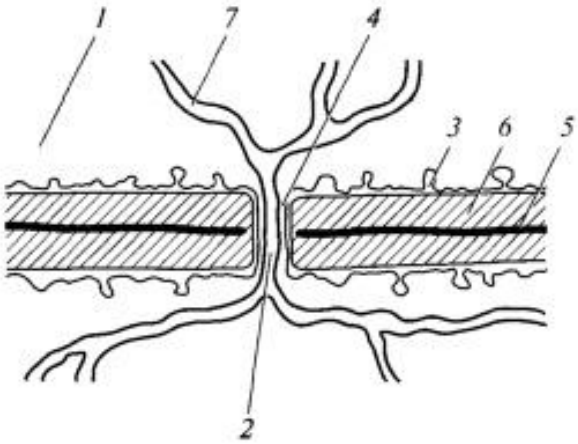
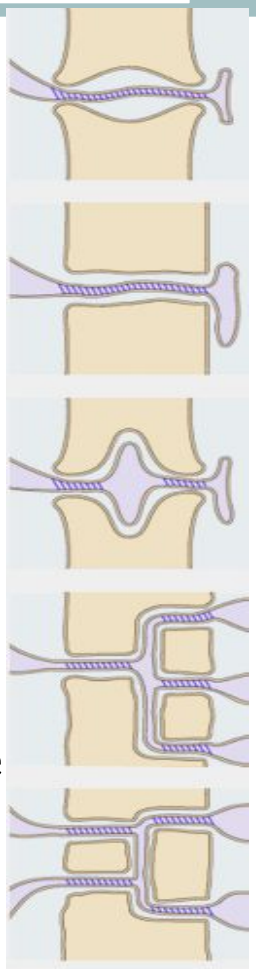
Плазмодесмы

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





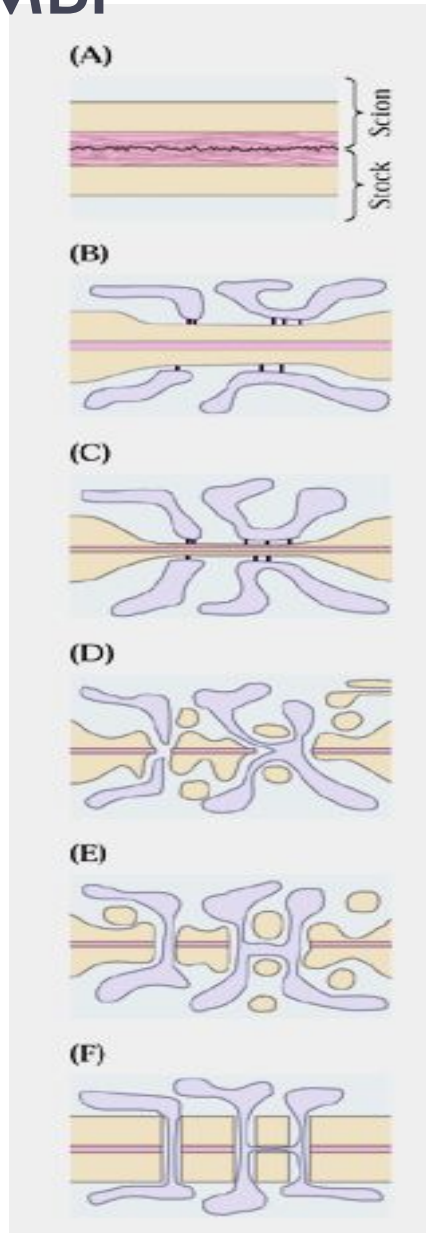
Плазмодесмы – микроскопические каналы, пронизывающие клеточную стенку и обеспечивающие межклеточную коммуникацию.

У кого есть плазмодесмы?
Высшие растения (land plants or embryophytes) + **Водоросли**:
Класс: Charophyceae
Порядки: Charales (**Харовые**), Coleochaetales (**Колеохетовые**)

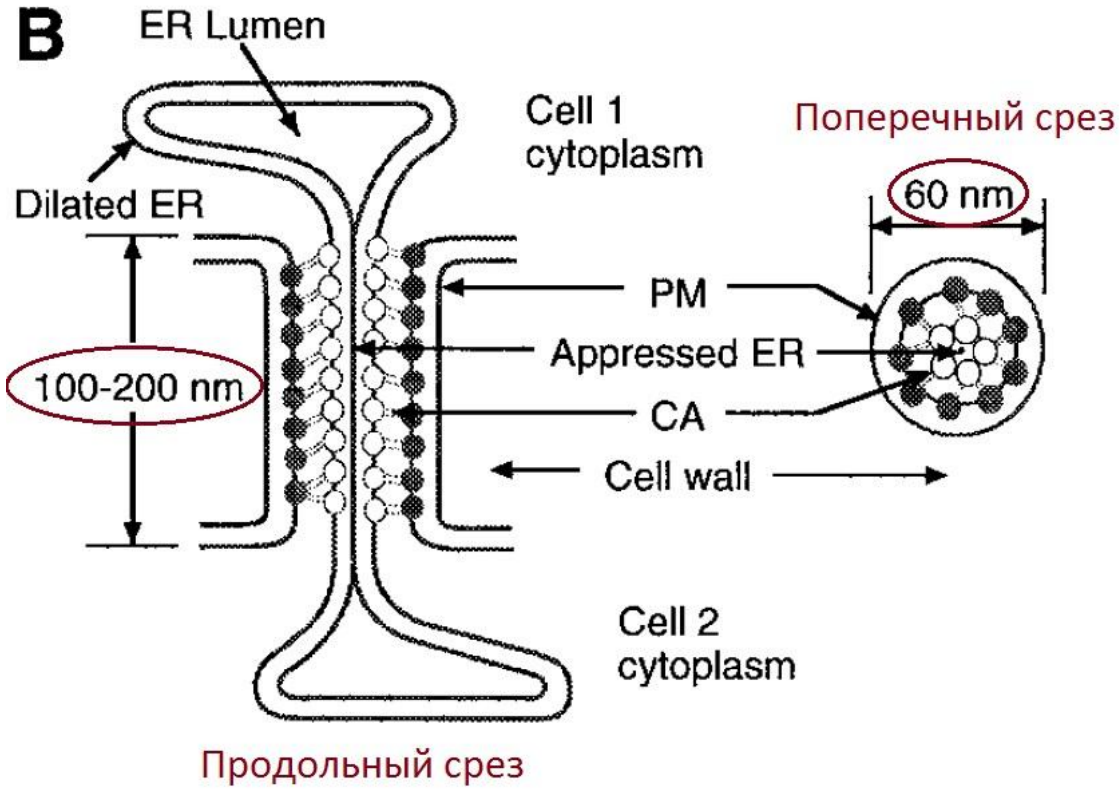
По происхождению плазмодесмы делятся на:

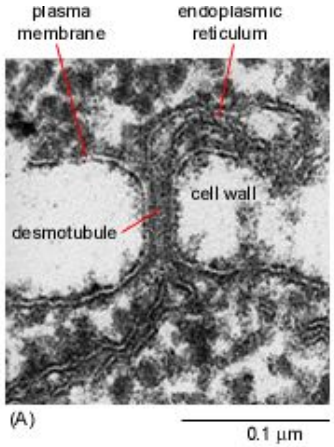
Первичные – формируются между сестринскими клетками, развиваются из канальцев в фрагмопласте во время цитокинеза.

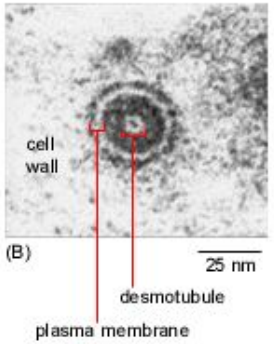
Вторичные – формируются между соседними клетками, развиваются в результате ферментативной деградации материала клеточной стенки, срединной пластинки, слияния плазмалеммы соседних клеток и развития десмотрубочки в цитоплазматическом канале плазмодесмы.



