Биомеханика в морфогенезе растений

Лабунская Е.А., старший преподаватель каф. физиологии растений биологического факультета МГУ

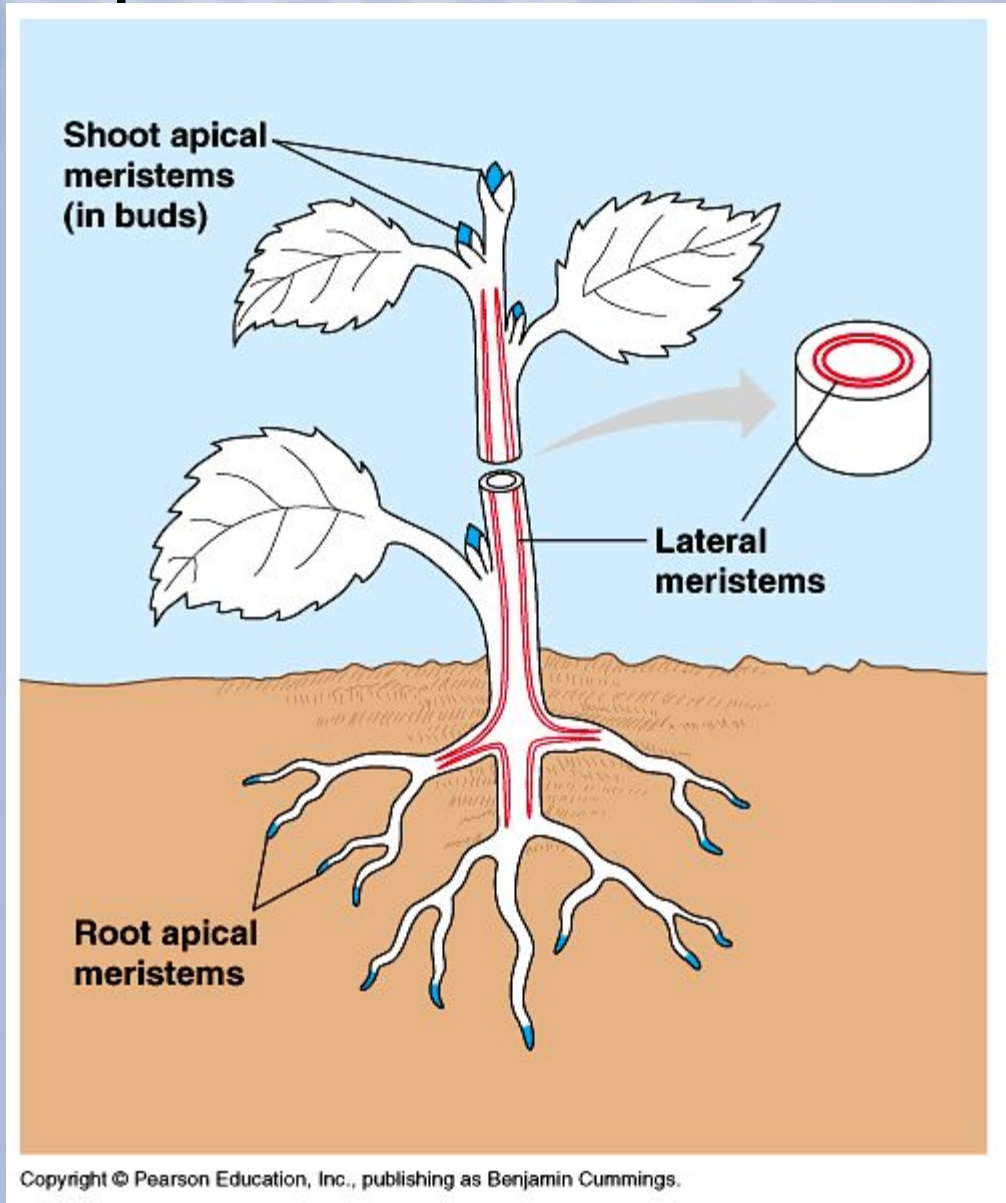
Модульное строение побега и корня растений

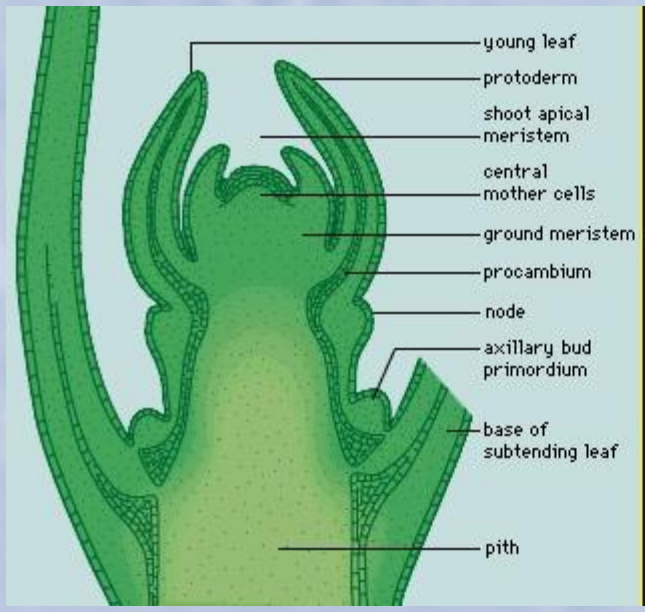
Особенности морфогенеза растений

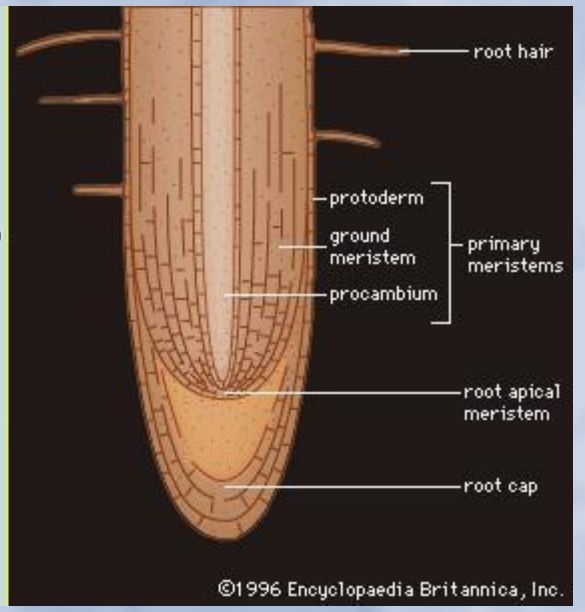
1. **Морфогенез идет на всем протяжении жизненного цикла**
2. **Отсутствие жесткой генетической и функциональной детерминации клеток (тотипотентность)**

Лутова и др., 2010

Меристемы – очаги «стволовых клеток» растений







Побеговая апикальная меристема

Биомеханика растительного морфогенеза

Сила упругости

- Сила упругости – сила, возникающая при деформации тела и направленная противоположно направлению смещения частиц при **деформации**

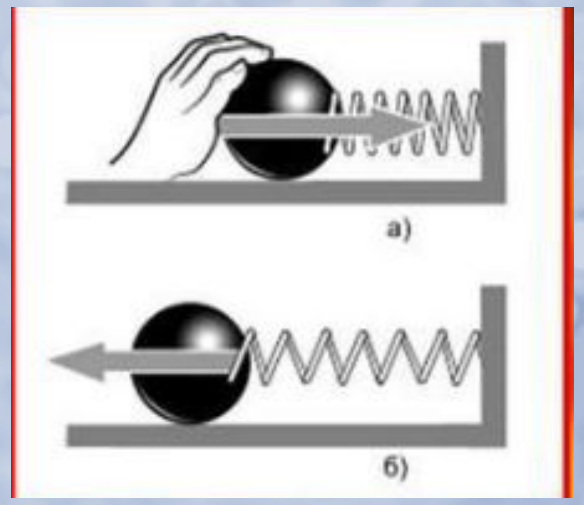
сжатия

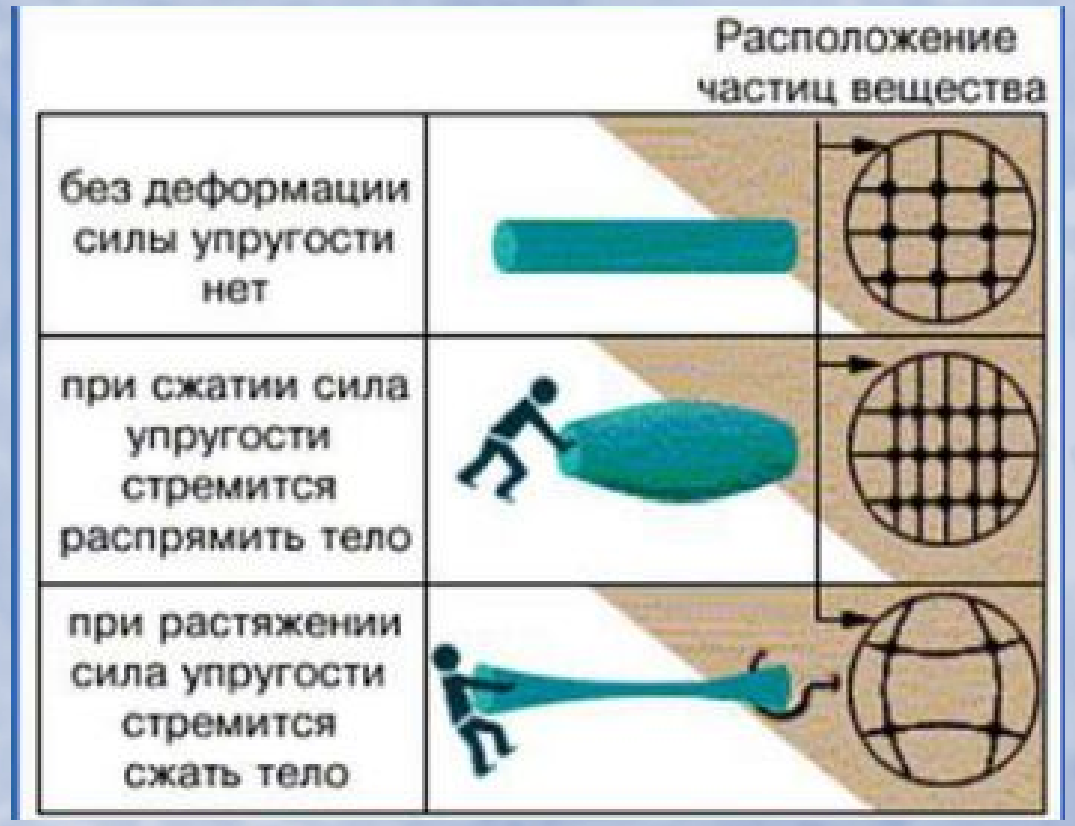
сдвига

растяжения

изгиба

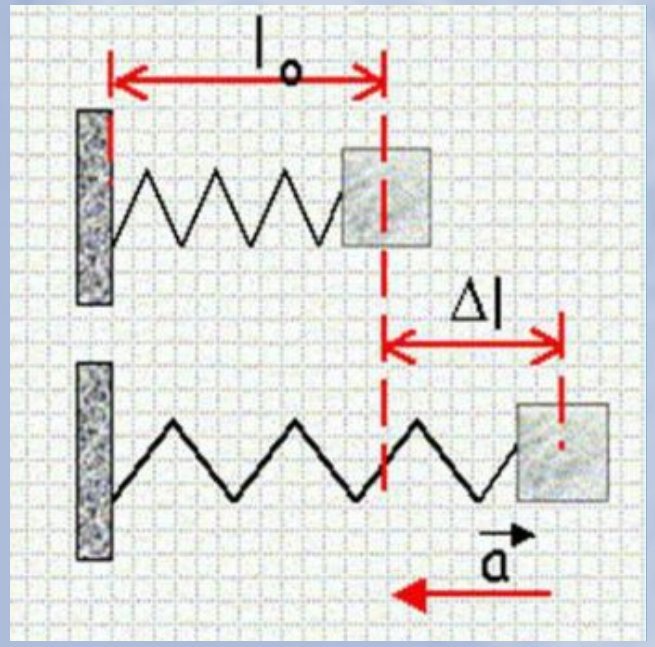
кручения

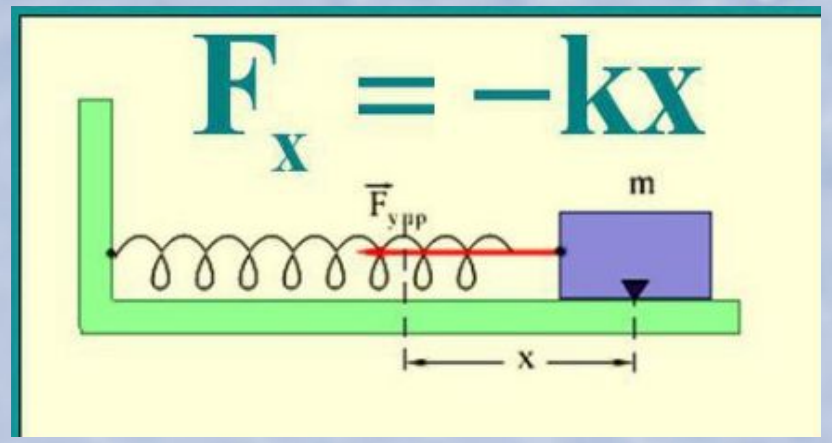




От чего зависит сила упругости?

Закон Гука





Δl – абсолютное растяжение или сжатие.

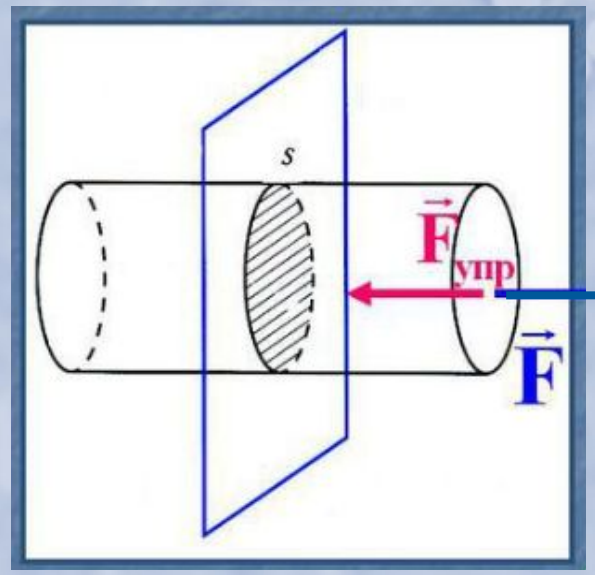
F прямо пропорциональна Δl

k – коэффициент жесткости

Относительное удлинение (сжатие):

$$\varepsilon = \frac{|\Delta l|}{l_0}$$

Механическое напряжение:



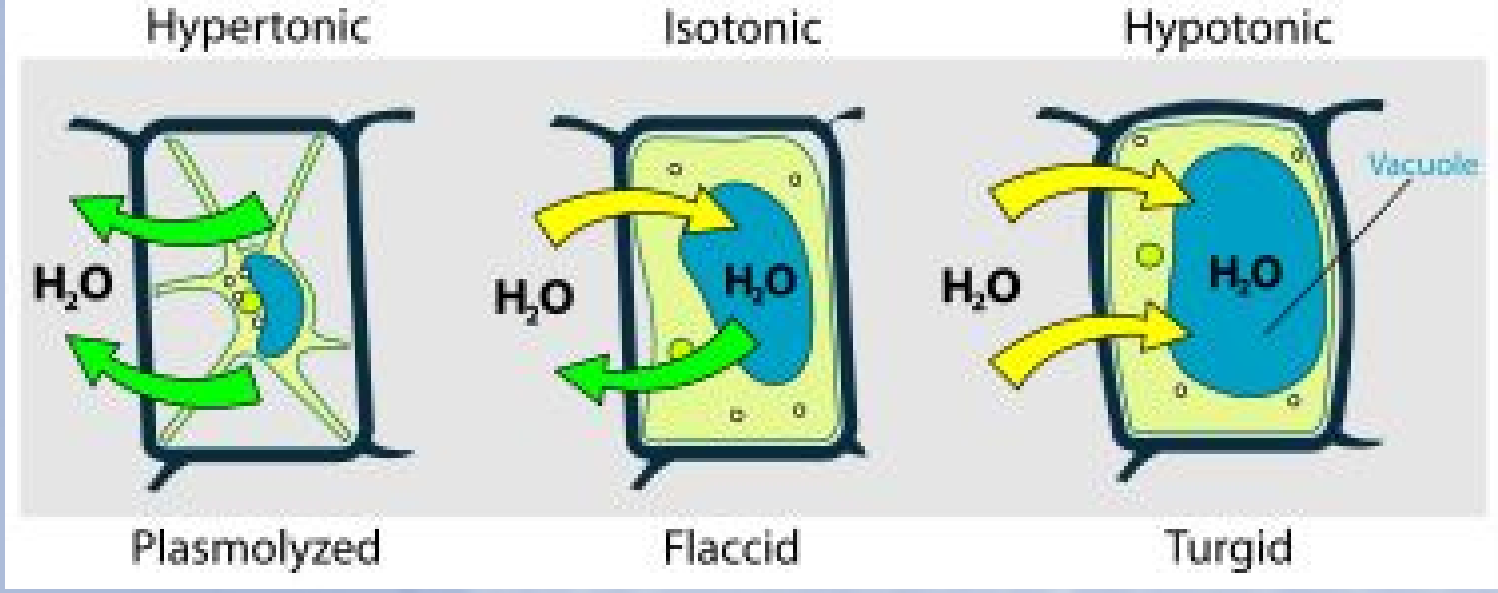
$$\sigma = \frac{F_{упр}}{S}$$

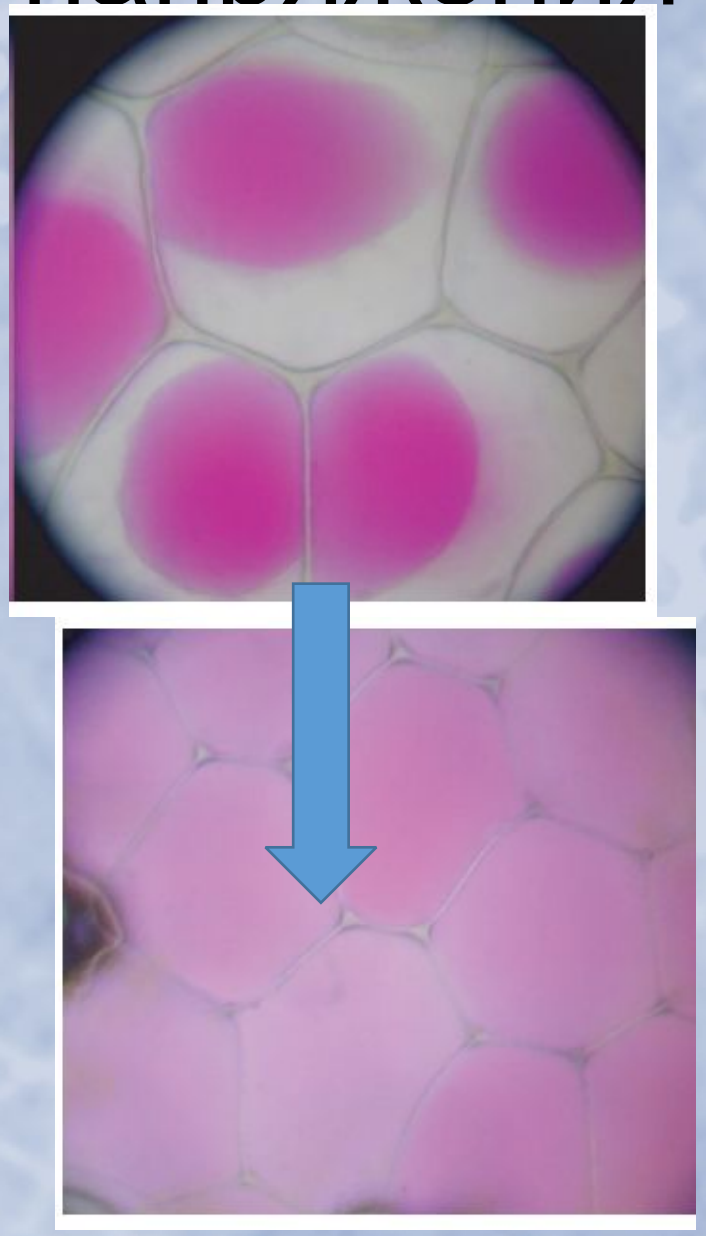
$$\sigma = E\varepsilon$$

Модуль Юнга

Механическое напряжение – сила упругости, действующая на единицу площади

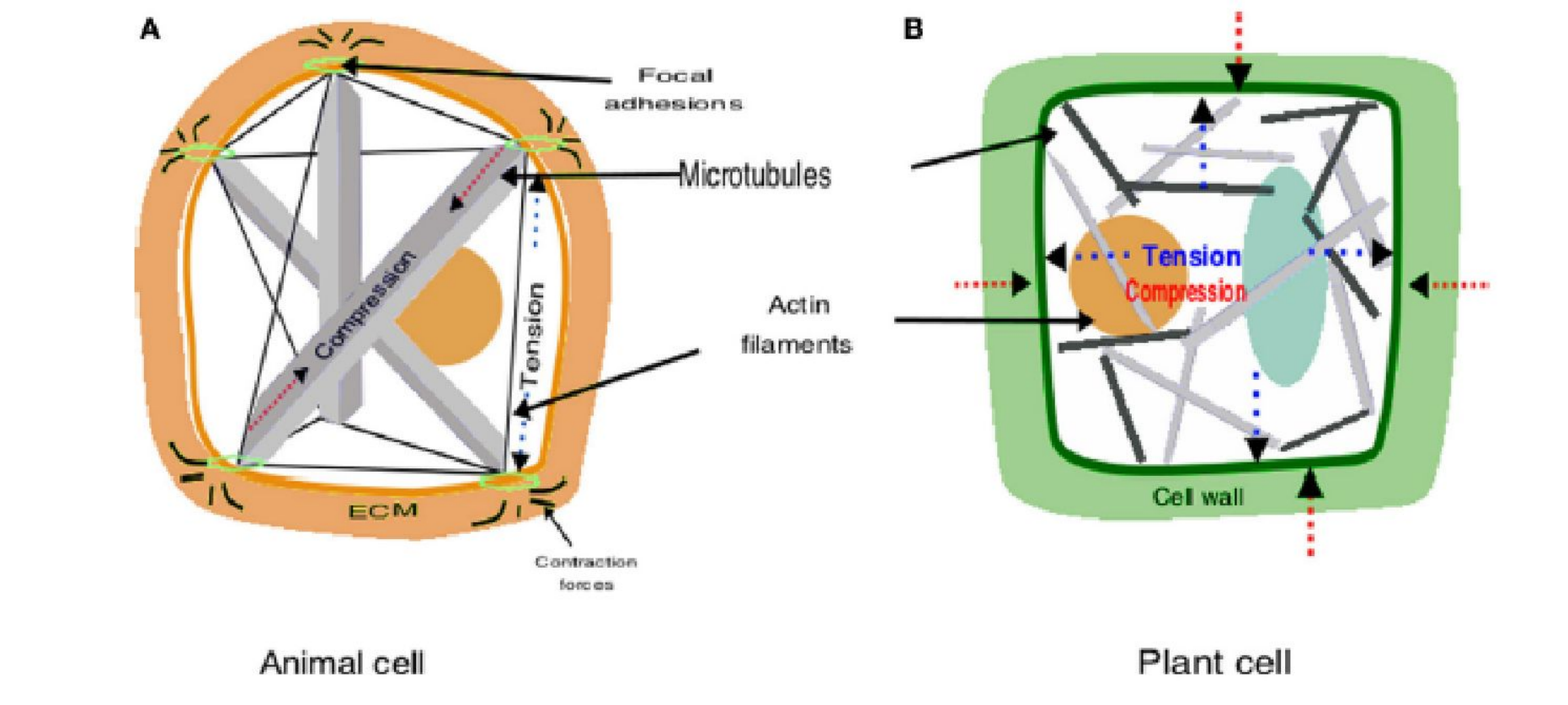
Откуда берутся механические напряжения в растительных тканях?





