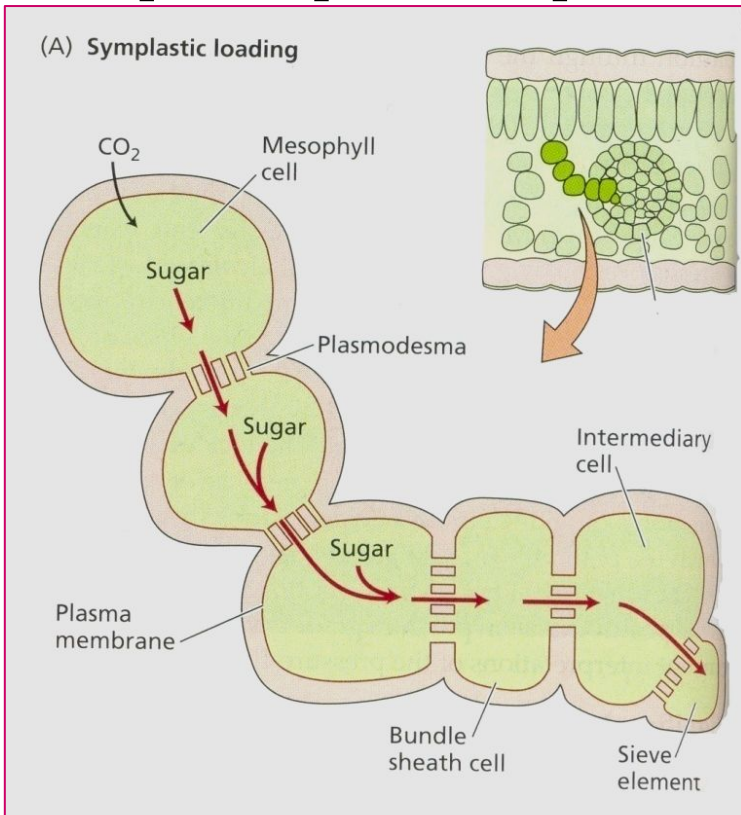


Figure 5-15 harvest phloem sap

Симпластическая загрузка флоэмы

Промежуточные клетки-спутницы

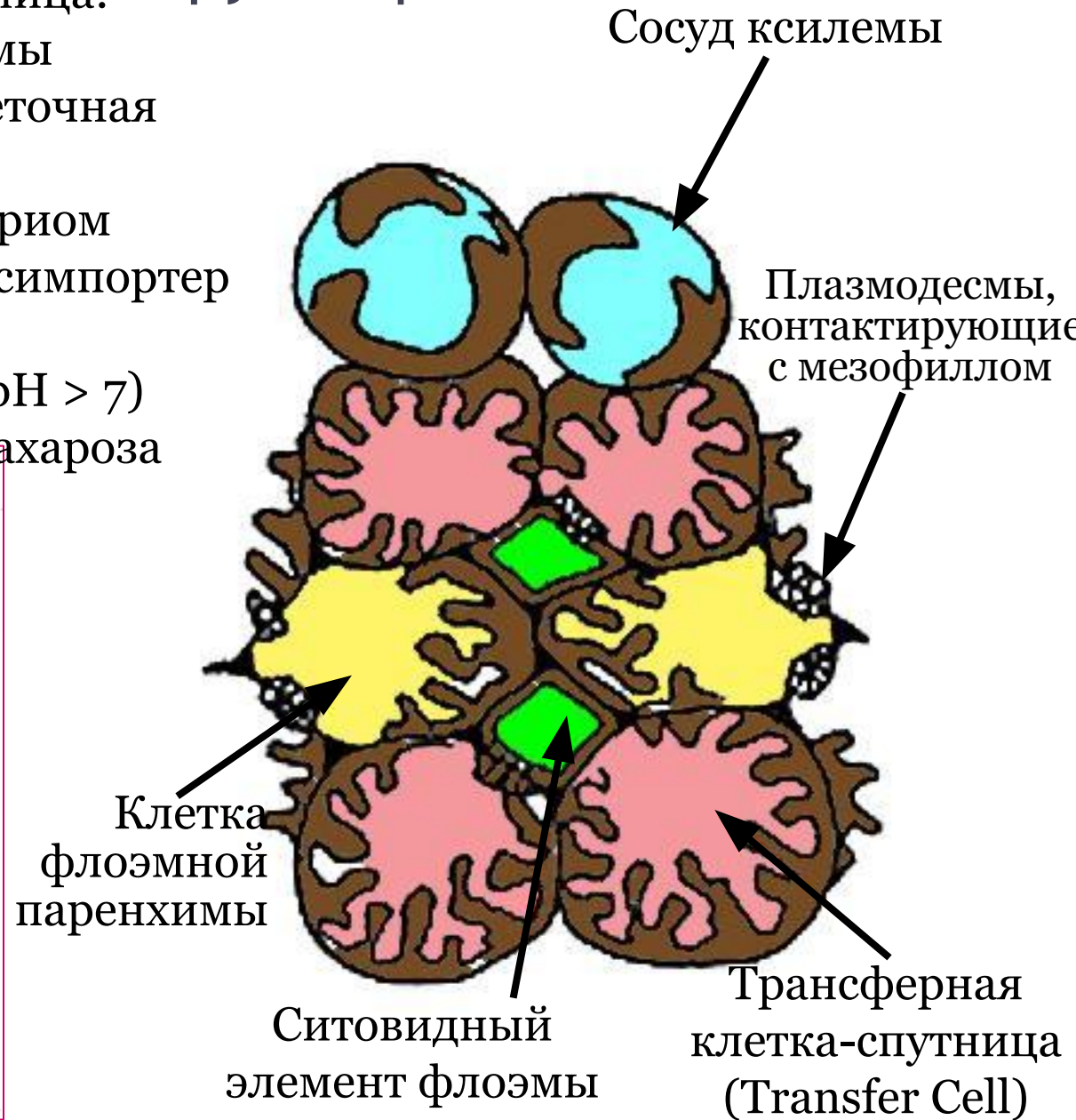
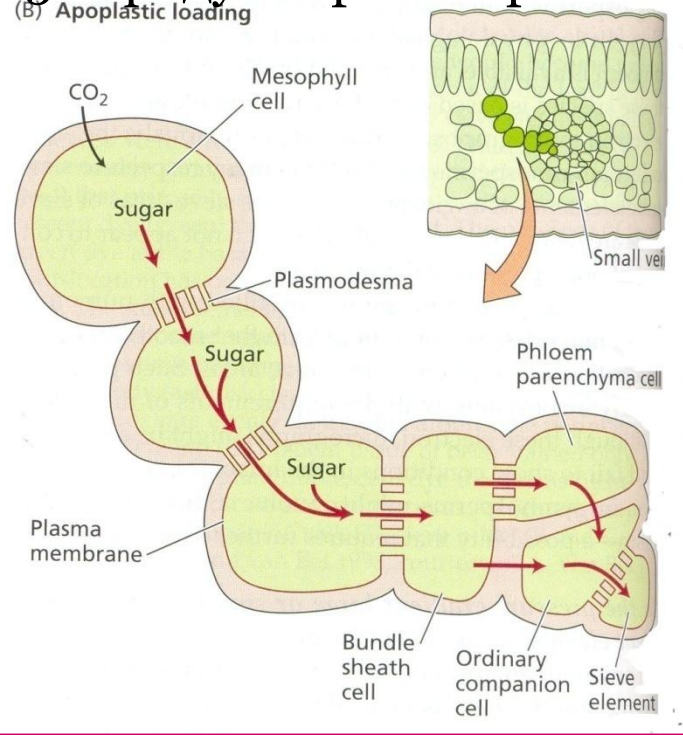
1. Обильные плазмодесменные поля
2. Толстая гладкая клеточная стенка
3. Развитый единый хондриом
4. Специфические ферменты синтеза
5. Транспорт смеси фотоассимилятов