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)

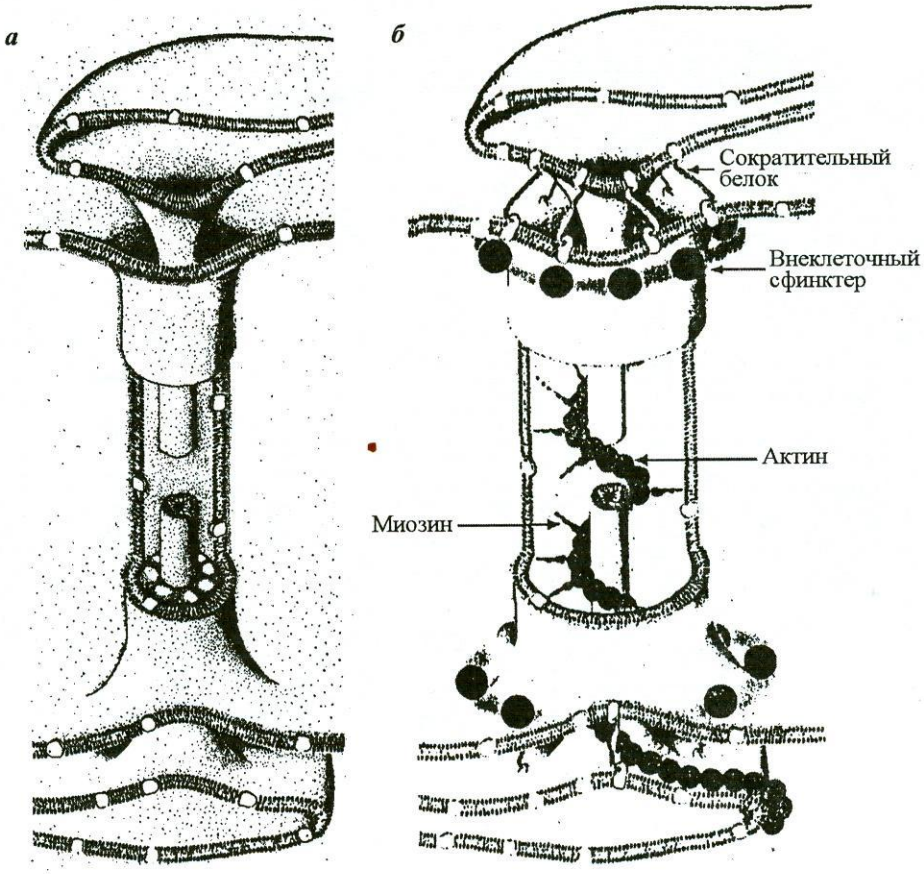
Характеристики плазмодесм

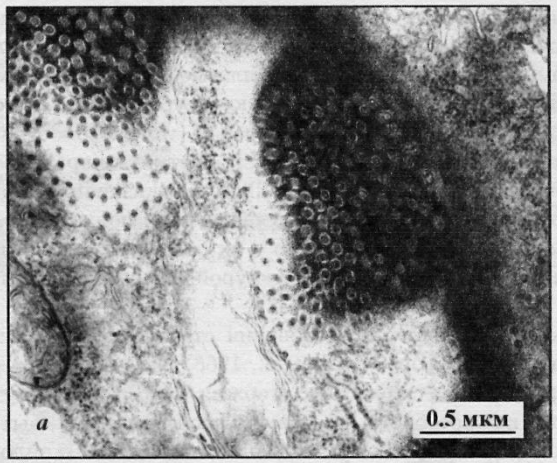
- Плотность (= N плазмодесм / S поверхности КС)
- Пространственное распределение плазмодесм на поверхности клетки (в ткани / органе) растения

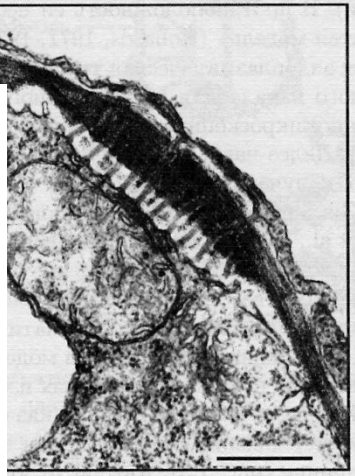
- Показатели наличия и интенсивности транспортных межклеточных потоков, используются во многих физиологических исследованиях (напр.: загрузка/разгрузка ассимилятов в системе дальнего транспорта, поглощение и транспорт по растению элементов минерального питания)

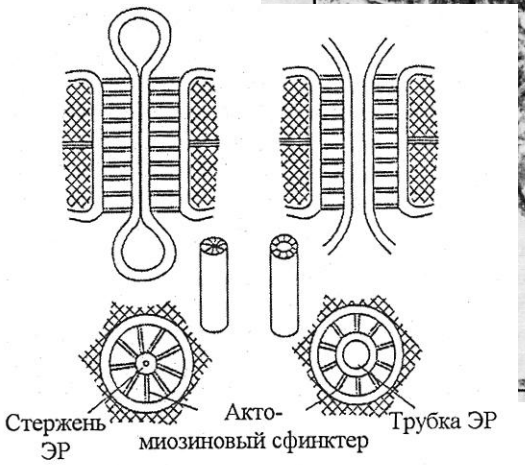
- SEL (size exclusion limit, kDa) – максимальная масса молекул, способных проникать через плазмодесму - не является постоянной величиной: 700 -1000 Da ~ 1.5 - 2.0 nm.

