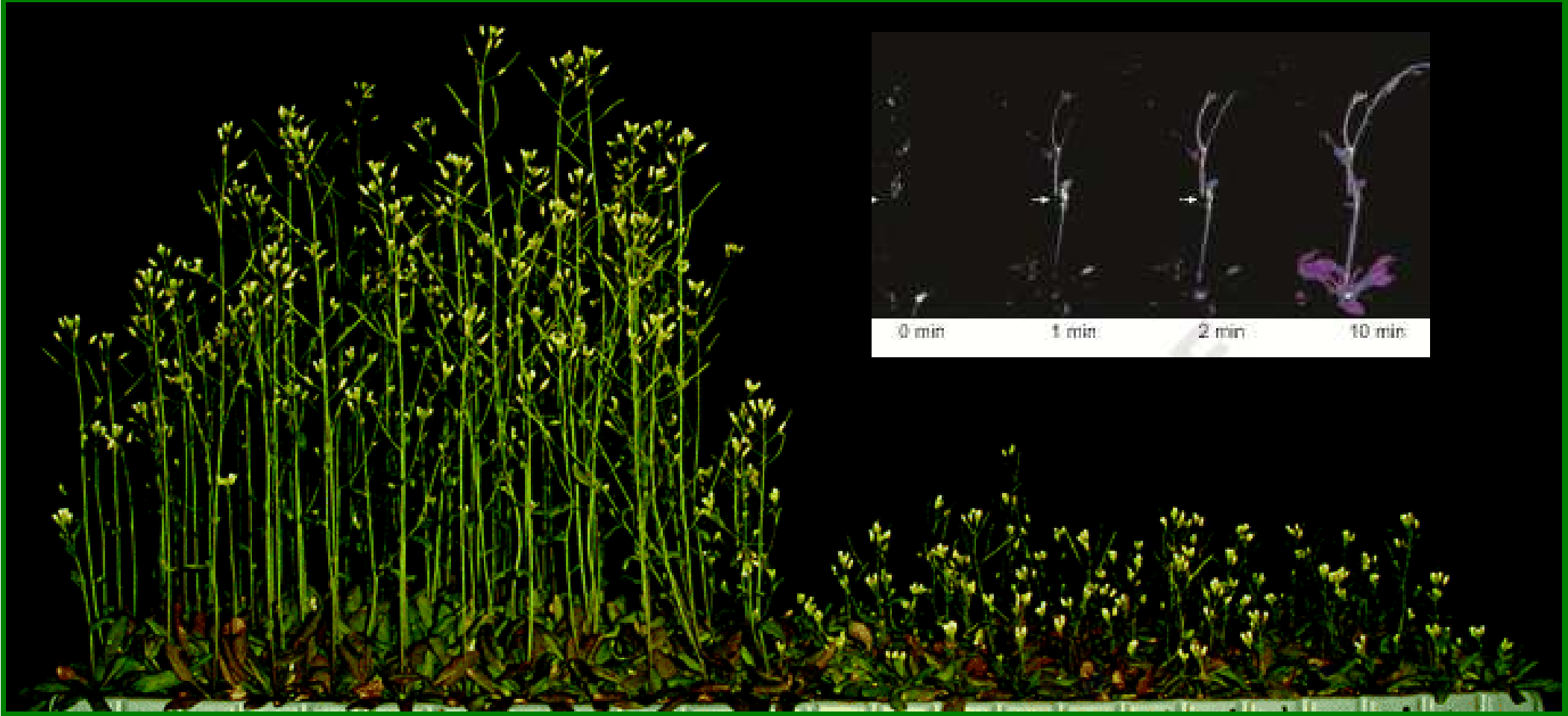
Механочувствительность растений

Бибикова Т.Н.

Кафедра Физиологии Растений

МГУ им. М.В. Ломоносова

Механочувствительность растений



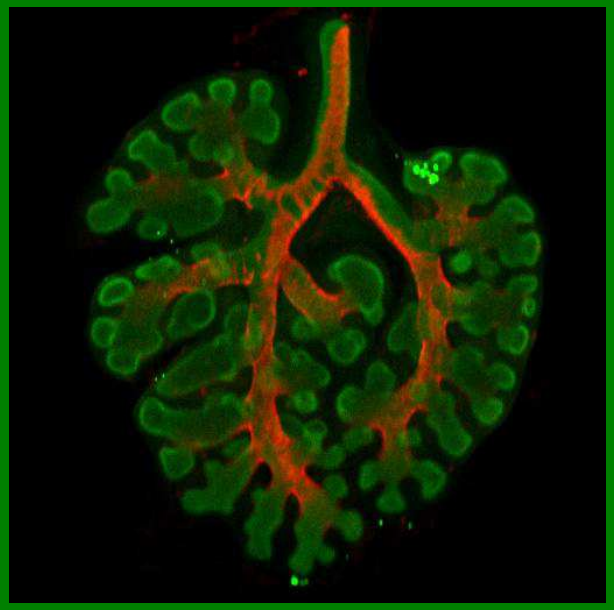
Braam, 2007

Механочувствительность животных

быстрые реакции

активация механорецепторов человека

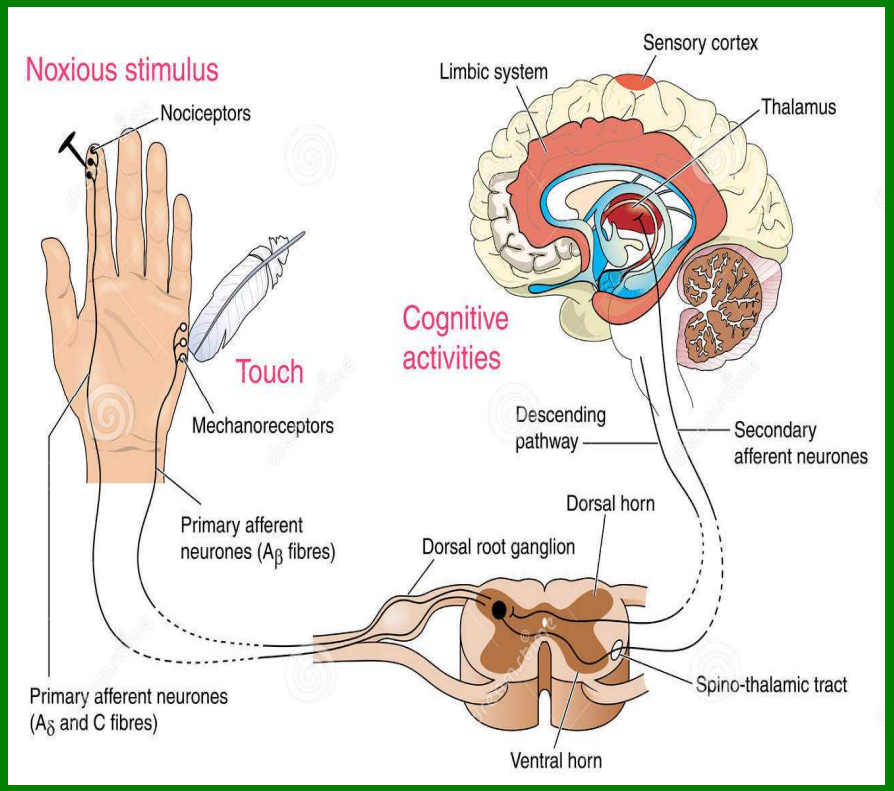
медленные реакции



развитие легочной ткани

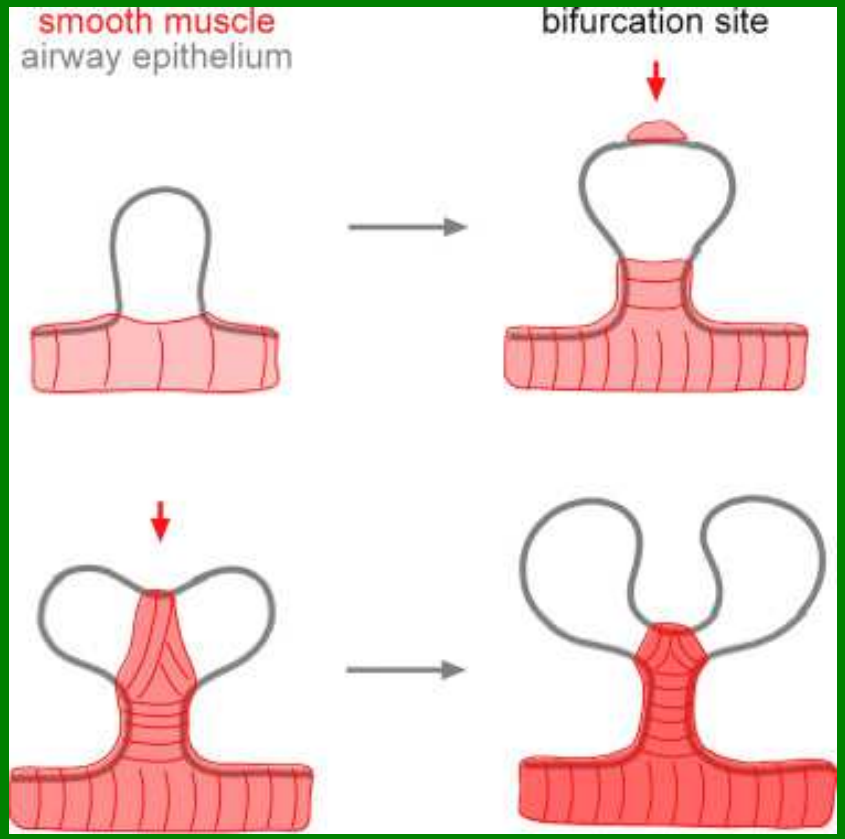
Механочувствительность животных

быстрые реакции



Активация рецептора и нервный импульс

медленные реакции

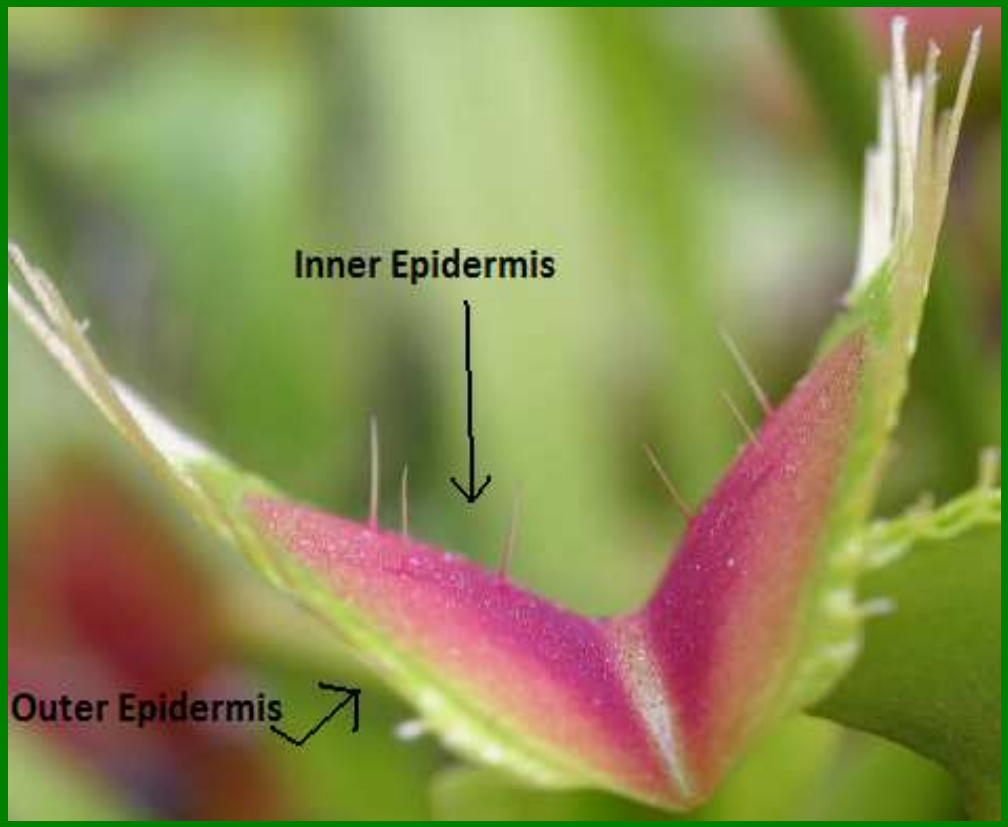


развитие легочной ткани

Механочувствительнось растений

Механочувствительность растений

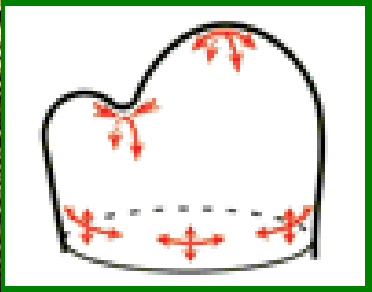
быстрые реакции

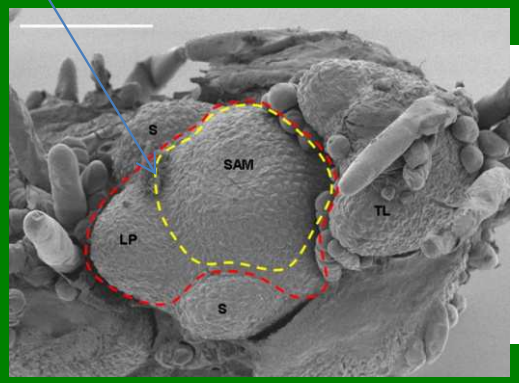


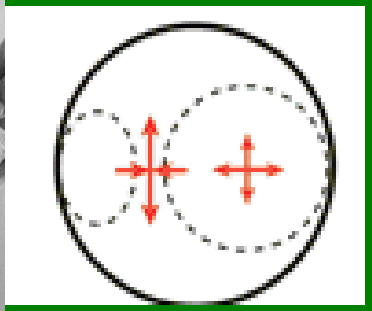
медленные реакции

Механочувствительность растений: медленные реакции

•Клетки подверженные максимальному механическому стрессу находятся в углублении между меристемой и примордием