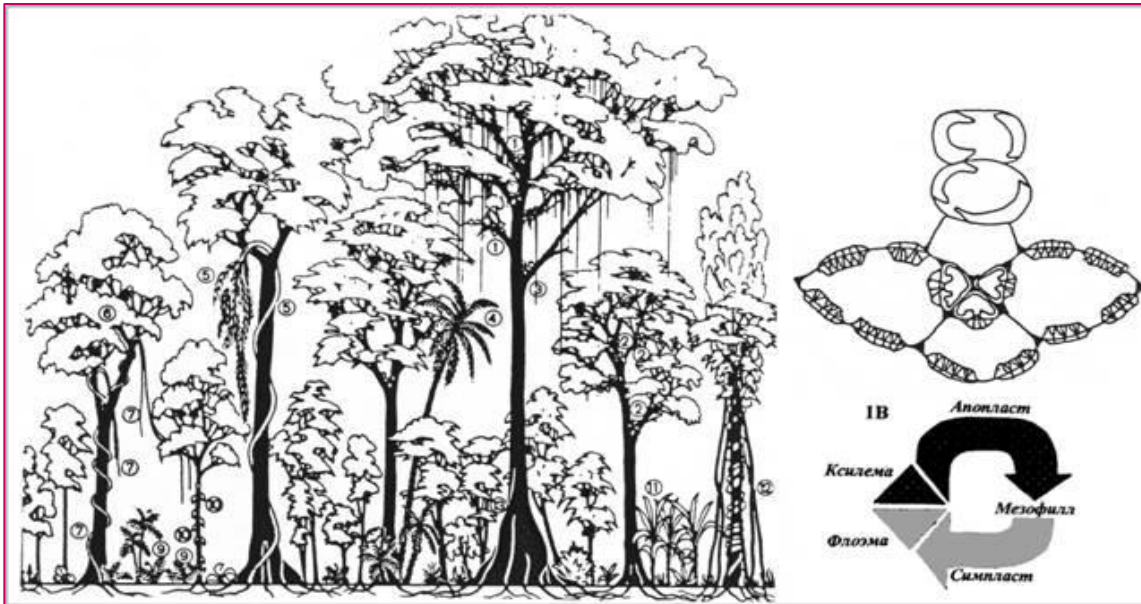
Апопластическая загрузка флоэмы

Трансферная клетка-спутница.

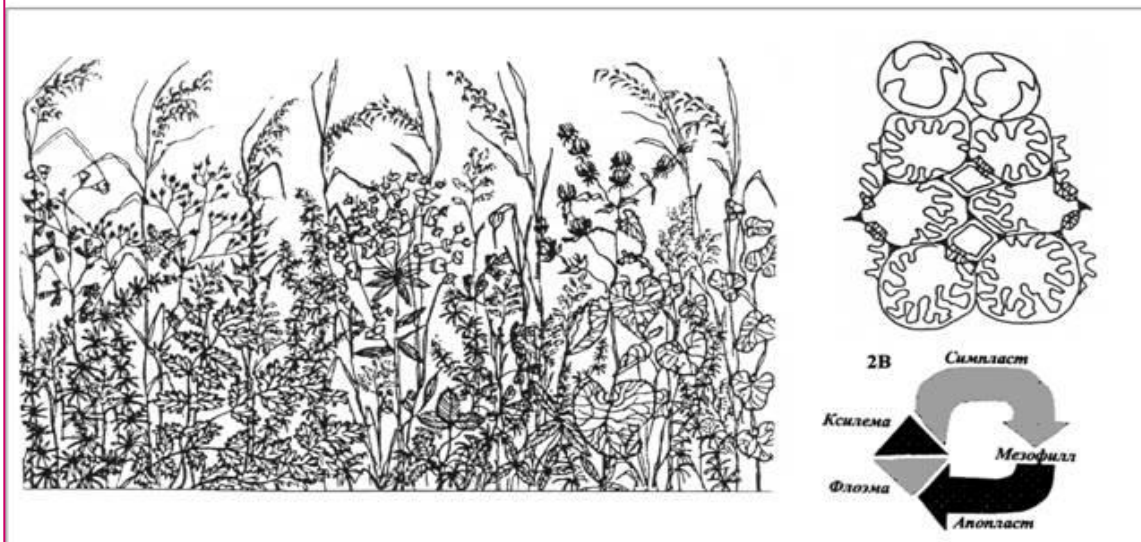
1. Единичные плазмодесмы
 2. Толстая складчатая клеточная стенка
 3. Развитый единый хондриом
 4. Сахарозно-протонный симпортер +
 5. H^+ -АТФаза на мембране ($pH > 7$)
- Продукт транспорта – сахароза