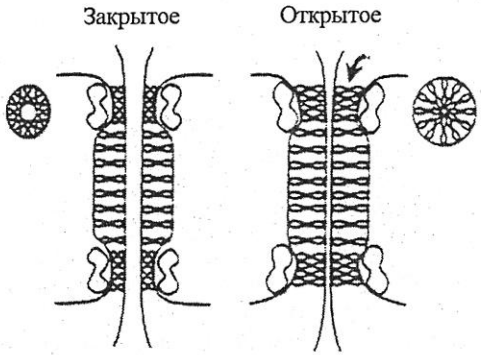
Структура и работа плазмодесм



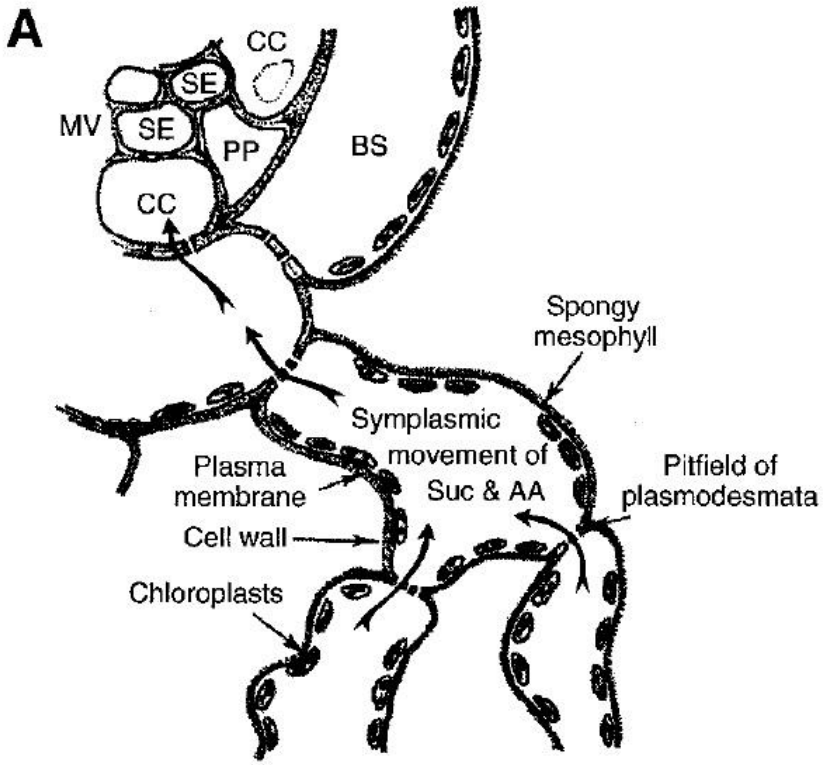






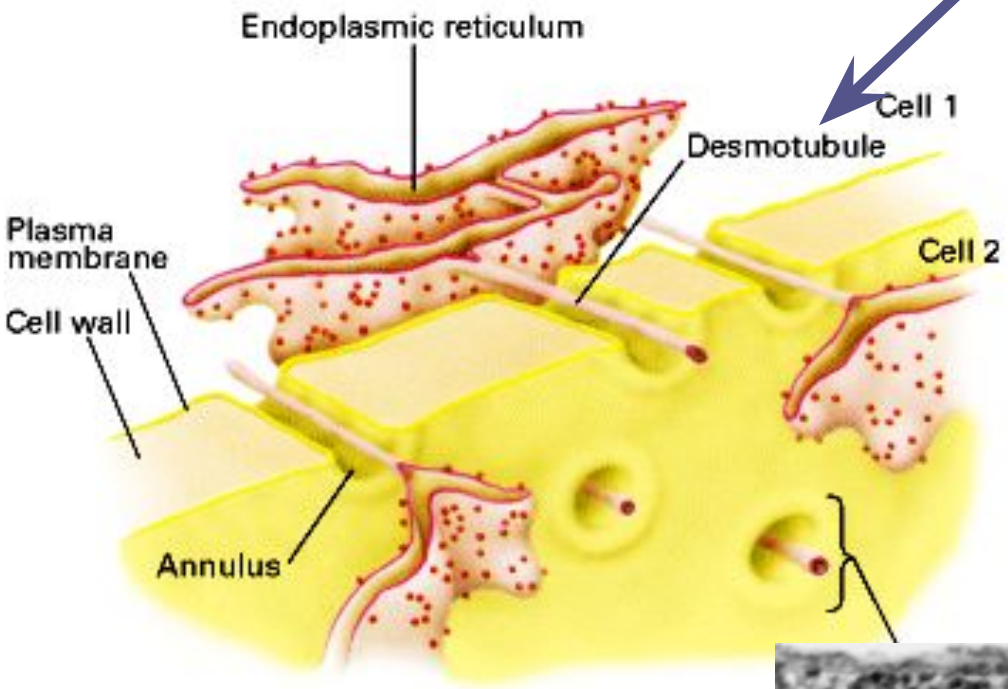


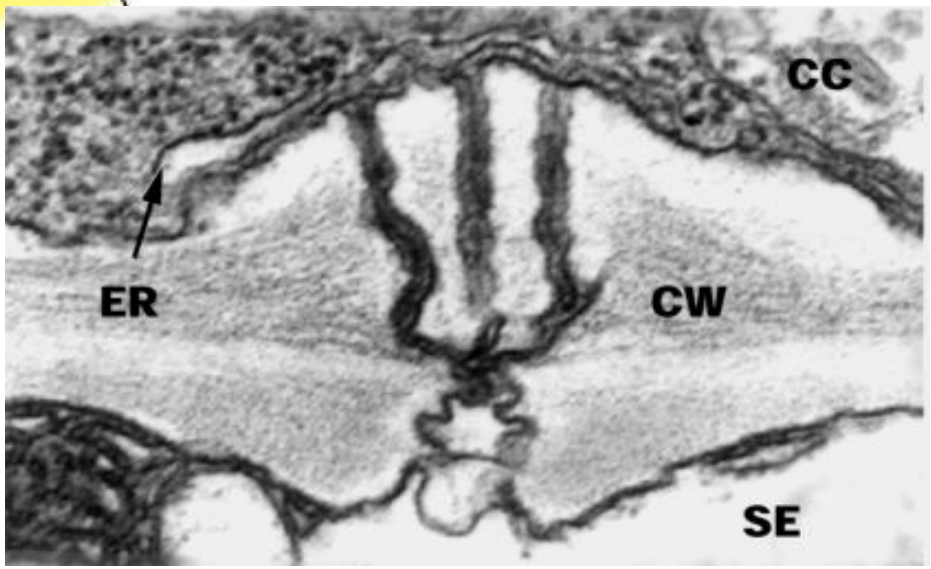
Надклеточная организация тела высших растений («supracellular organisms»)



- 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


Endoplasmic reticulum
Cell 1
Desmotubule
Plasma membrane
Cell wall
Cell 2
Annulus


CC
ER
CW
SE

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.

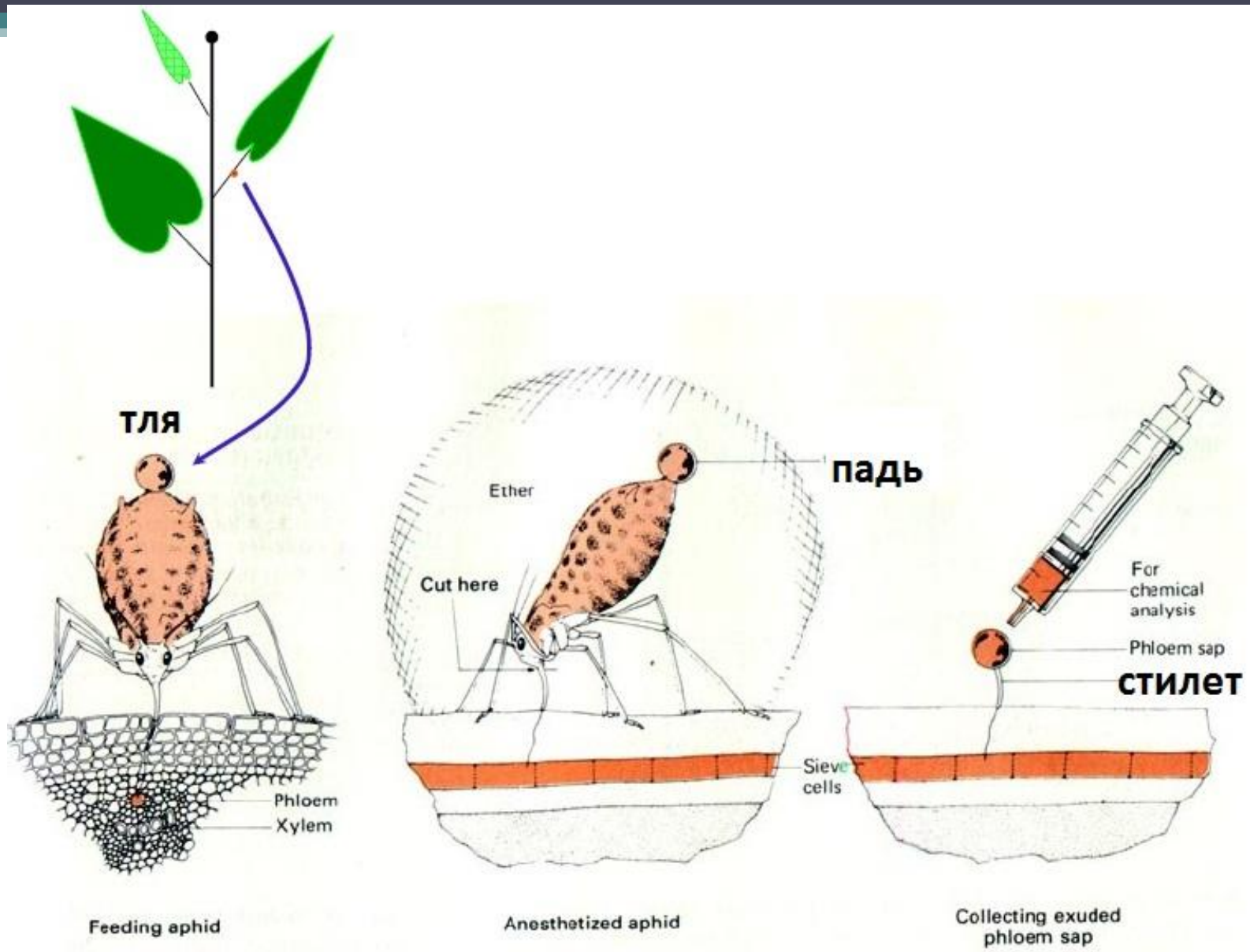
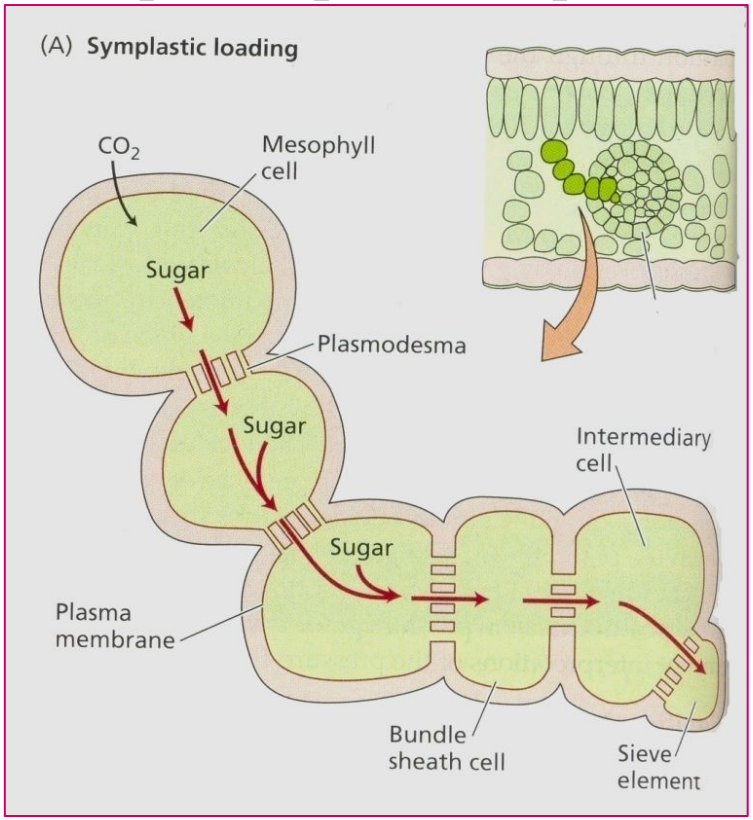