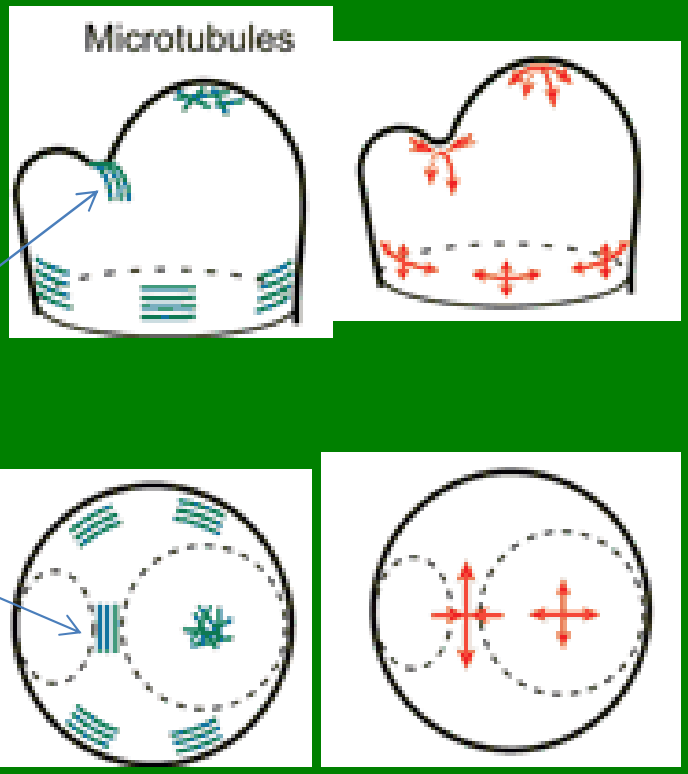




Механочувствительность растений медленные реакции

- Клетки подверженные максимальному механическому стрессу находятся в углублении между меристемой и примордием

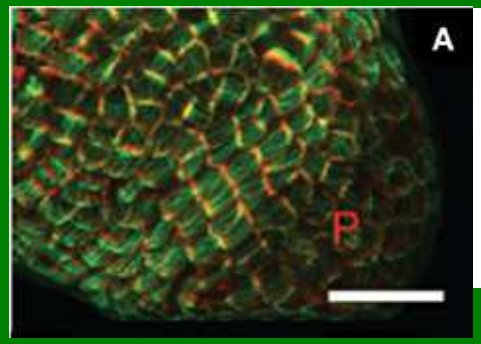
- Ориентация микротрубочек параллельна ориентации максимального механического стресса

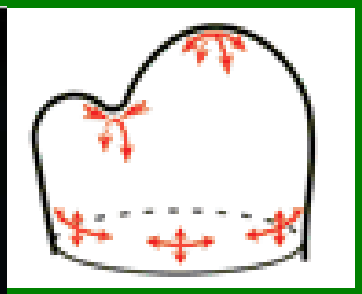


Moulia et al., 2015

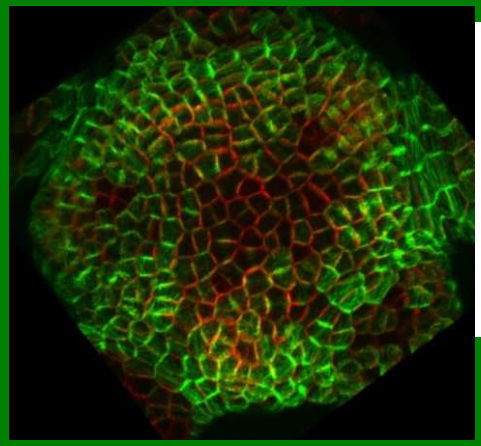
Механочувствительность растений медленные реакции

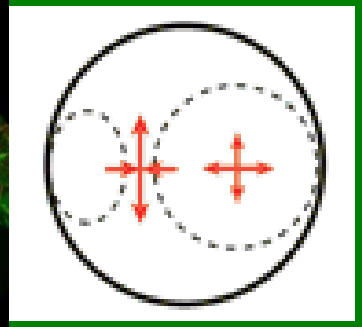
- Клетки подверженные максимальному механическому стрессу находятся в углублении между меристемой и примордием





- Ориентация микротрубочек параллельна ориентации максимального механического стресса



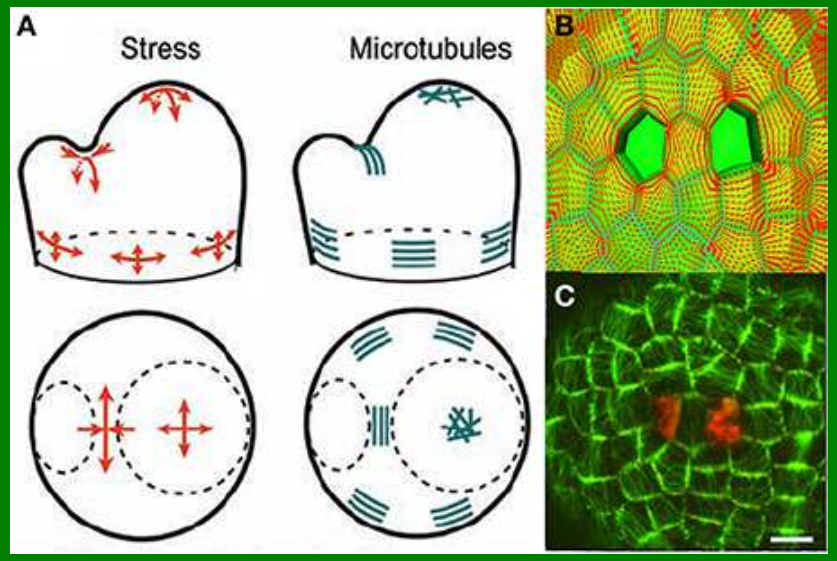


Moulia et al., 2015

Механочувствительность растений: медленные реакции

•Ориентация микротрубочек параллельна ориентации максимального механического стресса

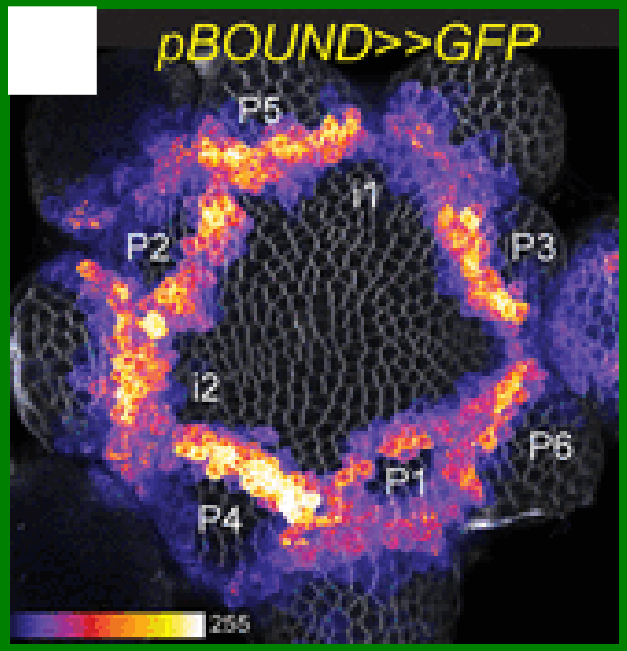
• Изменение механического окружения клеток вызывает реориентацию микротрубочек.



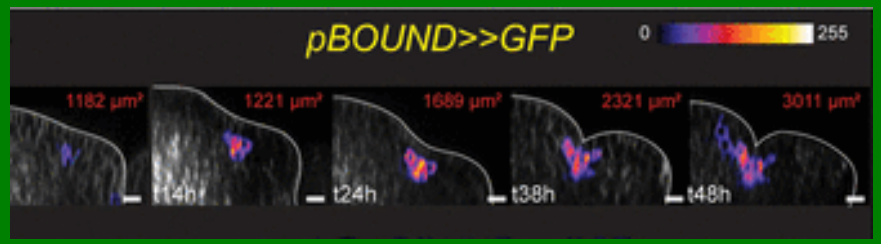
Hamant et al., 2008

Механочувствительность растений: медленные реакции

•Клетки подверженные максимальному механическому стрессу находятся в углублении между меристемой и примордием



•Клетки экспрессирующие фактор транскрипции STM находятся в областях, подверженных максимальному механическому стрессу



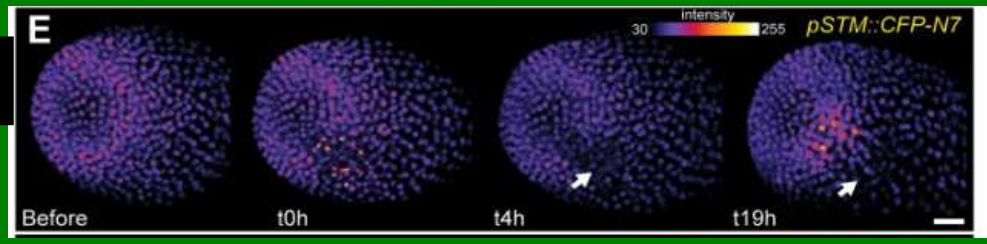
Landrein et al., 2015

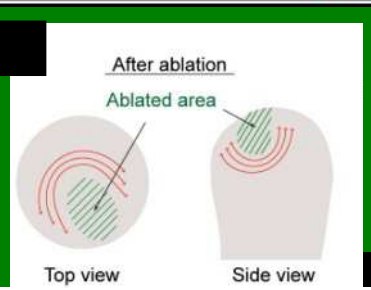
Механочувствительность растений: медленные реакции

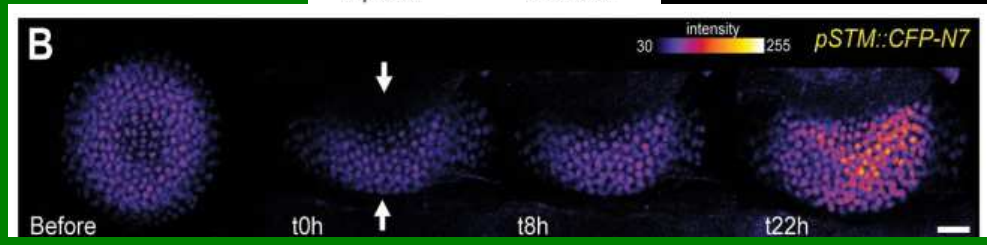
•Экспрессия транскрипционного фактора STM определяется ориентацией механического стресса

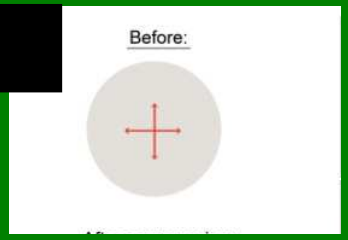
•Клетки экспрессирующие фактор транскрипции STM находятся в областях, подверженных максимальному механическому стрессу

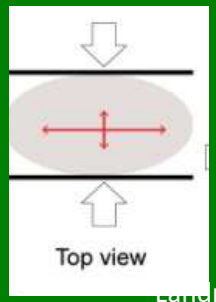
• Изменения механического стресса вызывают изменения