Способы загрузки флоэмы как элемент адаптации

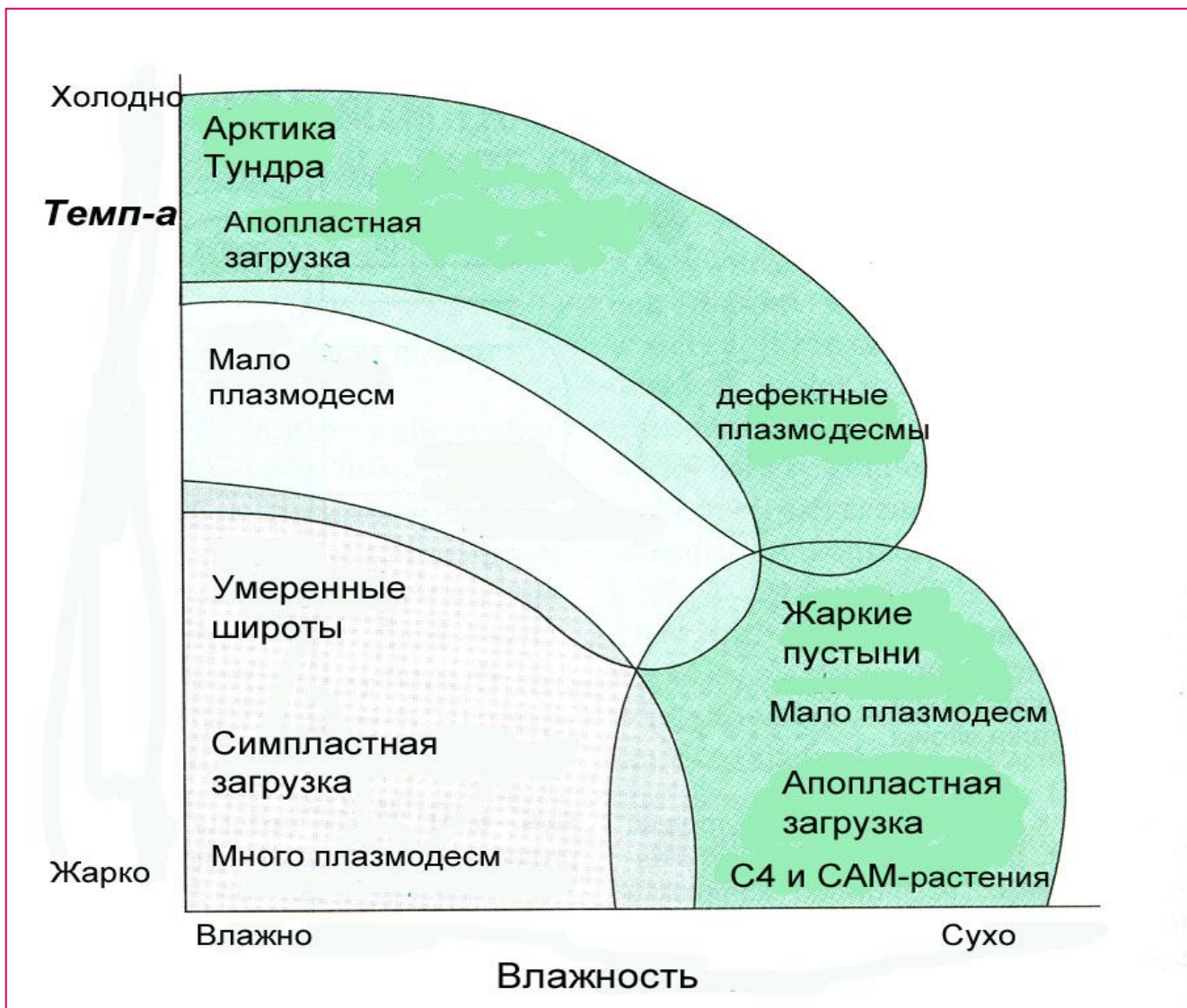


Симпластные растения



Апопластные растения

Способы загрузки флоэмы как элемент адаптации



Транспорт вирусных белков: viral movement protein (MP)

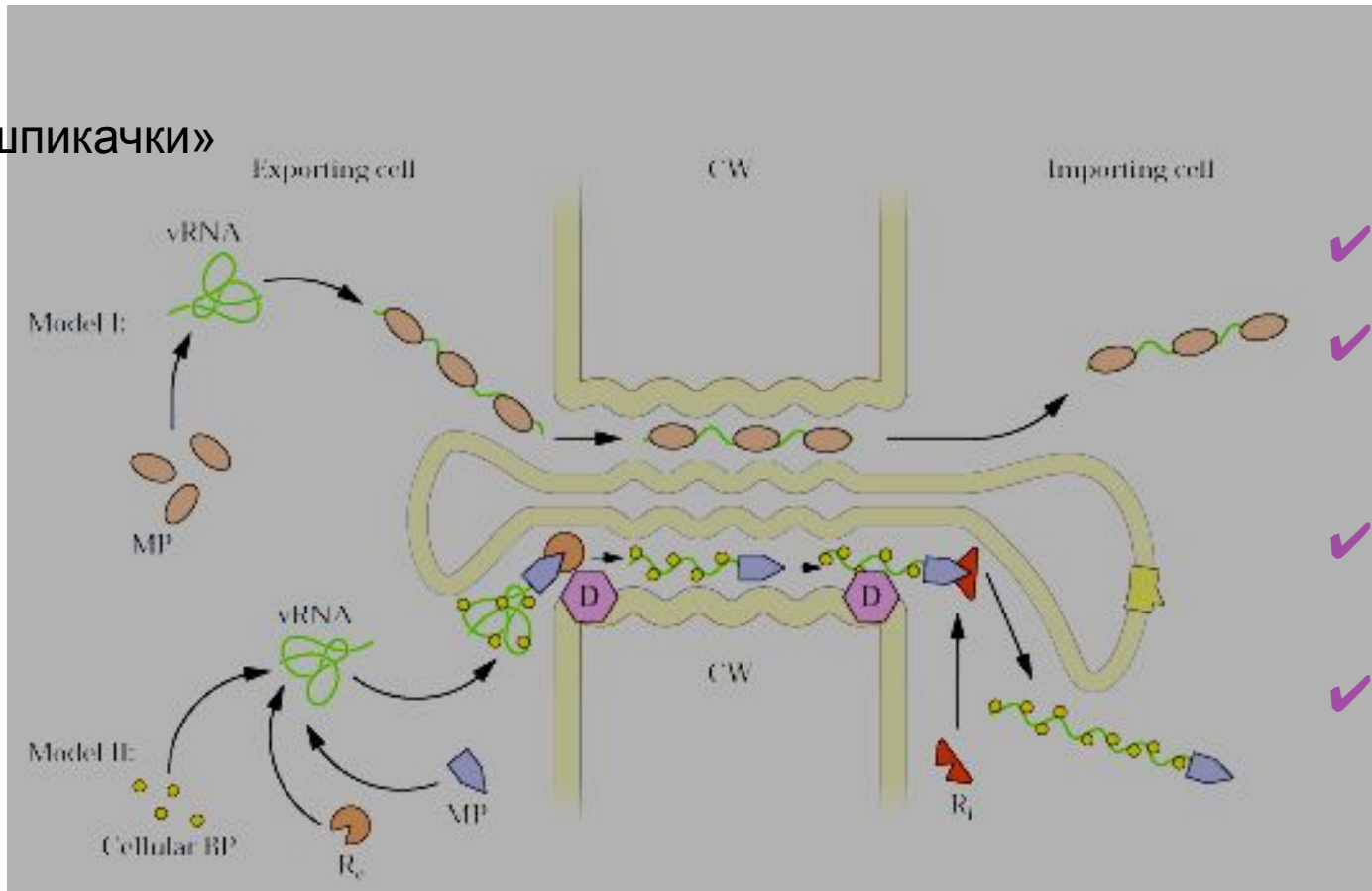
- MP – неструктурные белки, кодируемые в вирусном геноме, основной функцией которых является распространение вирусной инфекции в теле растения хозяина; некоторые вирусы имеют несколько различных MP
- MP вступают во взаимодействие с плазмодесмами клетки, в результате чего:
 - происходит увеличение SEL: 1kDa -> более 20kDa (не более 50kDa)
 - происходит распространение белка в соседнюю клетку
 - становится возможным межклеточный транспорт инфицирующих транскриптов вируса (РНК)