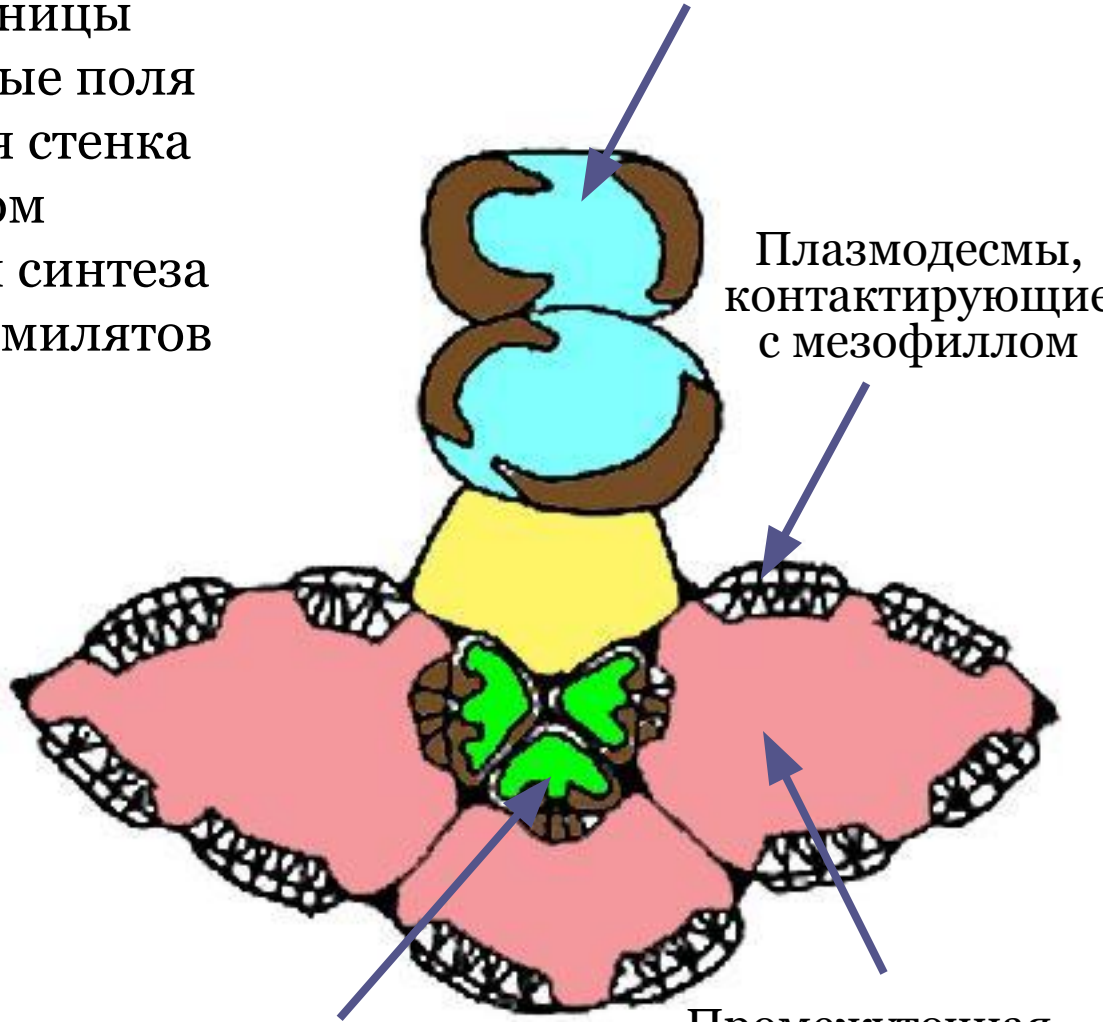
Figure 5-15 harvest phloem sap

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





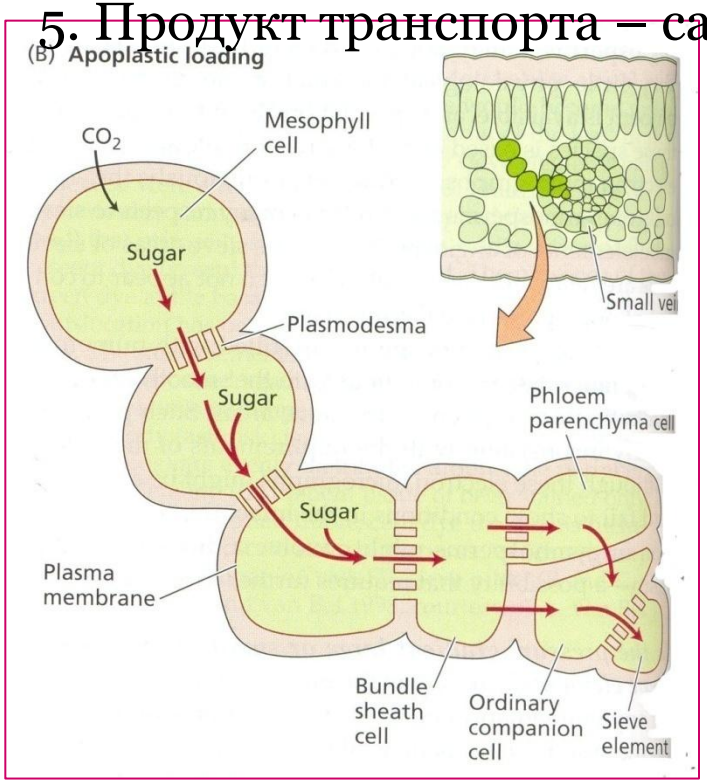
Апопластическая загрузка флоэмы

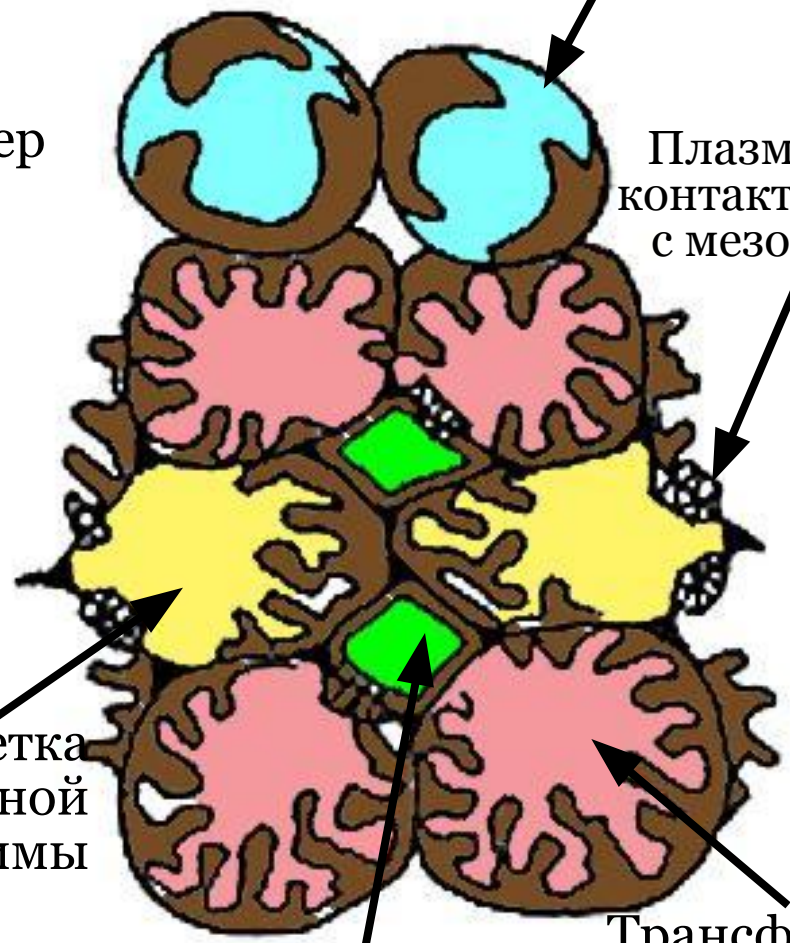
Трансферная клетка-спутница:

1. Единичные плазмодесмы
2. Толстая складчатая клеточная стенка
3. Развитый единый хондриом
4. Сахарозно-протонный симпортер +

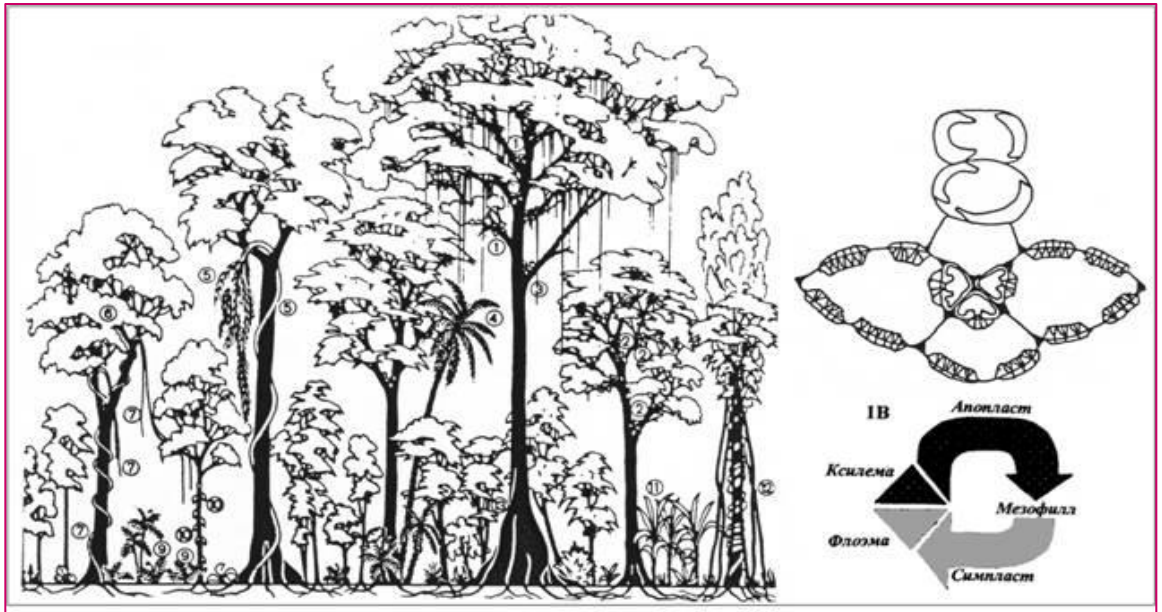
H^+-АТФаза на мембране (pH > 7)