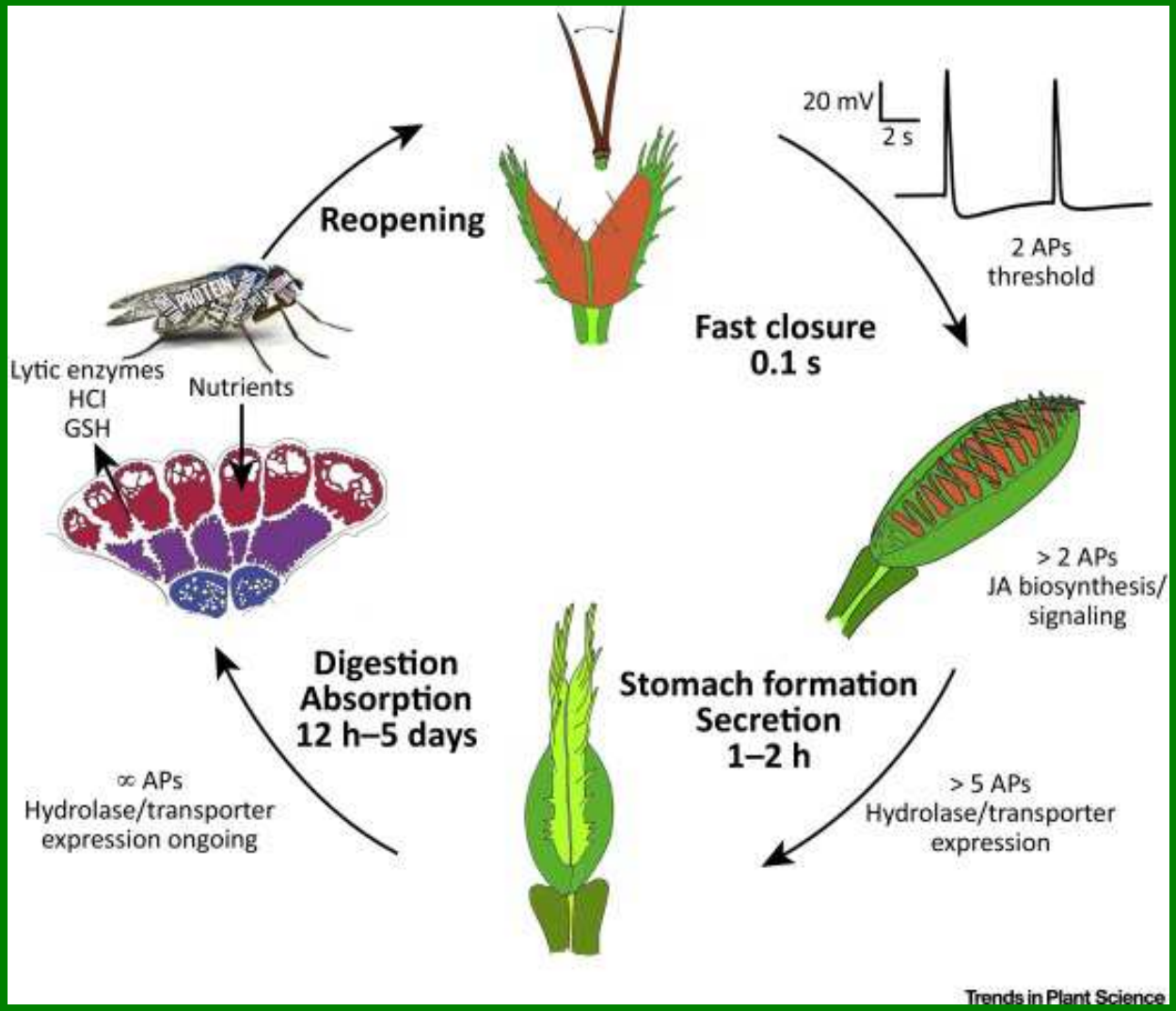






Landrein et al., 2015

Механочувствительность растений быстрые реакции



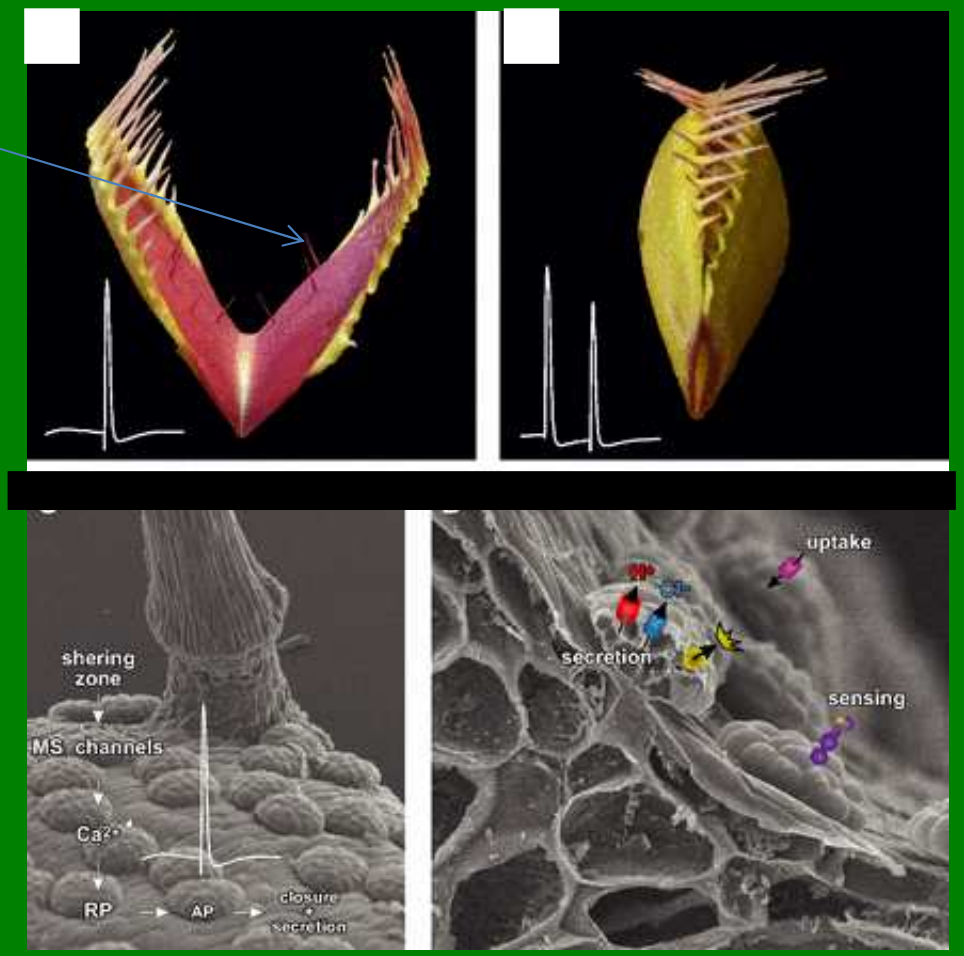
Механочувствительность растений быстрые реакции

- Механическая стимуляция волосков вызывает потенциал действия

- Потенциал действия стимулирует механочувствительные клетки в основании волоска

- Открываются водные каналы – аквапорины и ловушка захлопывается

- Начинается секреция ферментов



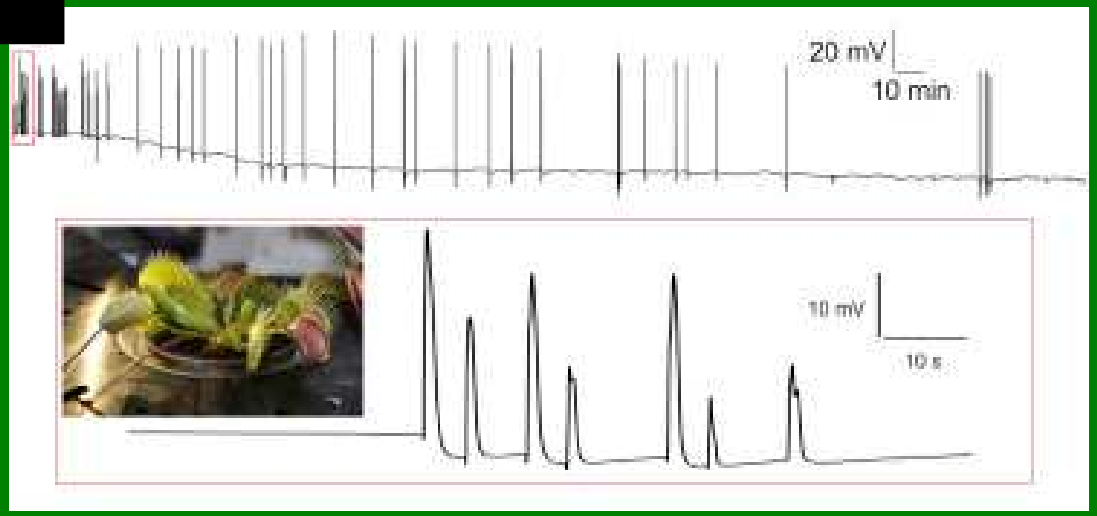
Hedrich, 2012

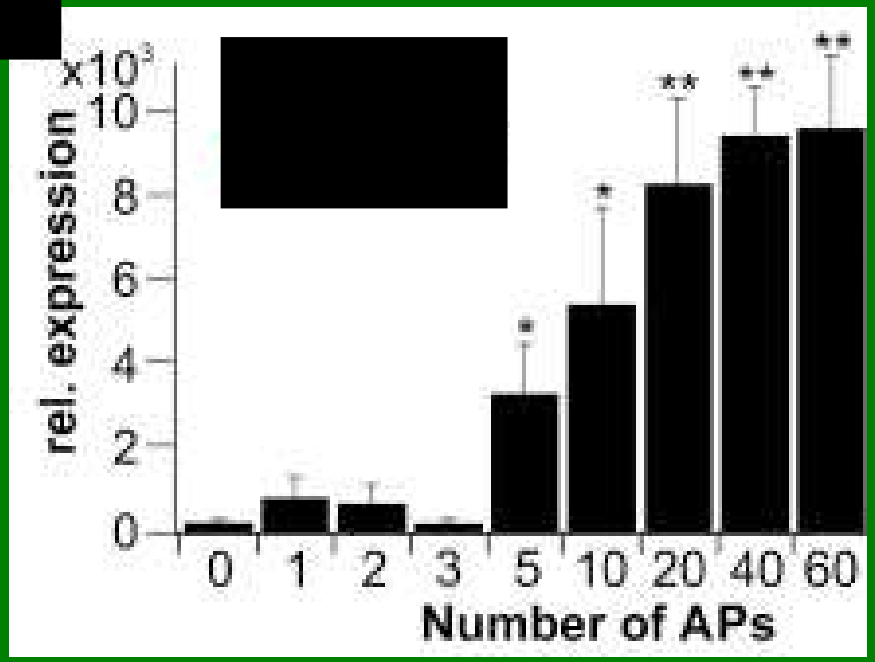
Механочувствительность растений
мухоловка умеет считать!

- Необходимо как минимум 2 ПД для срабатывания ловушки.

- После закрытия ловушки мухоловка продолжает следить за движениями добычи.

- Секреция пищеварительных ферментов зависит от активности насекомого!





Böhm et al., 2016

Механорецепция растений

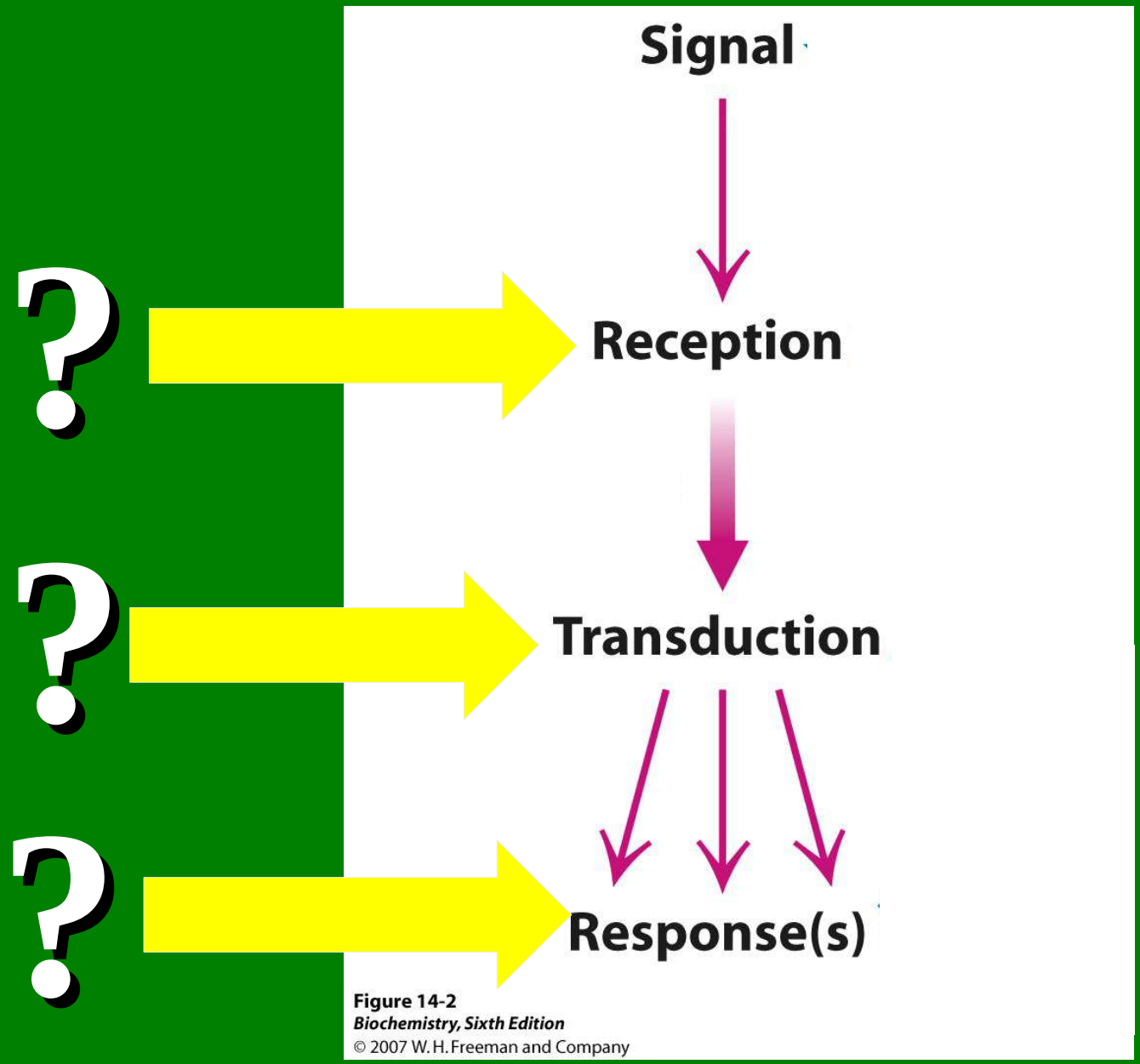
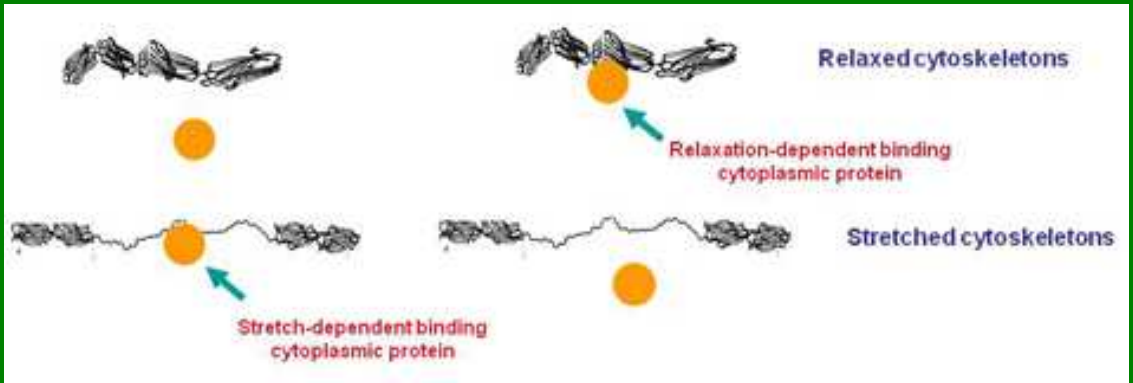
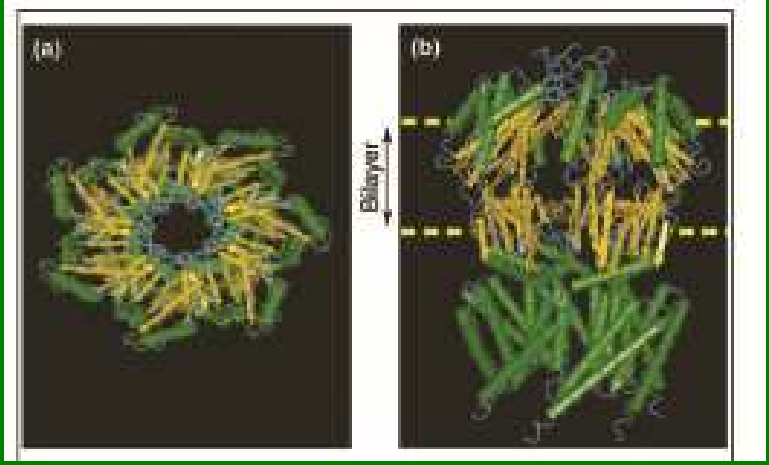
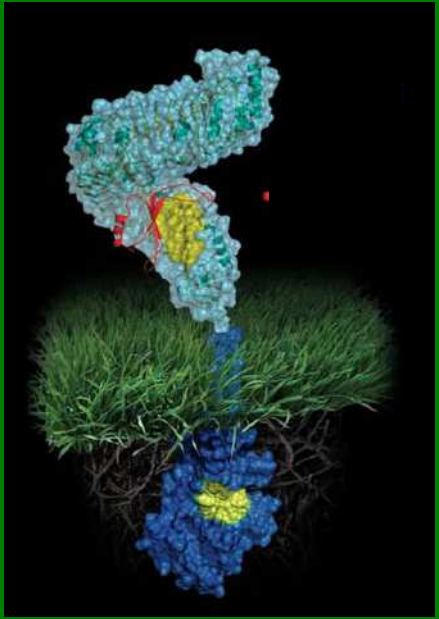