Одновременная инъекция flu.-labelled-MP и flu.-labelled-РНК – ведет к быстрому переносу протеонуклеинового комплекса в соседние клетки.

=> Плазмодесмы могут опосредовать избирательный межклеточный транспорт эндогенных белок-РНК комплексов.

Модели распространения вирусной инфекции

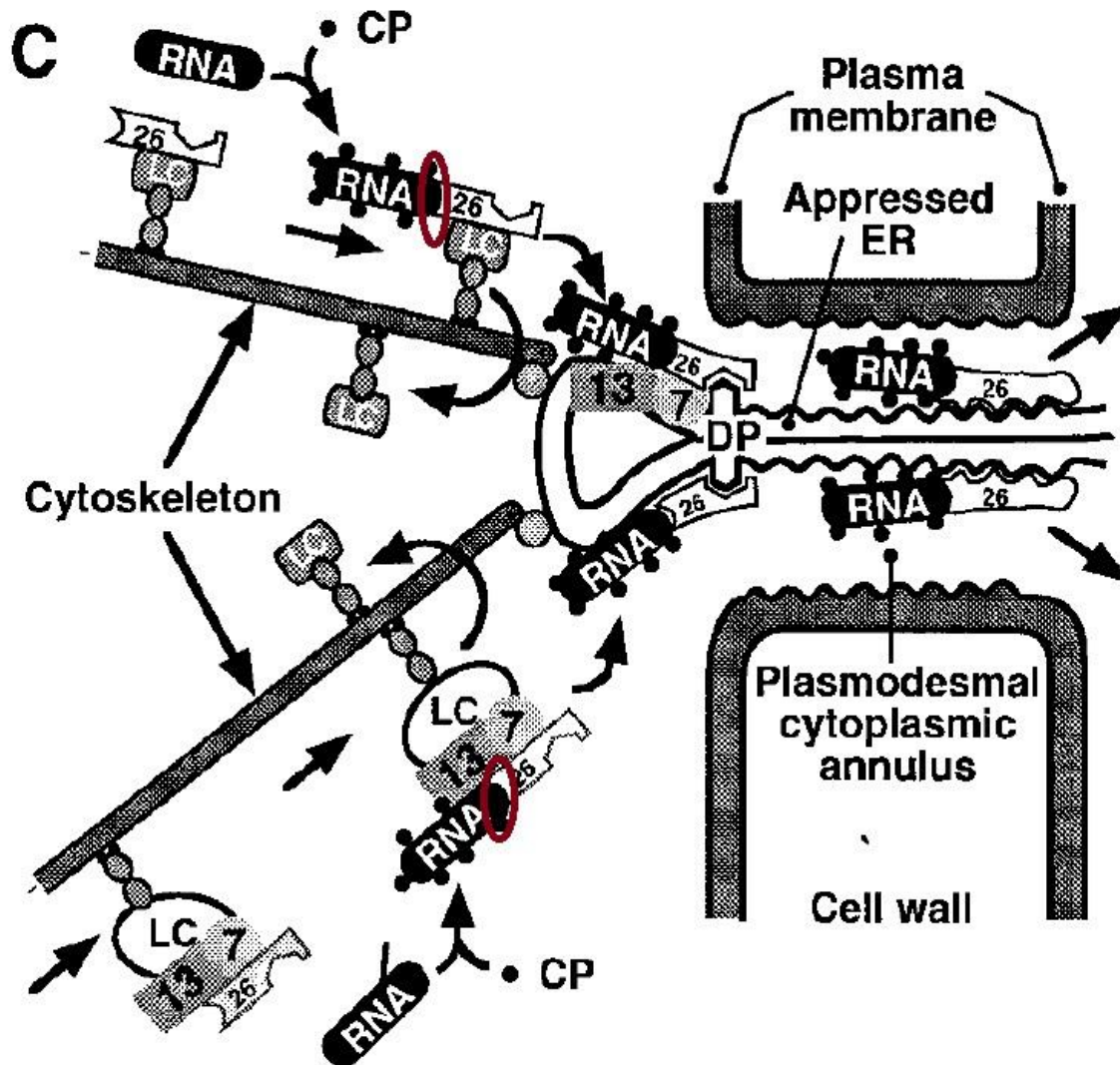
«шпикачки»