1. Тургорное давление клеток
2. Сжатие или растяжение слоев клеток при **росте**

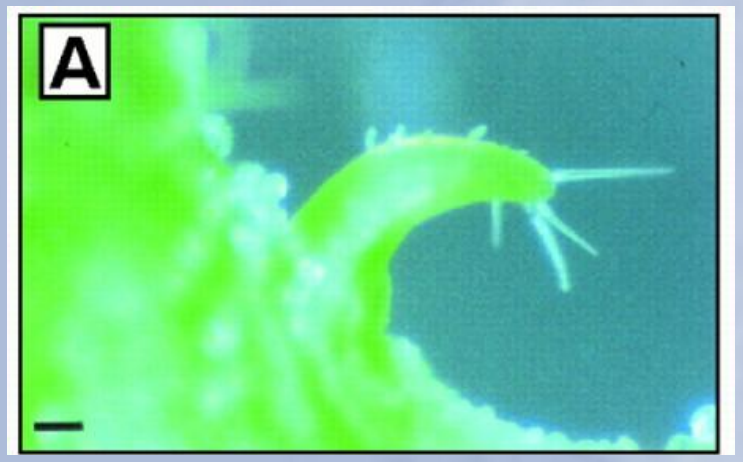
Механические напряжения в животных и растительных клетках

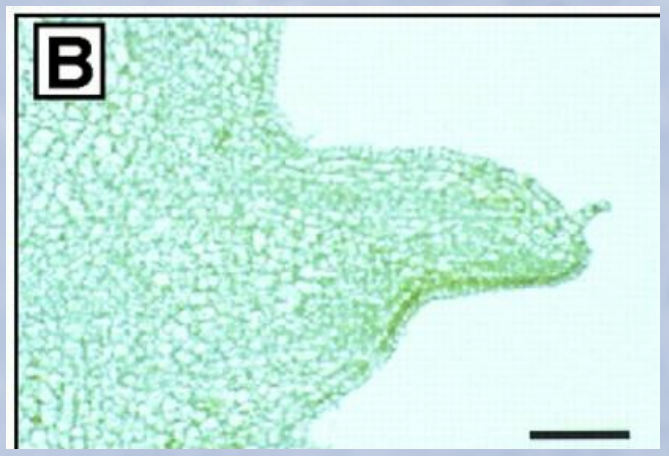


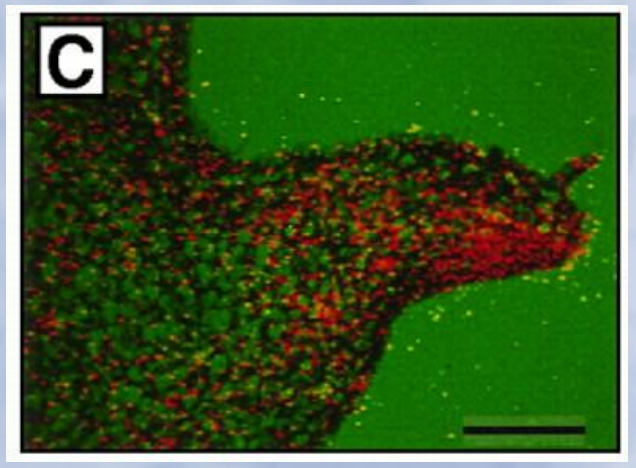
Hernández-Hernández *et al.*, 2014

Рост

Деления + растяжения







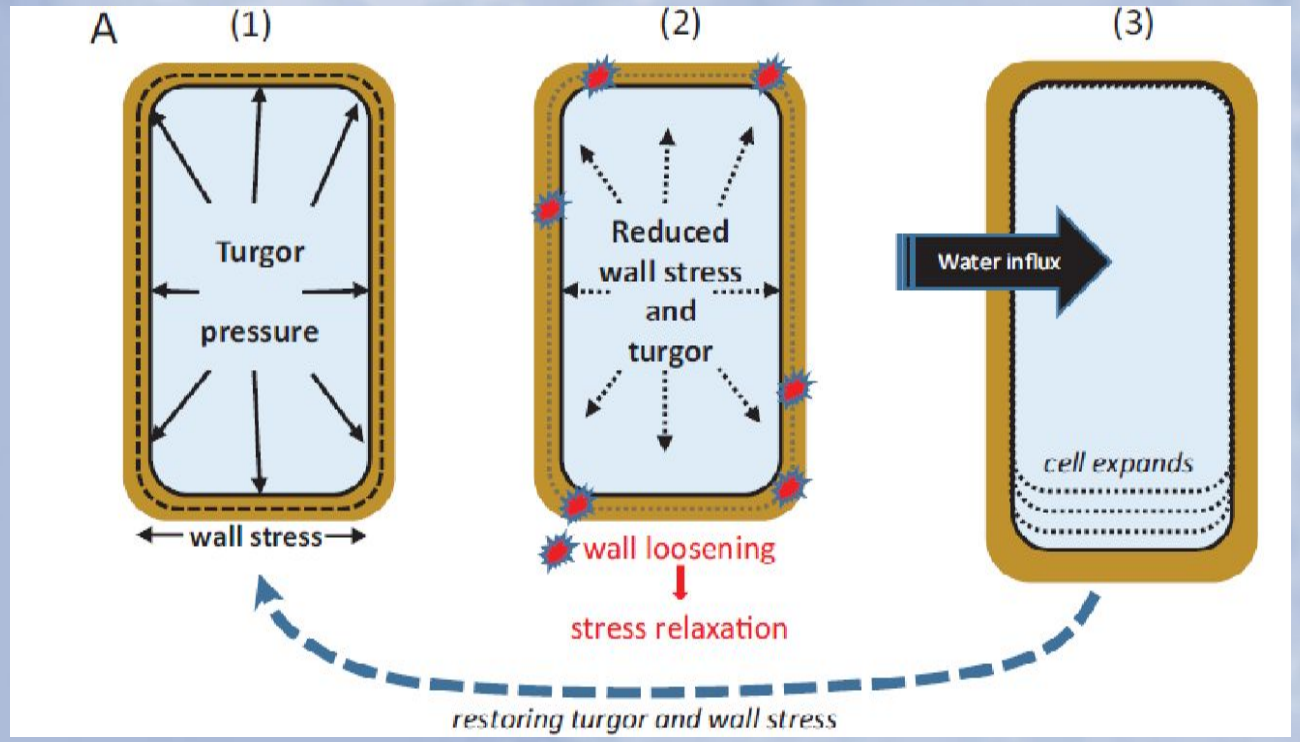
Инициация примордия листа экспансинами – белками, вызывающими необратимое растяжение клеточной стенки (Fleming *et al.*, 1997)

Для роста растяжением необходимы следующие условия:

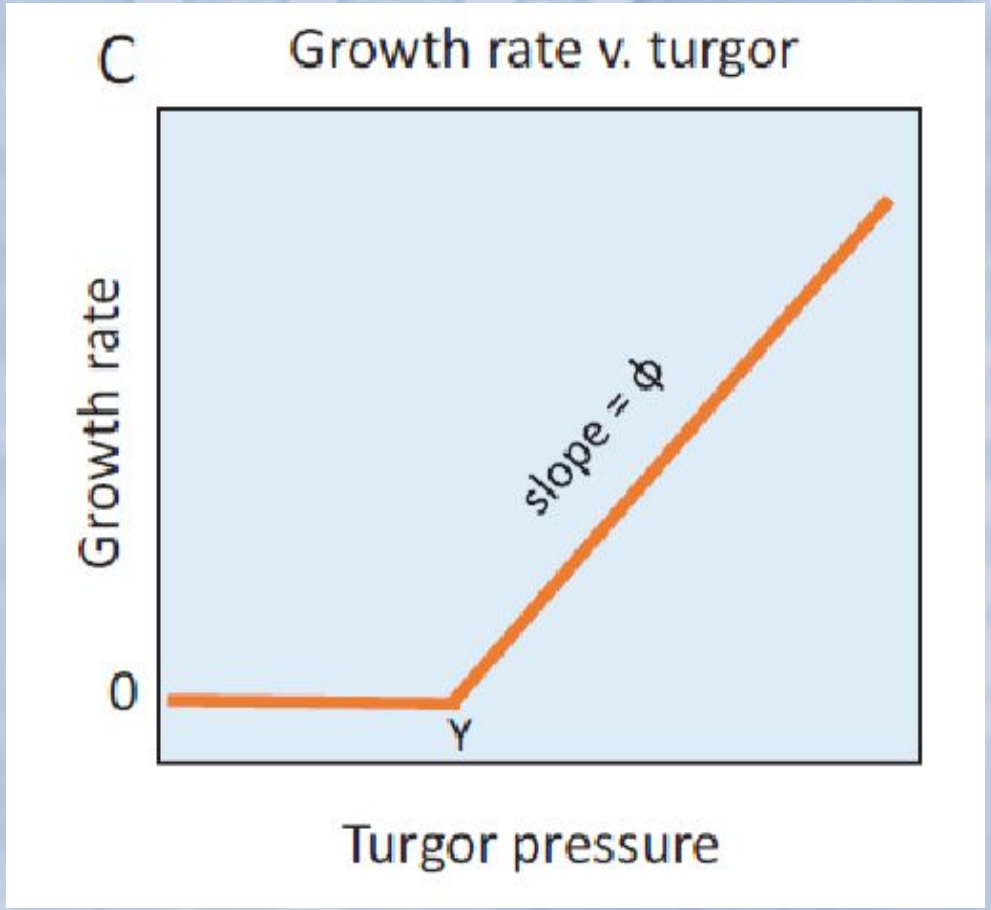
1. Снижение водного потенциала клетки

2. Изменение механических свойств клеточной стенки
(увеличение пластичности)

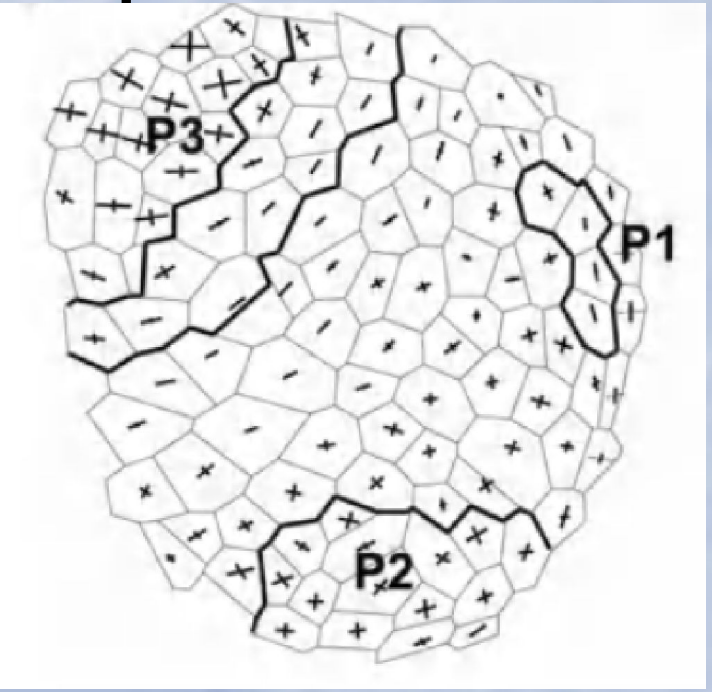
Скорость роста пропорциональна φ(P – Y),
где m – пластическая компонента растяжимости клетки,
P – тургорное давление,
Y – предельное тургорное давление, при котором клетка еще не растет
(уравнение Локхарта).

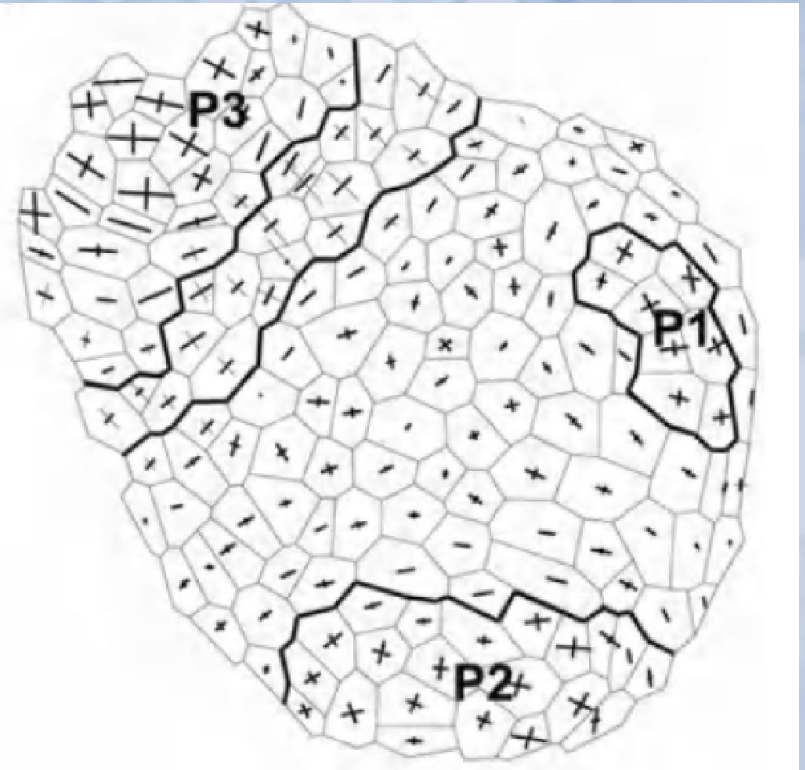


Cosgrove, 2015

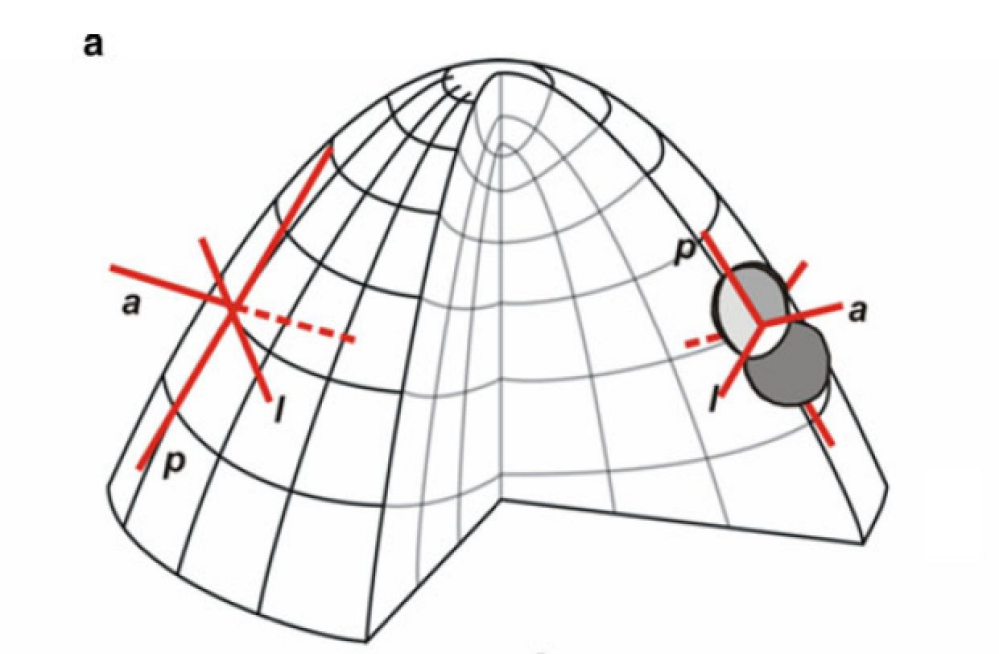


Направления роста (principal growth directions, PGD) можно определить экспериментально



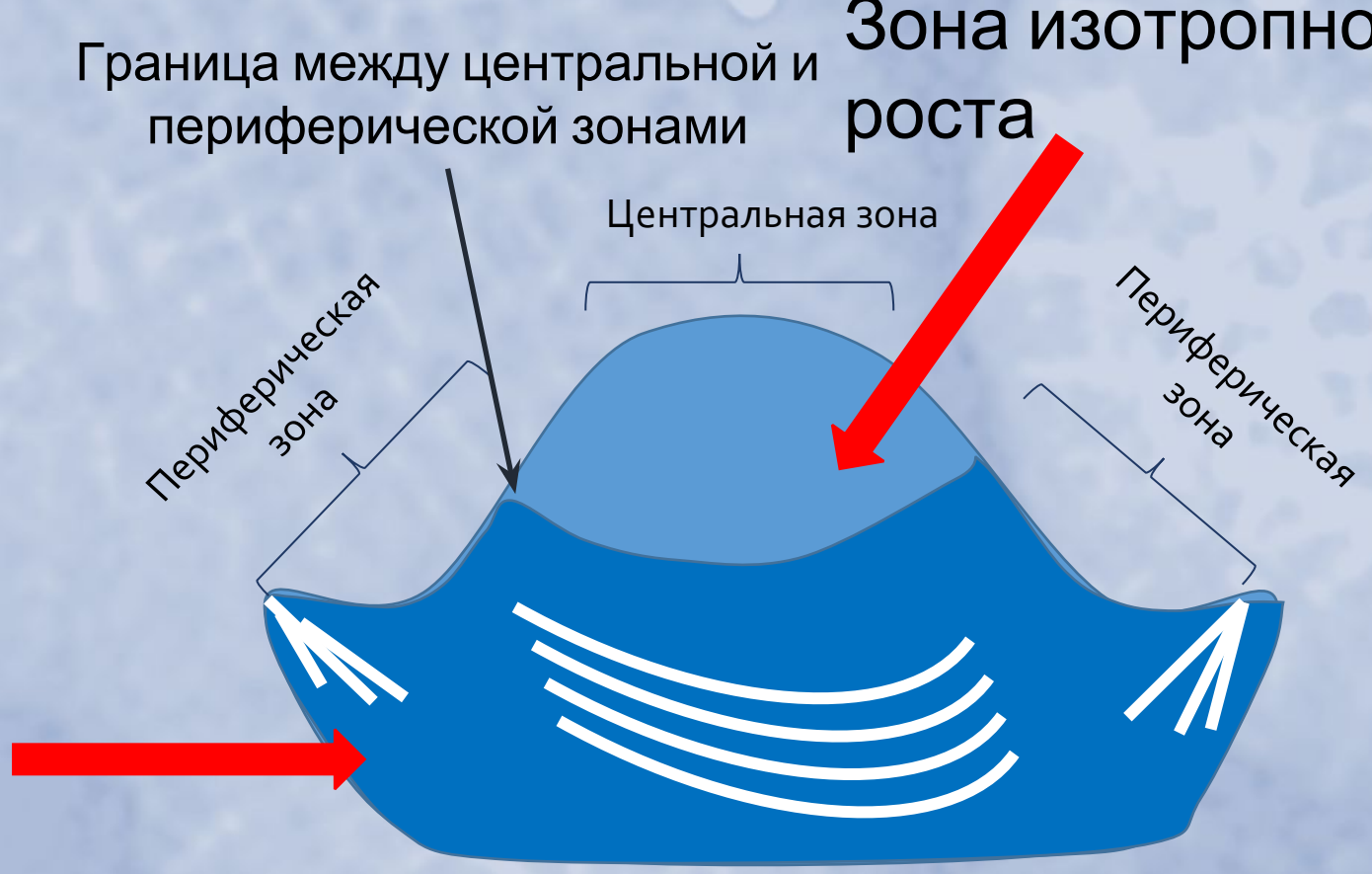


PGD у *Anagallis arvensis* L., определенные методом последовательных реплик (Kwiatkowska, Nakielski, 2011).



Разметим для удобства меристему координатной сеткой.

В каждой точке можно определить относительную скорость роста по x, y, z. PGD – то направление, вдоль которого относительная скорость роста достигает максимума.



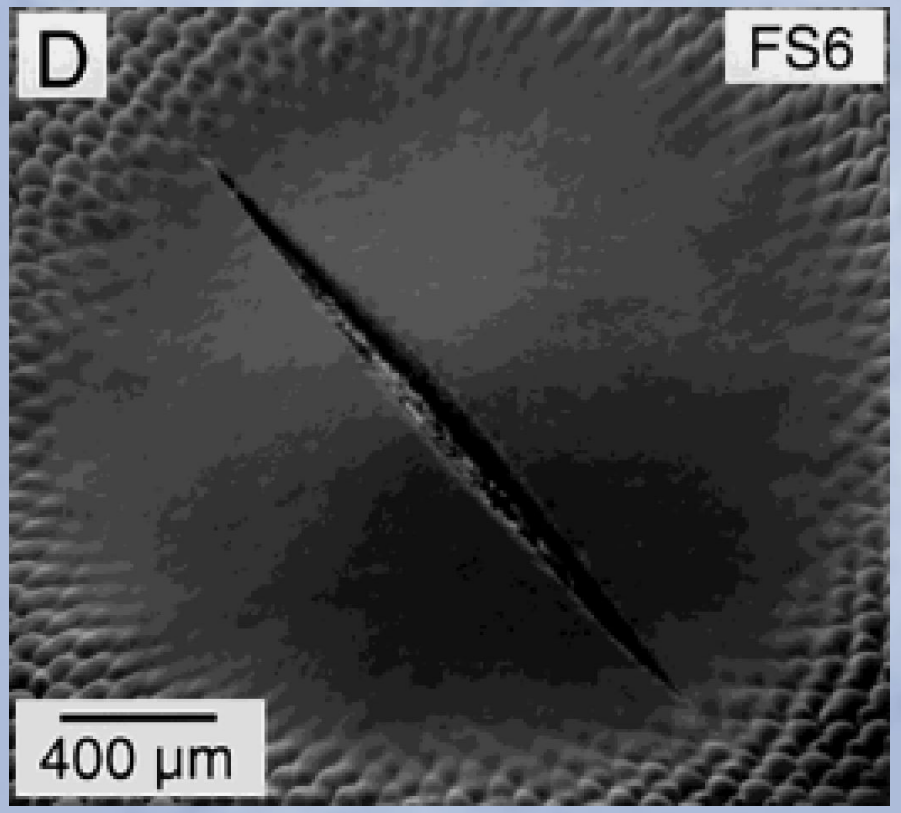
Анизотропный рост

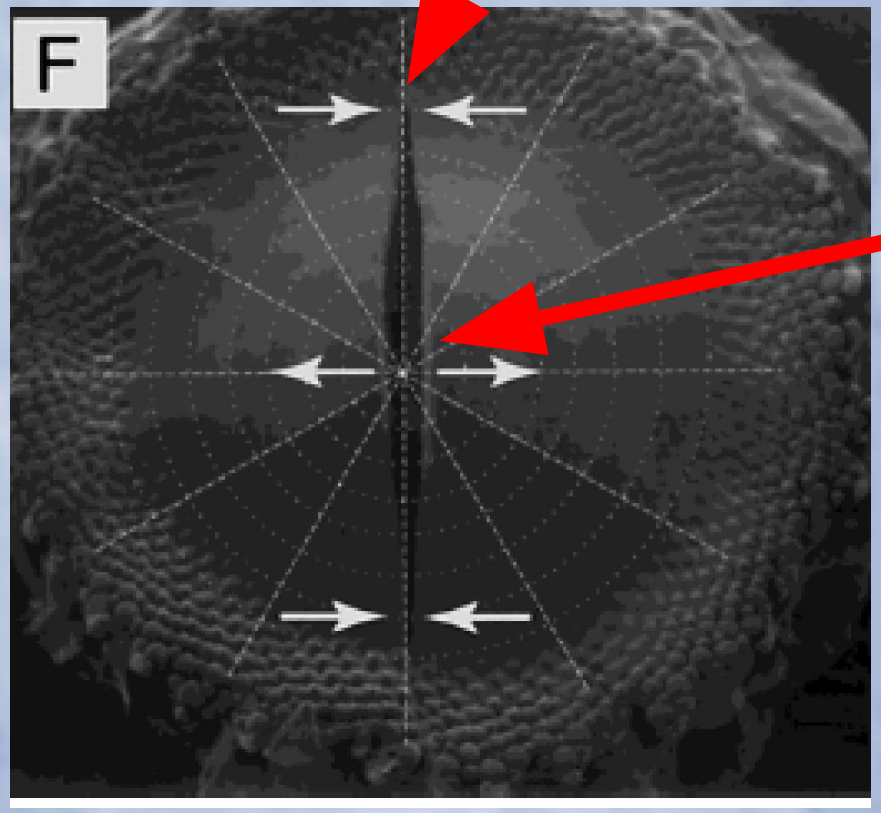
↓

Механическое напряжение

Как определить направления и типы механических напряжений в меристеме?

- Экспериментально (методом надрезов)





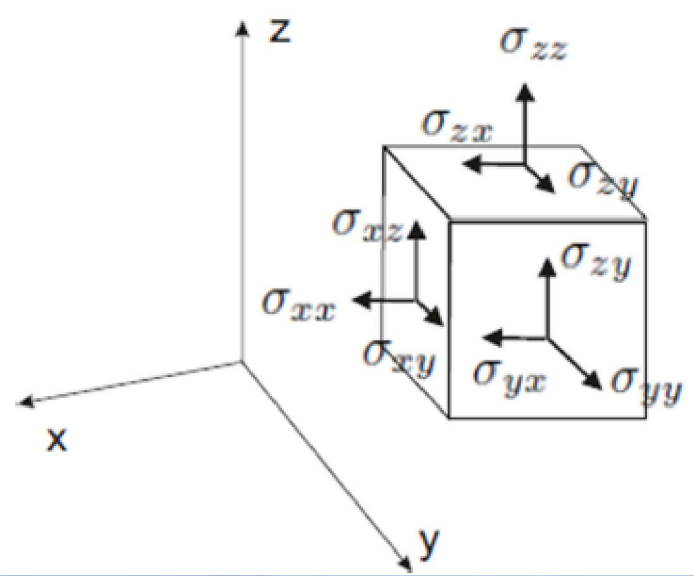
Напряжение сжатия

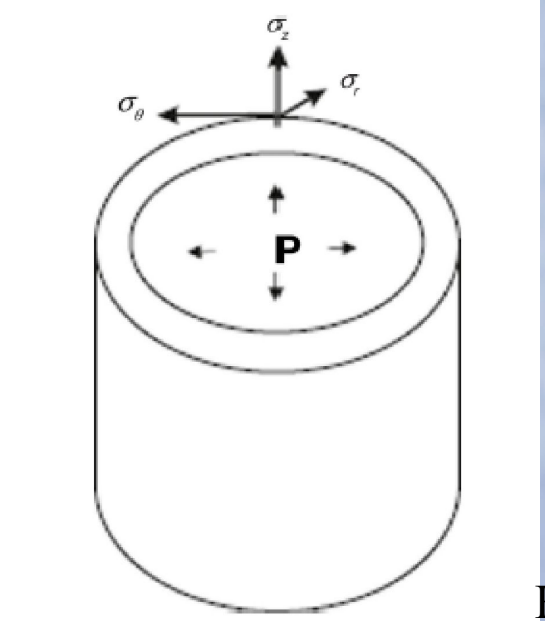
Напряжение растяжения

- Теоретически (математическое моделирование)