Figure 14-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Механорецептор растений

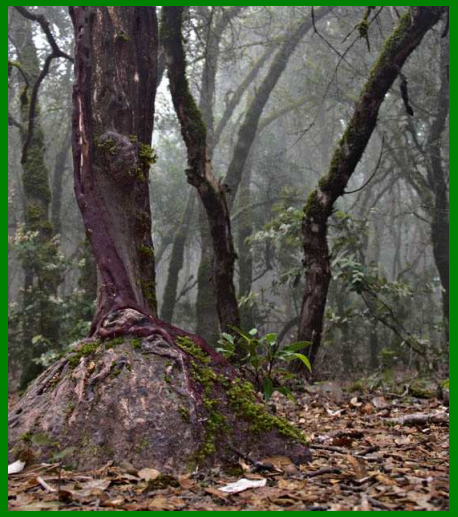


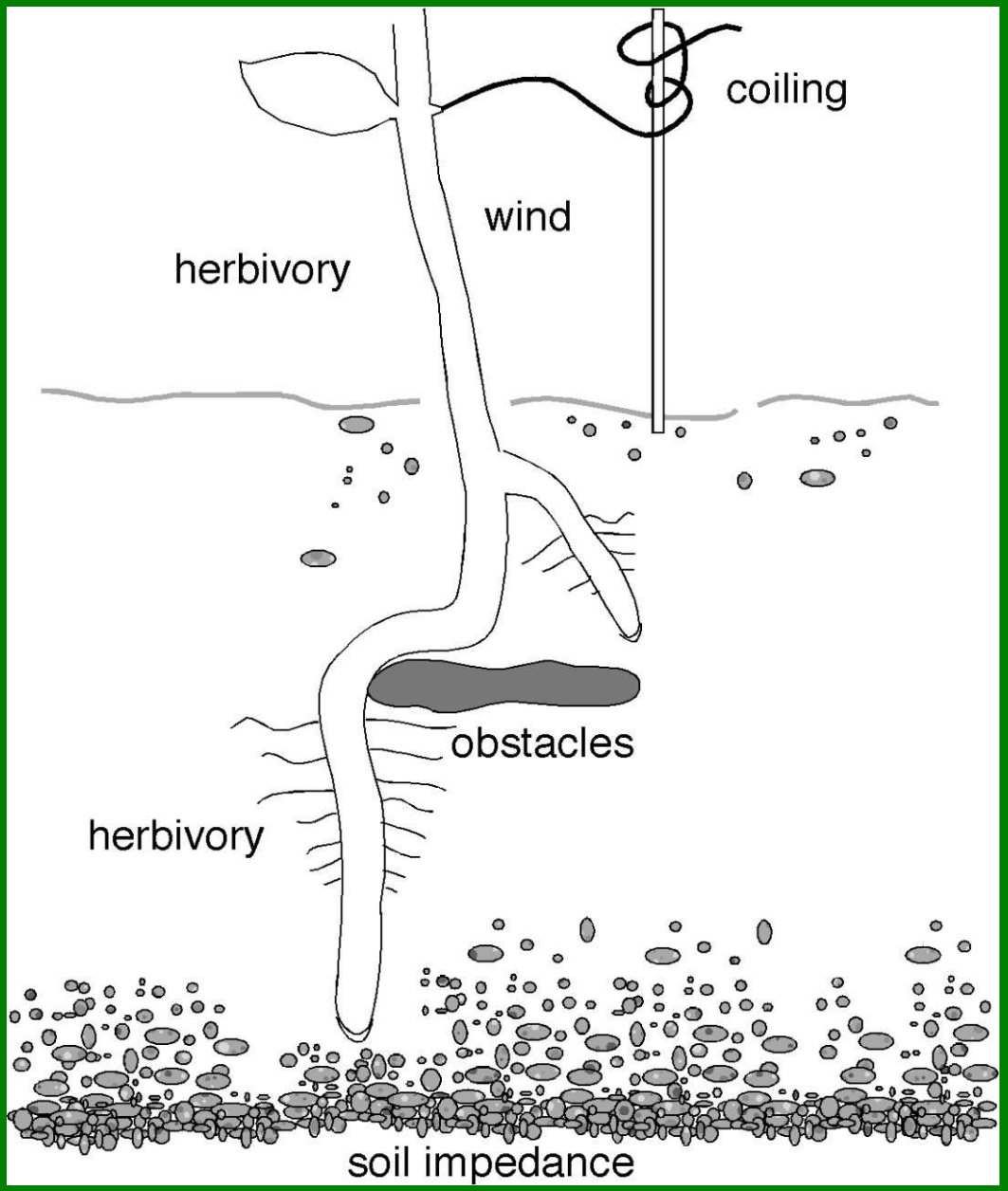


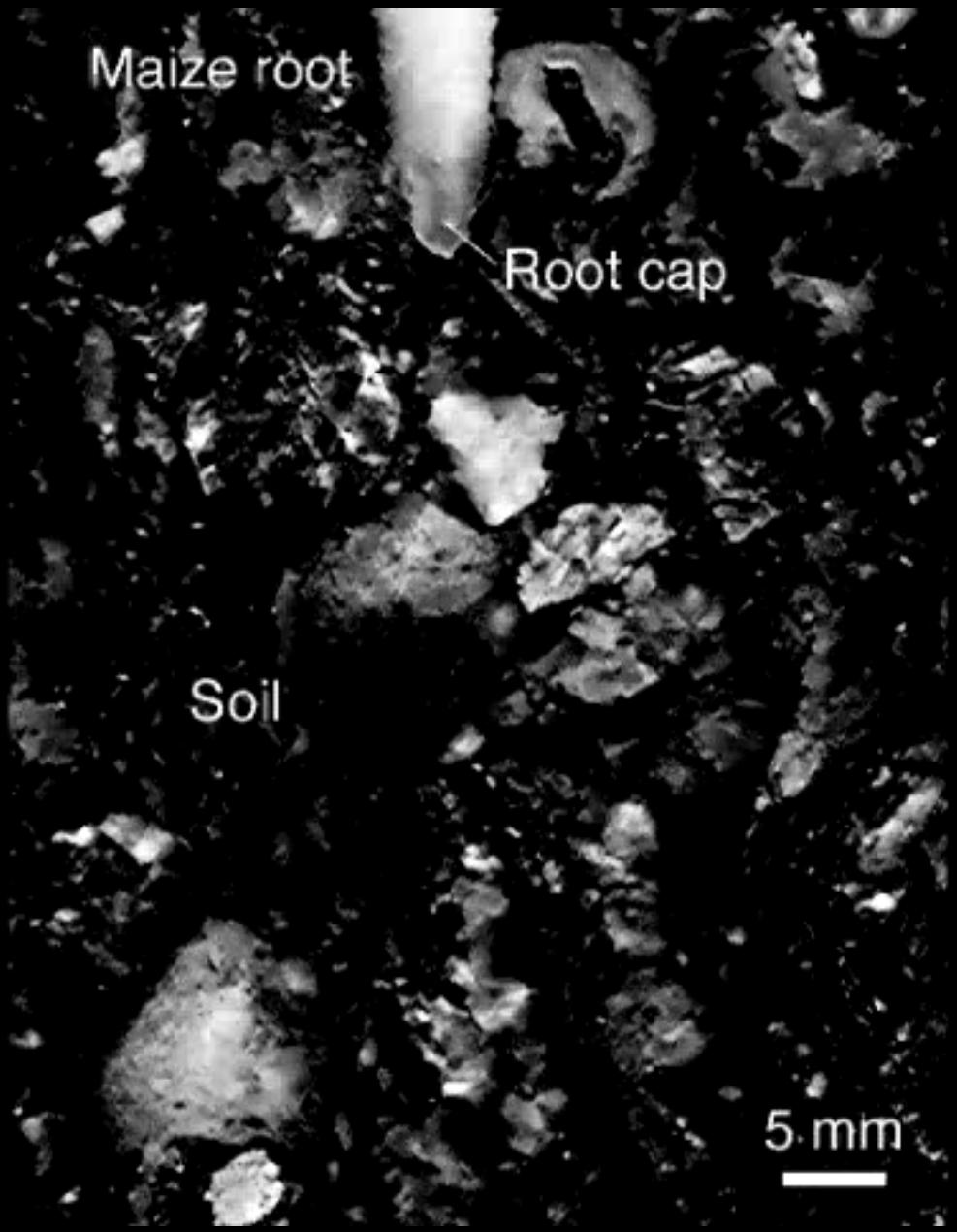


Механочувствительный канал? Белок цитоскелета? Рецептор-подобная киназа?

Рост и развитие корня - модель для изучения механорецепции растений






Maize root
Root cap
Soil
5 mm

Механорецепция растений

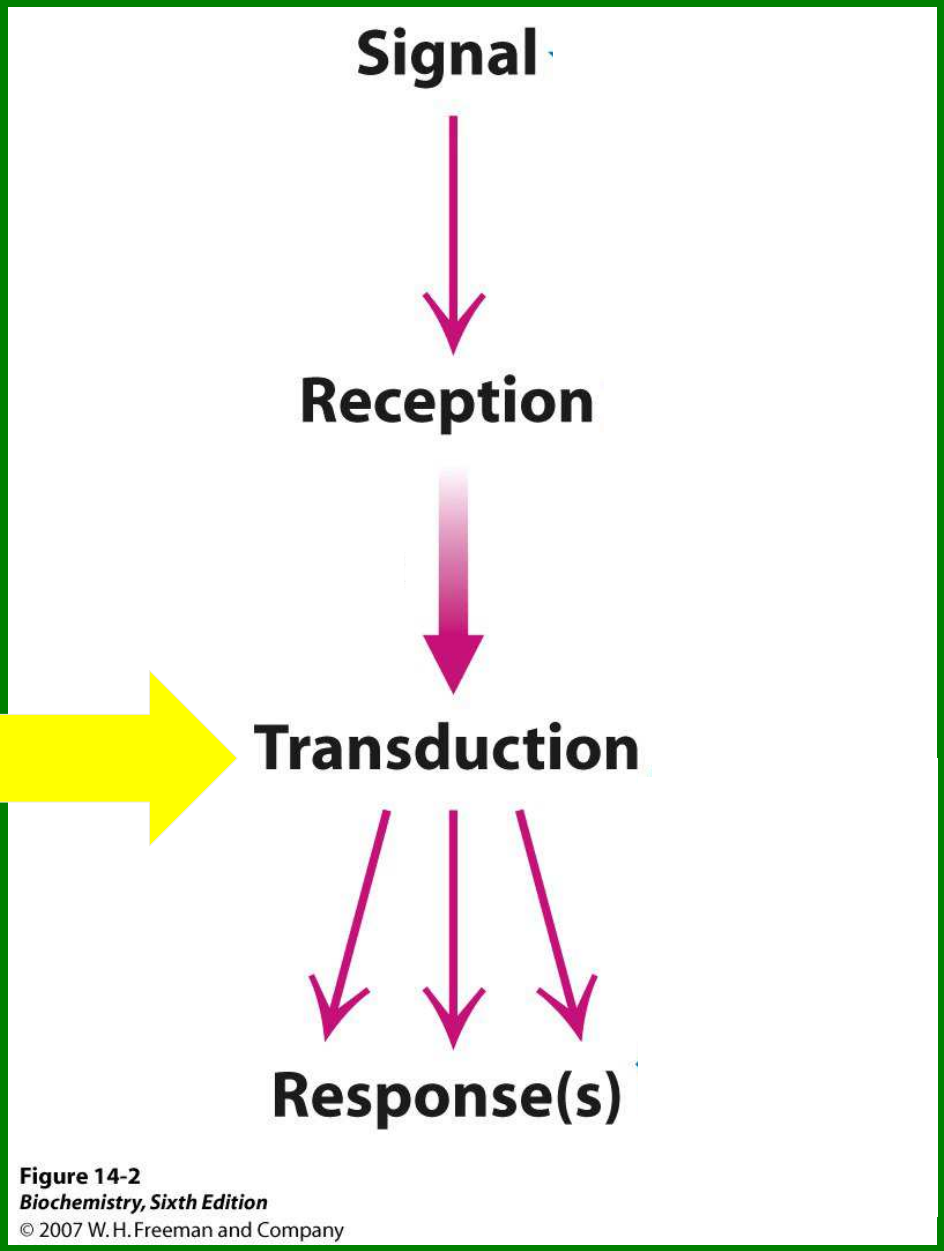
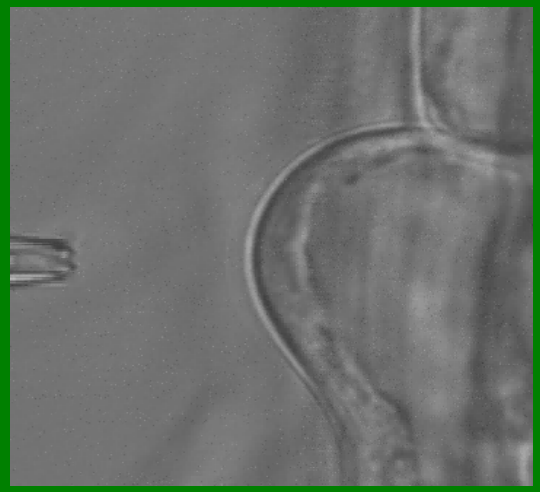


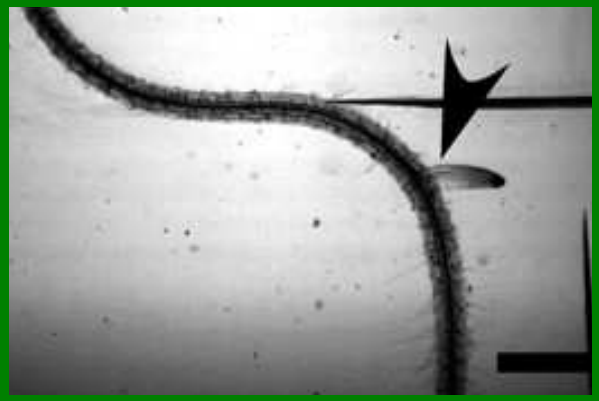
Figure 14-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

?