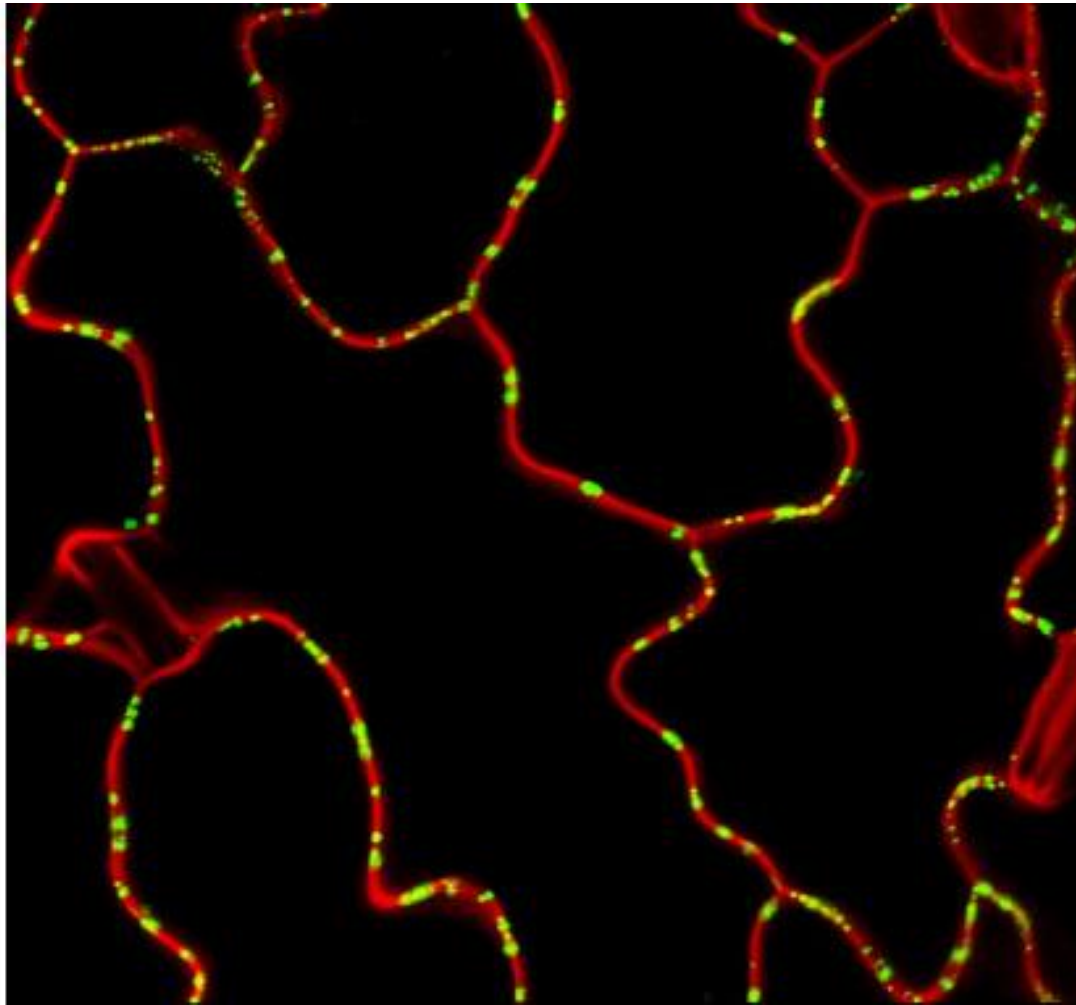
- ✓ **MP** – virus MP
26kDa
- ✓ **vRNA** –
одноцепочечная
РНК вируса
- ✓ **BP** – binding
protein
- ✓ **D** – docking protein
– белок-рецептор
плазмодесм

«селетка под шубой»

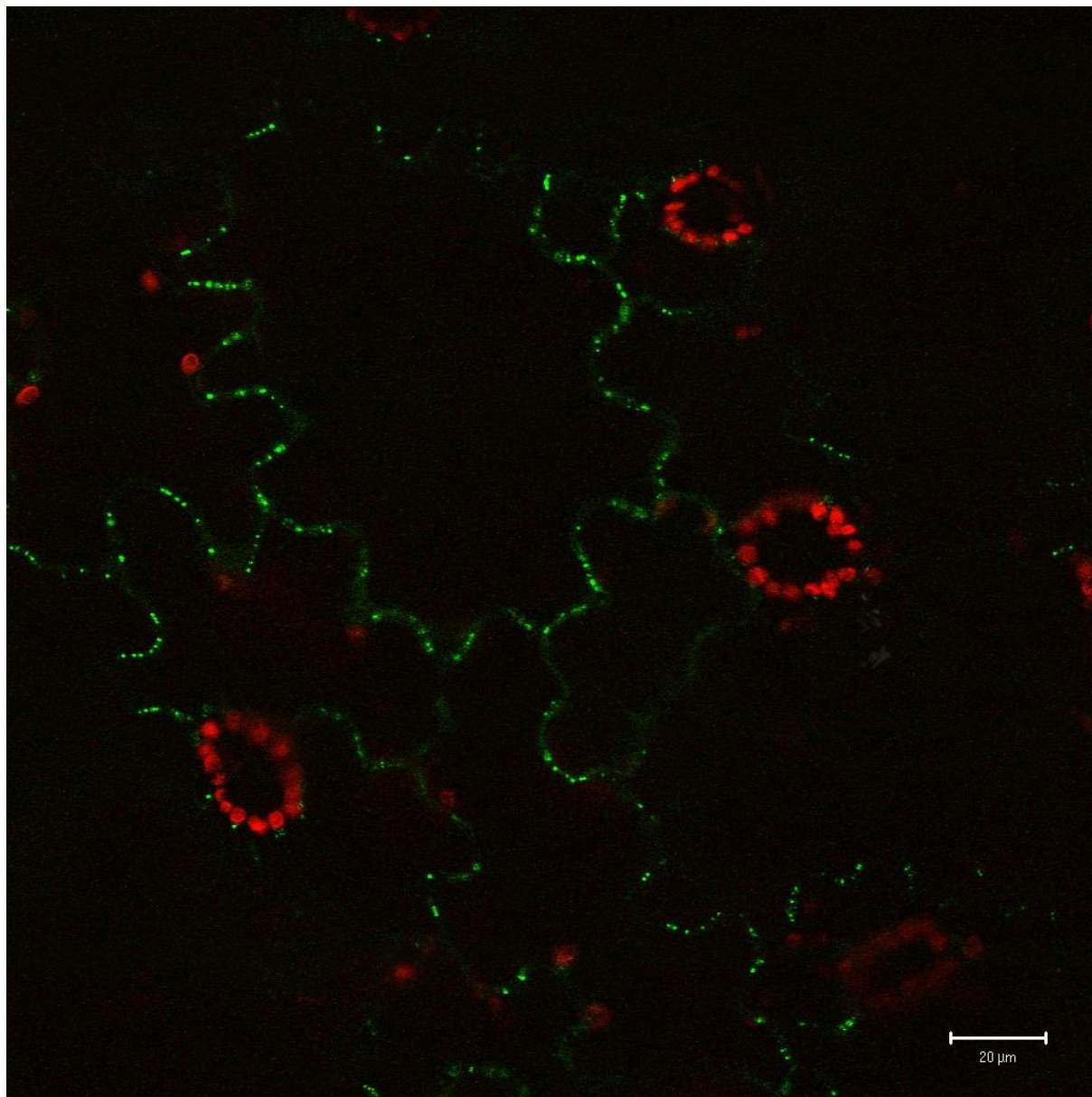
Модель распространения инфекции клевера **white clover mosaic virus - WCLMV**