5. Продукт транспорта – сахароза





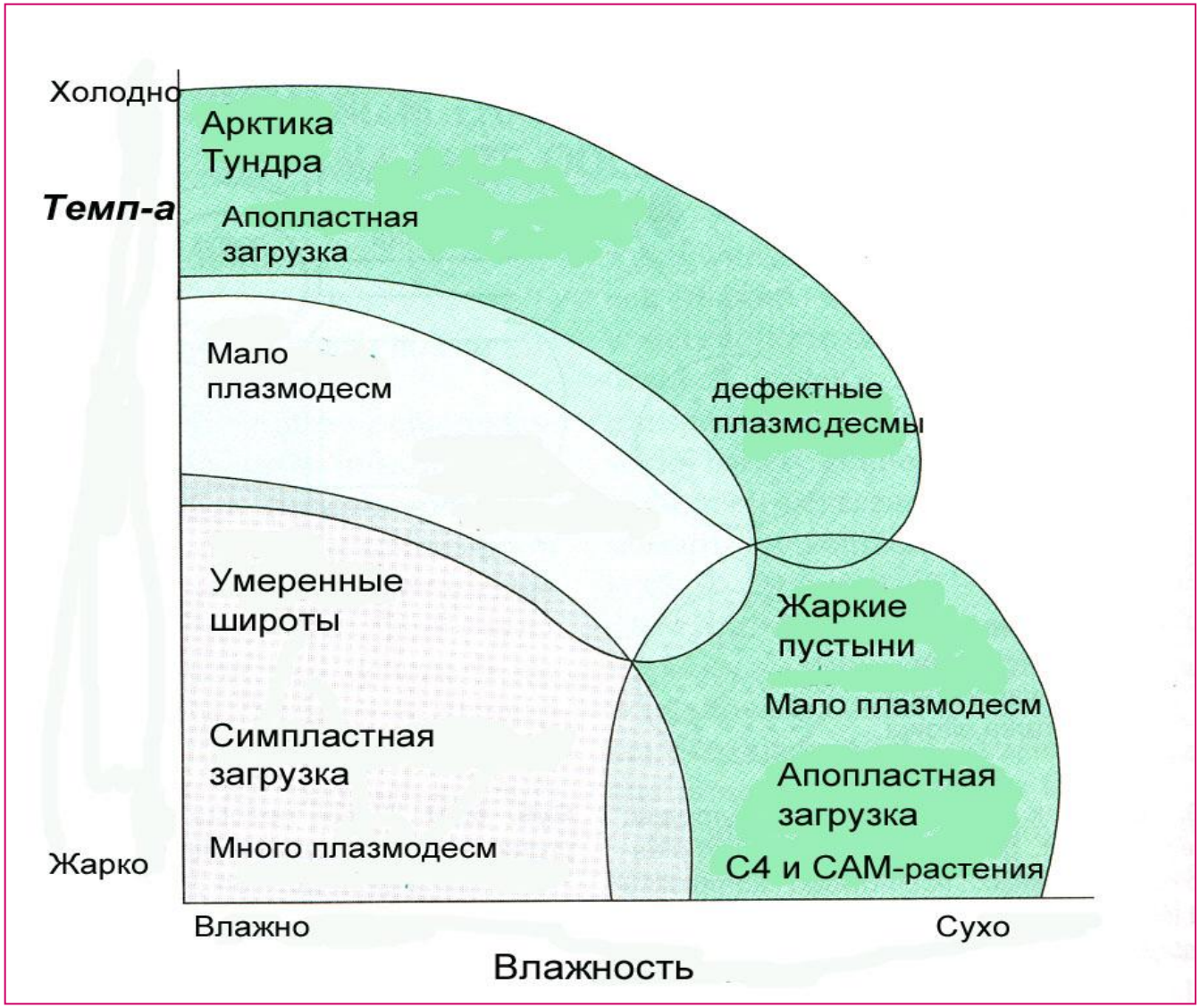
Способы загрузки флоэмы как элемент адаптации



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:

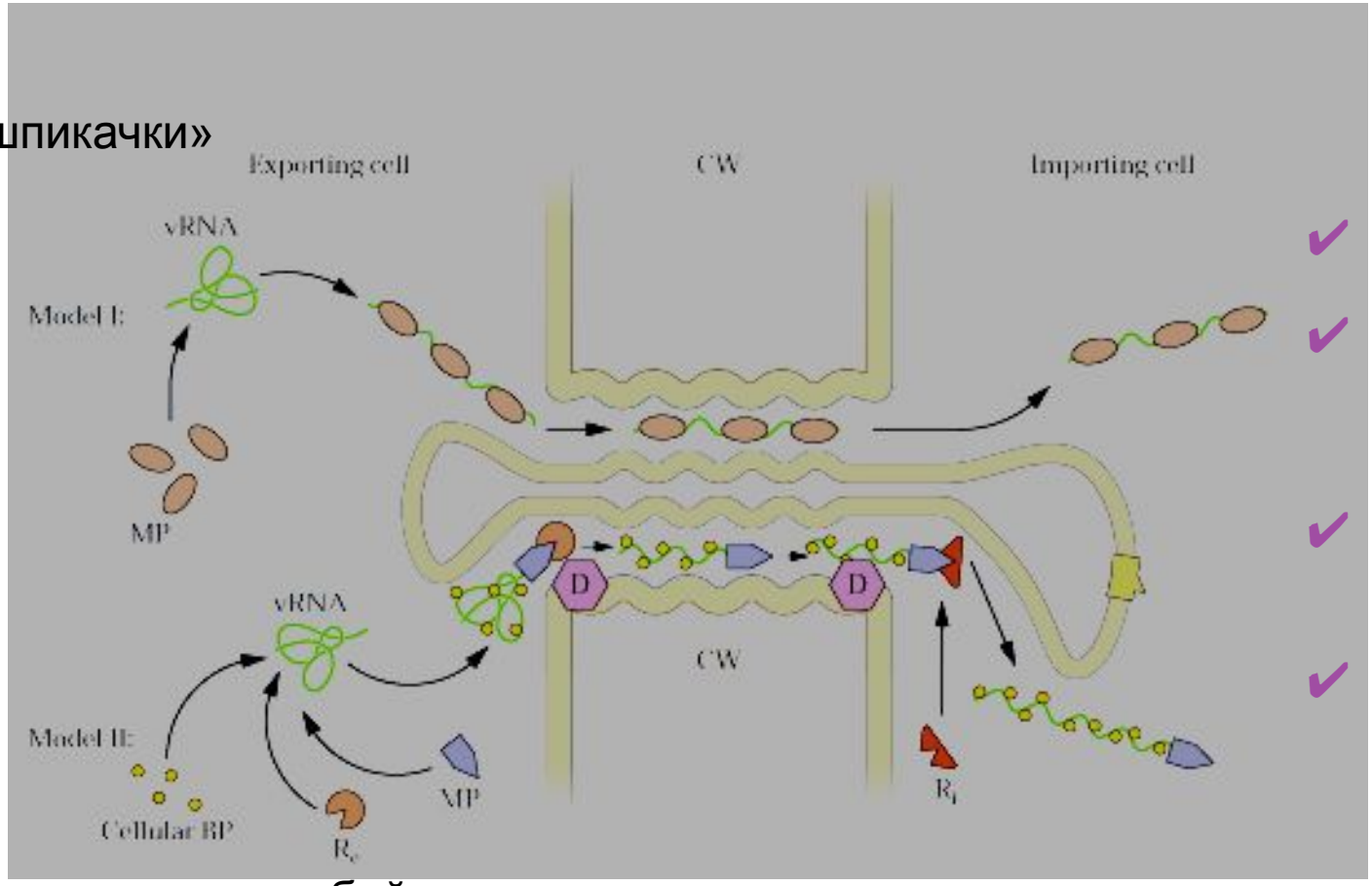
- происходит увеличение SEL: 1kDa -> более 20kDa (не более 50kDa)
- происходит распространение белка в соседнюю клетку
- становится возможным межклеточный транспорт инфицирующих транскриптов вируса (РНК)