Передача сигнала – быстрый сигналинг



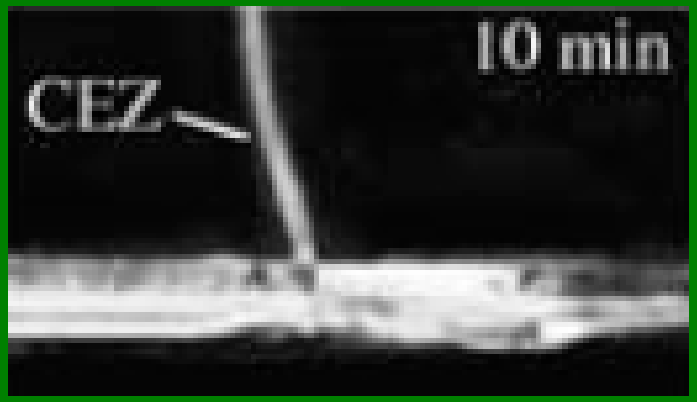
Главные подозреваемые



Ca^{2+}

АФК

pH



Кальций, Протоны и АФК как вторичные мессенжеры

- Изменяют проницаемость мембраны, активируя или ингибируя каналы и помпы
- Влияют на активность ферментов
- Влияют на стабильность цитоскелета
- Определяют растяжимость клеточной стенки
- Могут влиять на структуру мембраны

Как измерить концентрацию кальция в клетке?

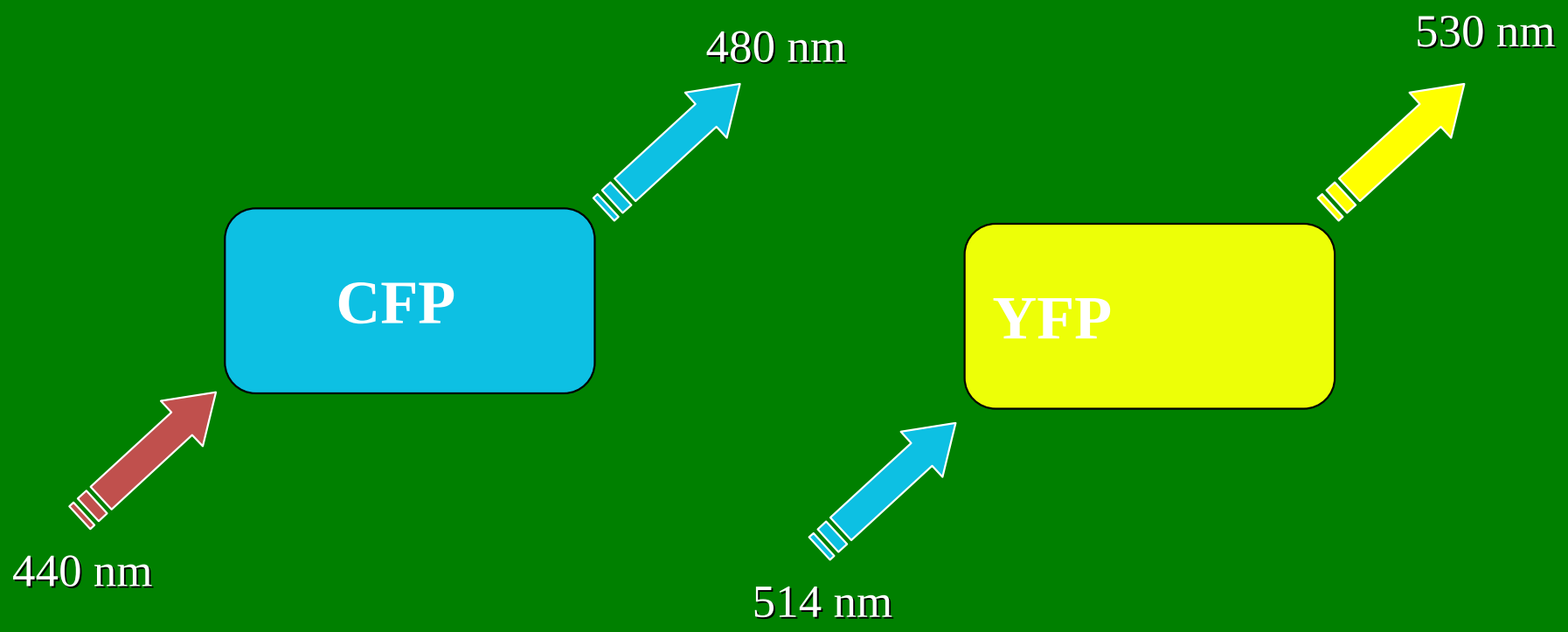
FRET

Fluorescence Resonance Energy Transfer

Fluorescence Resonance Energy Transfer

Very powerful approach

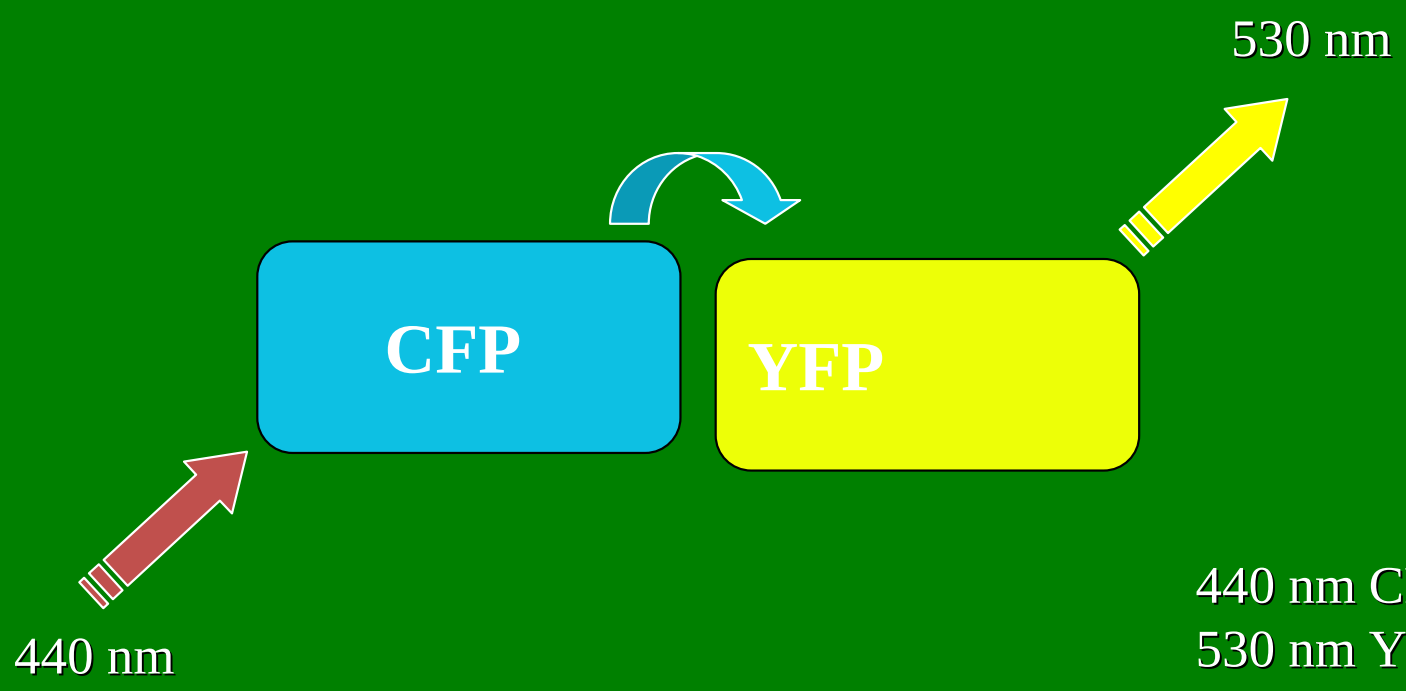
- Protein:protein interaction
- ‘Super resolution’ - molecular ruler



Fluorescence Resonance Energy Transfer

Very powerful approach

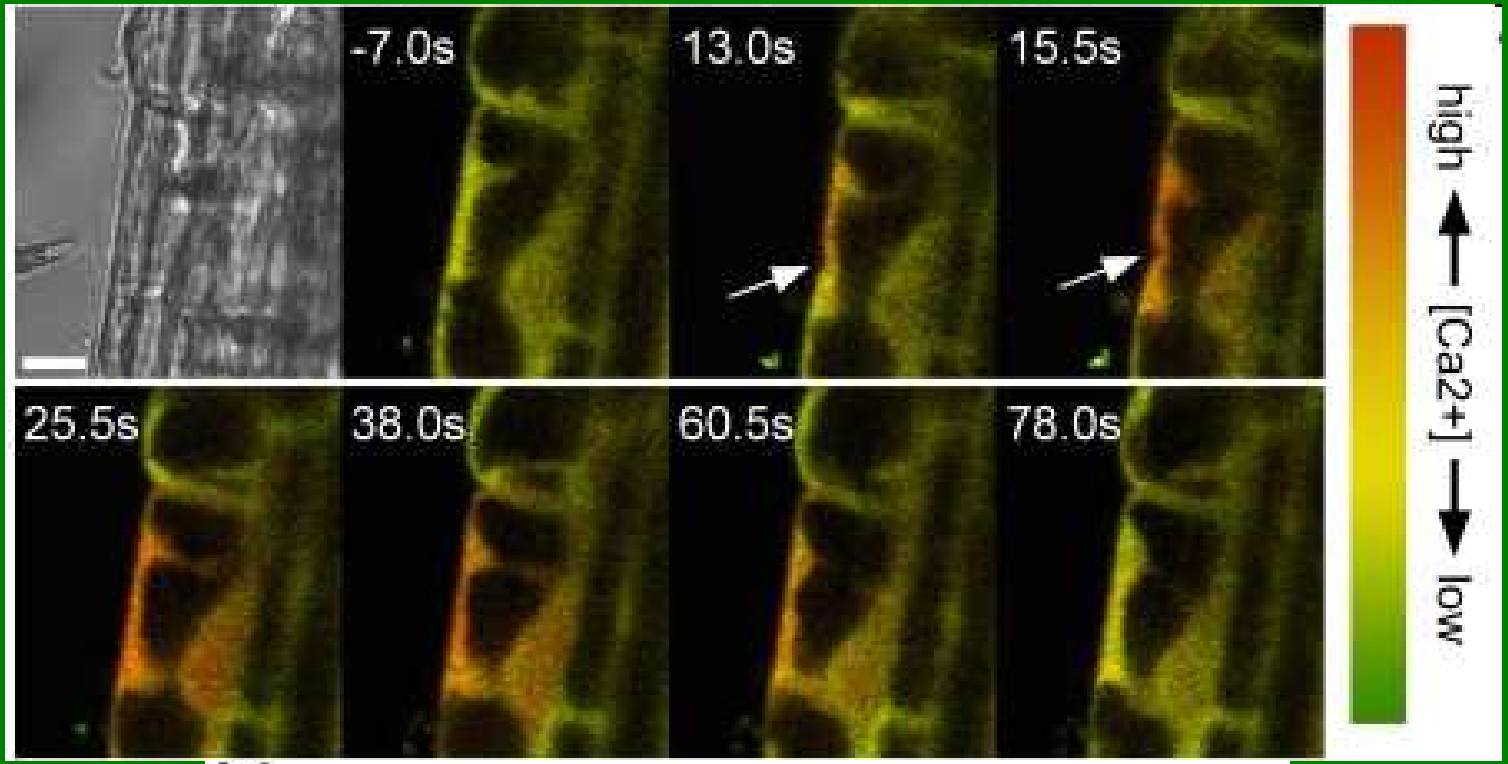
- Protein:protein interaction
- ‘Super resolution’ - molecular ruler

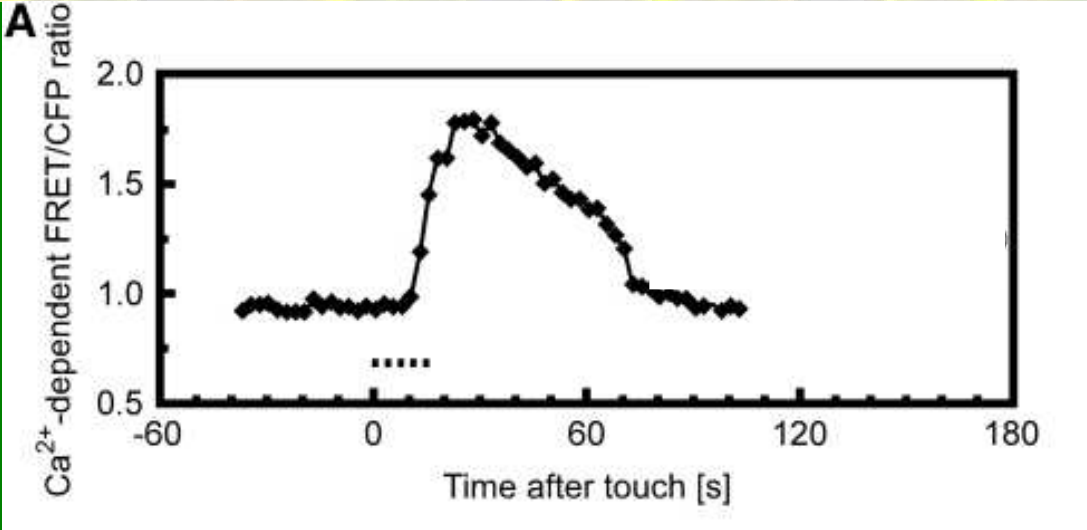


440 nm CFP Excitation
530 nm YFP emission

Механостимуляция клеток корня вызывает быстрое увеличение концентрации кальция в цитоплазме