Dumais, Steele, 2000

Математическое моделирование механических напряжений: тензорный анализ



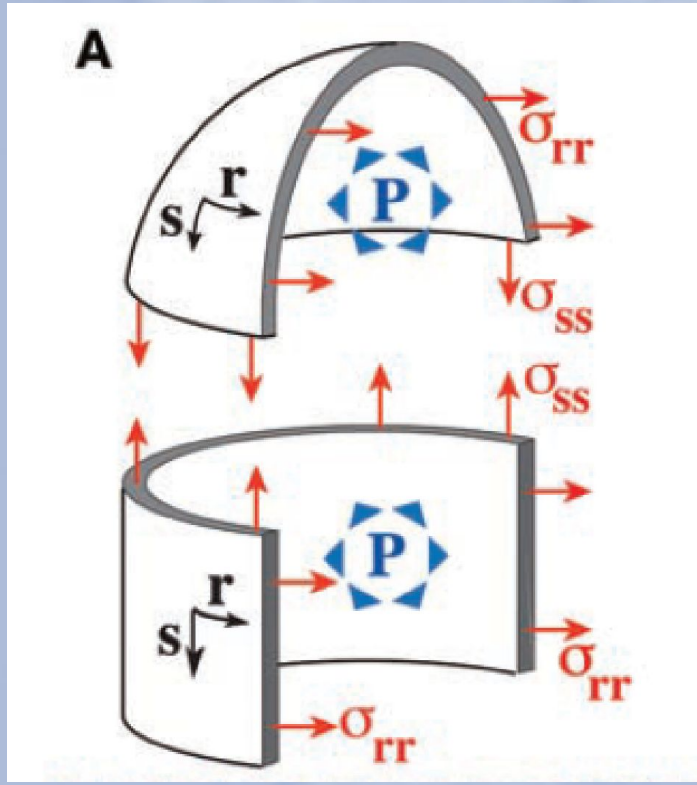


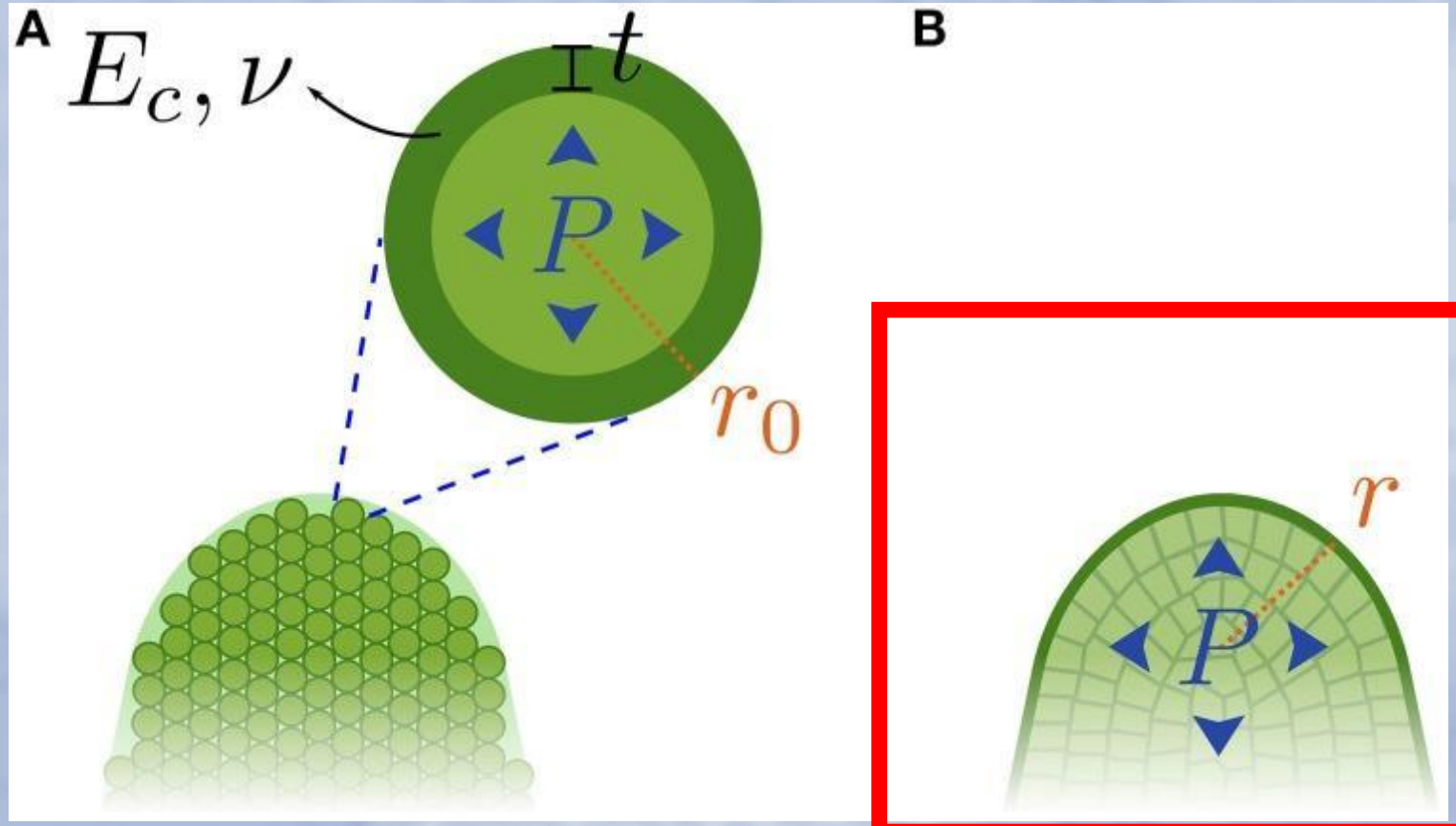
Hernández-Hernández *et al.*, 2014

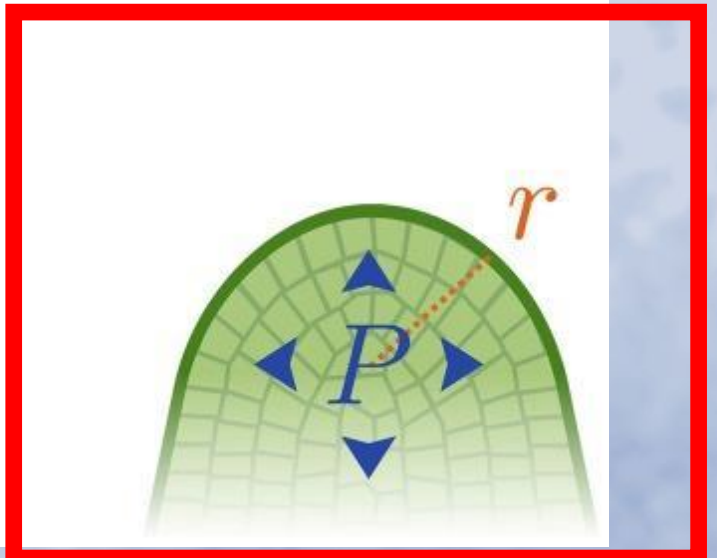
Для каждой точки можно определить 3 компоненты напряжения по разным осям.

Математическое моделирование механических напряжений: тензорный анализ

- Упрощенная модель для тензорного анализа: сосуд под давлением (Hamant *et al.*, 2008, Beauzamy *et al.*, 2015).



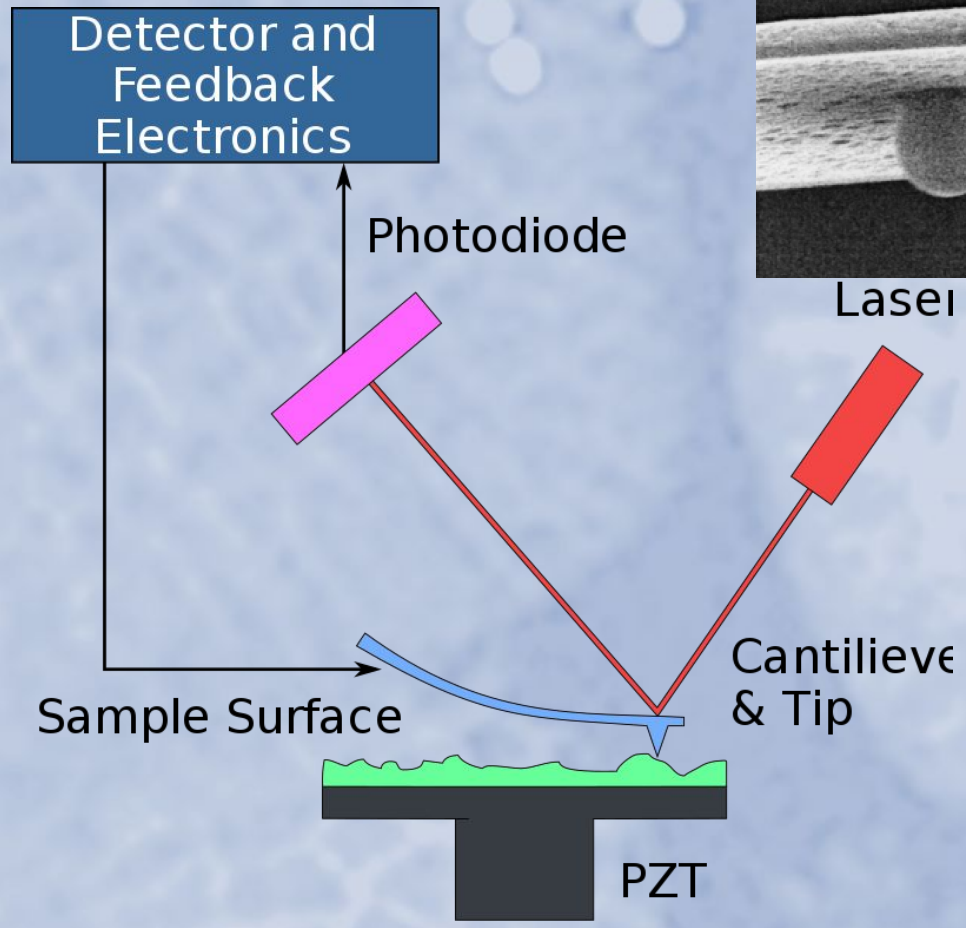


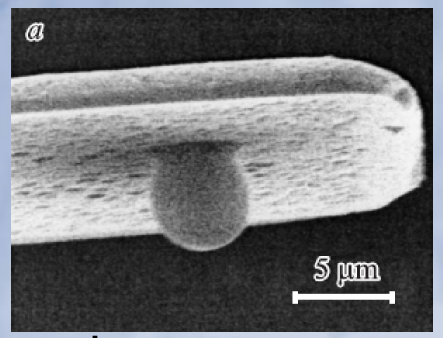


Для косвенной оценки механических напряжений можно определить свойства клеточных стенок в разных участках ПАМ

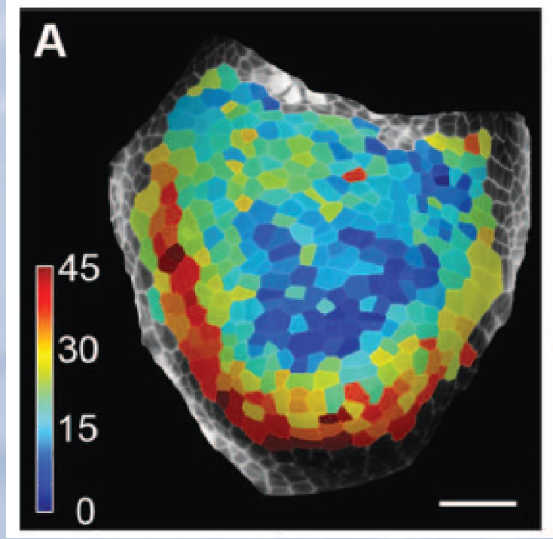
- Атомно-силовая микроскопия позволяет определить модуль Юнга для разных участков меристемы.

Периферическая зона эластичнее, чем центральная.

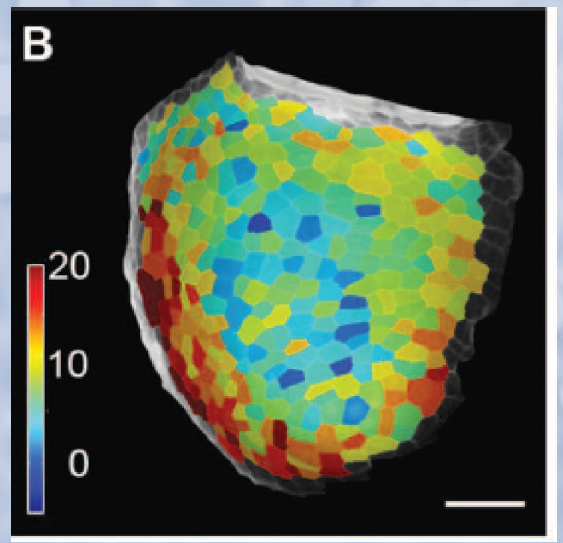




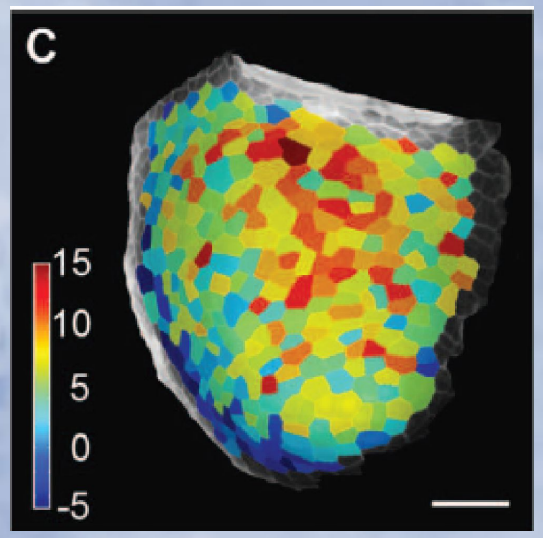
- Последовательная смена гипо- и гиперосмотических условий и наблюдение за деформацией отдельных клеток позволяет определить участки пластической и эластической деформации (Kierzkowski *et al.*, 2012)



Изменение объема клеток в течение 11 часов (красным показаны наиболее изменившие объем)

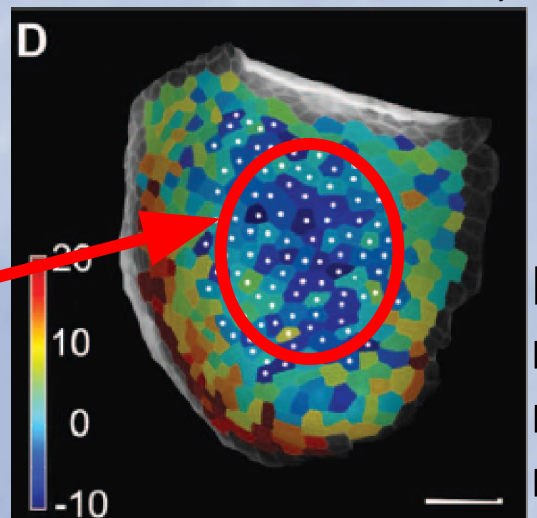


Изменение объема клеток в гипотоническом растворе

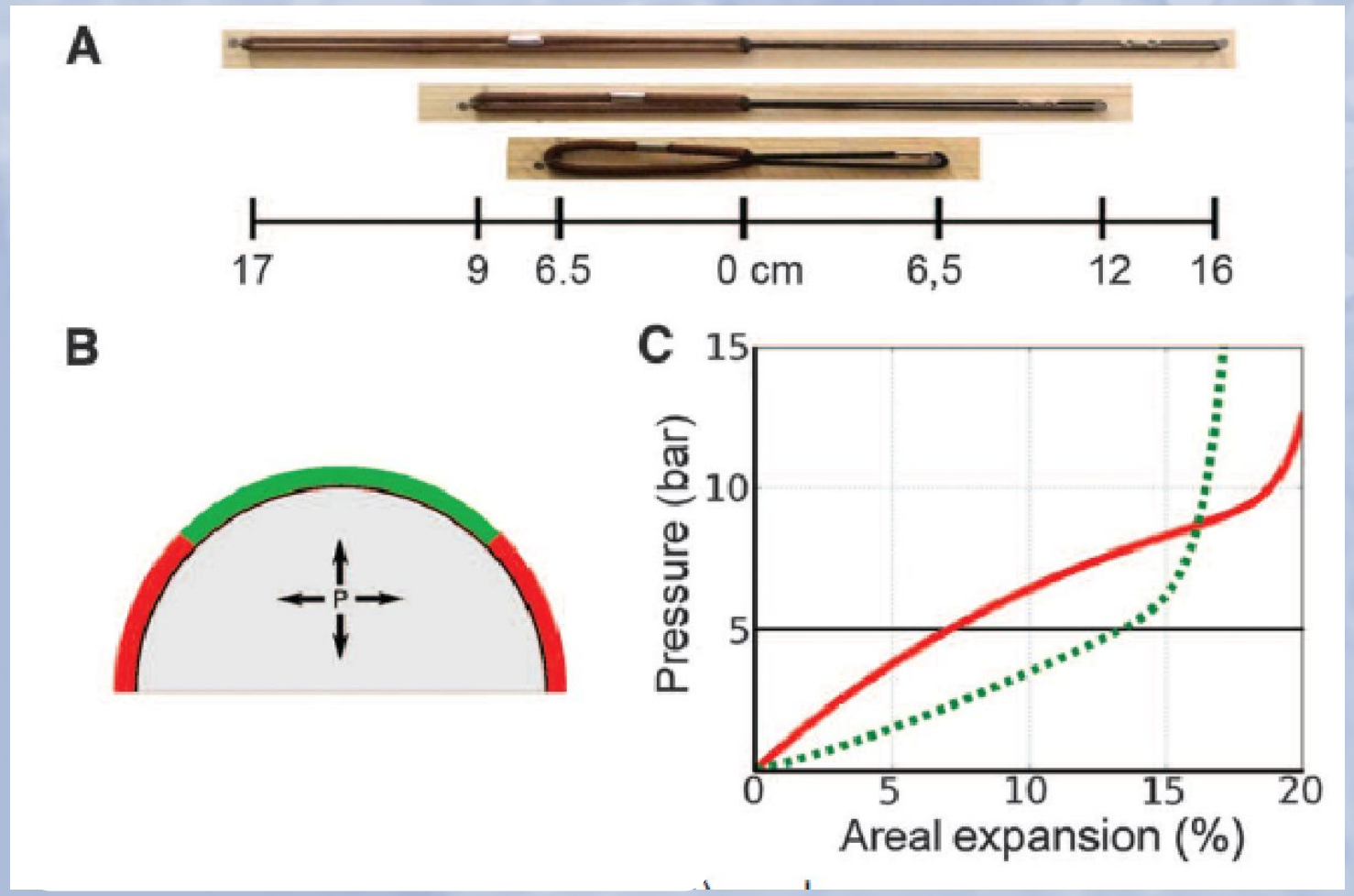


Изменение объема клеток в гипертоническом растворе (клетки центральной зоны сжимаются сильнее, чем растягиваются)

Зона пластической деформации

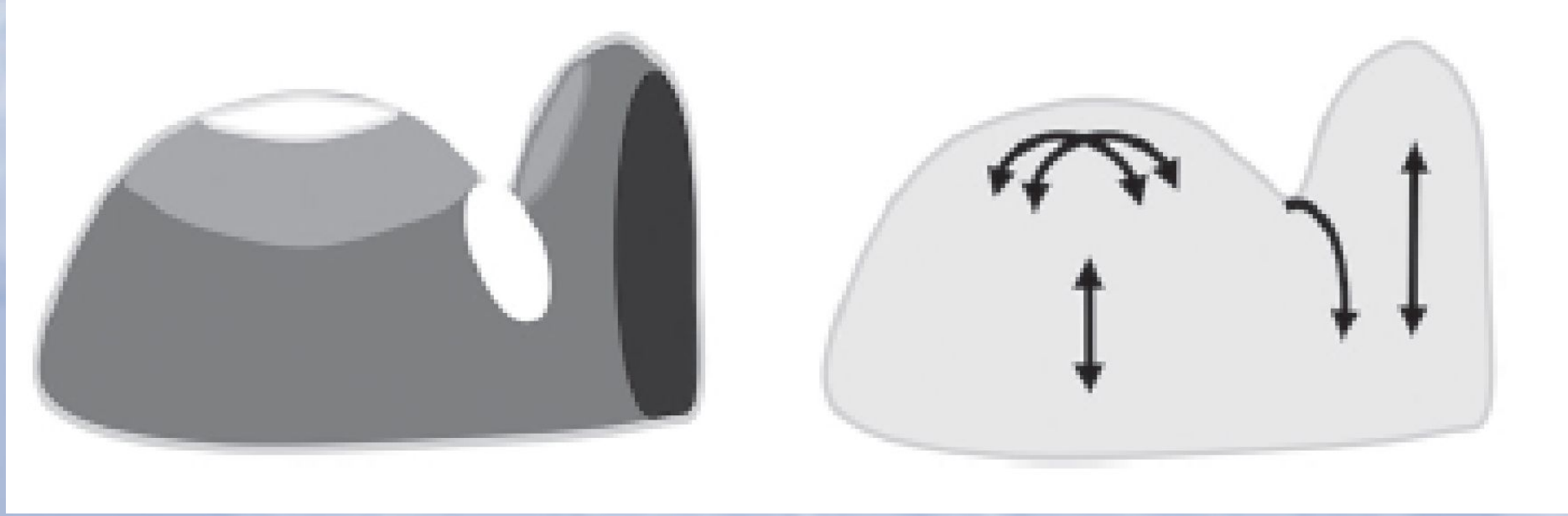


Разница в изменении объема между гипо- и гипертоническим



(Kierzkowski *et al.*, 2012)

Клетки центральной и периферической зоны ПАМ испытывают разные типы деформации: центральная зона находится в состоянии упрочнения вследствие пластической деформации, тогда как периферическая растягивается эластически

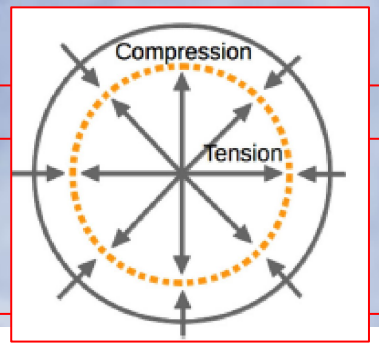


Эластичность клеточных стенок в разных зонах меристемы

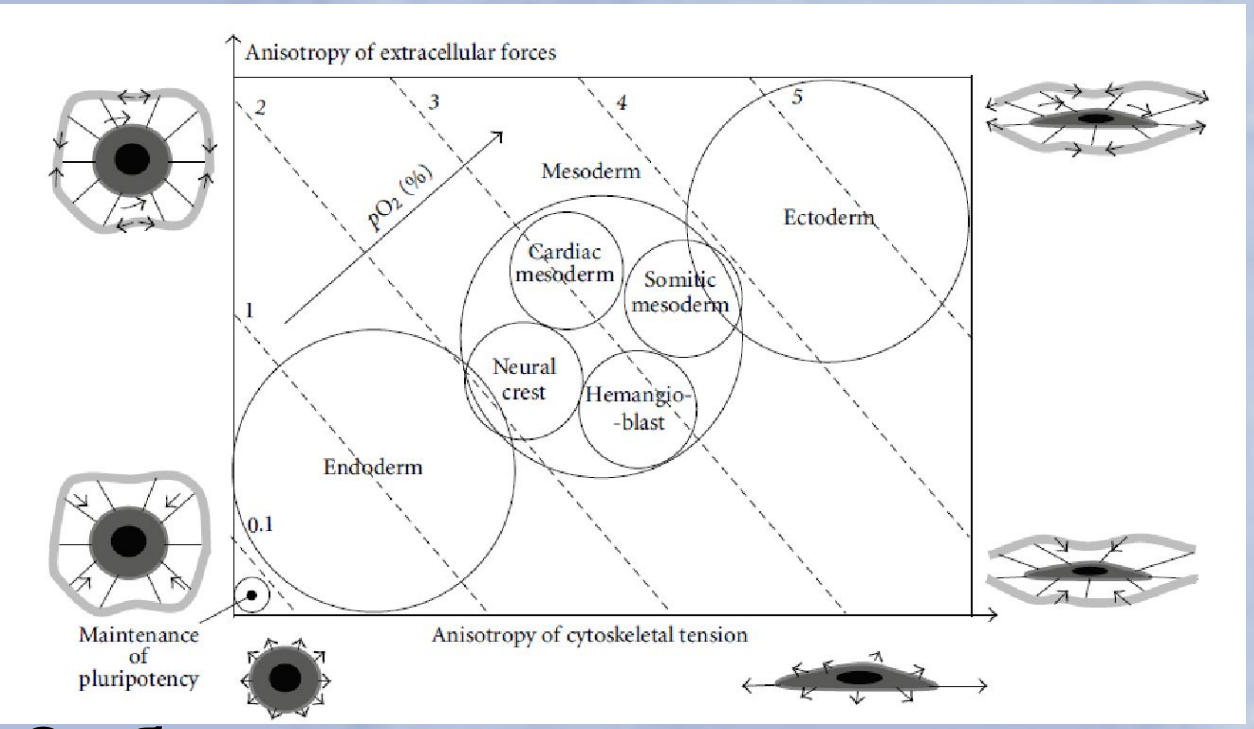
Направления растяжения клеток в побеговой меристеме

Организационный центр меристемы – зона силовой изотропии?

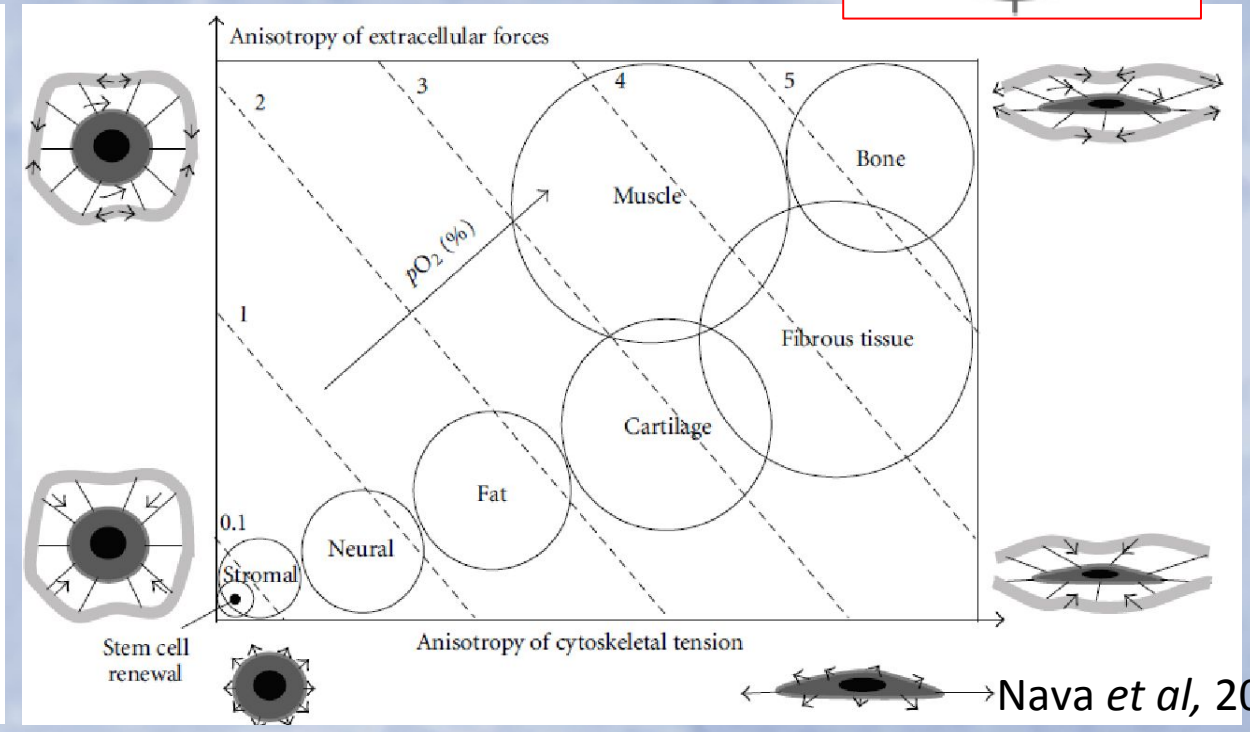
- Тензорный анализ напряжений в растительных меристемах (корневой и побеговой) показал, что в ОЦ напряжения растяжения и сжатия уравновешивают друг друга – силовая изотропия.



- На животных показана роль силовой изотропии в поддержании недифференцированного состояния стволовых клеток.