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

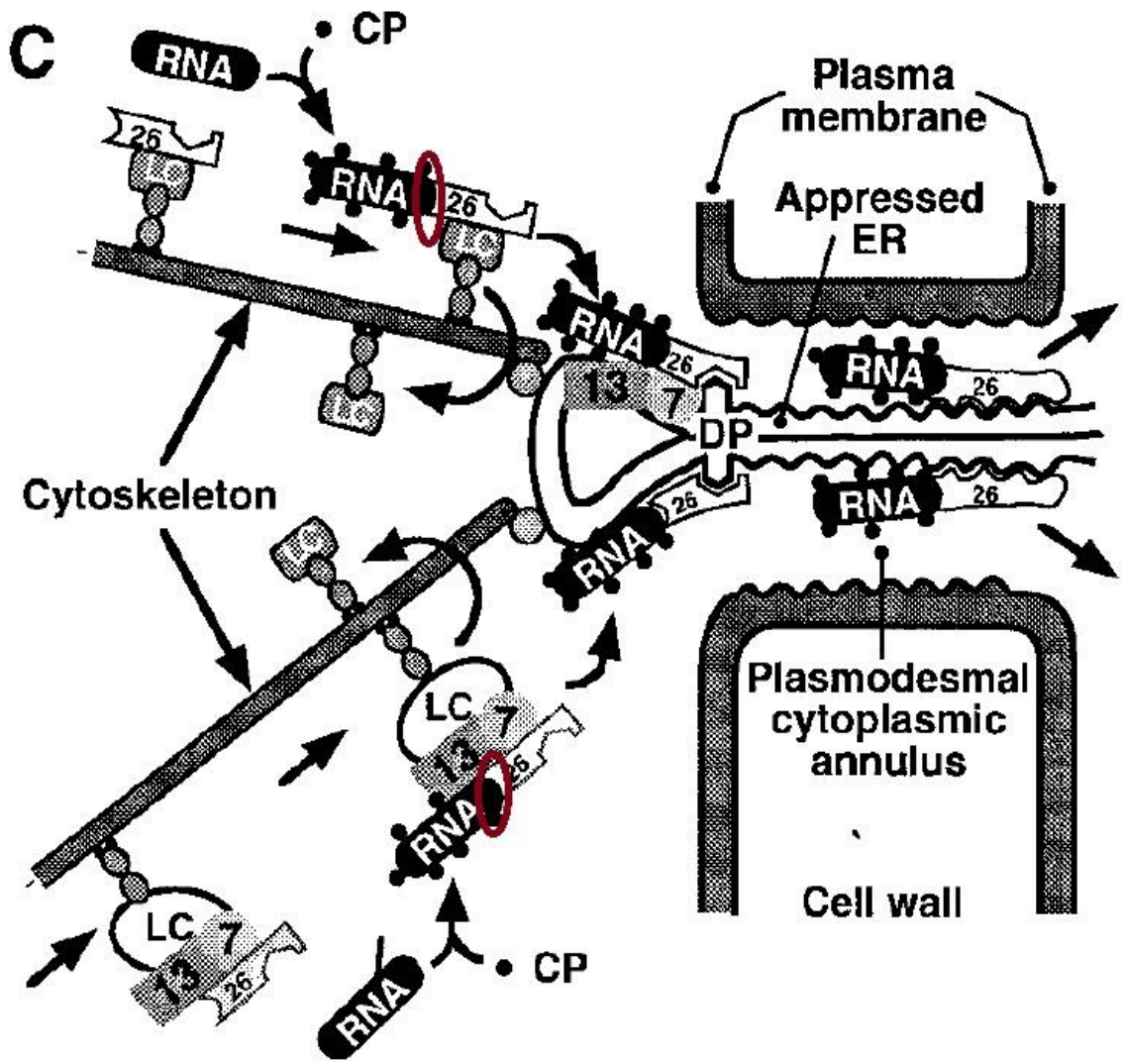
«шпикачки»



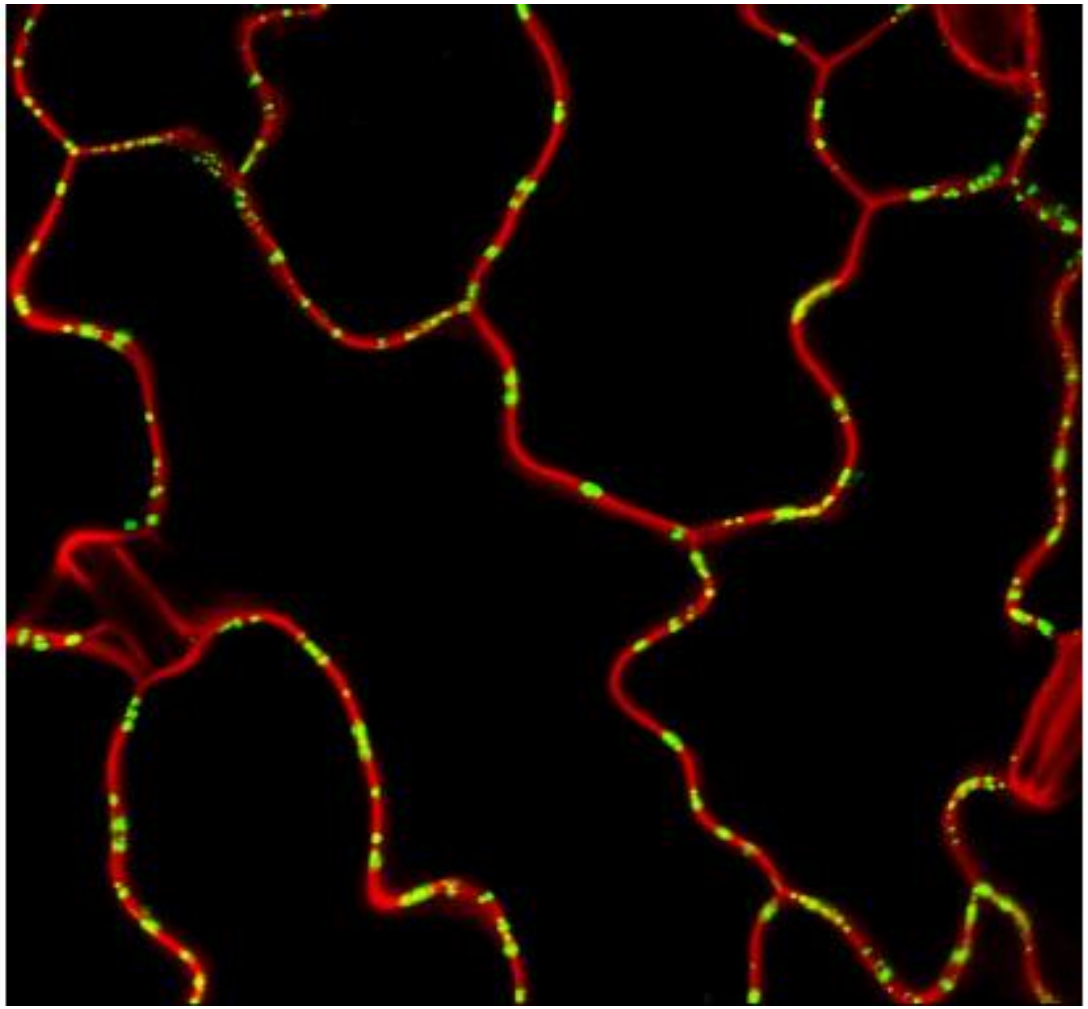
«селедка под шубой»