Укол корня

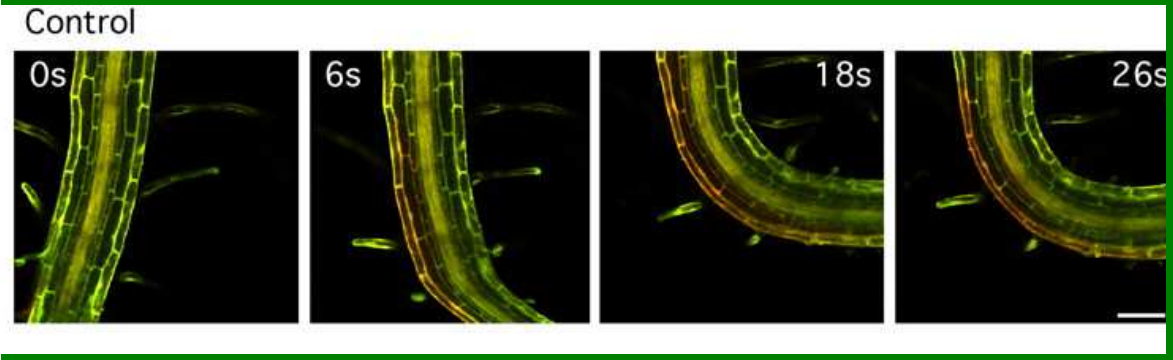


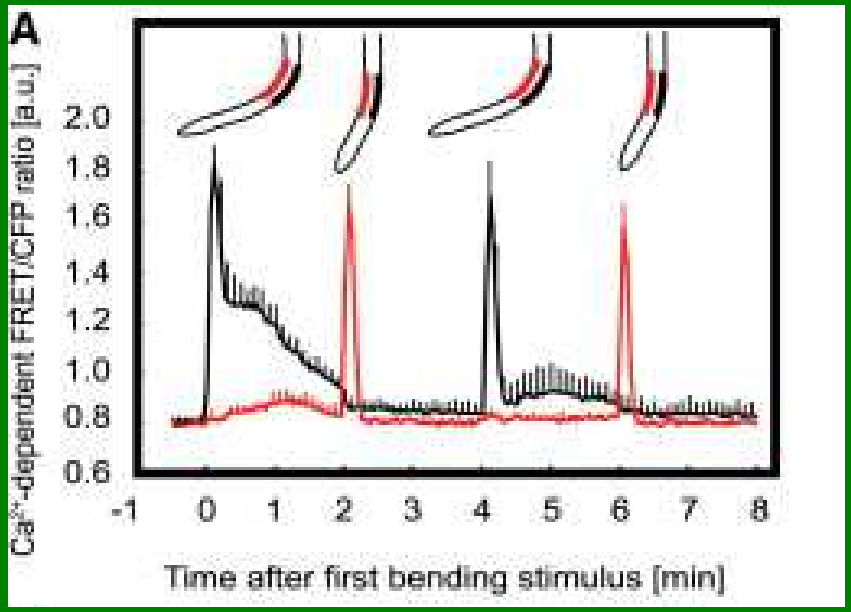


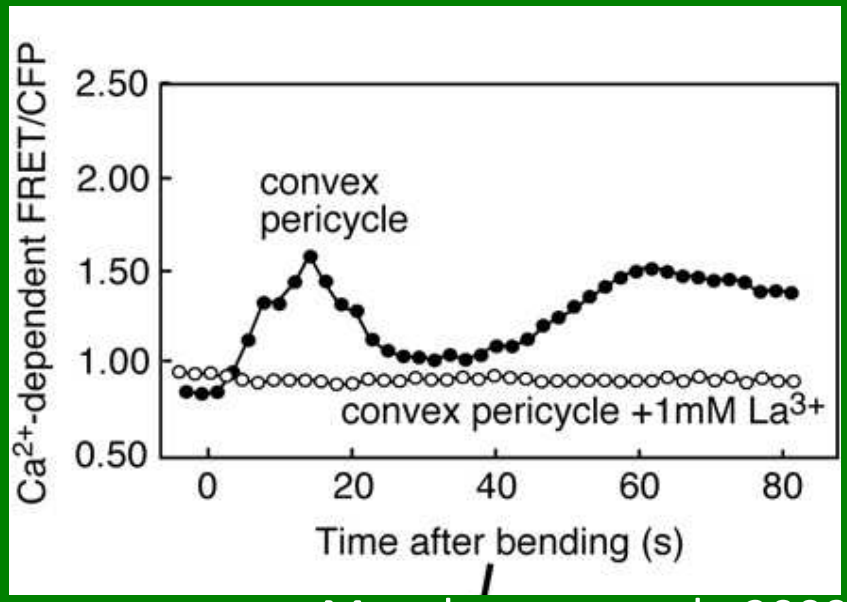
Monshausen et al., 2009

Механостимуляция клеток корня вызывает быстрое увеличение концентрации кальция в цитоплазме

Изгиб корня



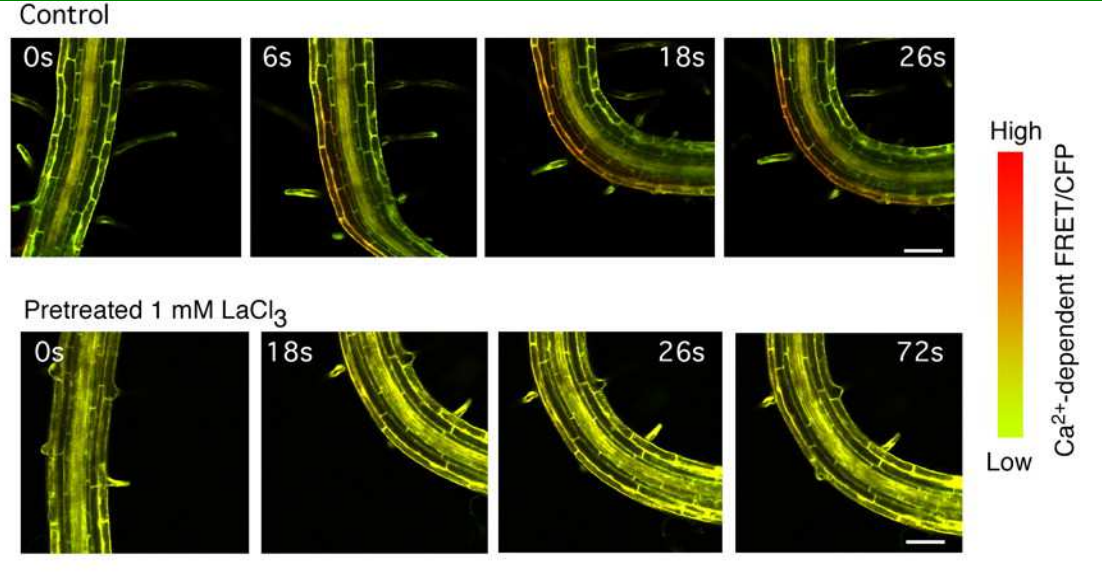


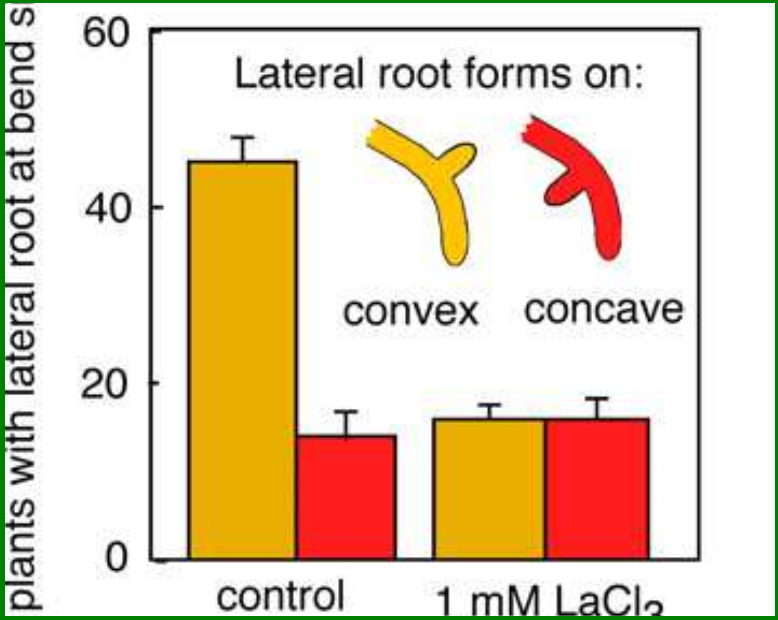


https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2751959/

Monshausen et al., 2009

Блокатор каналов кальция ингибирует инициацию бокового корня в месте изгиба



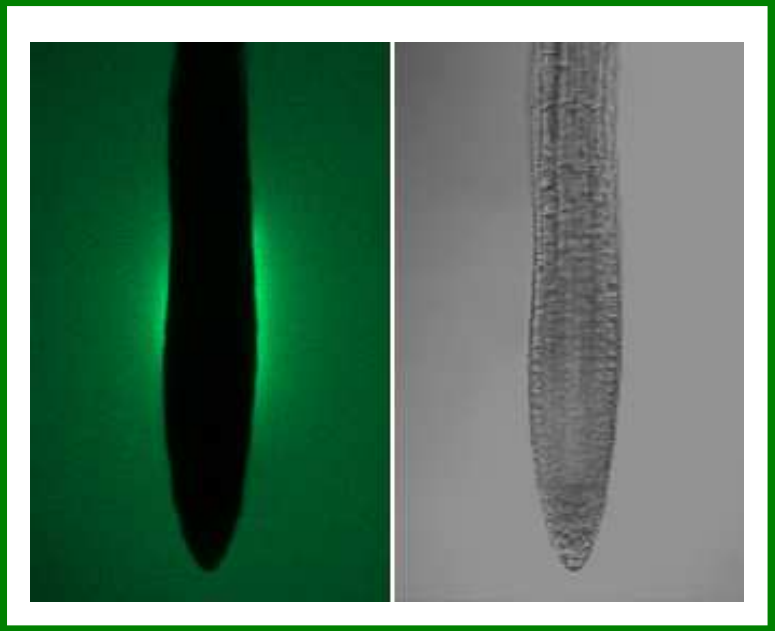


Richter et al., 2011

Протоны – как измерить концентрацию?

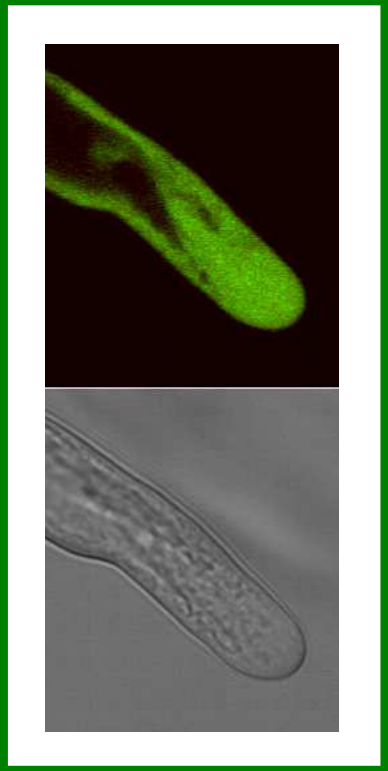
pH апопласта

pH- чувствительный флуоресцентный зонд

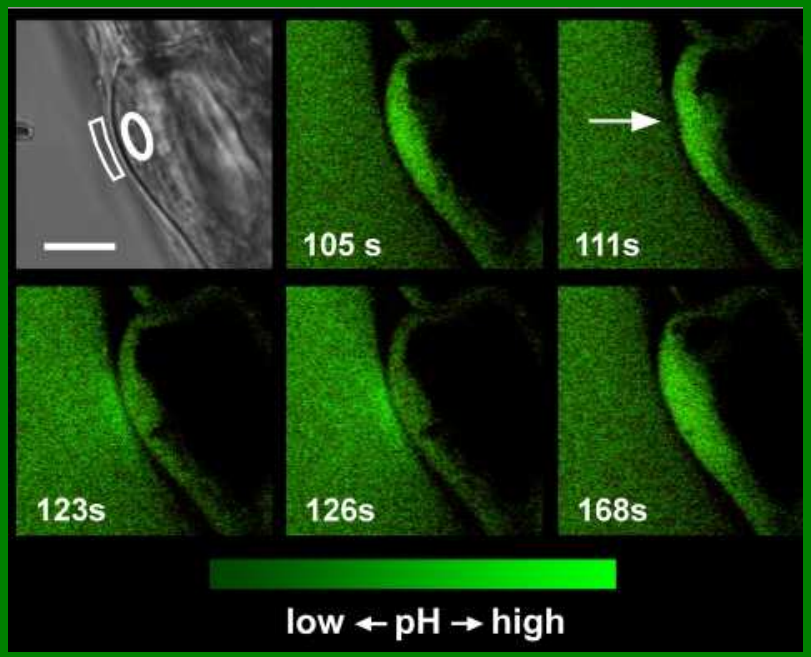


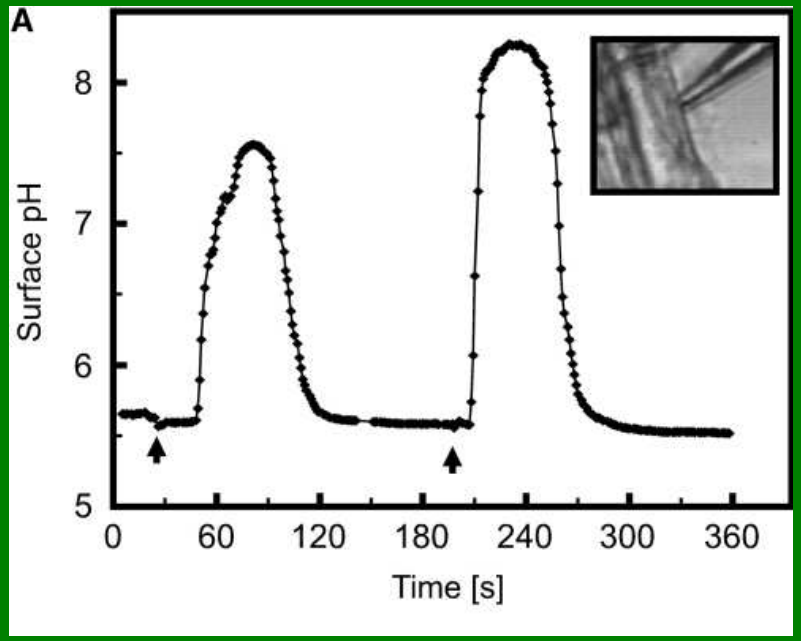
pH цитоплазмы

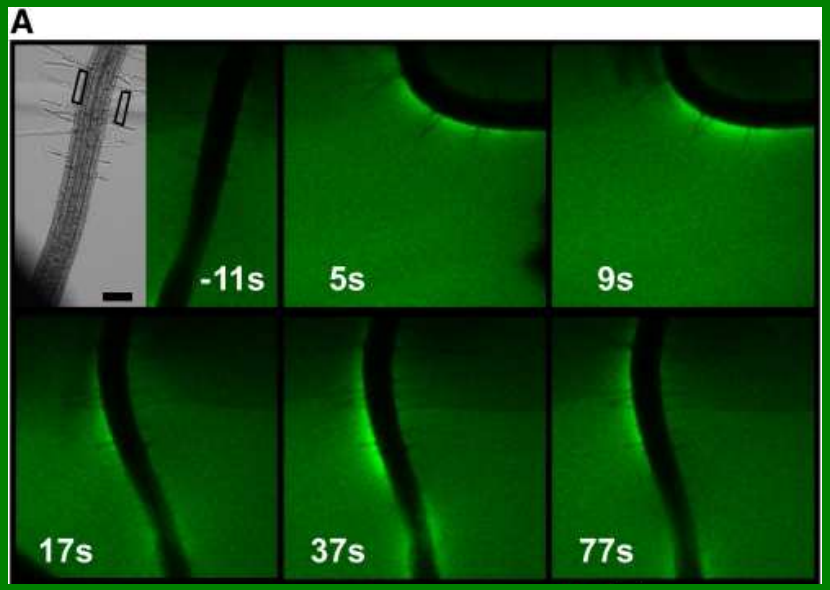
Арабидопсис, экспрессирующий pH чувствительный GFP