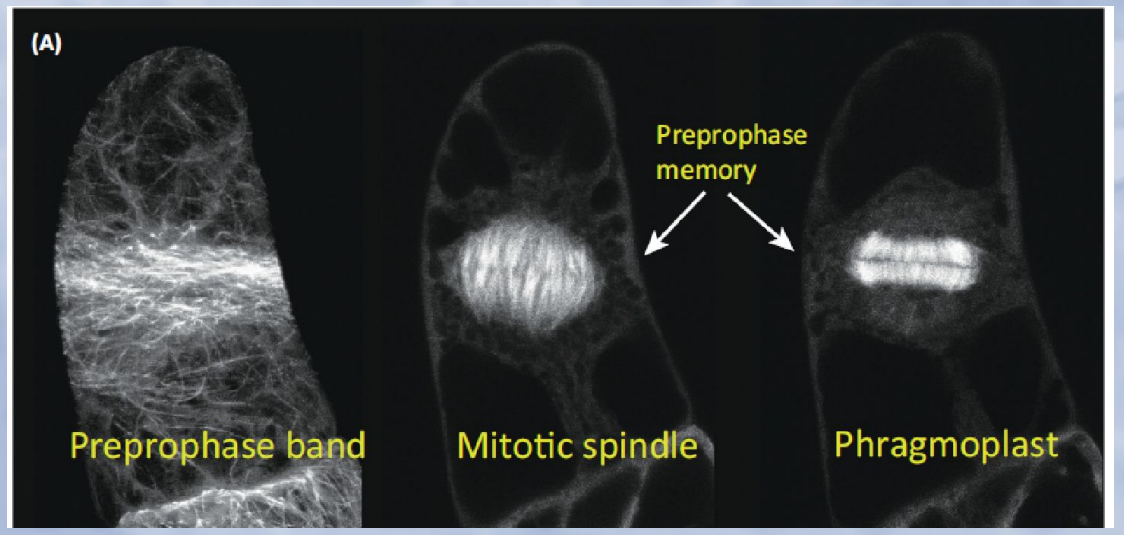
Эмбриональные стволовые



Nava *et al*, 2012

Мезенхимные стволовые

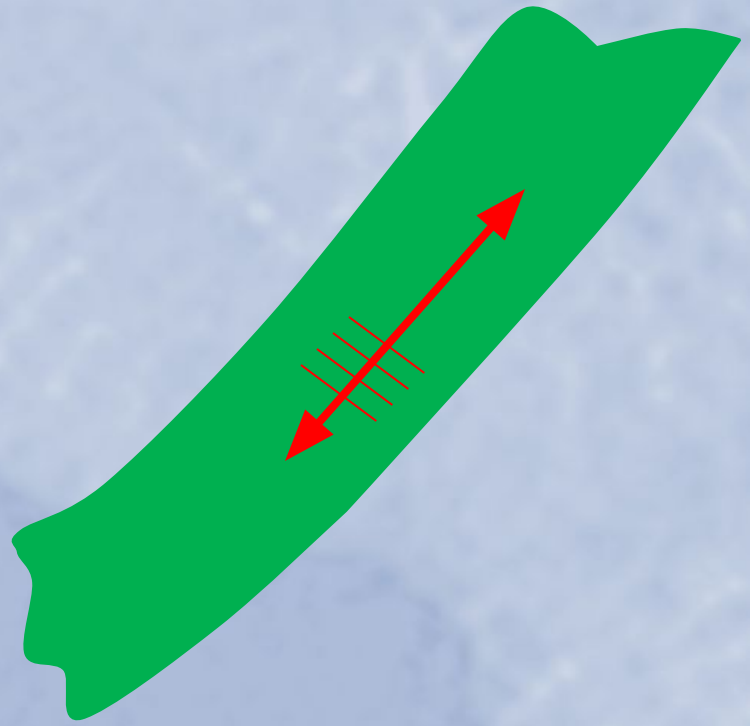
Регуляторная роль механических напряжений



Механические напряжения и ориентация клеточных делений

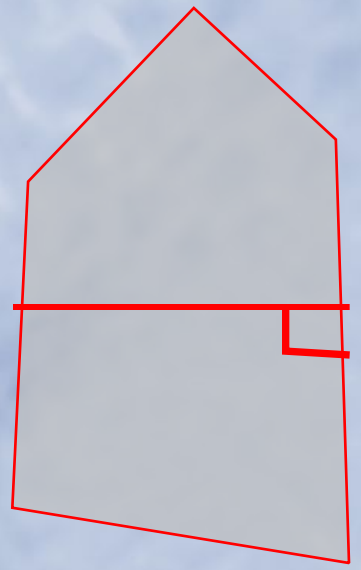
Классические правила ориентации делений в растительных тканях

1. Правило Хофмайстера (Hofmeister):



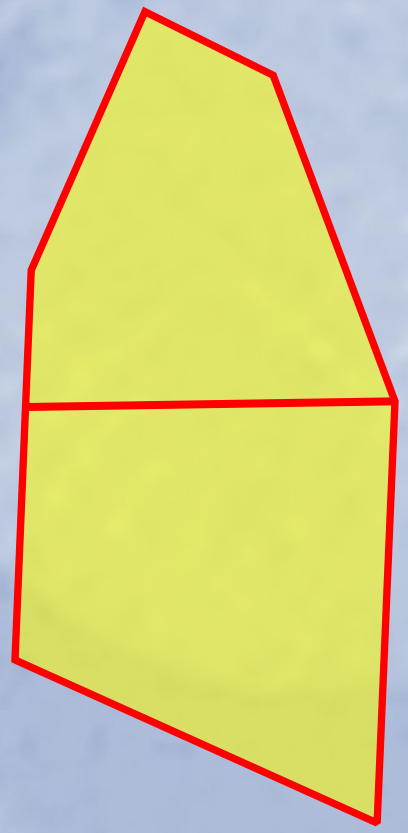
Клеточные деления ориентируются перпендикулярно направлению максимальной скорости роста

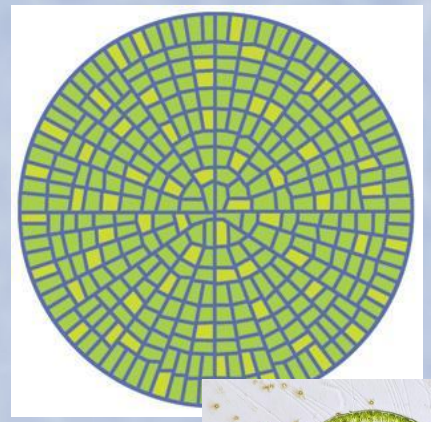
2. Правило Закса (Sachs):



Новая стенка образует прямой угол с материнской

3. Правило Эррера (Errer, 1888):

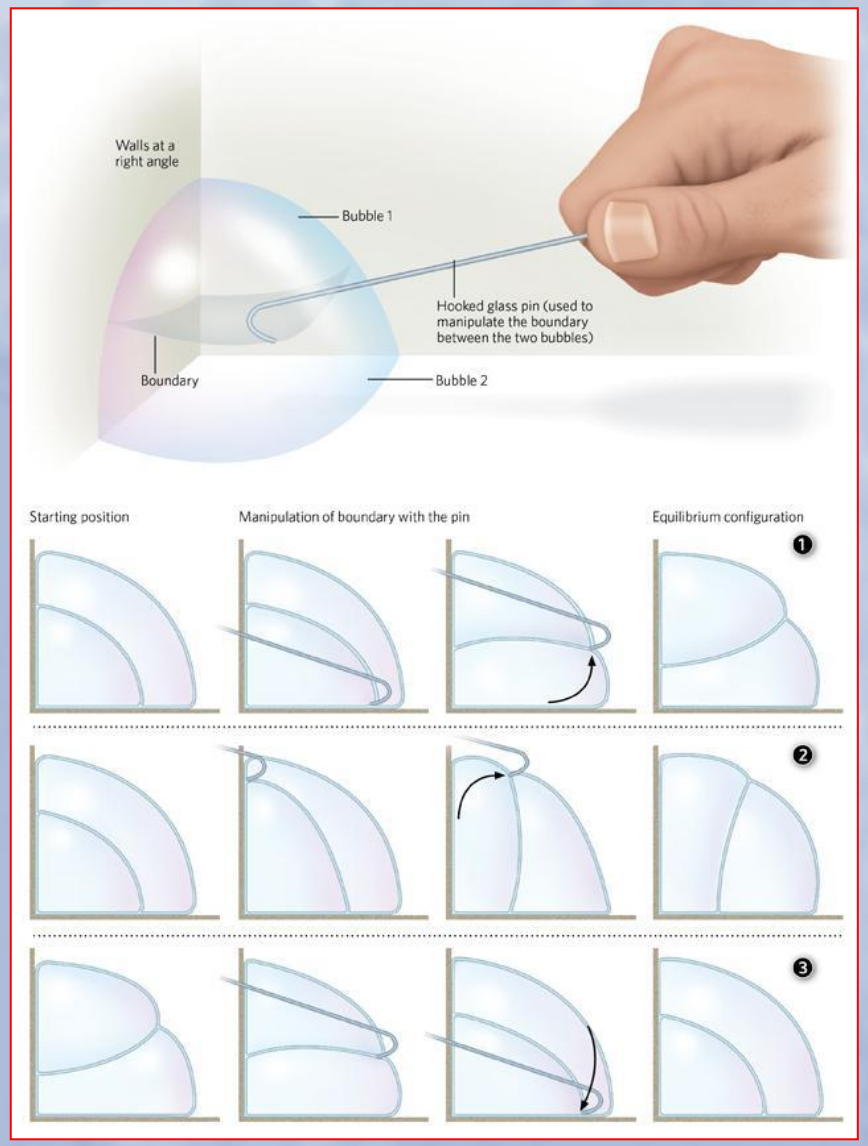


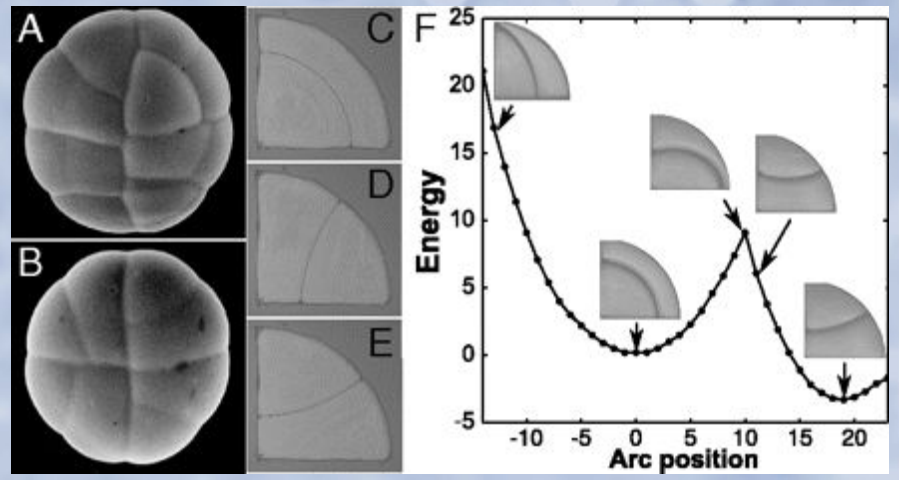


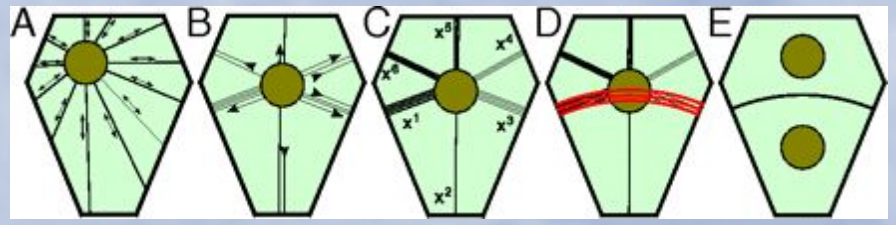
Coleochaete orbicularis

Фрагмопласт проходит по наикратчайшему пути, делящему клетку на две равные по площади части

Правило Бессона-Думейса (Besson – Dumais)

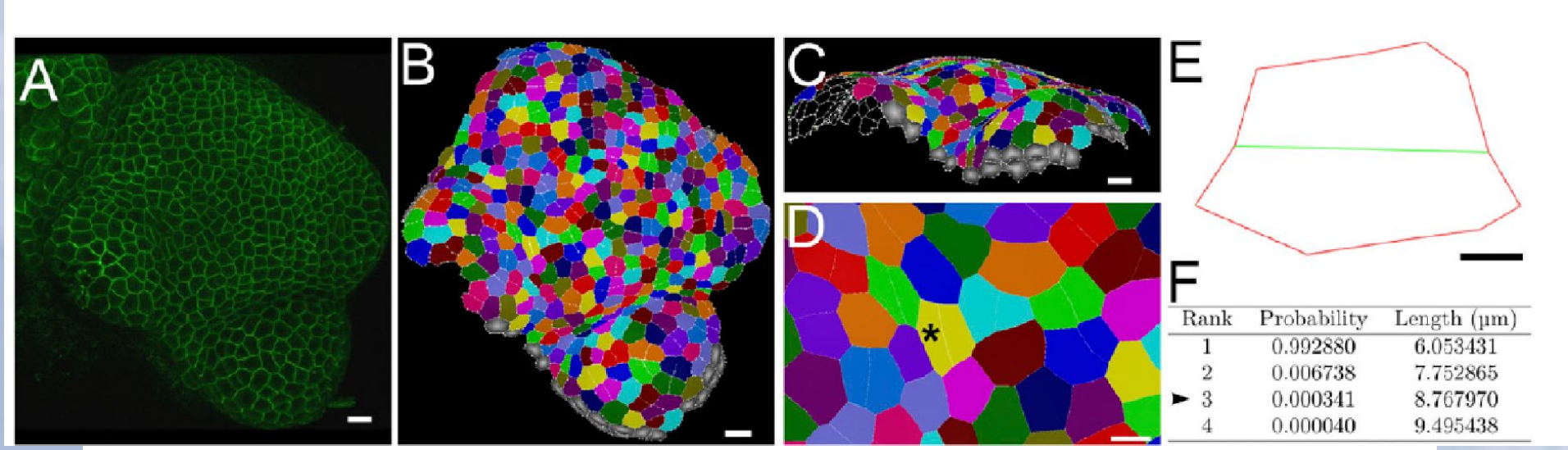




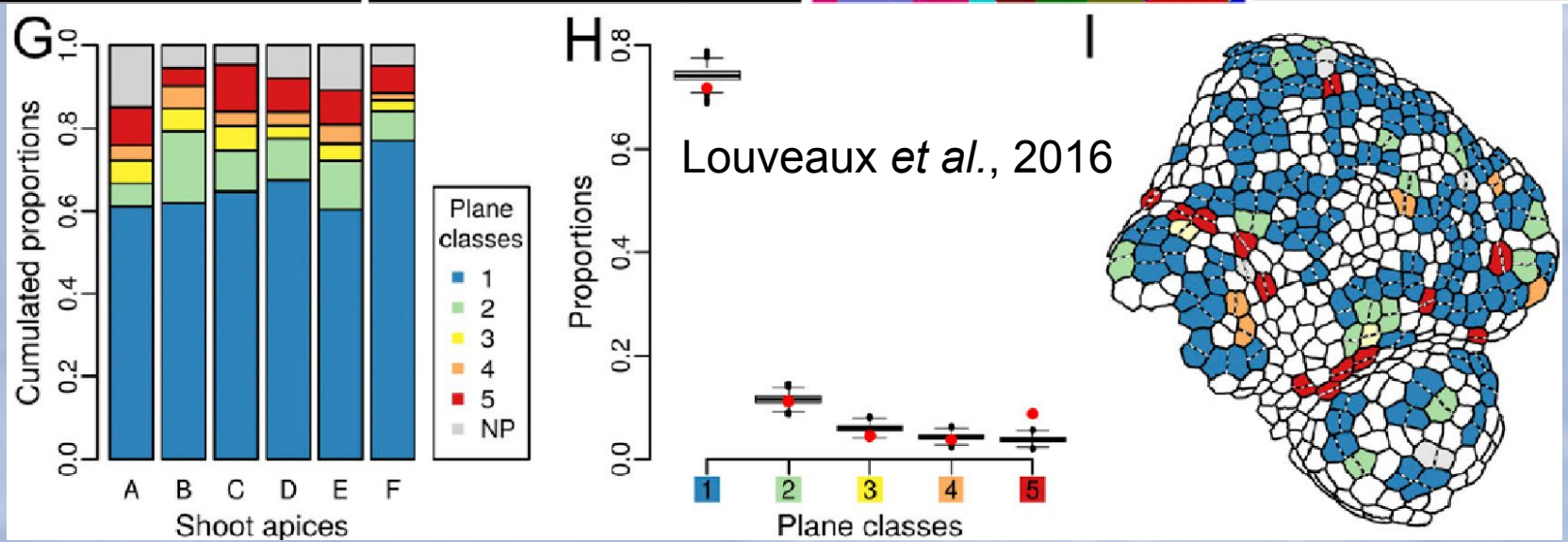


Besson, Dumais, 2011

Нарушения правила Бессона – Думейса в ПАМ



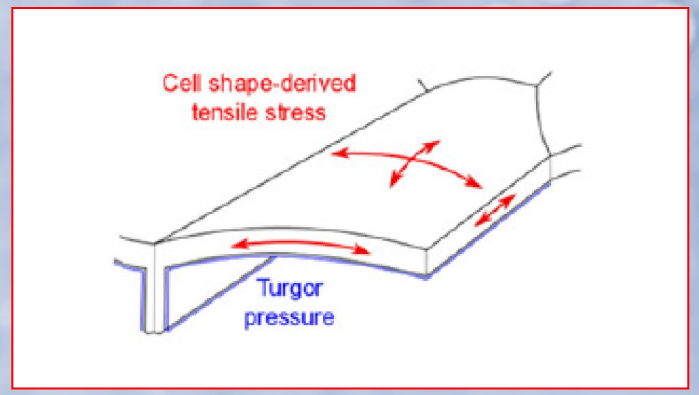
Rank	Probability	Length (µm)
1	0.992880	6.053431
2	0.006738	7.752865
► 3	0.000341	8.767970
4	0.000040	9.495438