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

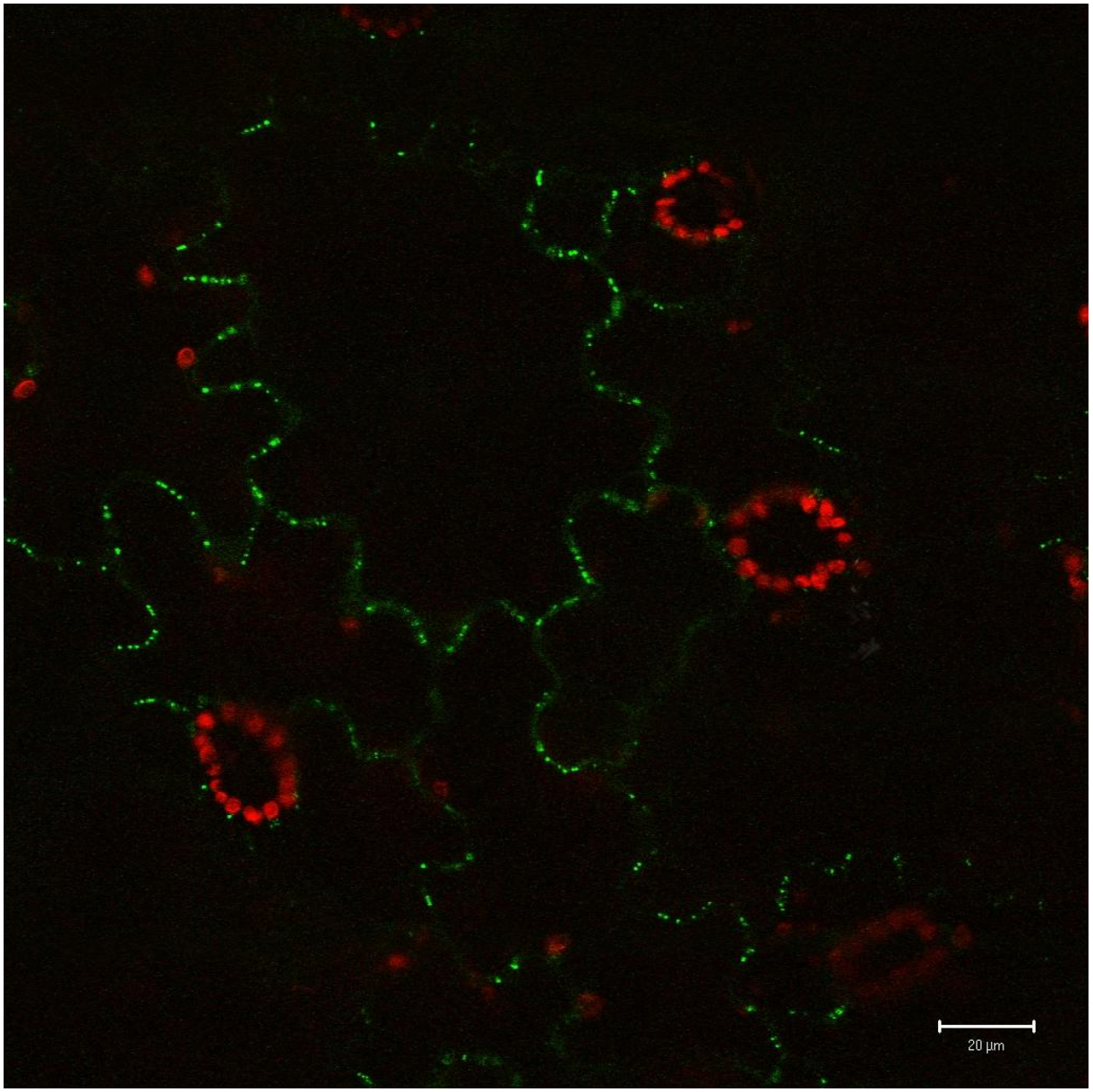
Модель распространения инфекции клевера white clover mosaic virus - WClMV



- LC – linker complex (кодируется растением)
- 26 – virus MP 26kDa
- 13 7 – 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 MP30-GFP.
- Видна локализация в плазмодесмах

Транспорт собственных белков: KN1 (KNOTTED1)

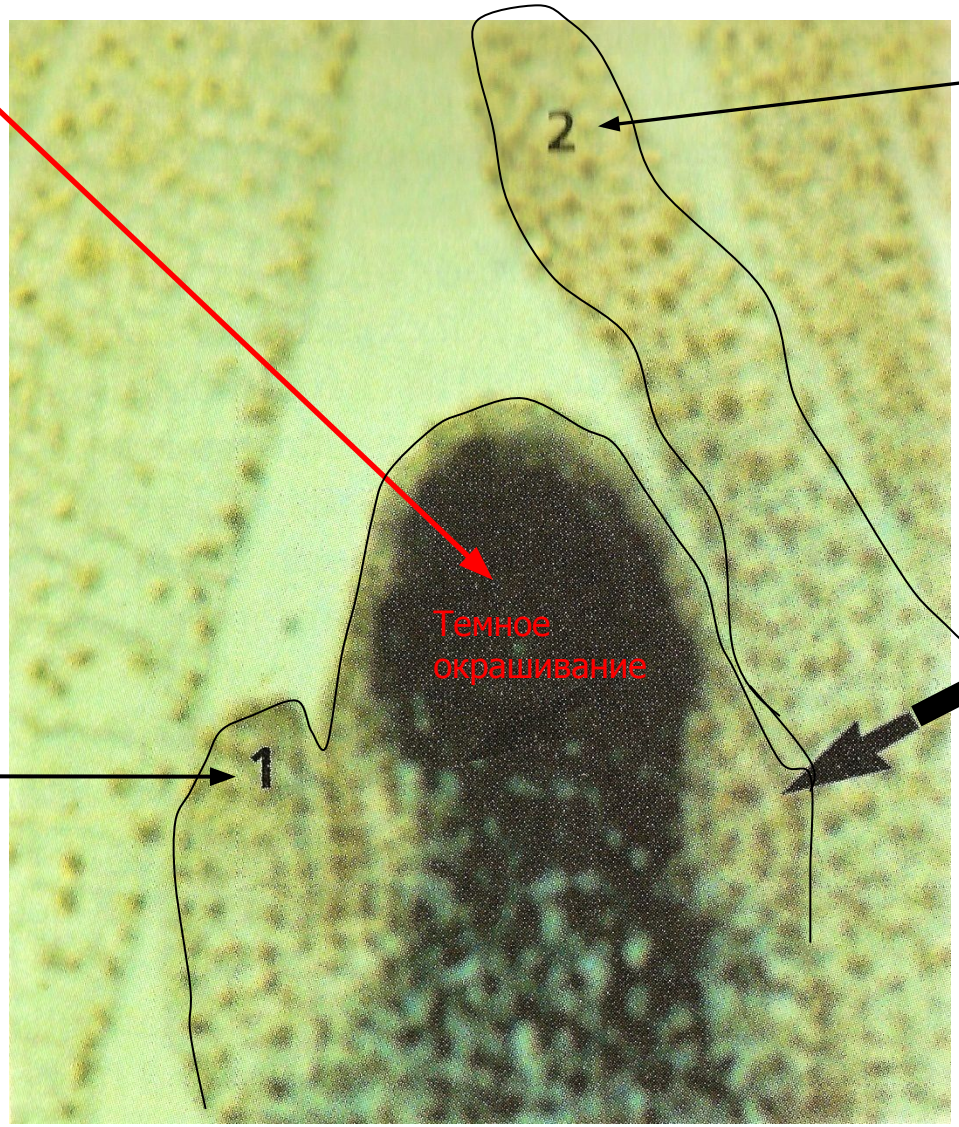
– фактор транскрипции, индуцирует дифференцировку клеток