- ✓ **LC** – linker complex (кодируется растением)
- ✓ **26** – virus MP 26kDa
- ✓ **137** – TGBp – вирусный белок (функции до конца не выяснены)
- ✓ **RNA** – одноцепочечная РНК вируса
- ✓ **CP** – coat protein
- ✓ **DP** – docking protein – **предполагаемый** белок-рецептор плазмодесм
- ✓ **Non-sequence-specific binding** of single-stranded RNA+CP to the anchored 26MP



- Эпидермальные клетки *Arabidopsis thaliana*, экспрессирующие MP17-GFP
- Propidium iodide (окрашивание пектинов) маркирует клеточные стенки
- Локализация - плазмодесмы



- Другой белок - TMV MR30-GFP.
- Видна локализация в плазмодесмах

Транспорт собственных белков: KN1 (KNOTTED1)

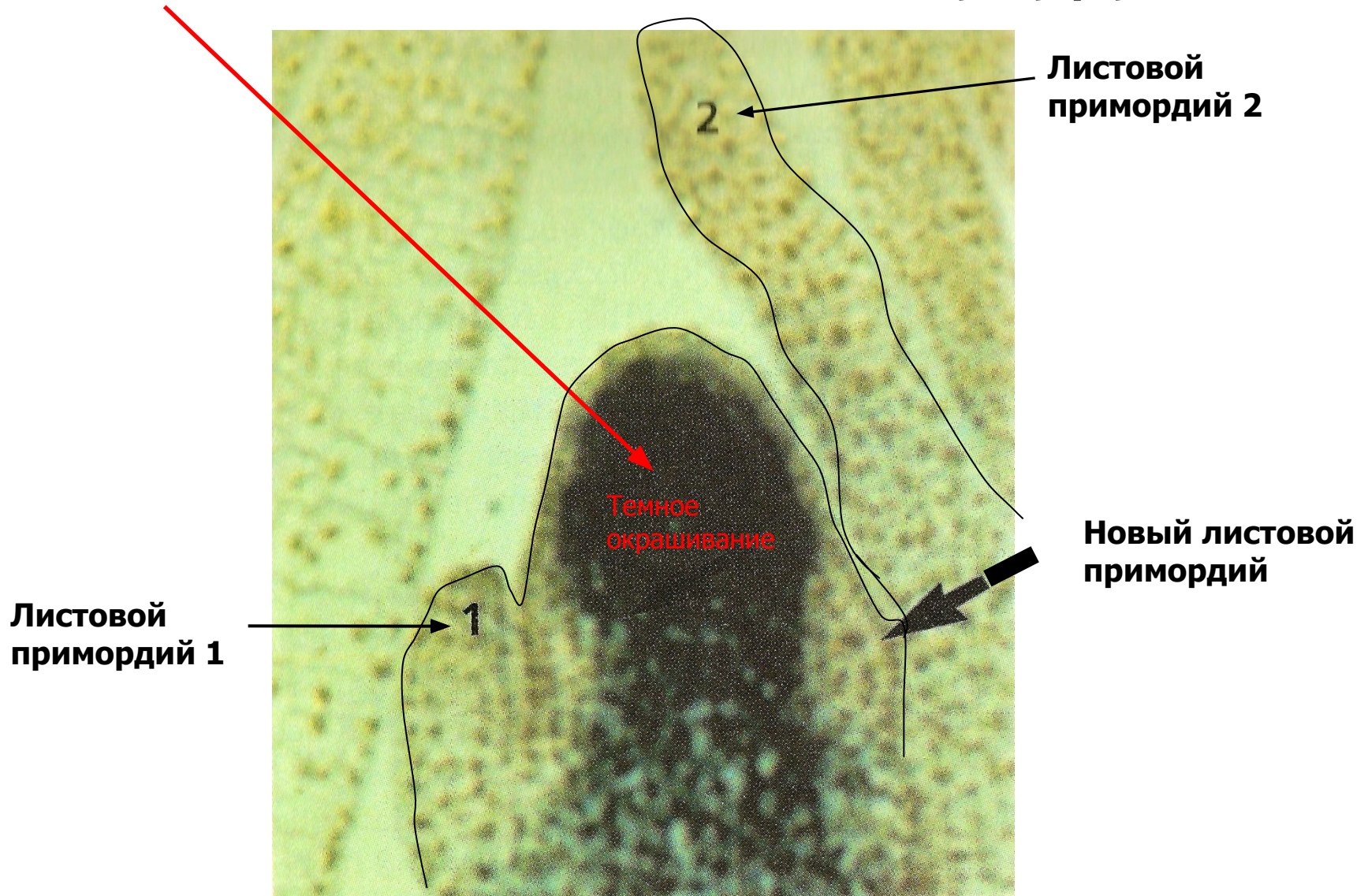
– фактор транскрипции, индуцирует дифференцировку клеток

Микроинъекция KN1 в клетки мезофилла растений кукурузы и табака вызывает эффекты, схожие с инъекцией МР:

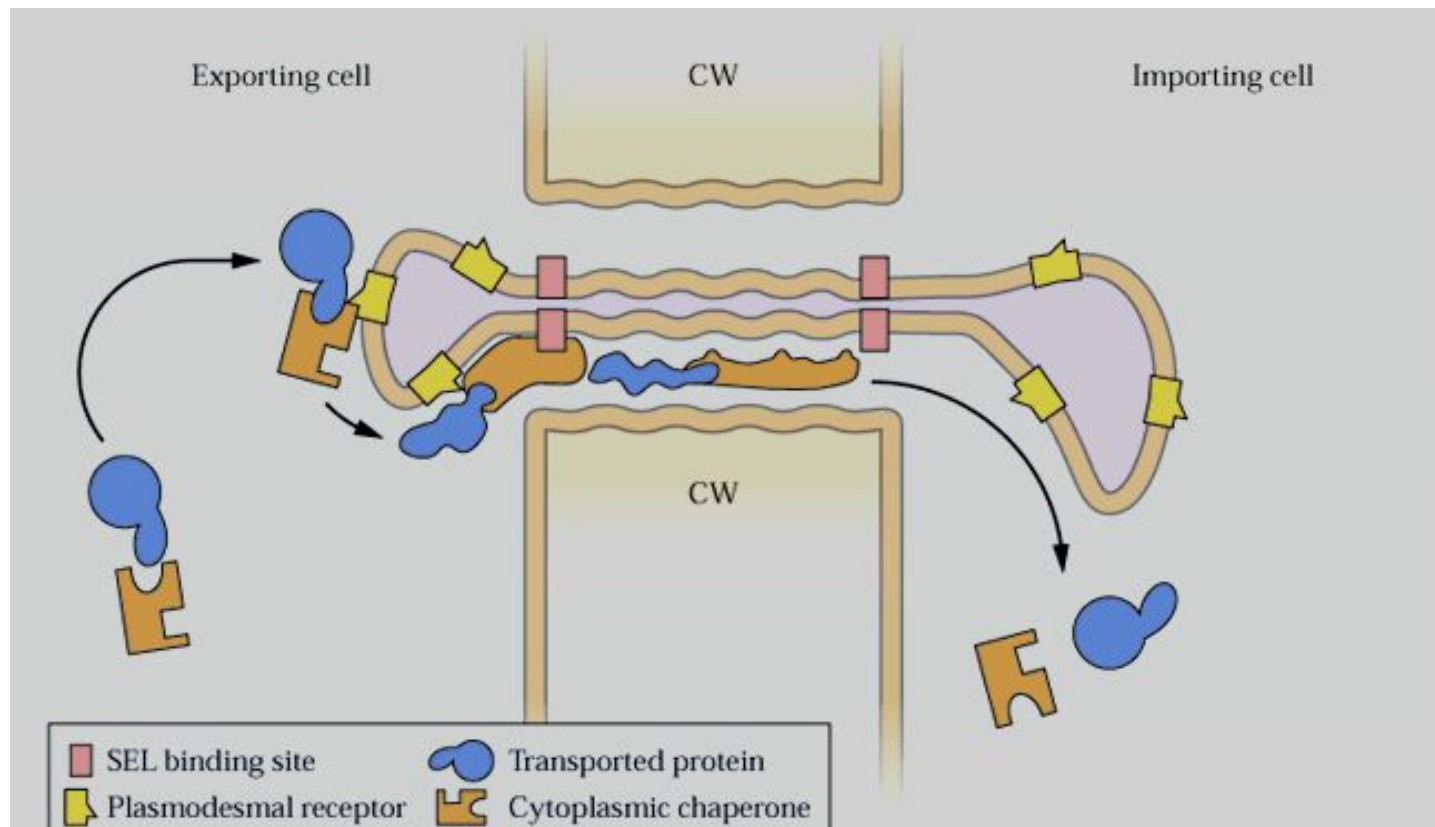
- a) Увеличение SEL 1.0kDa->40kDa
- b) Быстрое распространение белка в соседние клетки

Также KN1 выступает посредником в межклеточном транспорте РНК, но, в отличие от вирусного МР, эндогенный фактор транскрипции успешно взаимодействует только с собственными последовательностями РНК (**sequence specificity**).

мРНК гена *KN1* в апексе кукурузы



Обобщенная модель транспорта больших молекул



Частичное разворачивание необходимо для транслокации белка через плазмодесму

- Cross-linking experiments - препятствие разворачиванию белковой молекулы
- Использовали наночастицы золота различных размеров: 1.4, 6, 15 nm (увеличивают общий размер молекулы) для выяснения механизма транслокации белков через плазмодесмы
- Cross-linking KN1 – не вызывает увеличения SEL и не распространяется в соседние клетки
- Конъюгаты: **KN1-1.4nm gold** – распространяется через плазмодесмы, но с меньшей эффективностью; **KN1-6nm gold** и **KN1-15nm gold** не распространяются и являются ингибиторами при транспорте KN1 wild type
- Микроинъекции проведенные с МР **CMV** (cucumber mosaic virus) дают такие же результаты

①

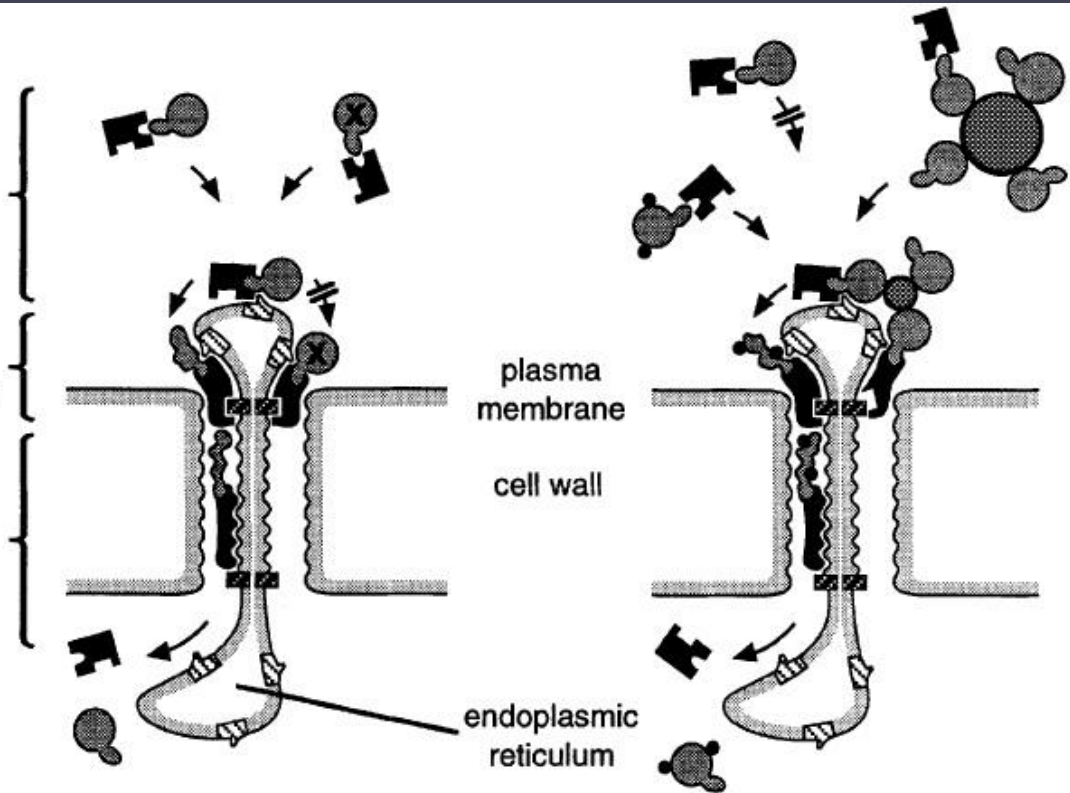
chaperone interaction and binding to the plasmodesmal receptor