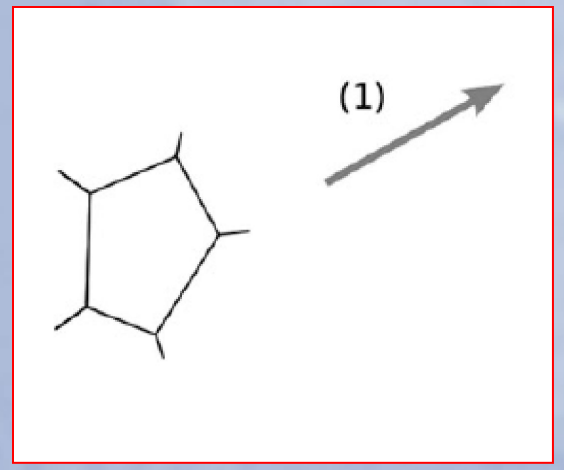


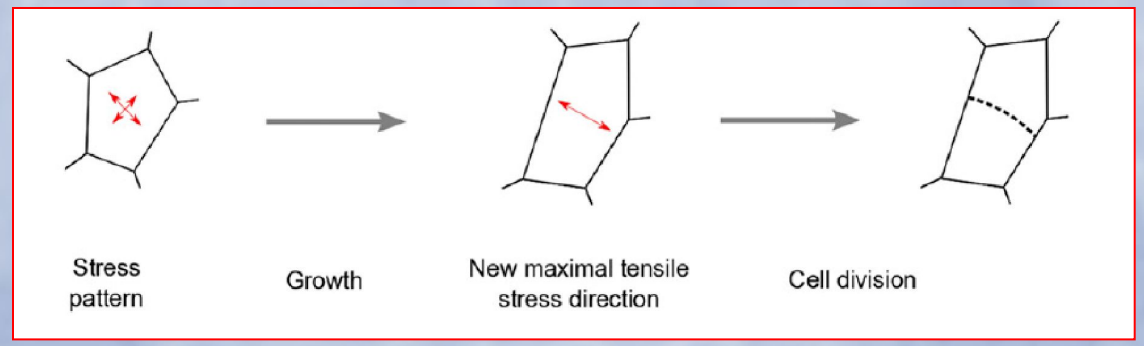
Louveaux *et al.*, 2016

Ориентация делений в соответствии с механическим напряжением

1. **Изотропные механические напряжения**



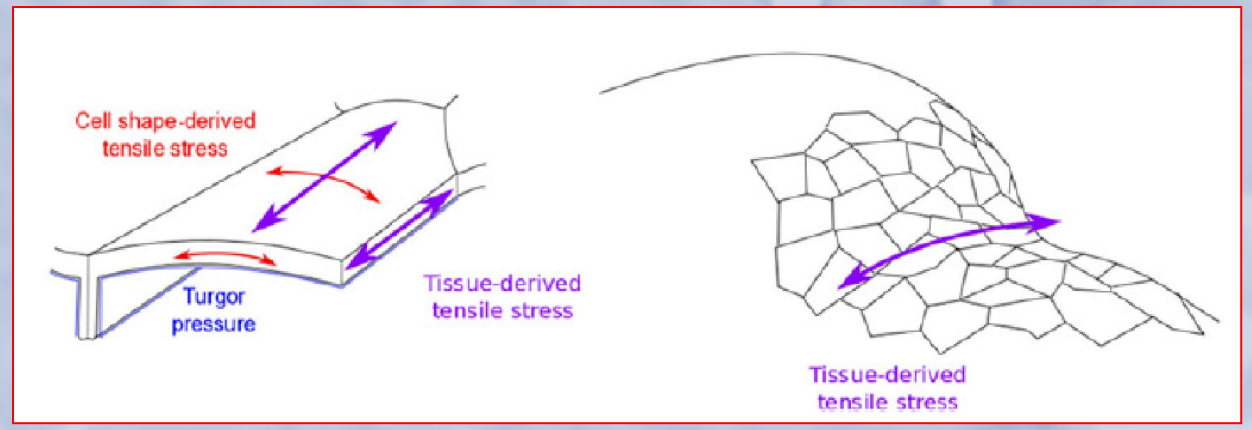


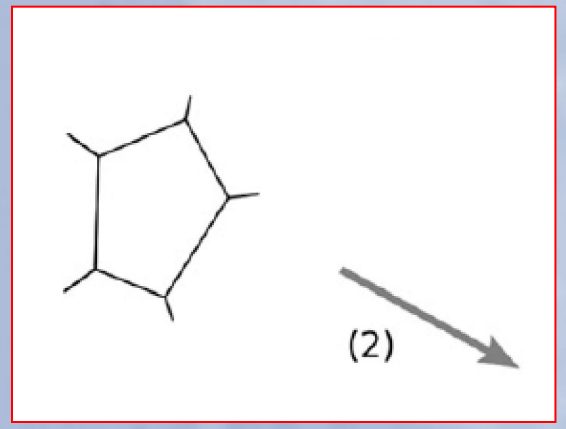


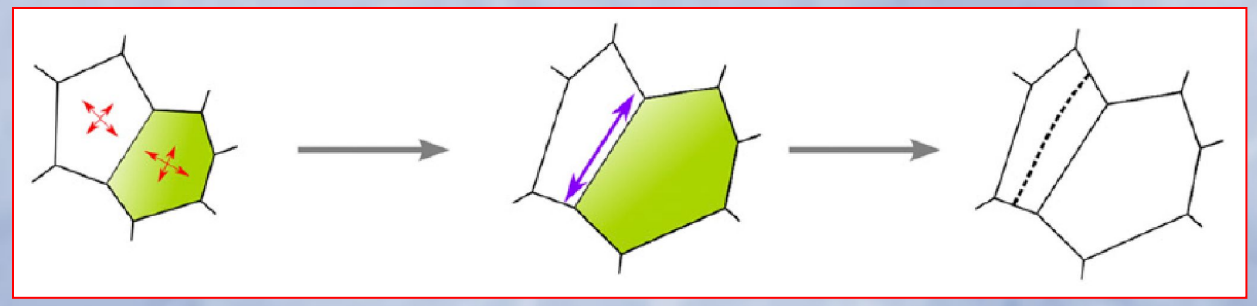
Louveaux *et al.*, 2016

Ориентация делений в соответствии с механическим напряжением

2. **Анизотропные механические напряжения**

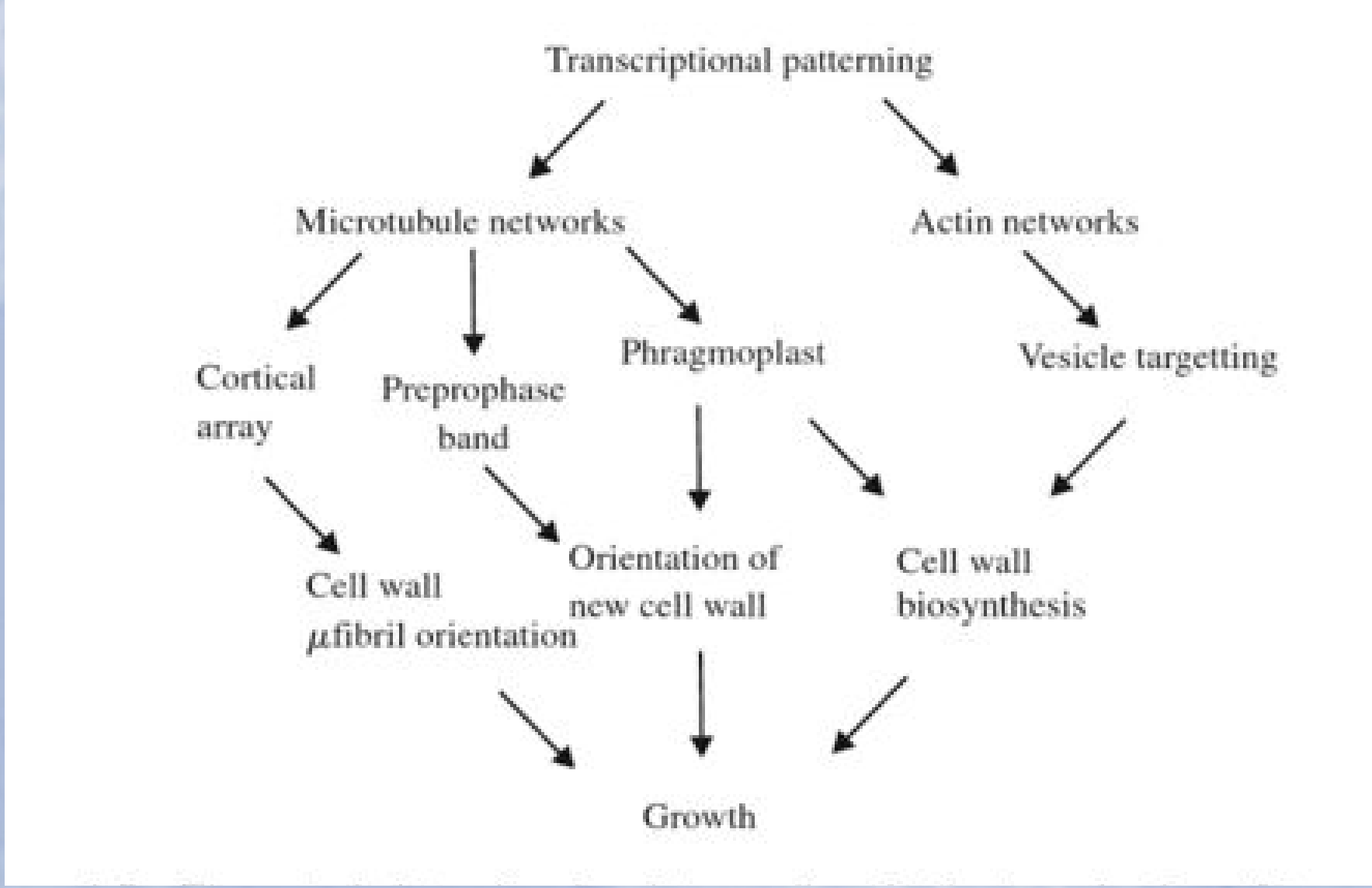




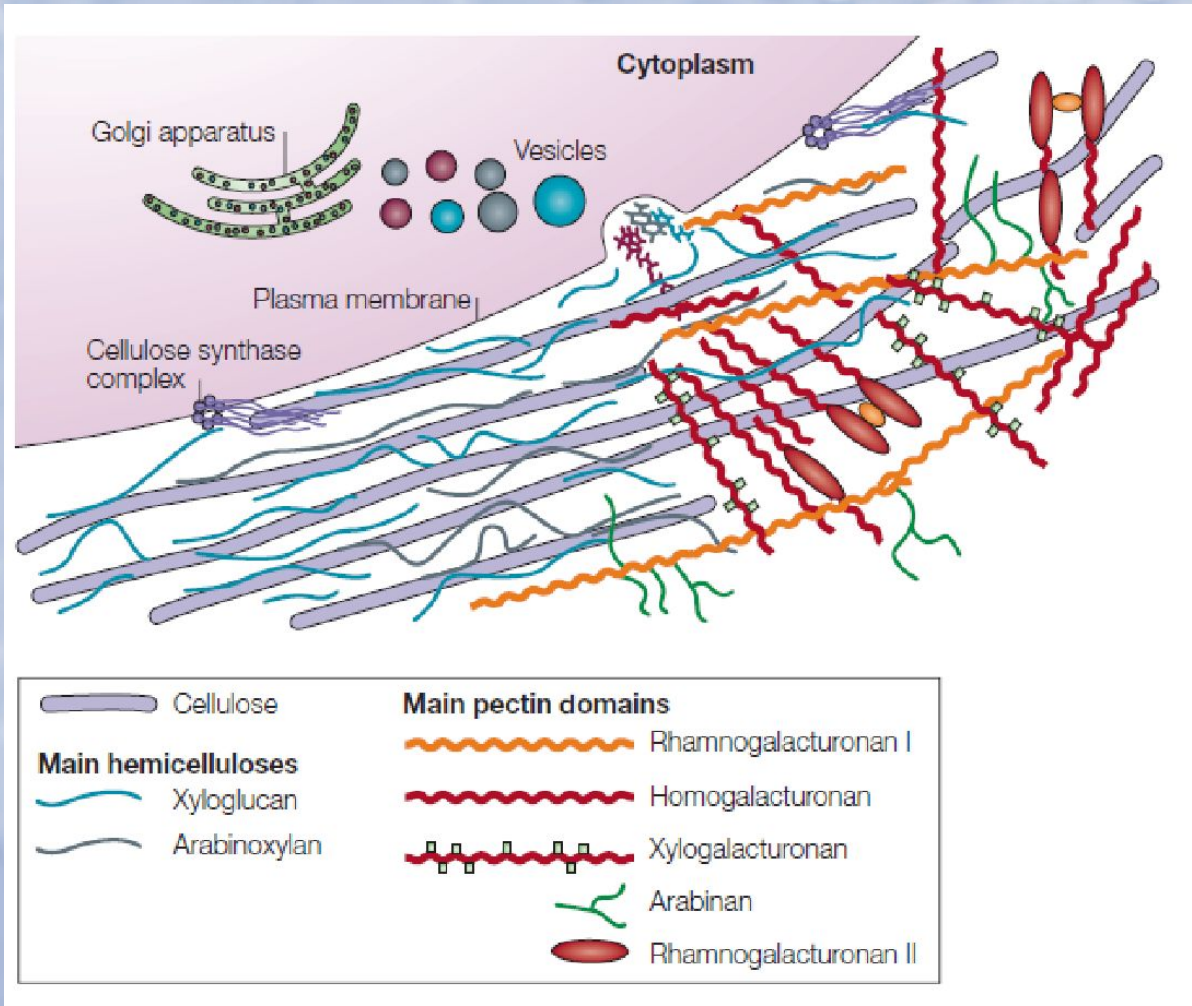


Louveaux *et al.*, 2016

Рост клетки растяжением

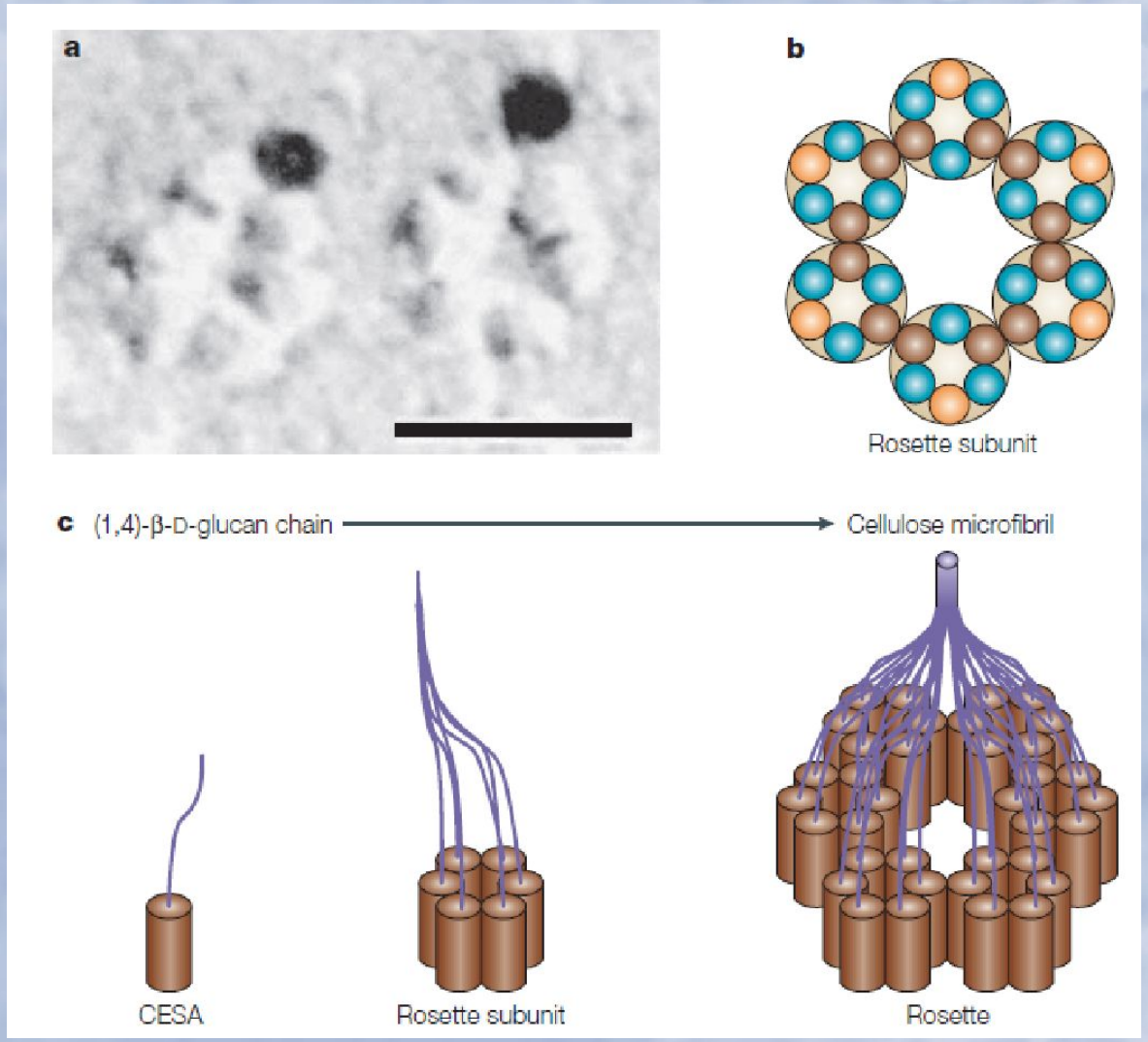


Биогенез клеточной стенки



Cosgrove, 2005

Целлюлозо-синтазный комплекс (CESA)

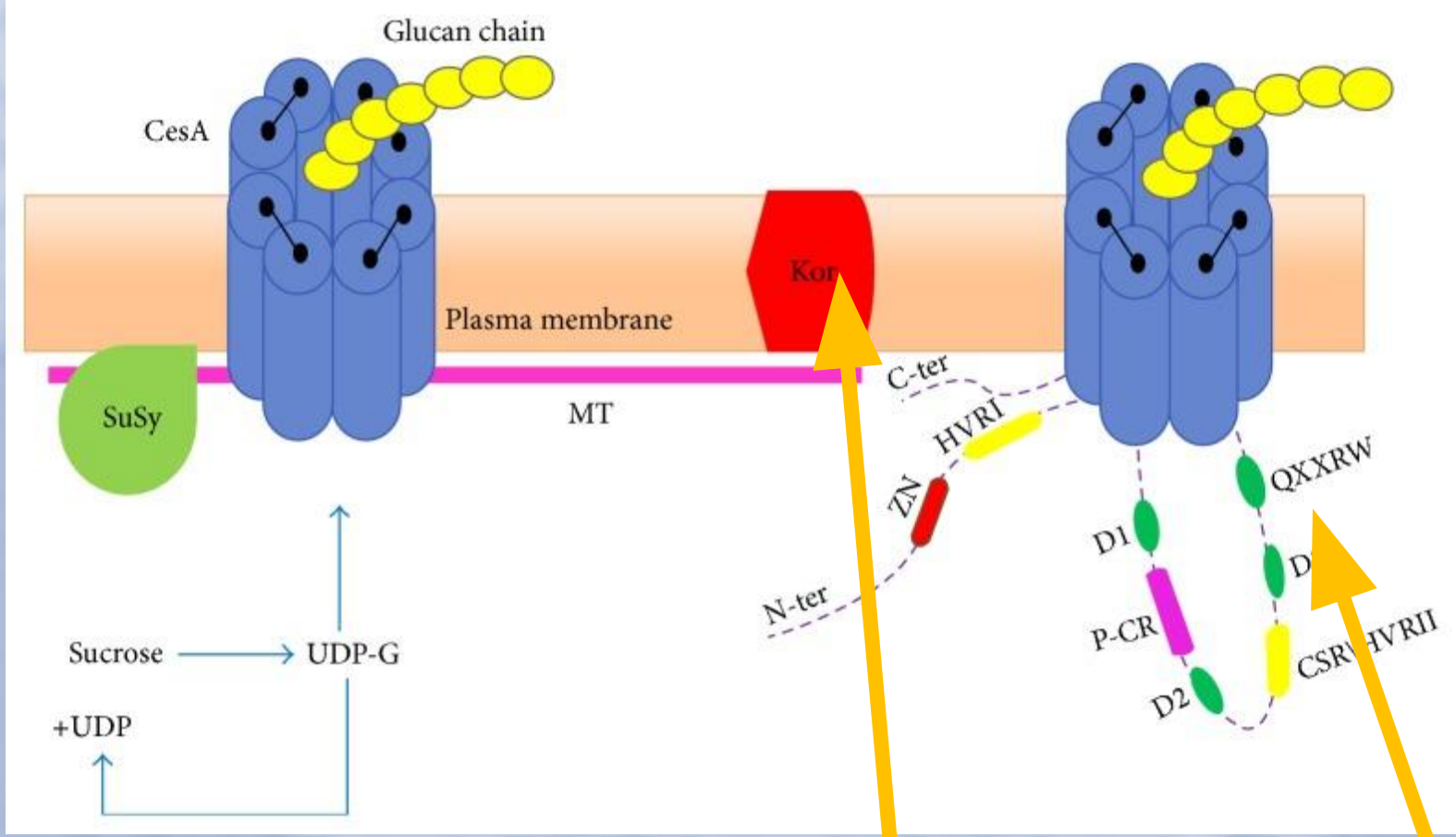


CESA 1, 3, 6 – первичная клеточная стенка

CESA 4, 7, 8 – вторичная клеточная стенка

Cosgrove, 2005

CESA (Cellulose Synthase)

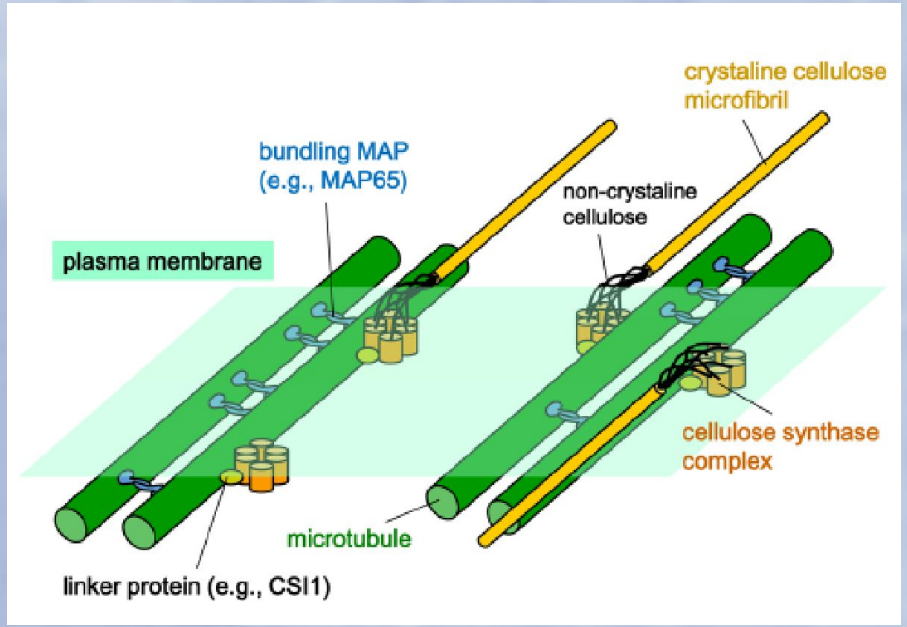


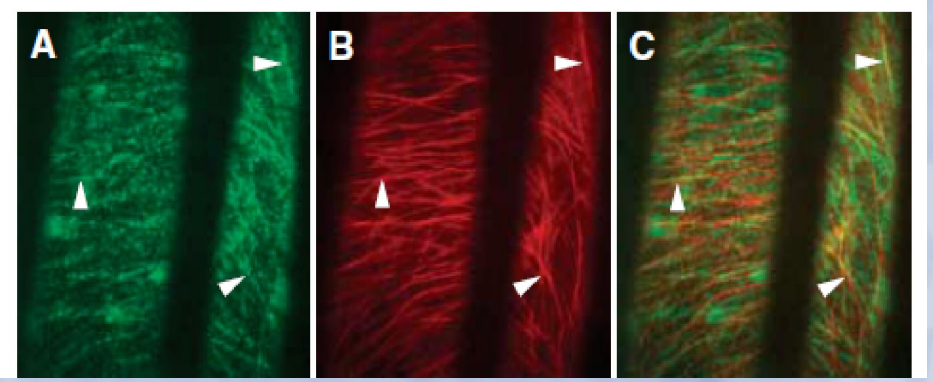
Maleki *et al.*, 2016

Целлюлаза KORRIGAN

Гликозилгрансферазный мотив

Микротрубочки направляют синтез целлюлозных микрофибрилл



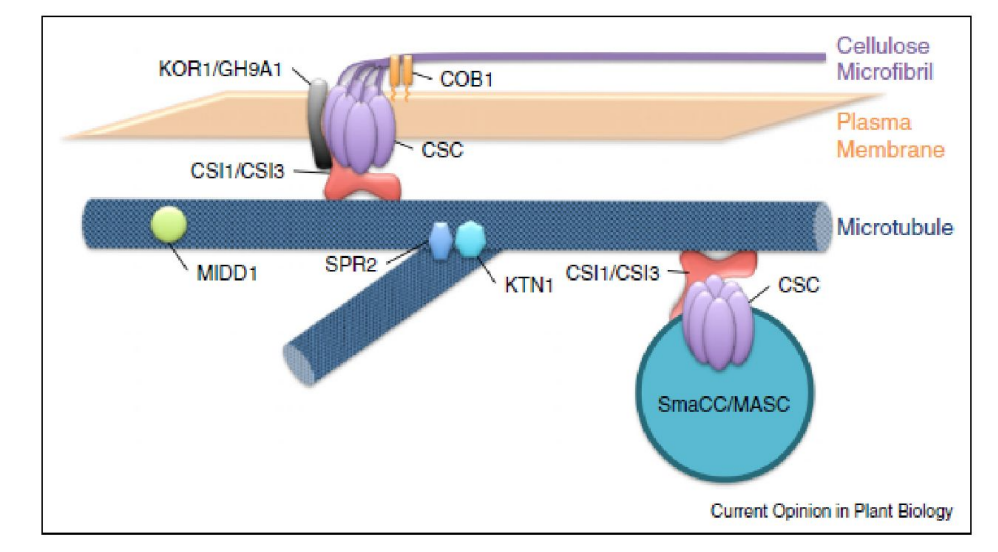


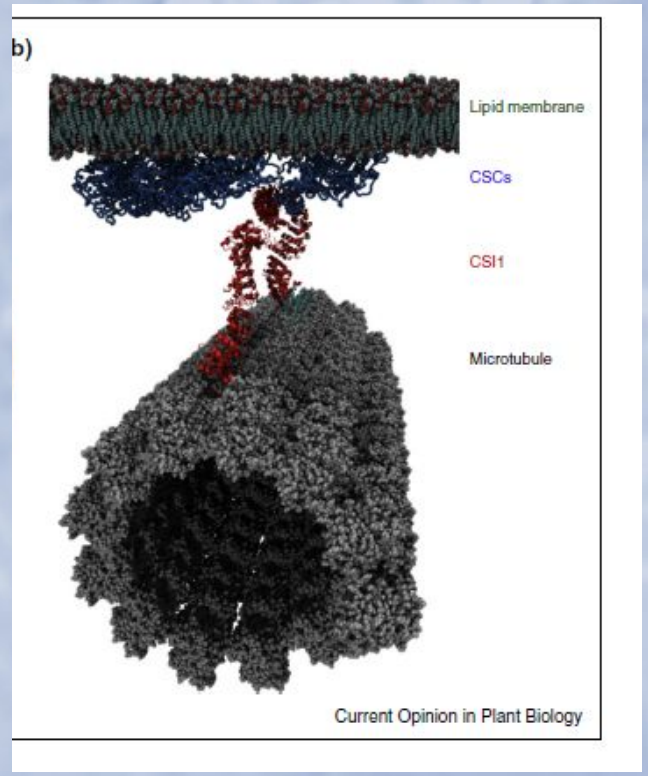
MT CESA6 Наложение

Розетки CSC медленно двигаются вдоль микротрубочек!

Paredez *et al.*, 2006

Модель взаимодействия CSC с кортикальными микротрубочками





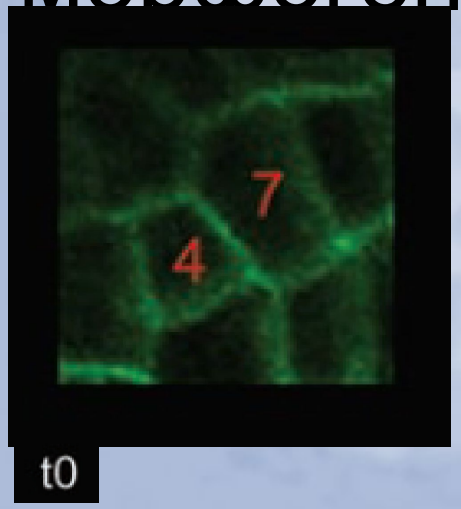
SmaCC/MASC – регуляция встраивания/ вырезания CSC

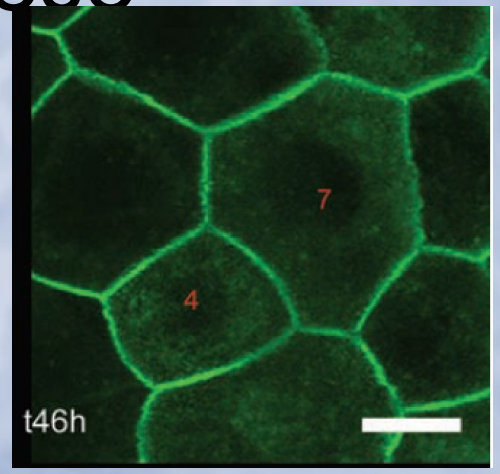
New players involved in the process of cellulose synthesis along the cortical MTs. CSC: cellulose synthase complexes; COB1: COBRA1; CSI1/CSI3: cellulose synthase interacting protein 1/3; KOR1/GH9A1: KORRIGAN1/Glycosyl Hydrolase Family 9 Class A 1; SPR2: SPIRAL2; KTN1: KATANIN1; SmaCC/MASC: small CESA-containing compartments/microtubule-associated CESA compartments.

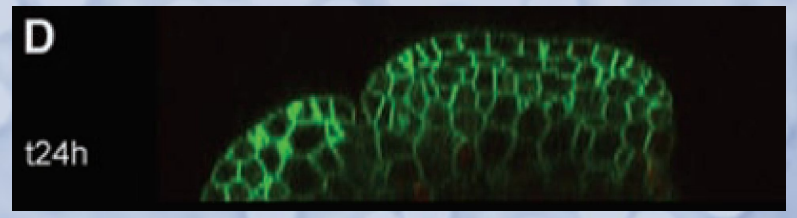
Li *et al.*, 2015

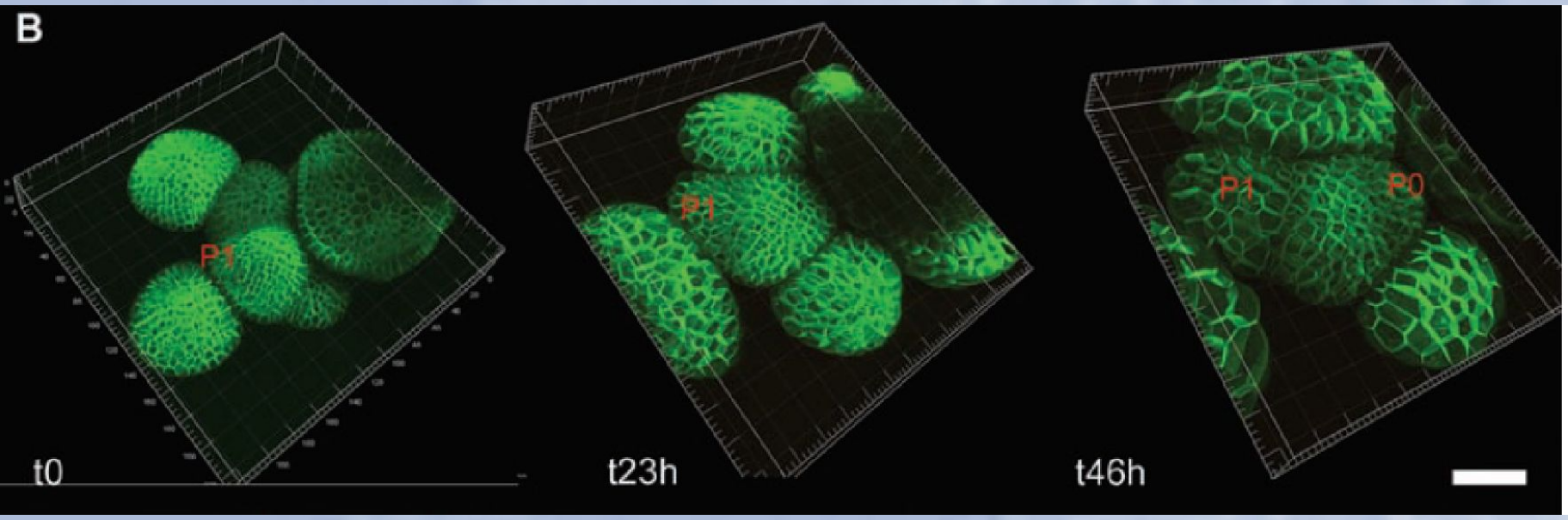
Динамика кортикальных микротрубочек (КМТ) и механическое напряжение