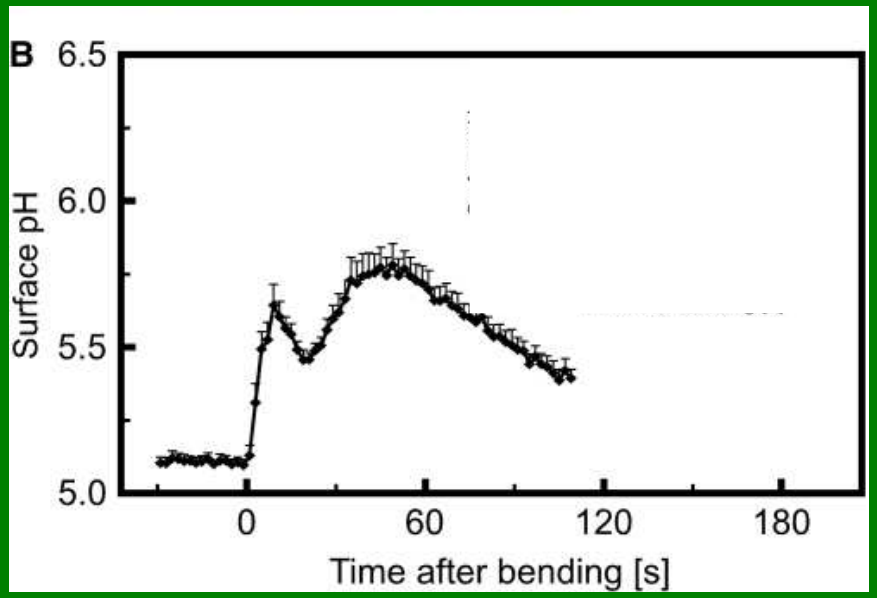


Механостимуляция клеток корня вызывает быстрое увеличение pH в апопласте и уменьшение pH в цитоплазме



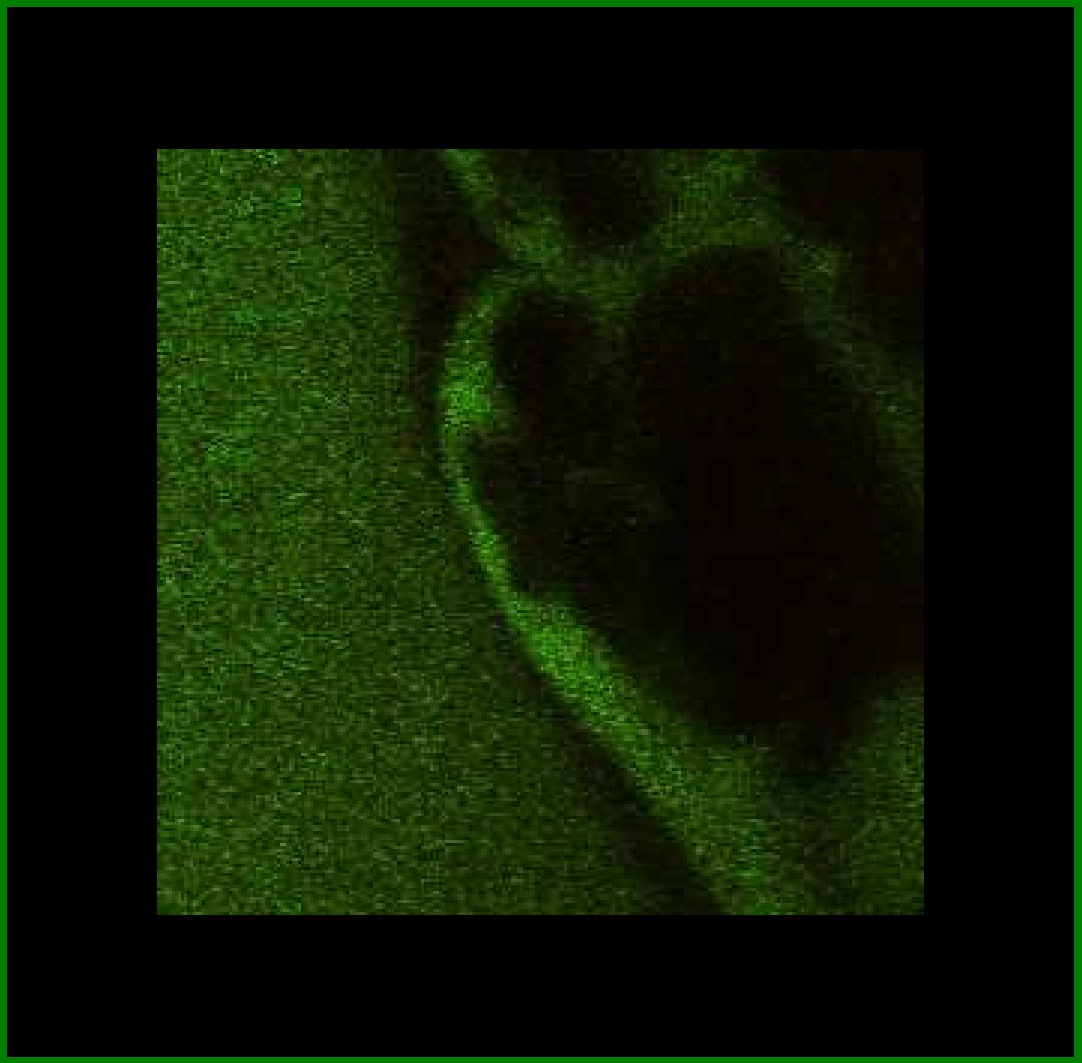






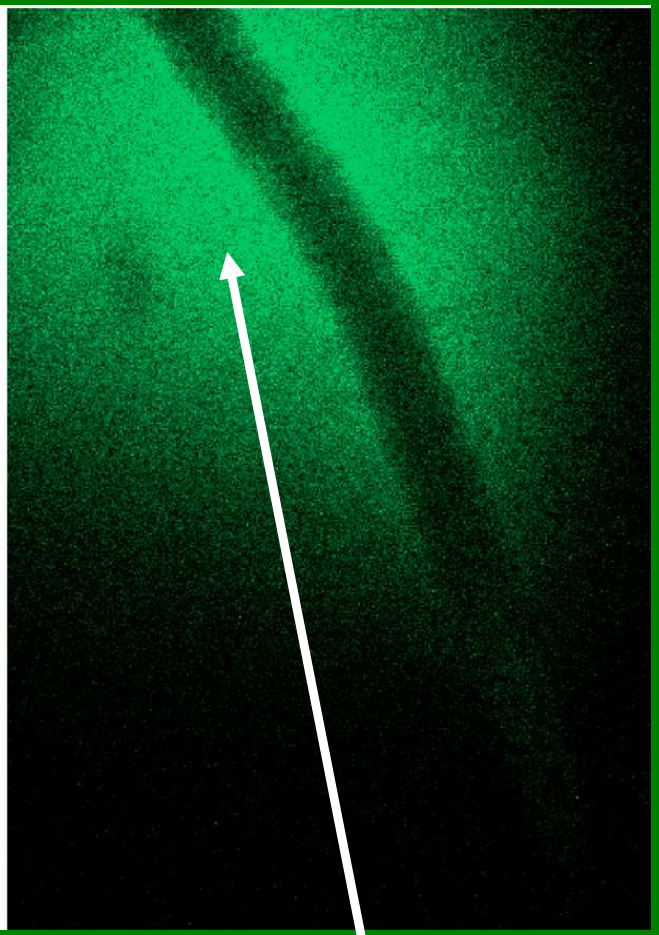
Monshausen et al., 2009

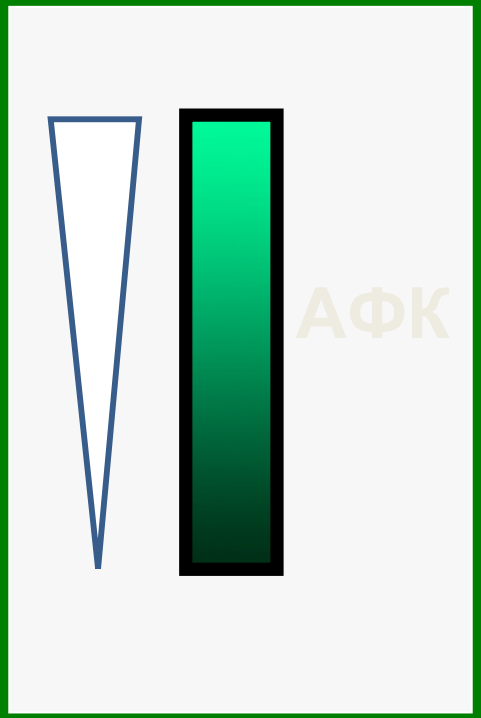
Механостимуляция клеток корня вызывает быстрое увеличение pH в апопласте и уменьшение pH в цитоплазме



Monshausen et al., 2009

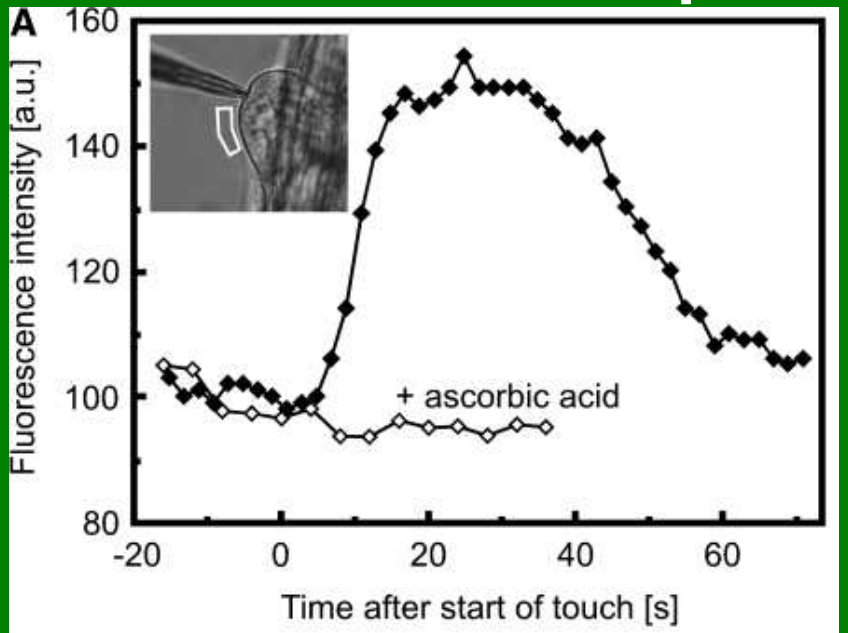
АФК – как измерить?

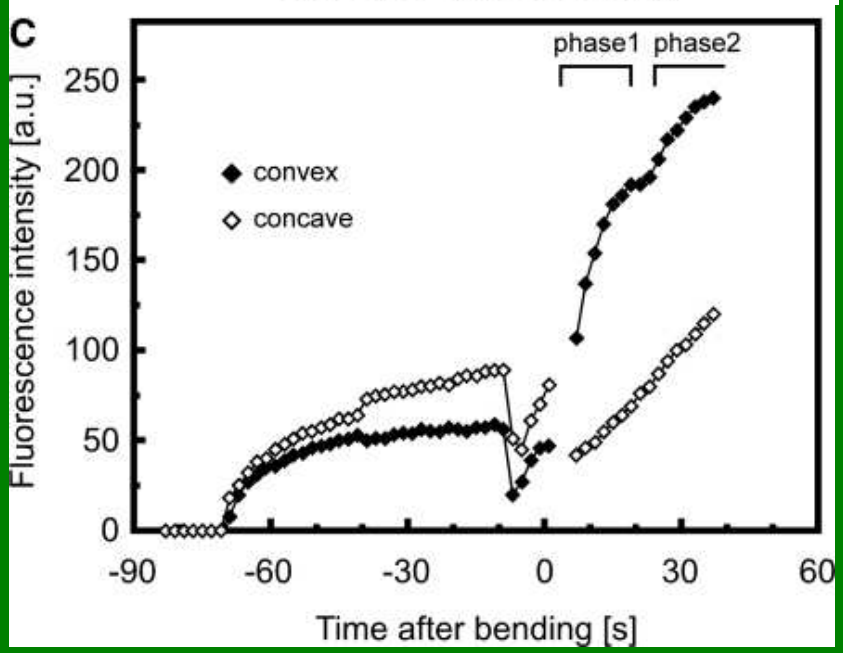




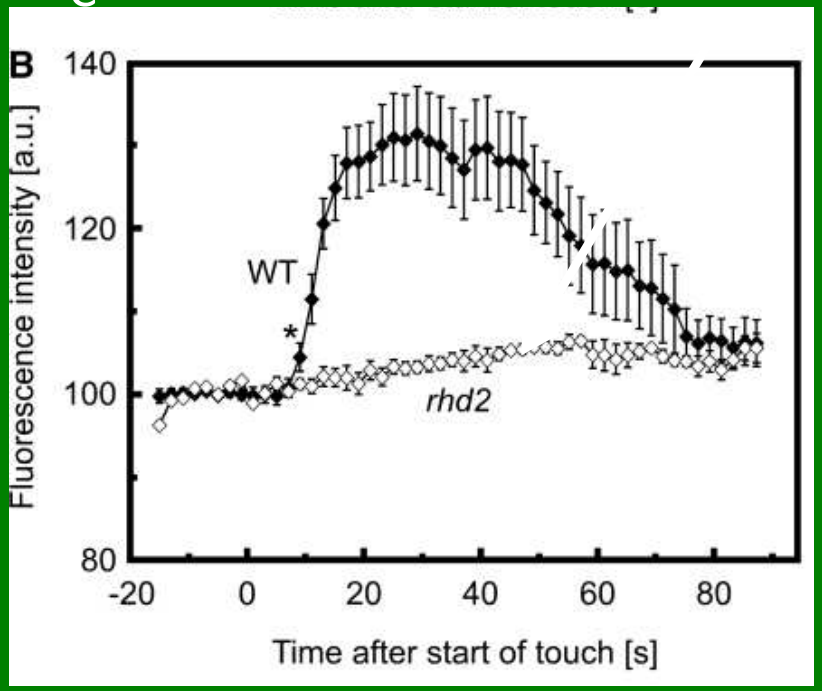
OxyBURST Green H2HFF-BSA

Механостимуляция клеток корня вызывает RbohC – зависимое увеличение концентрации активных форм кислорода в апопласте