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

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

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

мРНК гена *KN1* в апексе кукурузы

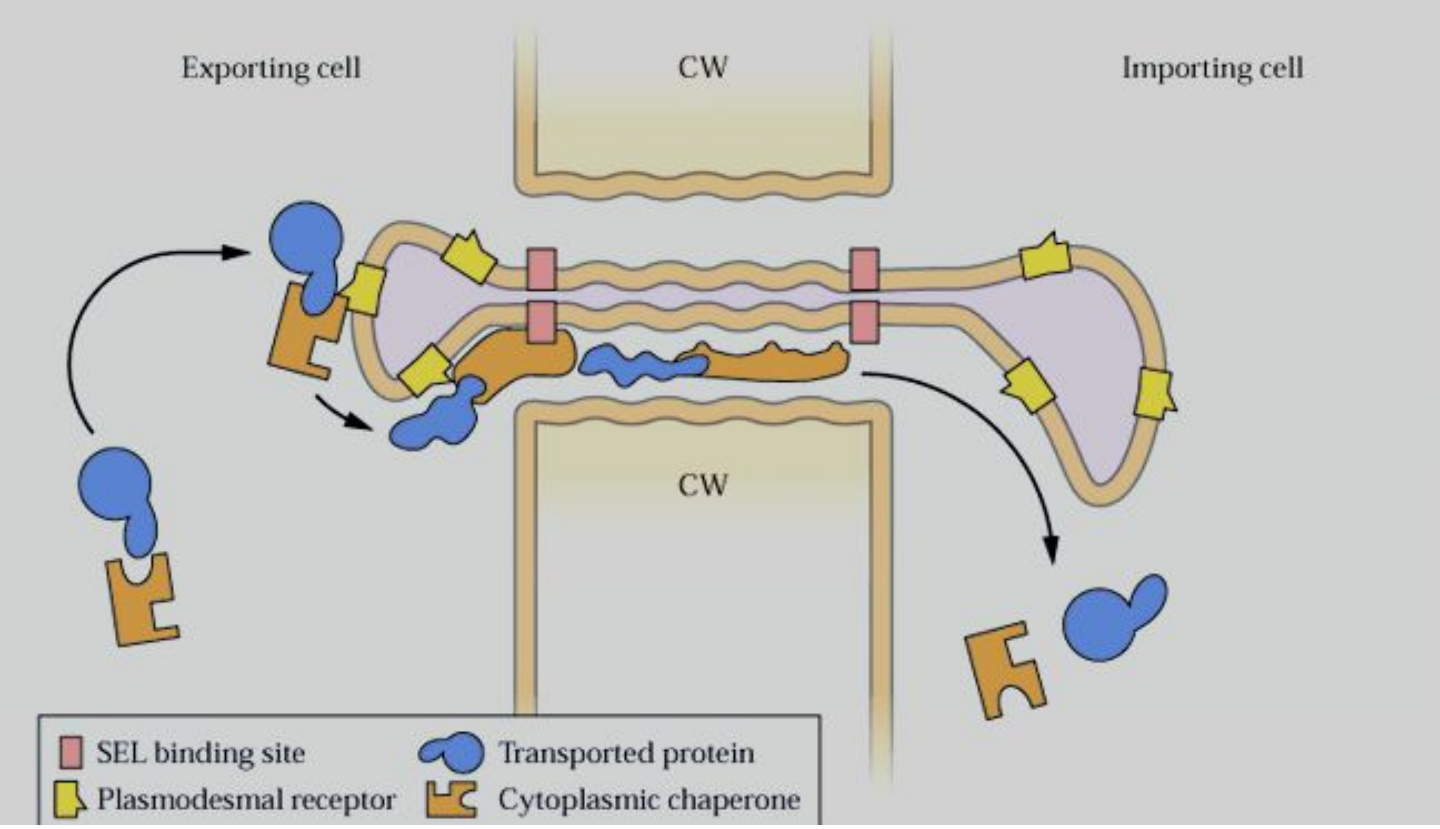


Листовой примордий 2

Новый листовой примордий

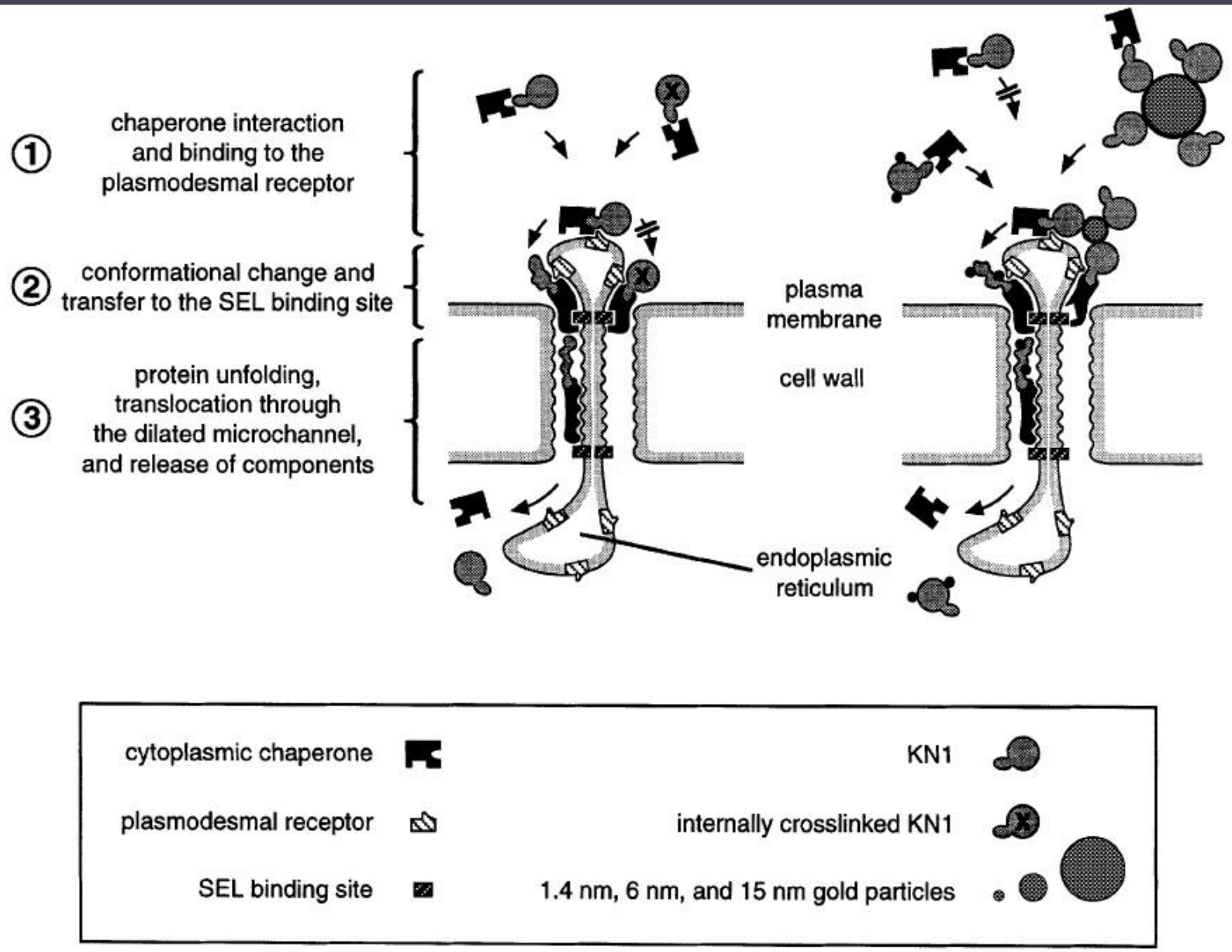
Листовой примордий 1

Обобщенная модель транспорта больших молекул



Частичное разворачивание необходимо для транслокации белка через плазмодесму

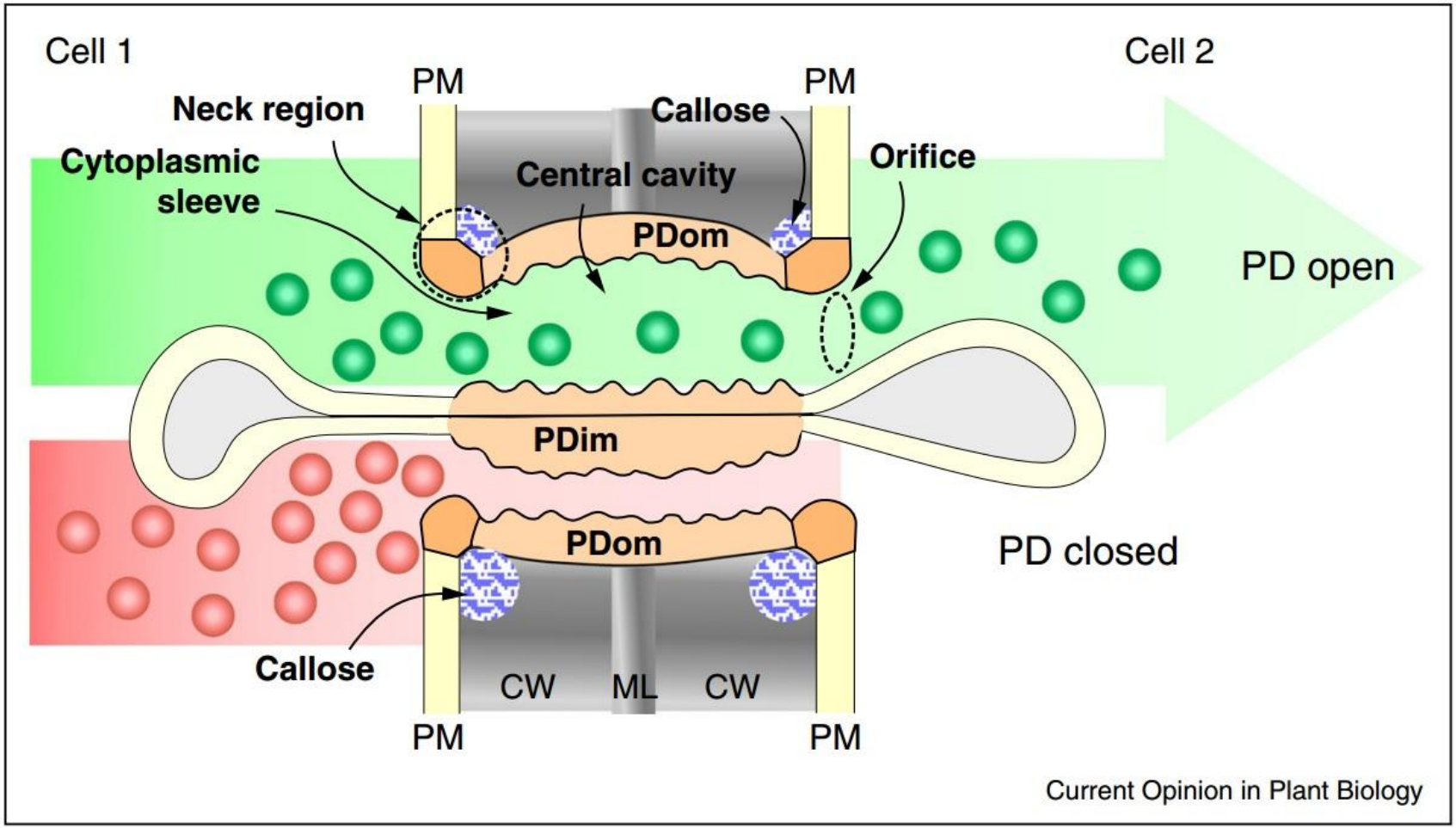
- Cross-linking experiments - препятствие разворачиванию белковой молекулы
- Использовали наночастицы золота различных размеров: 1.4, 6, 15 nm (увеличивают общий размер молекулы) для выяснения механизма транслокации белков через плазмодесмы
- Cross-linking KN1 – не вызывает увеличения SEL и не распространяется 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 MP 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
plasma membrane
cell wall
endoplasmic reticulum
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 (FLAGELLIN SENSING 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.

CLAVATA 1 – RLK (receptor-like kinase) с LRR (leucine rich reapeat) 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.