Деполимеризация КМТ вызывает нарушения в морфогенезе





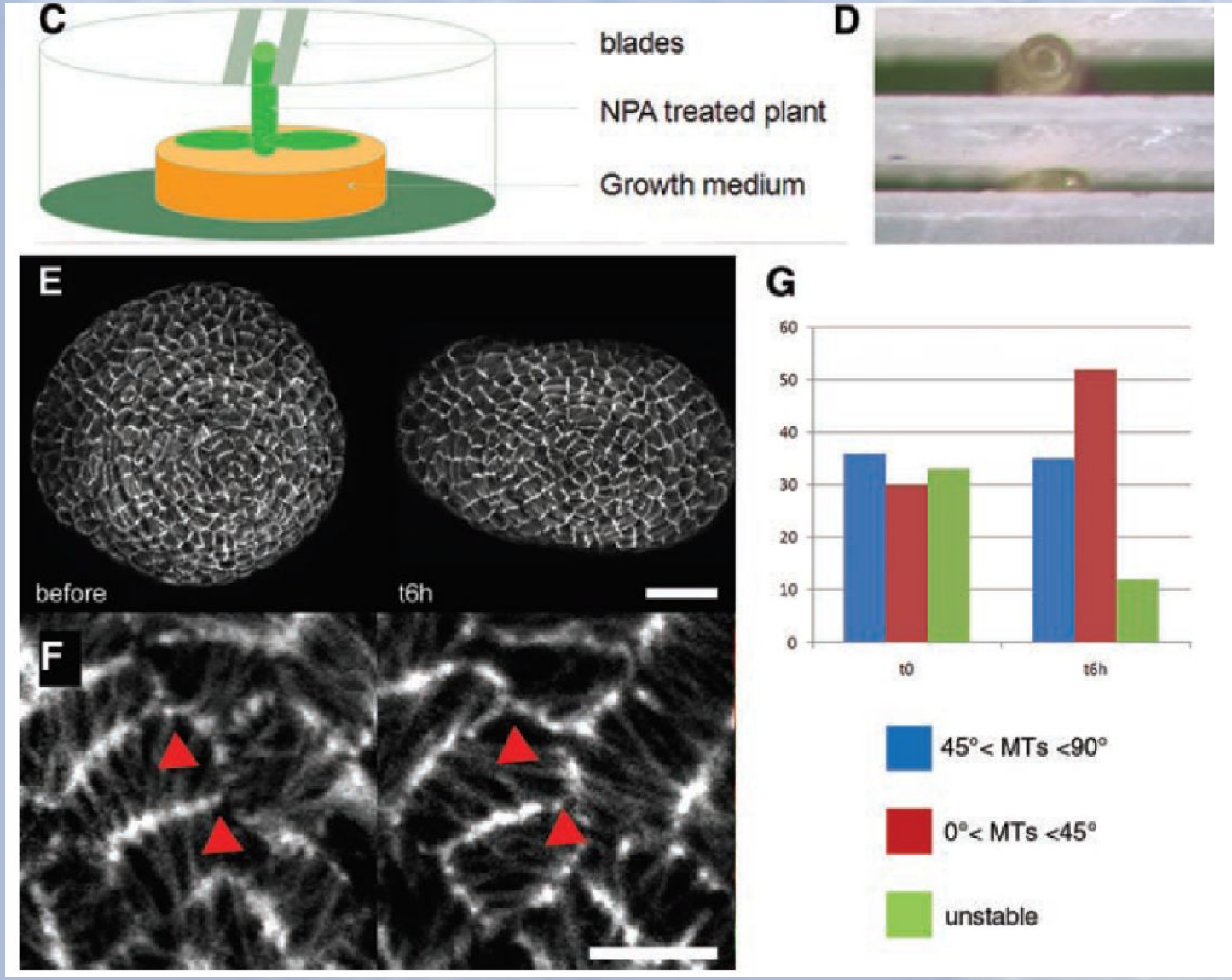




Время после действия оризалина

Hamant *et al.*, 2008

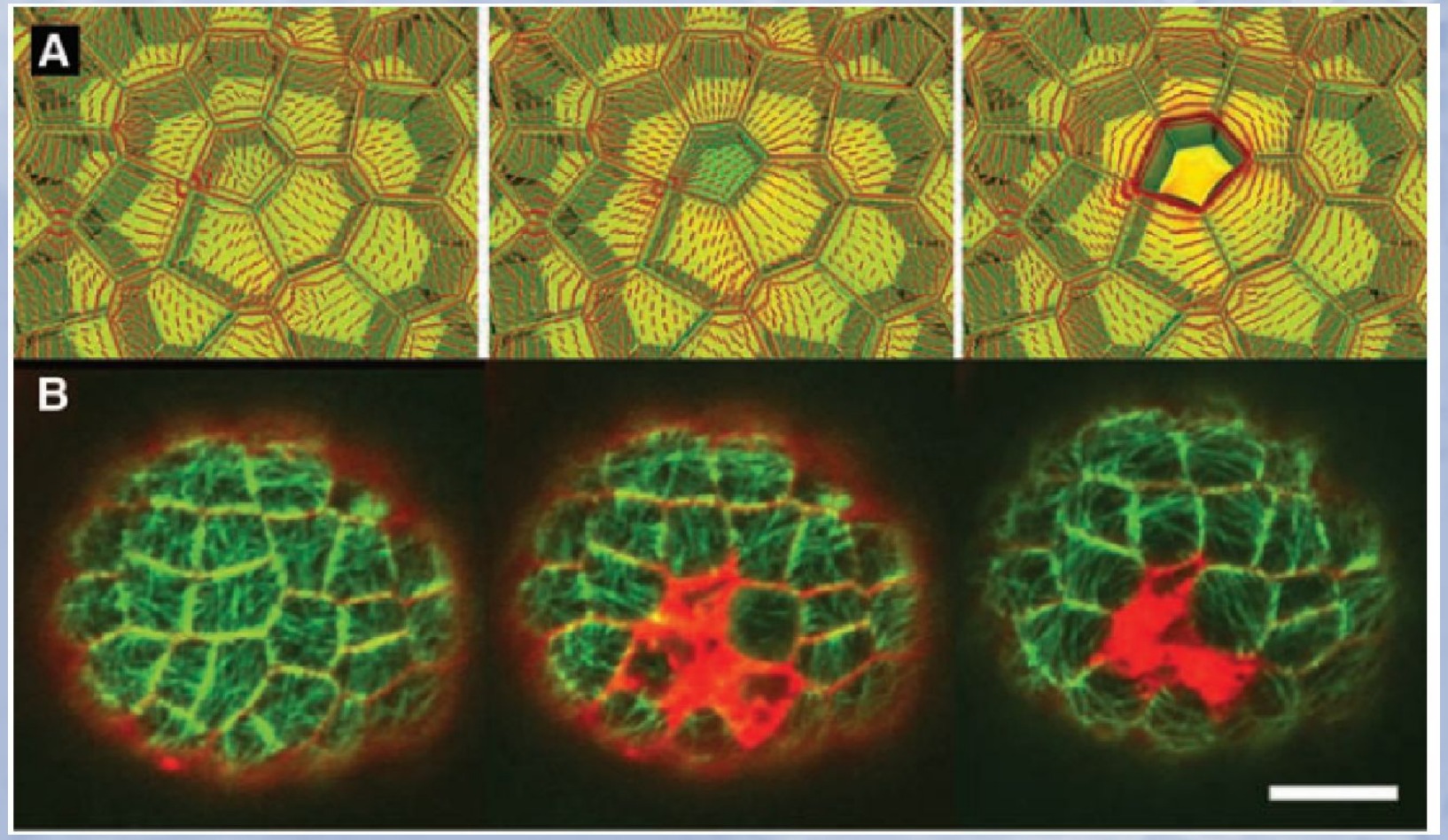
Изменение механического напряжения вызывает перераспределение КМТ



ПАМ сдавливали между двумя тефлоновыми пластинами и наблюдали за перераспределением КМТ.

Hamant *et al.*, 2008

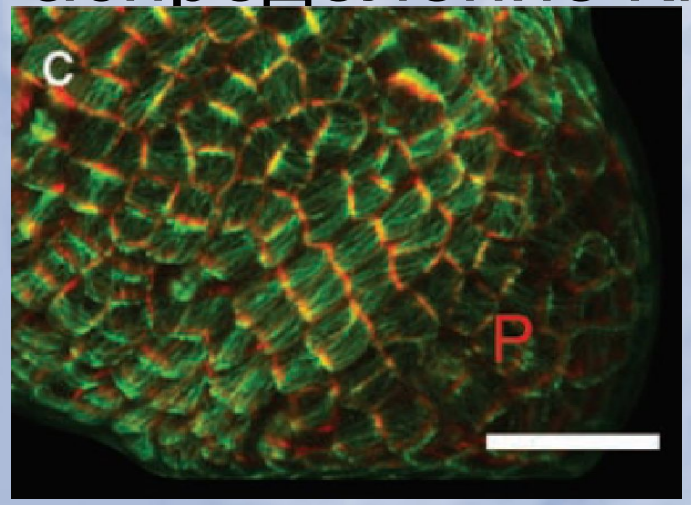
Выжигание части клеток лазером приводит к перераспределению КМТ вокруг отверстия.

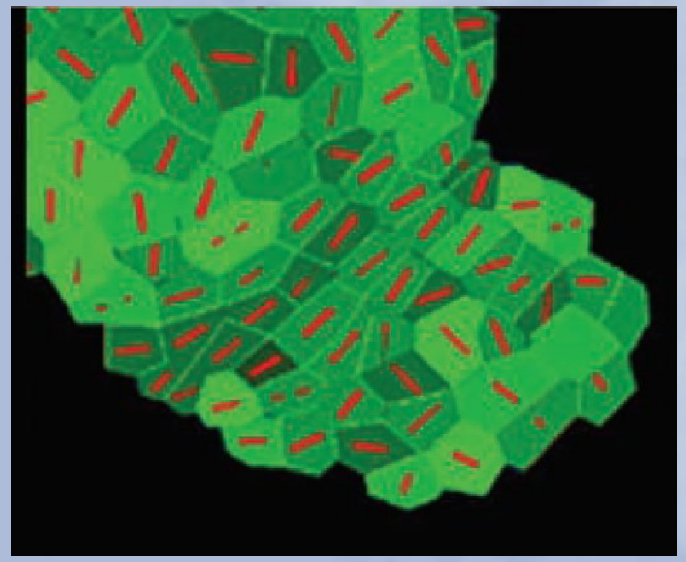


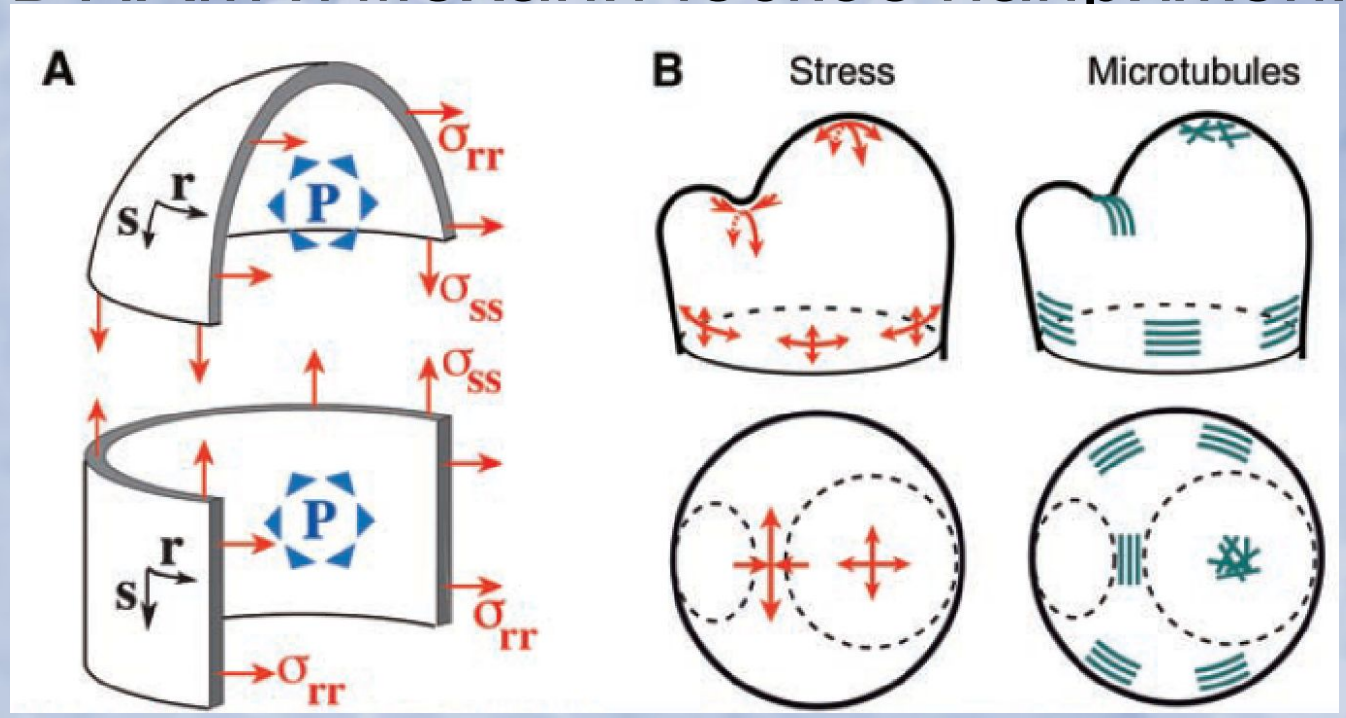
Hamant *et al.*, 2008

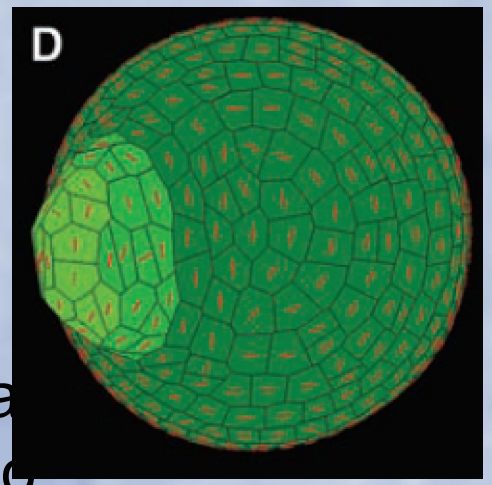
Зеленое – GFP-MBD, красное – FM4-64 (маркер

Распределение КМТ в ПАМ и механическое напряжение







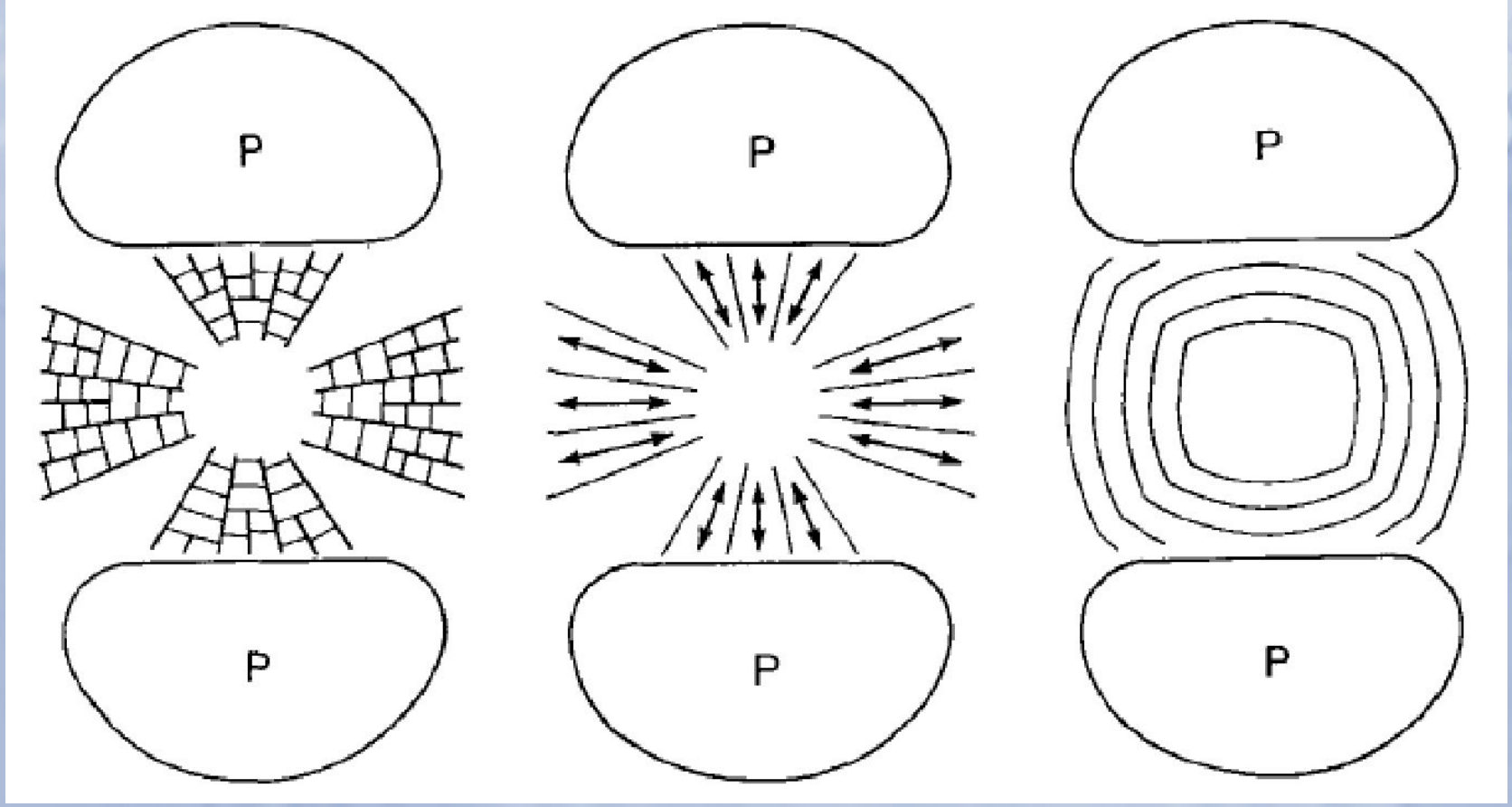


Результат моделирования распределения КМТ в соответствии с направлениями механических напряжений на основе тензорного анализа.

Направление КМТ в примордии и на границе с остальной меристемой (по конфокальным изображениям)

Hamant *et al.*, 2008

Распределение КМТ в апексе *Vinca major* L.



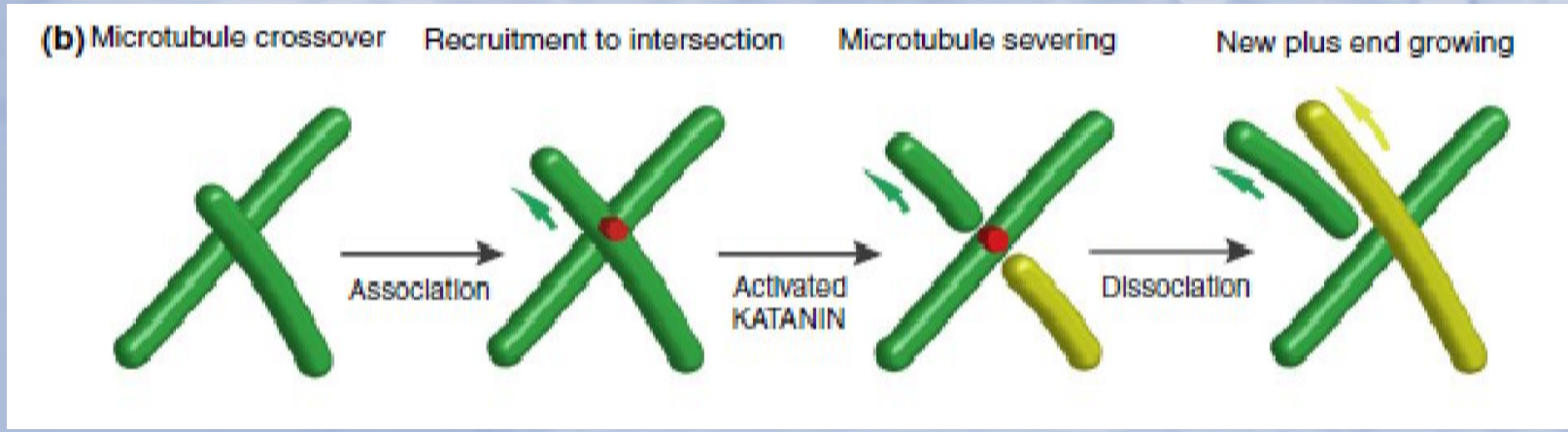
Направление делений

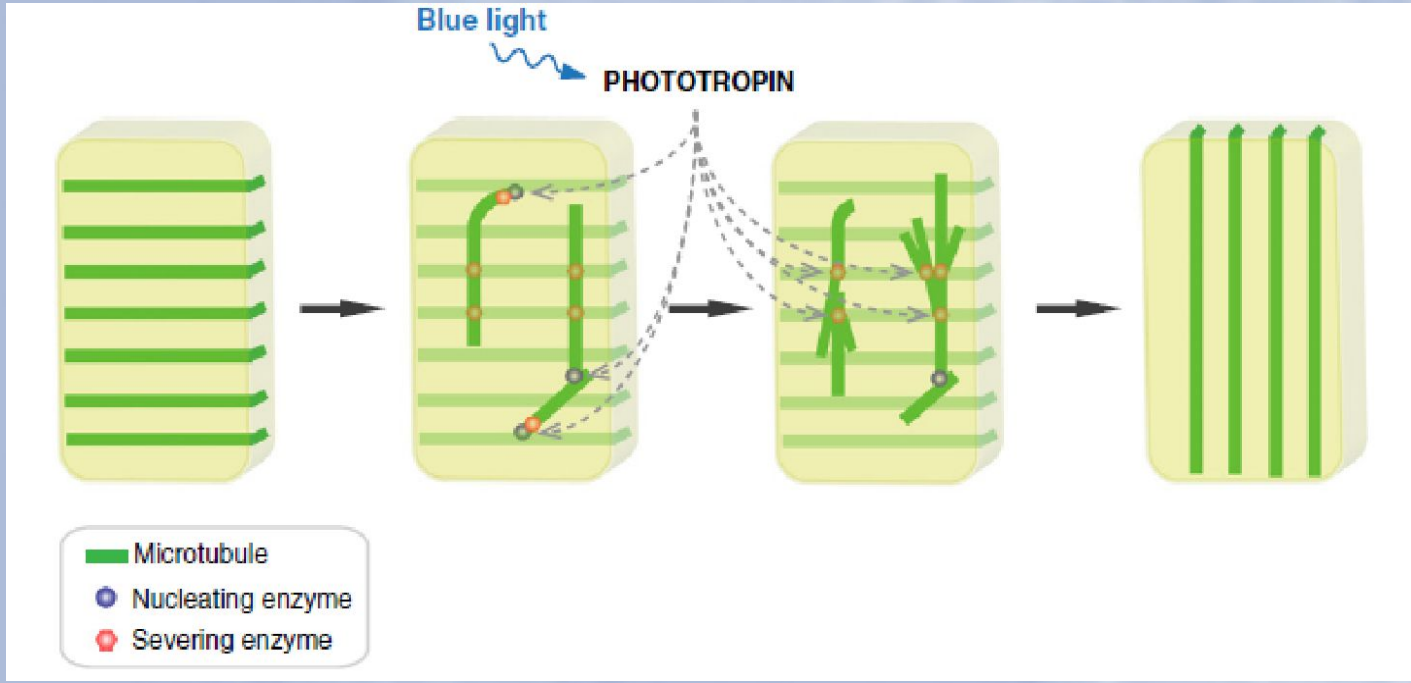
Направление растяжений

Направление КМТ

Sakaguchi *et al.*,, 1988

Катанин – белок, режущий КМТ и необходимый для их перераспределения





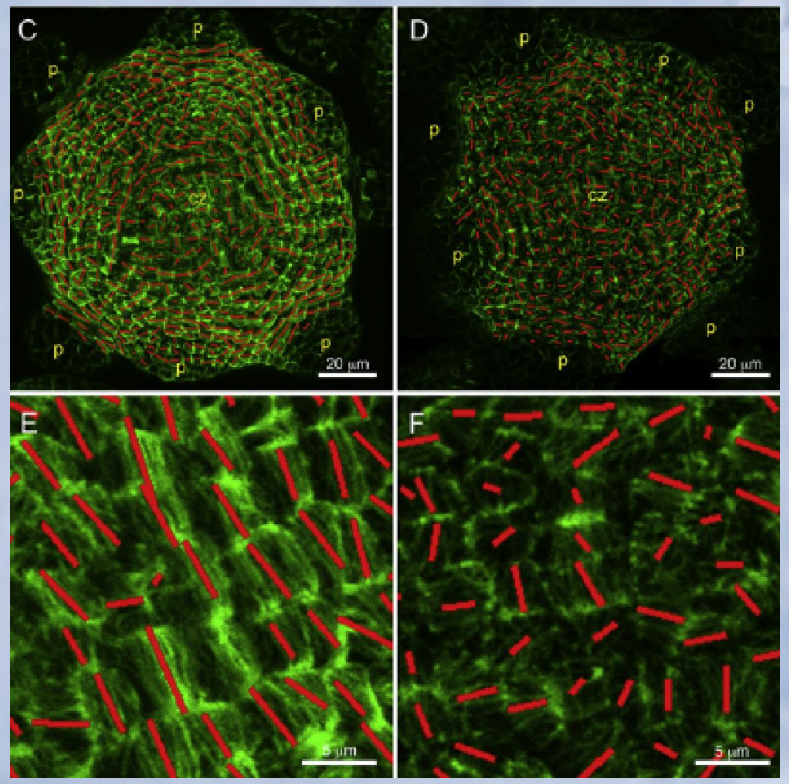
Nakamura, 2015

Мутация по гену катанина *atktn1* вызывает нарушение распределения КМТ в клетках

Мутанты по гену катанина – карлики

Bichet *et al.*, 2001

Распределение КМТ в меристеме



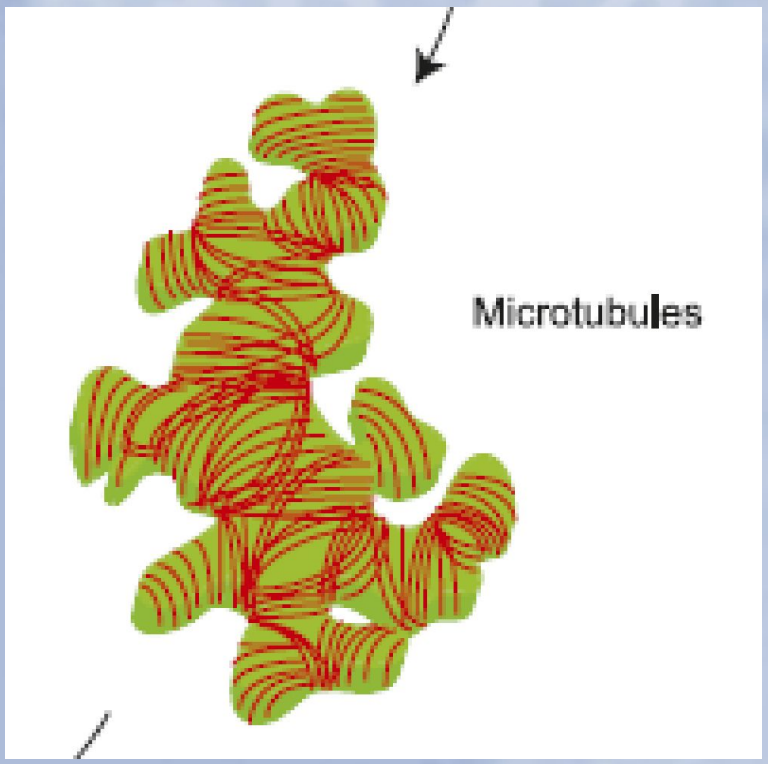
Дикий тип *atktn1*

Uyttewaal *et al.*, 2012

Atktn1 слабее отвечает на механический стресс:

- на обработку изоксабеном (ингибитором биосинтеза целлюлозы),
- на удаление лазером отдельных клеток
- на сдавливание меристемы

Лопастная клетка эпидермиса с разнонаправленными механическими напряжениями



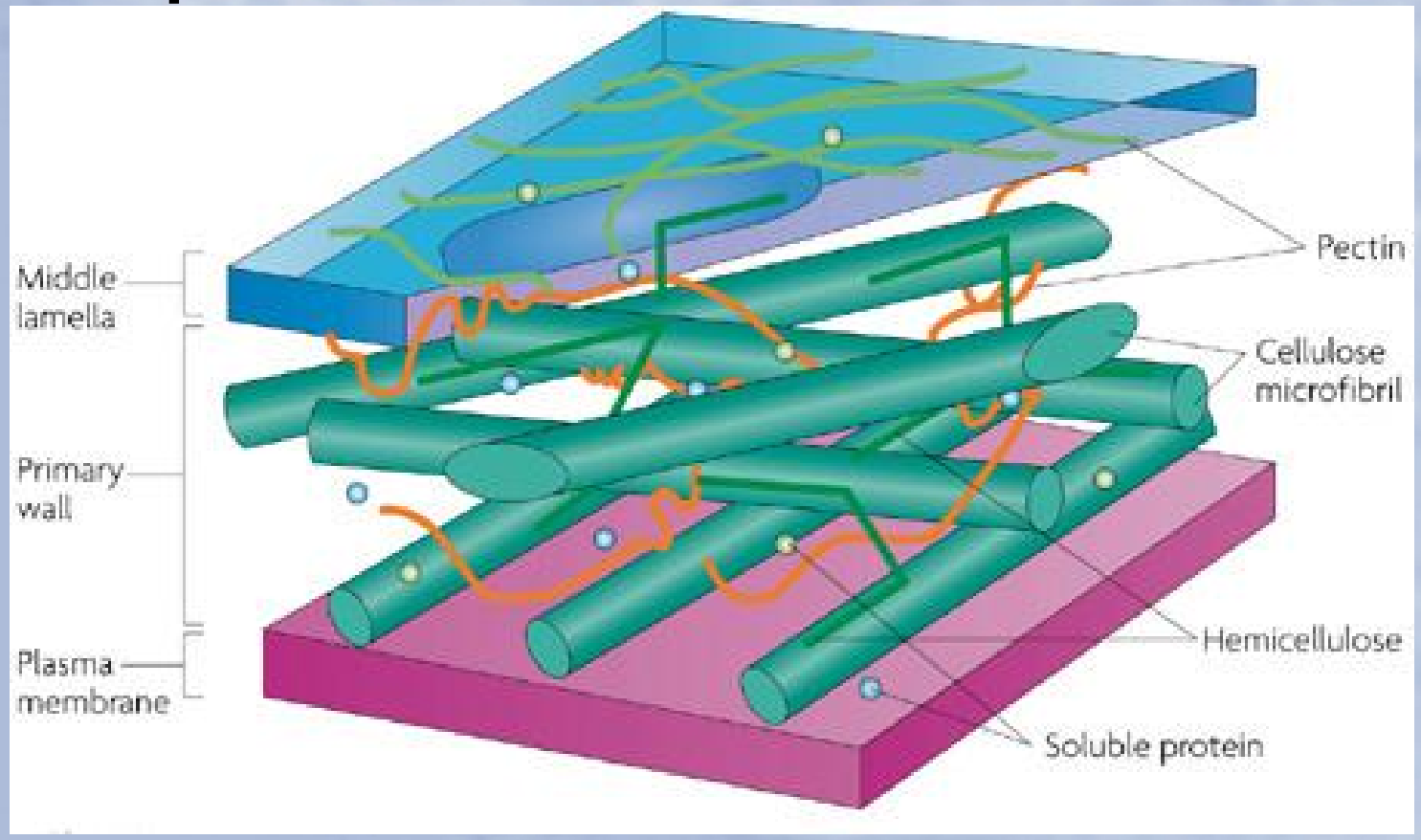
Sampathkumar *et al.*, 2014

Микротрубочки ориентируются параллельно линиям механического напряжения. Активность катанина повышается при механическом воздействии (в эксперименте – сжатии).

Катанин – сенсор механического напряжения?

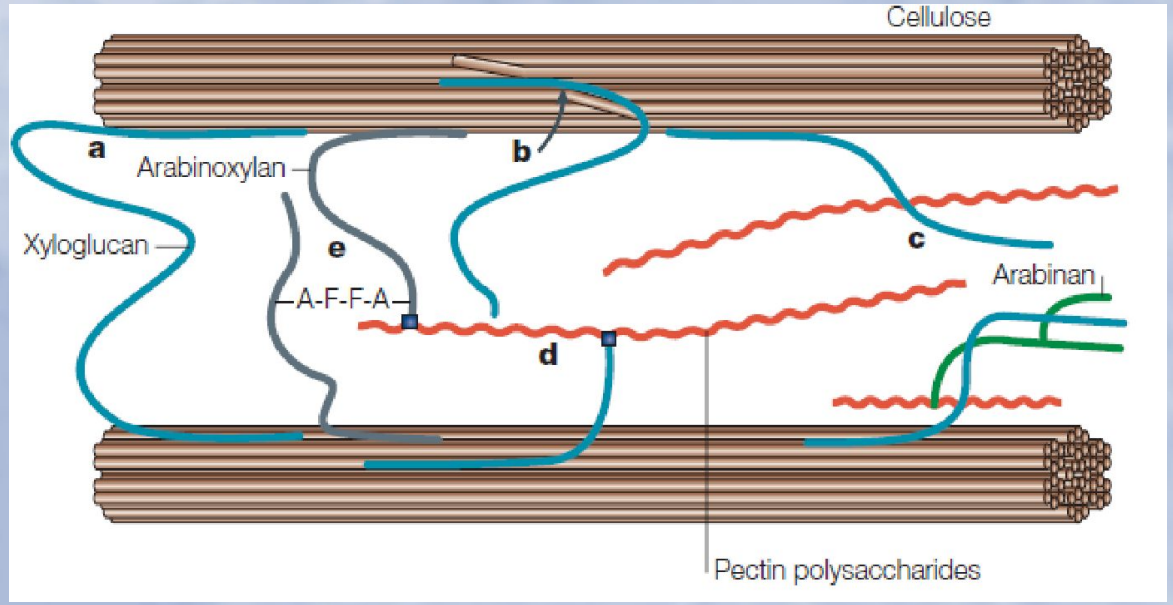
Роль компонентов клеточной стенки в механике морфогенеза

Строение первичной клеточной стенки растений

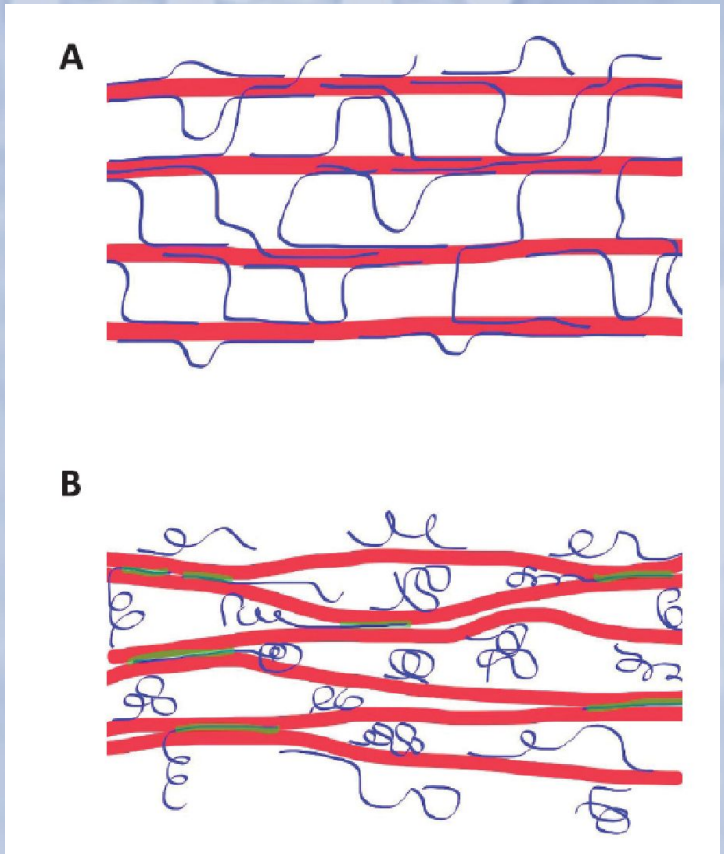


- Целлюлозные микрофибриллы
- Гликаны
- Пектины
- Белки, протеогликаны

Модели связывания целлюлозы с гликанами

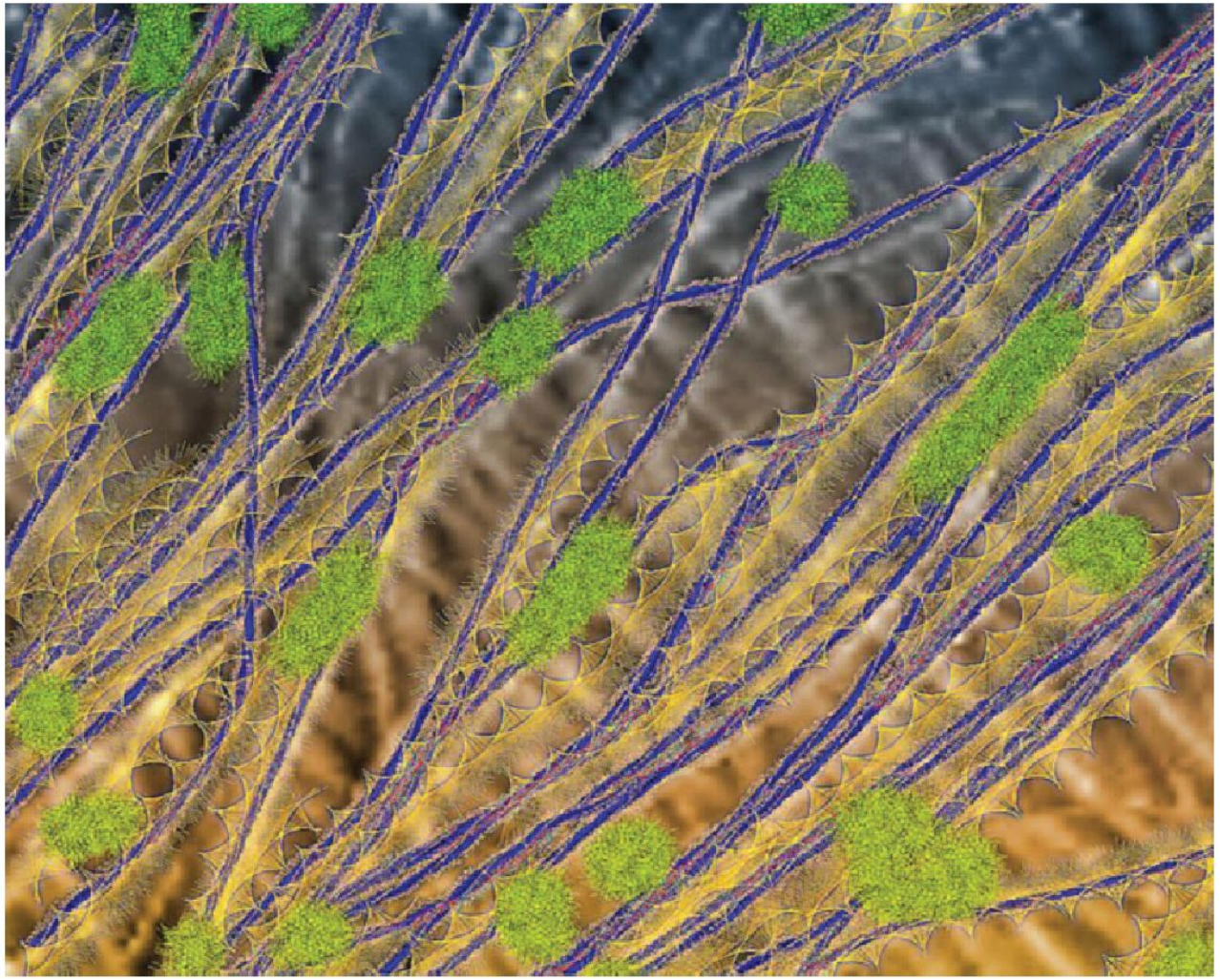


Cosgrove, 2005



Cosgrove, 2016

Модель «биохимических горячих точек» (biochemical hotspots)



Ксилоглюканы – зеленые;

Пектины – желтые;

Гипотетические места связывания целлюлозы с целлюлозой - красные

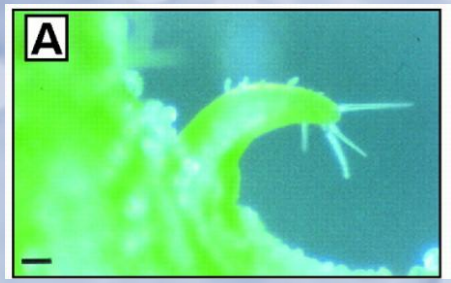
Cosgrove, 2015

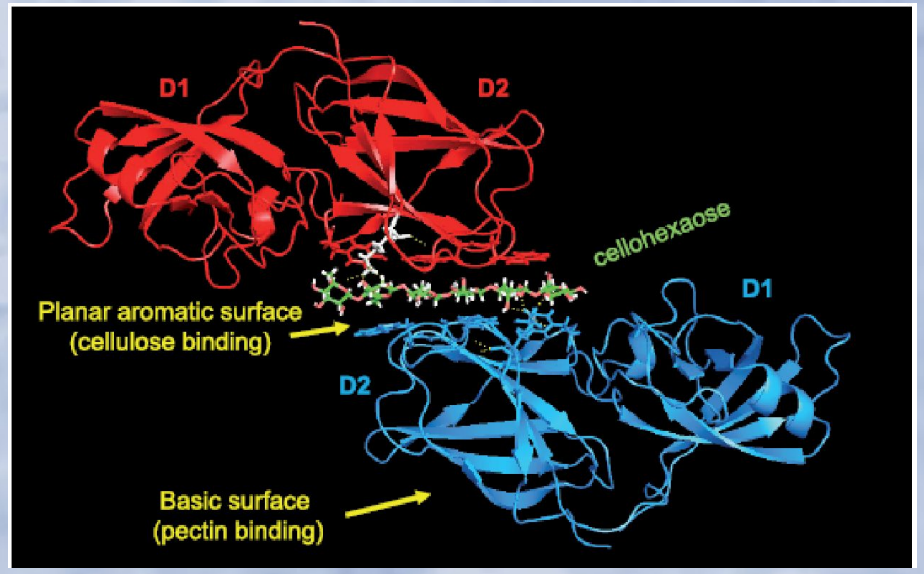
Необратимое растяжение клеточной стенки (creep)

Вызывается следующими агентами:

- Экспансины
- XTH (ксилоглюкан-эндотрансгликозилаза/гидролаза)
- Эндо-(1,4)-β-D-глюканазы
- Пектинметилэстераза
- И другие факторы (АФК, например)

Экспансины



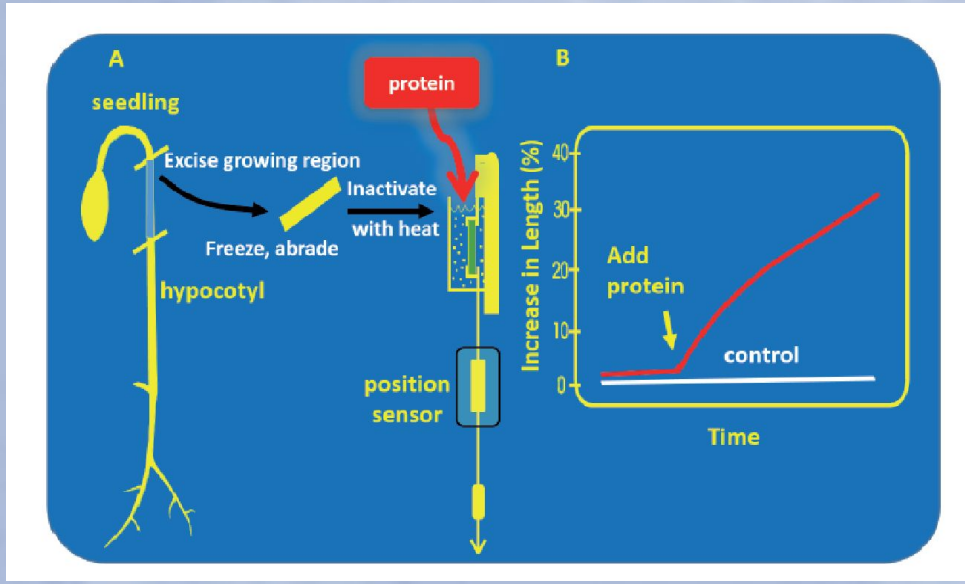


α-экспансины

Вызывают кислый рост,
при этом сами по себе не влияют на механические свойства стенки

β-экспансины

Находятся в пыльцевых зернах.
Вызывают рост растяжением, а также набухание полисахаридов стенок.

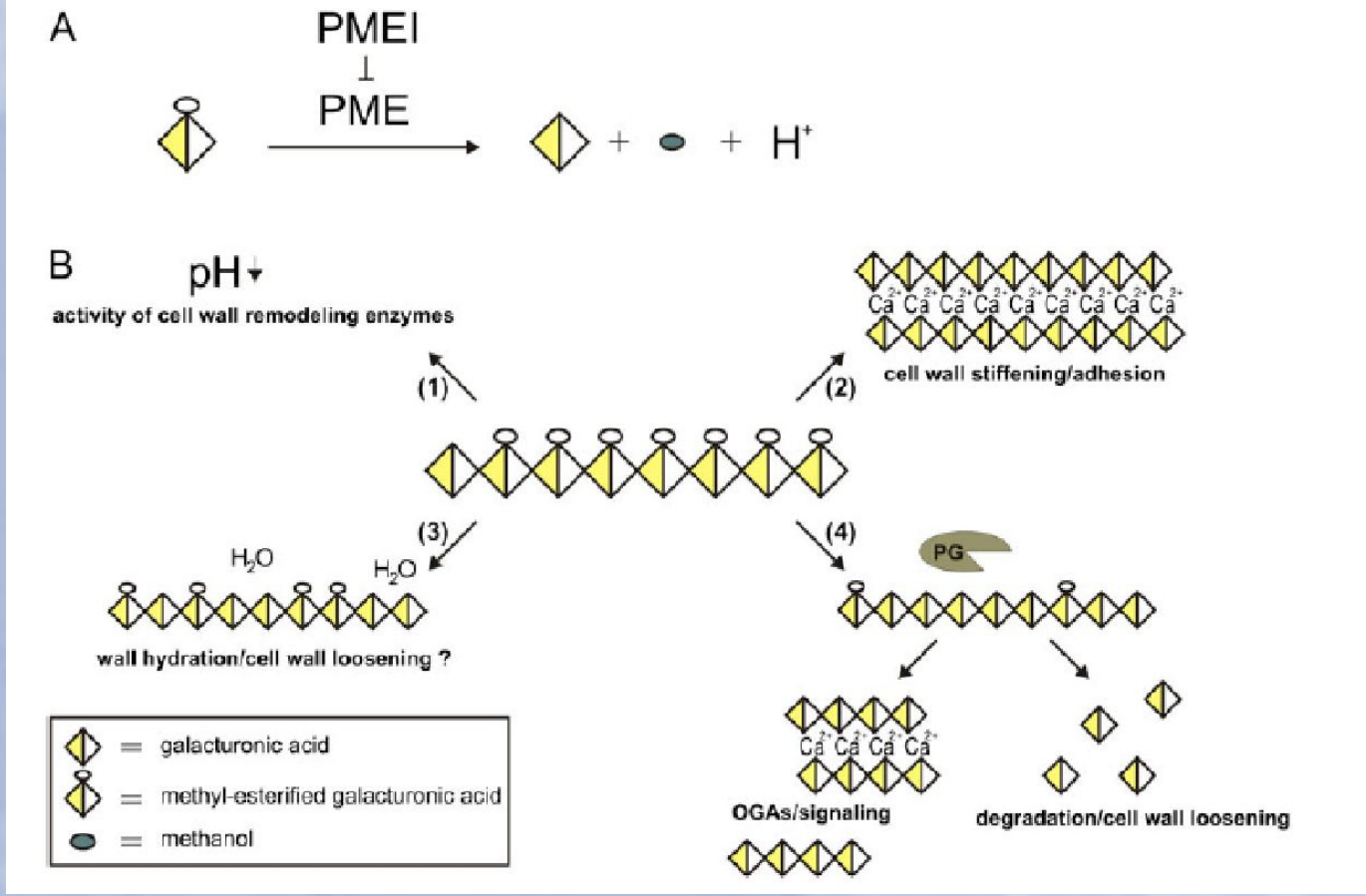


Бактериальные экспансины

Облегчают поражение растения патогеном путем растяжения клеток

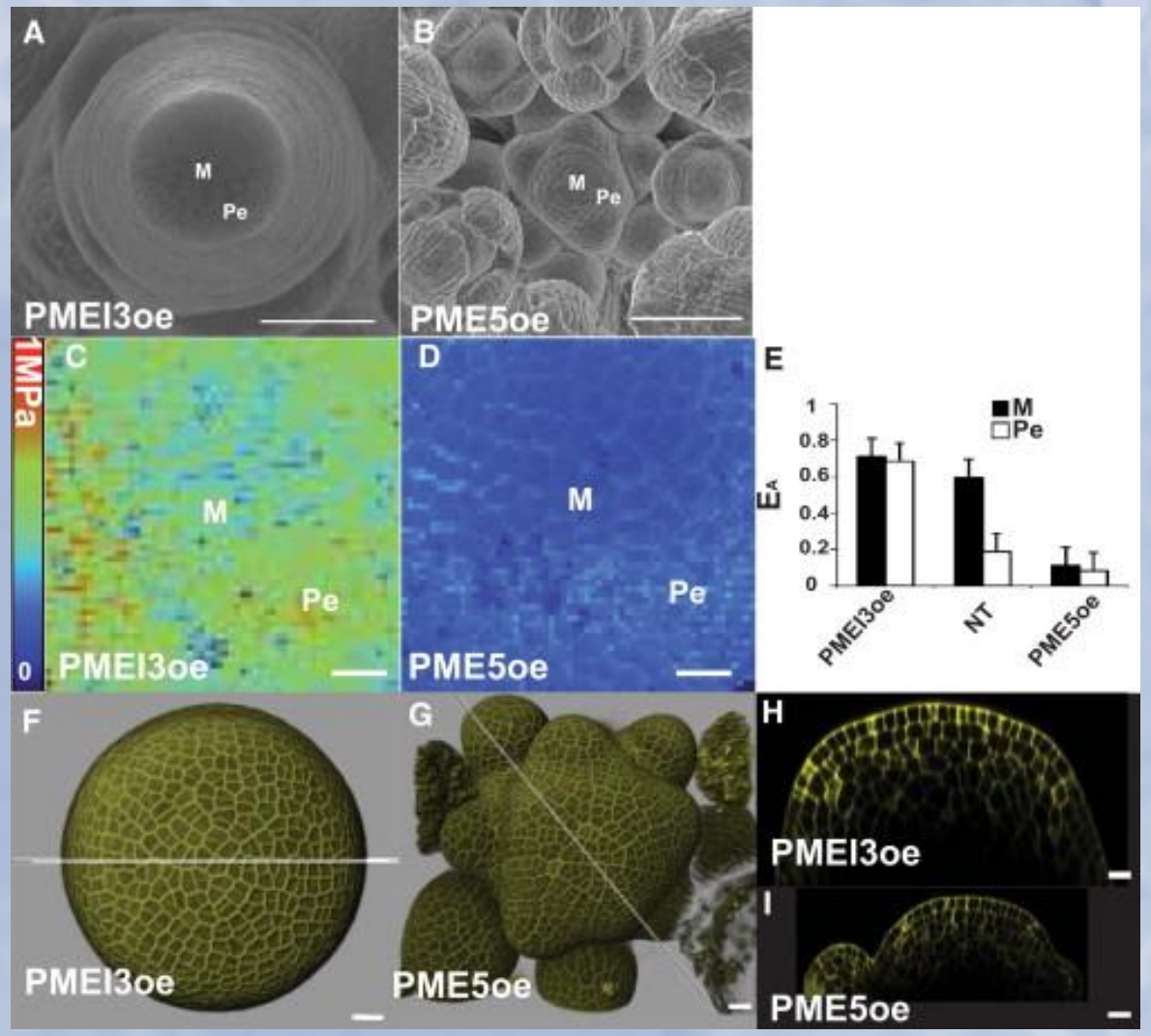
Пектин-модифицирующие ферменты

- Пектинметилэстеразы (PME)
- Эндогалактуроназы



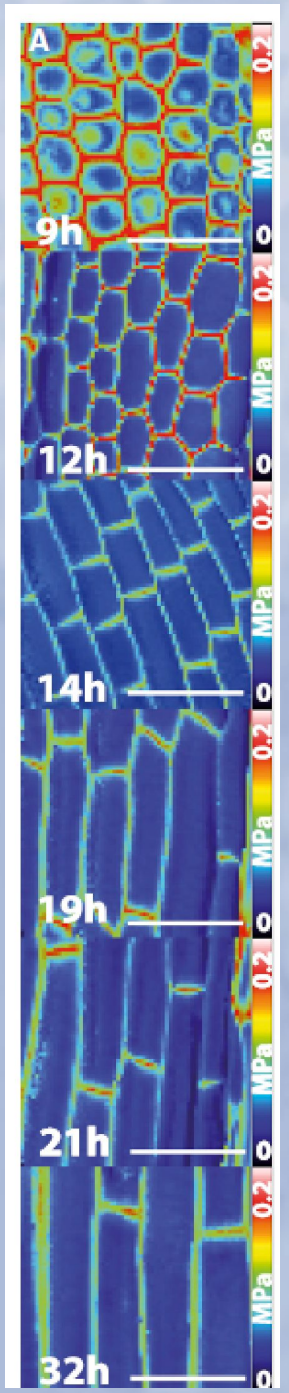
Wolf, Greiner, 2012

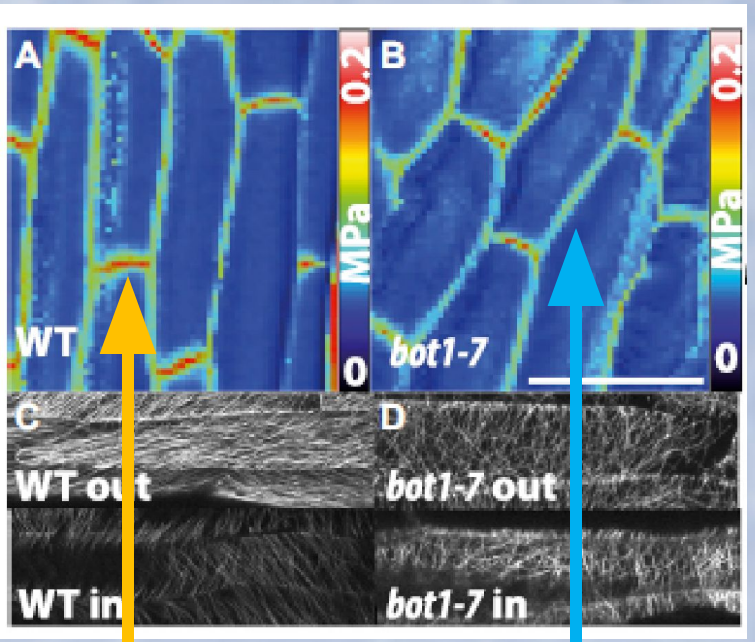
Роль пектинметилэстеразы в инициации примордиев в ПАМ

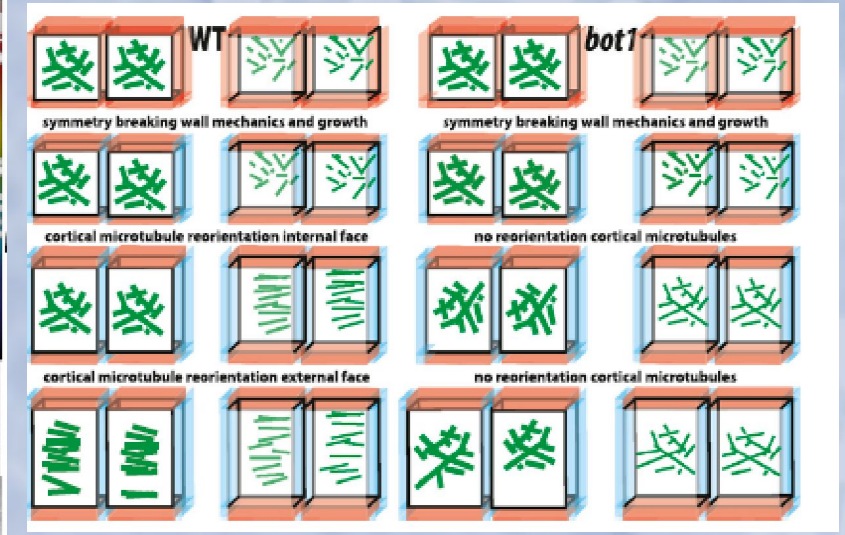


Peaucelle *et al*., 2011

Активация пектинметилэстеразы предшествует переориентации КМТ







У мутанта *bot1 (=atktn1)* КМТ не реорганизуются, но асимметрия механических свойств стенок проявляется.