②

conformational change and transfer to the SEL binding site

③

protein unfolding, translocation through the dilated microchannel, and release of components



cytoplasmic chaperone



plasmodesmal receptor



SEL binding site



KN1



internally crosslinked KN1



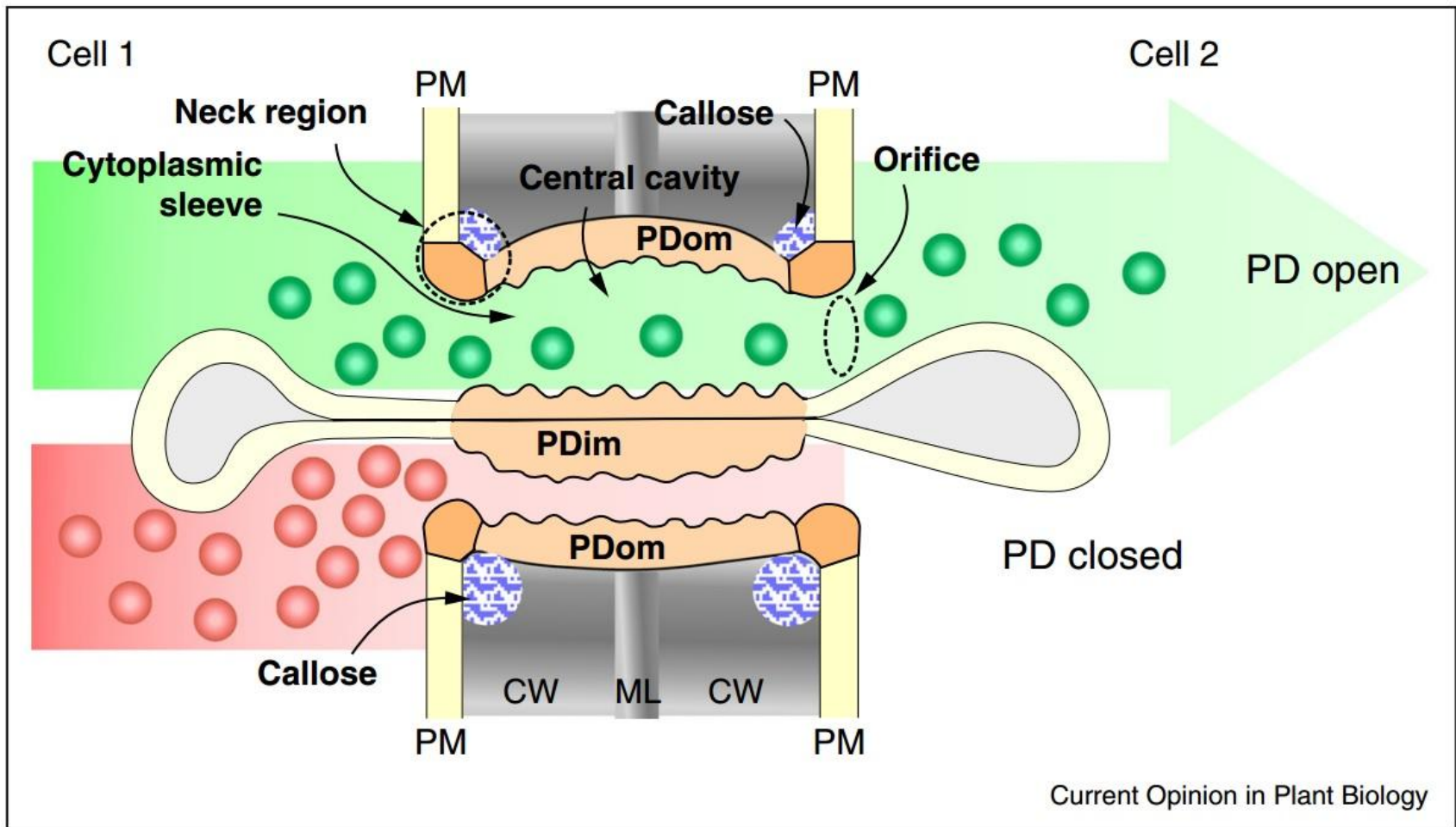
1.4 nm, 6 nm, and 15 nm gold particles



Готовы к худшему!

Биотический стресс → ↑ салицилаты → ↑ транскрипция **PDL5** (**p**lasmo**d**esmata-**l**ocated protein **5**) → накопление PDL5 в области плазмодесм → интенсификация отложения каллозы → ограничение транспорта по симпласту (ограничение очага инфекции)

FLS2 (**F**LAGELLIN **S**ENSING **2**) и **LYM2** – мембранные рецепторы бактериальной инфекции - локализованы в области плазмодесм и обеспечивают ограничение симпластного транспорта в случае инфекции



Каллоза (β 1-3 глюкан) откладывается в области шейки. Содержание каллозы непостоянно и находится в обратной корреляции с пропускной способностью плазмодесм.

Итак...

- Плазмодесмы обеспечивают непрерывность *симпласта*
- Через плазмодесмы идет диффузия ионов и малых молекул
- Через плазмодесмы может идти транспорт белков и НК
- Это могут быть как экзогенные(вирусные) белки/НК (MP, vRNA; такой транспорт лежит в основе распространения вирусов в организме растения)...
- ...так и эндогенные белки (факторы транскрипции KN1 и различные белки флоэмного экссудата PP, RPP13-1) и мРНК растения
- Наличие и особенности функционирования плазмодесм лежат в основе взгляда на растение как на *надклеточный организм*
- Регуляция транспорта по плазмодесмам может лежать в основе разделения симпласта на физиологические домены и «домены развития»

Белки, ассоциированные с плазмодесмами

- С центральной полостью ассоциированы: TMV MP (обеспечивает транспорт vРНК) и At PDL5 (негативный регулятор транспорта).
- При этом TMV MP и At PDL5 конкурируют за центральную область плазмодесм.
- At PDLP1 (негативный регулятор транспорта), Zm CRINKLY4 (функции неизвестны) – ассоциированы с PDom.
- At PDCB1 (PD-callose binding protein 1) увеличивает накопление каллозы и ограничивает пропускную способность плазмодесм
- PdBG2 (β 1-3 glucanase) обеспечивает деградацию каллозы и увеличивает пропускную способность плазмодесм
- Эти белки ассоциированы с шейкой плазмодесм.

Белки, ассоциированные с плазмодесмами

Недавно было показано, что целый ряд неклеточно-автономных сигнальных молекул, включая ARABIDOPSIS CRINKLY₄ (ACR₄), CLAVATA₁ (CLV₁), STRUBBELIG (SUB)/SCRAMBLED (SCM), и QUIRKY (QKY), ассоциированы с плазмодесмами.

CLAVATA₁ – RLK (receptor-like kinase) с LRR (leucine rich repeat) во внеклеточном домене, рецептирует CLE₄₀ (CLAVATA₃/EMBRYO SURROUNDING REGION₄₀), играет ключевую роль в поддержании меристем корня и побега. ACR₄ – RLK без LRR во внеклеточном домене, играет важную роль в пролиферации и дифференциации клеток корня.