Более жесткие стенки

Менее жесткие стенки

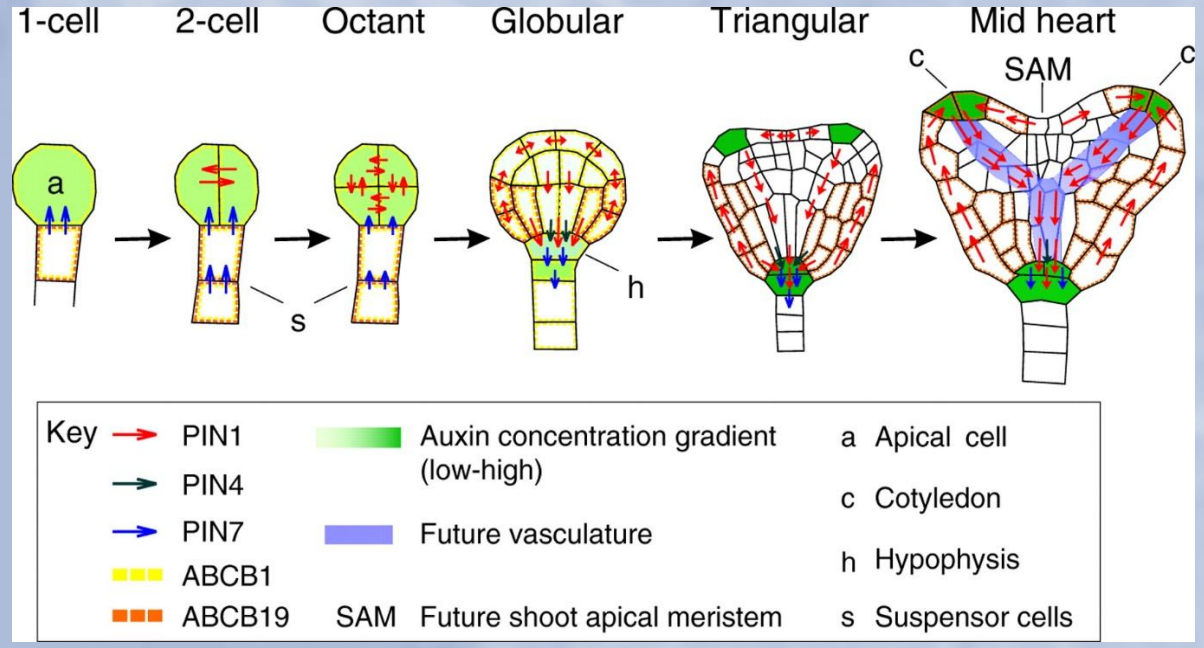
Карта жесткости стенок в динамике

Peaucelle *et al*., 2011

Ауксин и механика морфогенеза

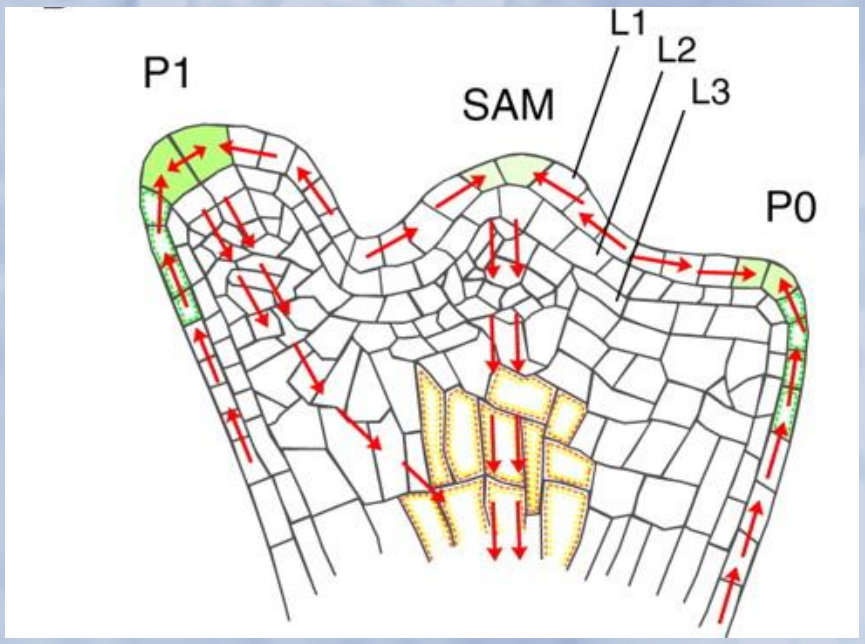
Ауксин как морфоген

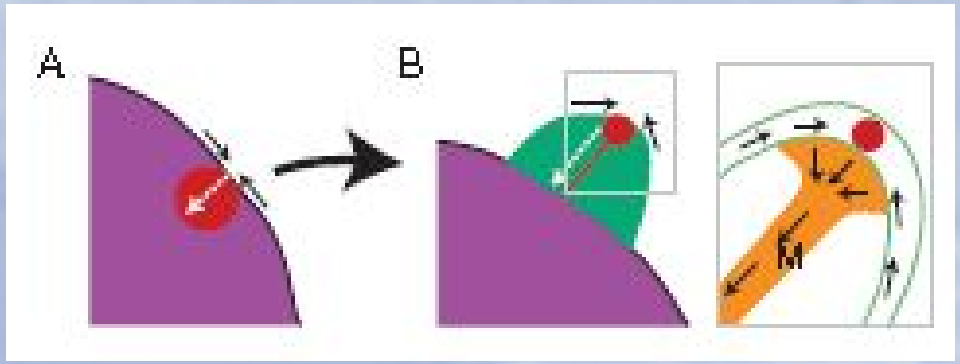
В эмбриогенезе



Petrašek, Friml, 2009

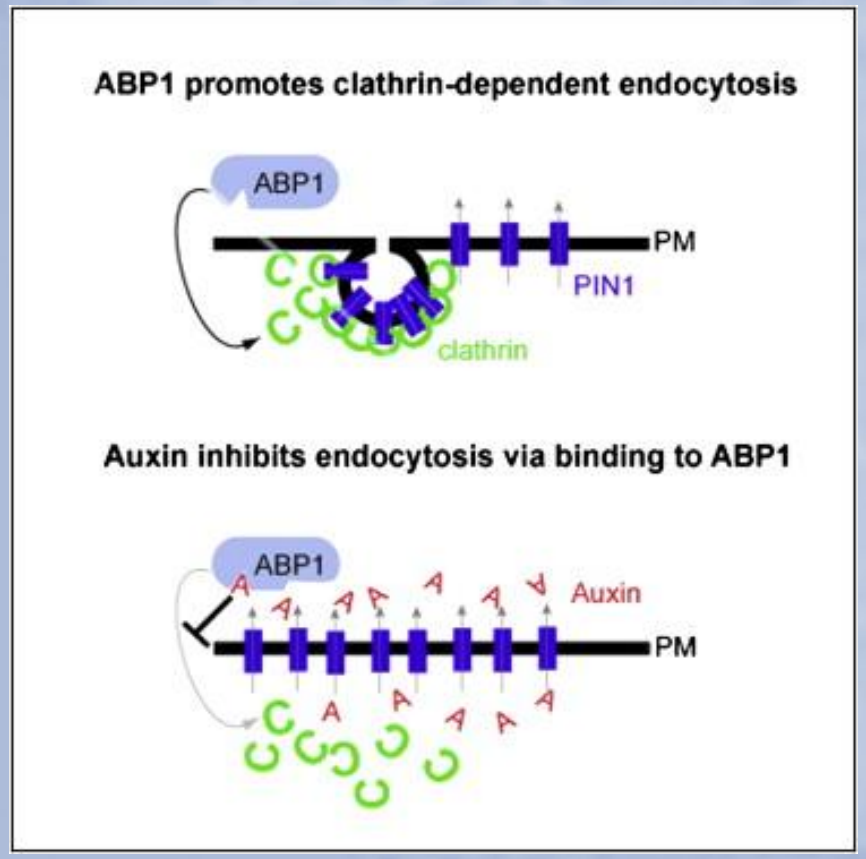
В побеговой меристеме





Scarpella *et al.*, 2006

Поляризация PIN регулируется через эндо- и экзоцитоз



Robert *et al., 2010*

Корень

- Без ауксина:

ABP1 стимулирует клатрин-зависимый эндоцитоз.

- С ауксином:

ABP1+ауксин – активация

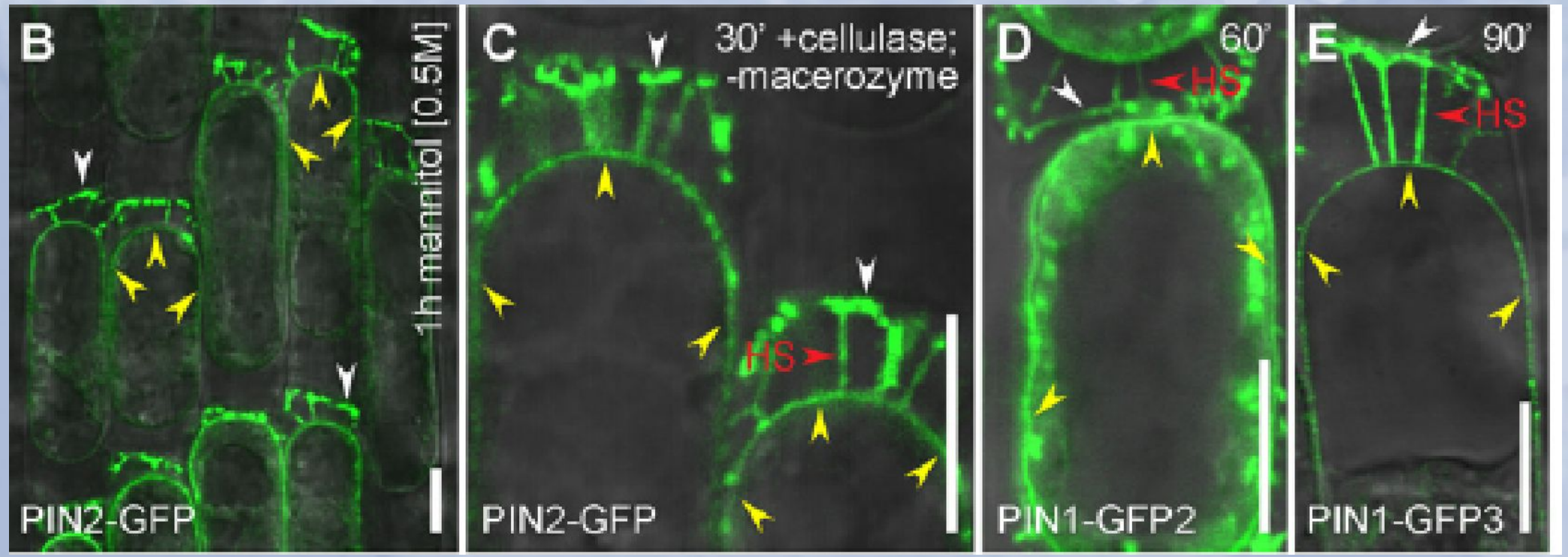
ROP6 – ингибирование

клатрин-зависимого эндоцитоза

Ауксин и механическое напряжение

- Чем больше механическое напряжение, тем больше переносчиков PIN1 представлено на плазматической мембране и тем больше PIN1 приходится на клетку (Nakayama *et al.*, 2012)

Для поляризации PIN необходима клеточная стенка



Обработка клеток целлюлазой приводит к снижению поляризации PIN.

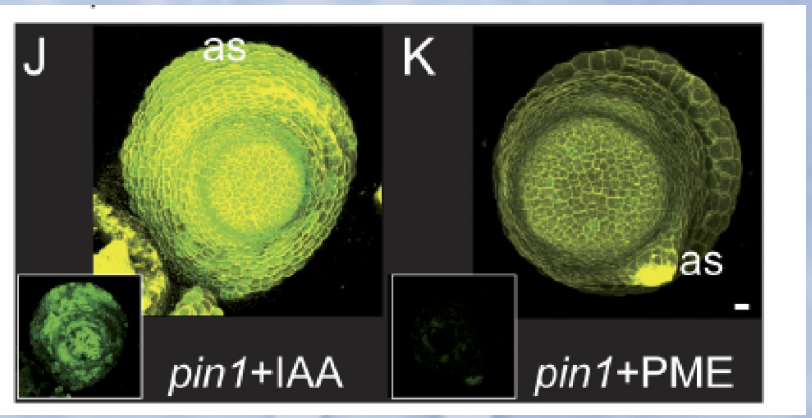
Мутант *repp3* (он же *cesa3*) имеет нарушенную полярность PIN.

Feraru *et al.*, 2011

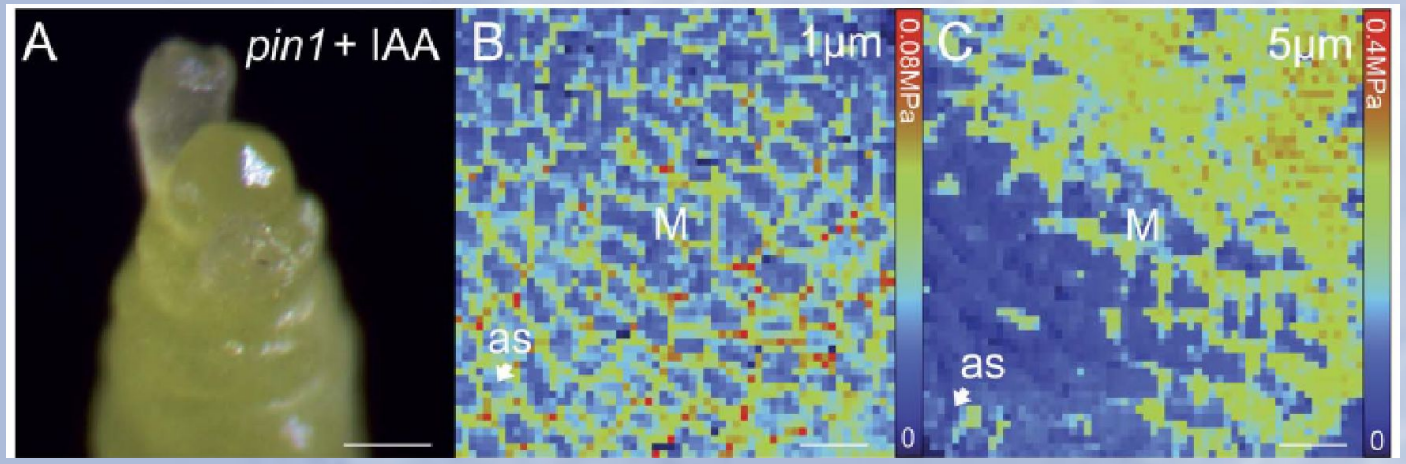
Ауксин

Пектинметилэстераза

Стенка становится более эластичной



ПМЭ, приложенная к мутанту *pin1,* повышает эластичность стенок, но приводит к формированию выроста, не превращающегося в настоящий примордий.

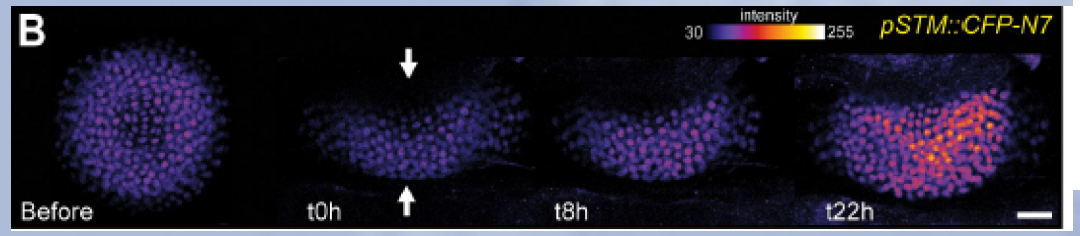


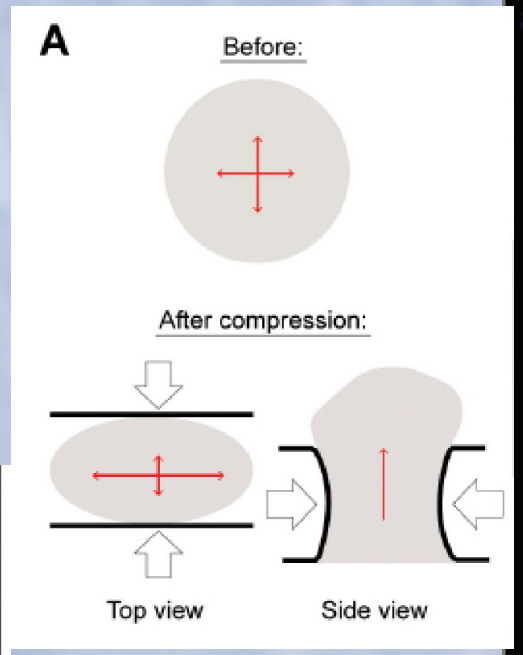
Braybrook, Peaucelle., 2013

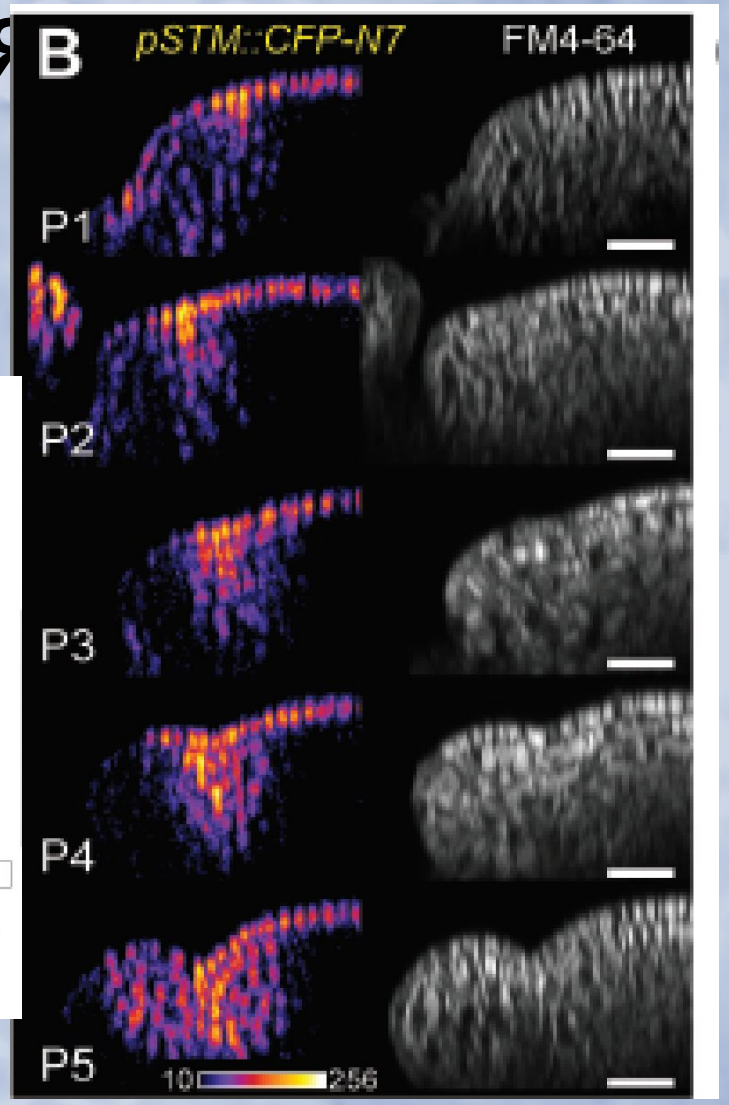
Другие регуляторы морфогенеза и механические напряжения

STM – маркер центральной зоны меристемы. Он также экспрессируется в зоне «седловины» между примордием и остальной меристемой.

Микромеханические воздействия показали экспрессию *STM* в ответ на них при сдавливании.

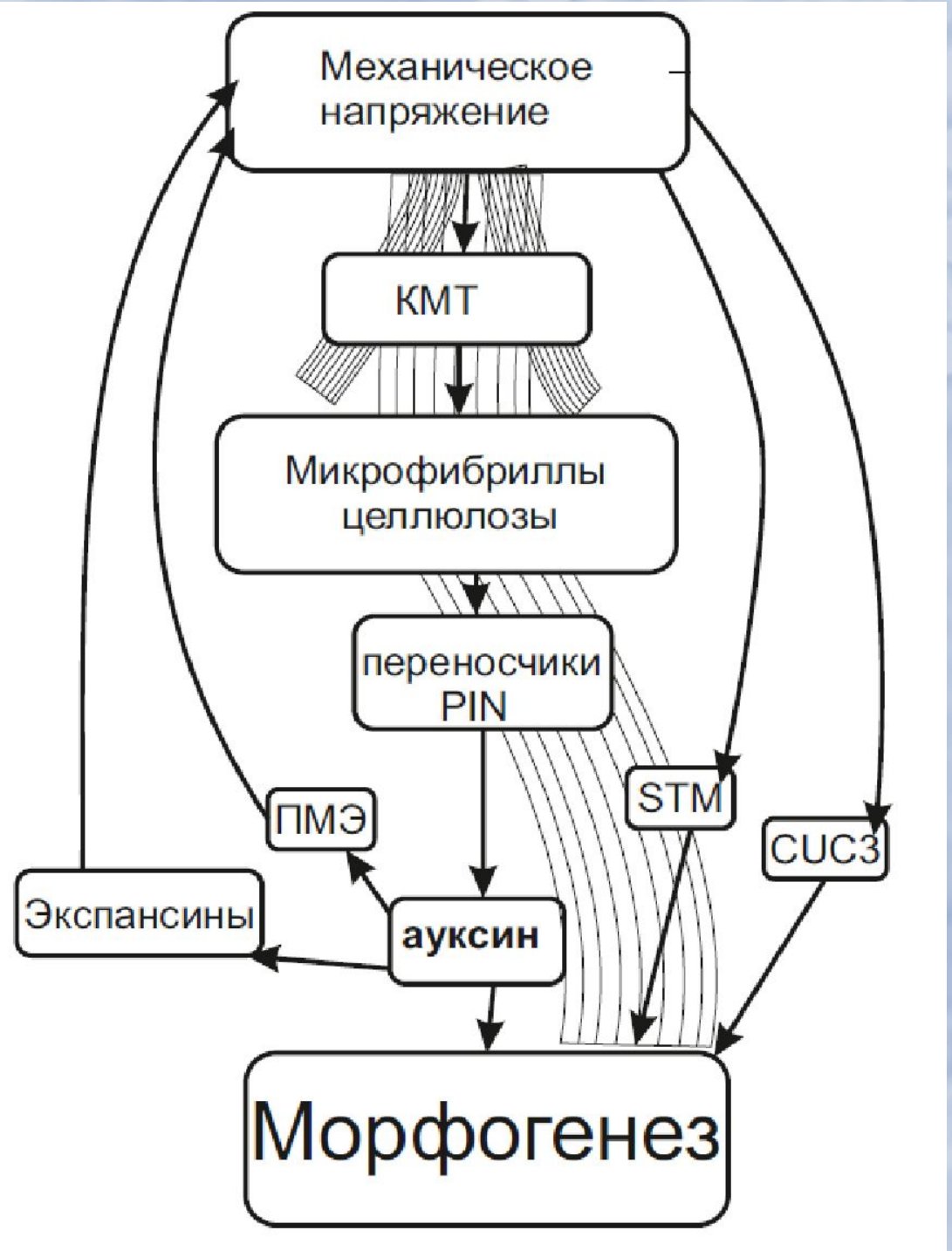






Landrein *et al.*, 2015

Возможные взаимосвязи разных компонентов, влияющих на морфогенез ПАМ и реагирующих на механическое напряжение.



Спасибо за внимание!