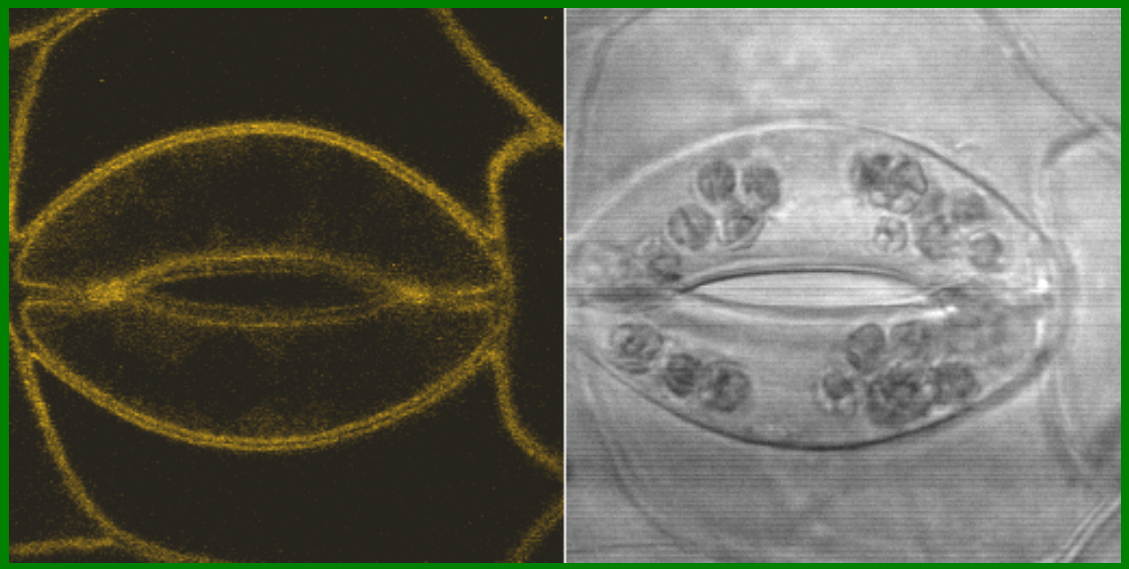
Мутант по NADPH oxidase C



Monshausen et al., 2009

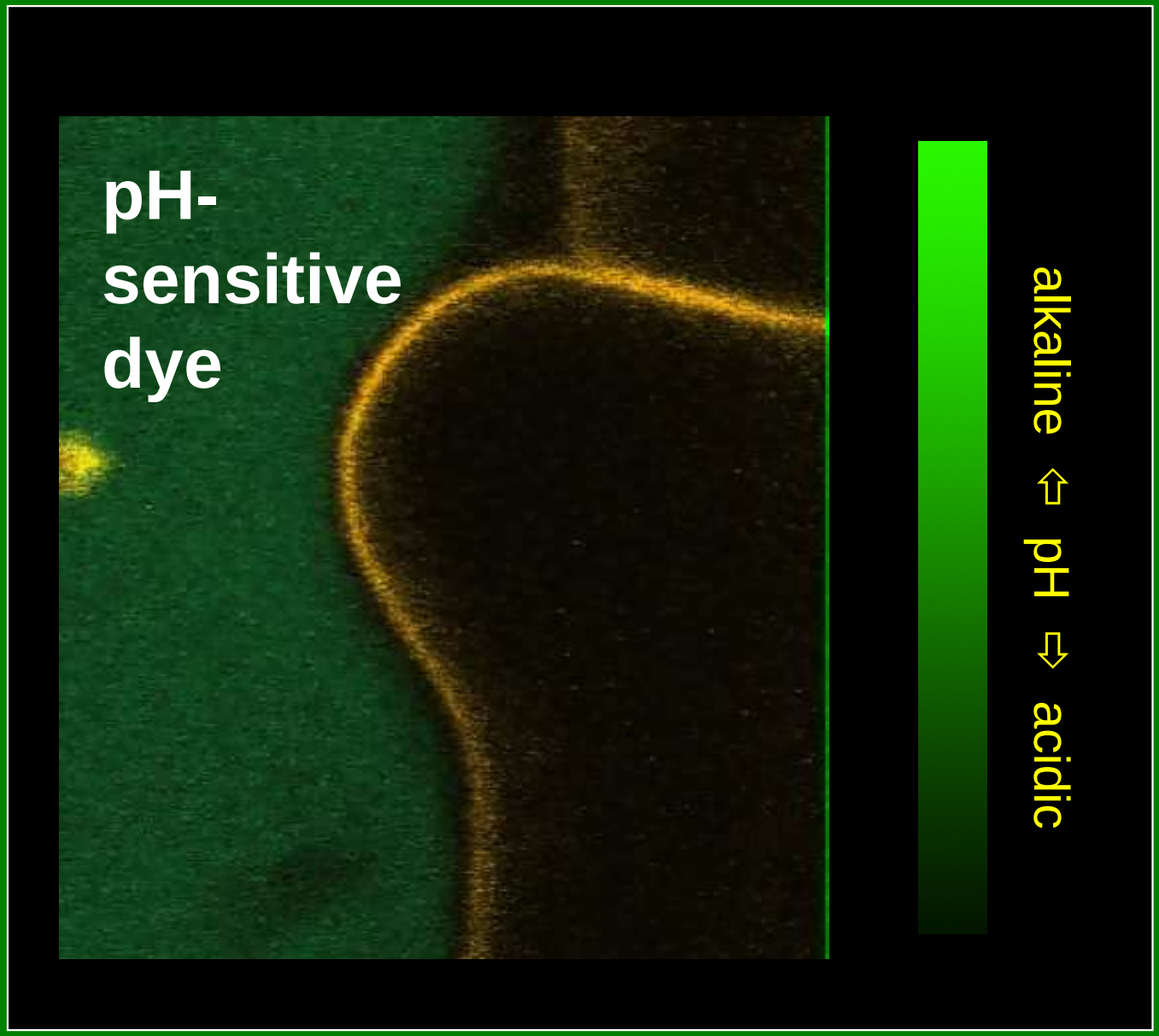
Механическая стимуляция клеток эпидермиса корня вызывает локальное изменение структуры плазматической мембраны

FM4-64 - fluorescent membrane-labeling dye
- non fluorescent in water
- highly fluorescent in lipophilic environment
- generally used as membrane trafficking marker

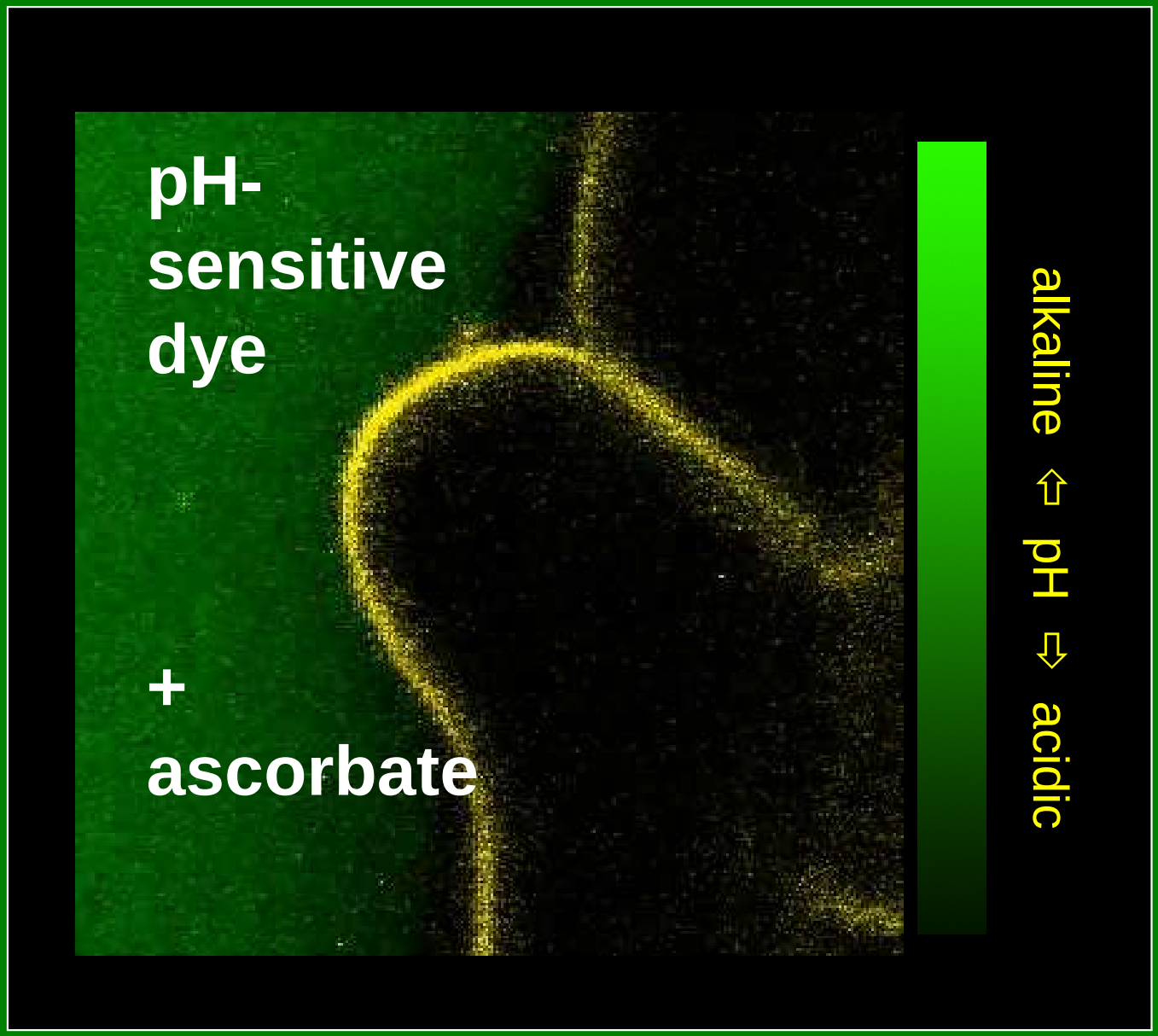


BUT
Affinity for membrane dependent on membrane composition
(Zweifach 2000)

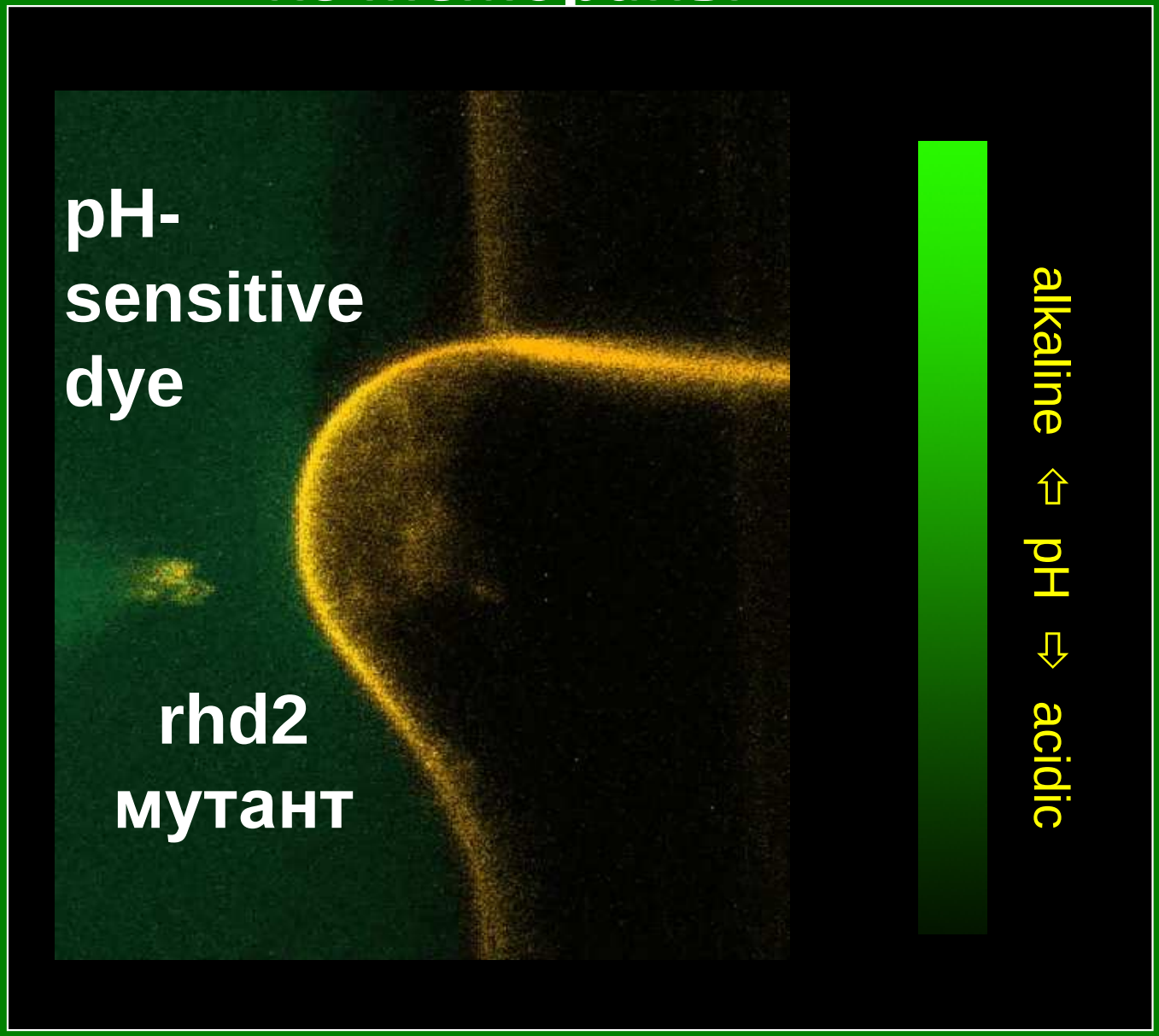
Механическая стимуляция вызывает выход молекул FM4-64 из мембраны



Аскорбиновая кислота ингибирует выход молекул FM4-64 из мембраны



Механическая стимуляция мутанта по НАДФ оксидазе С не вызывает выход молекул FM4-64 из мембраны

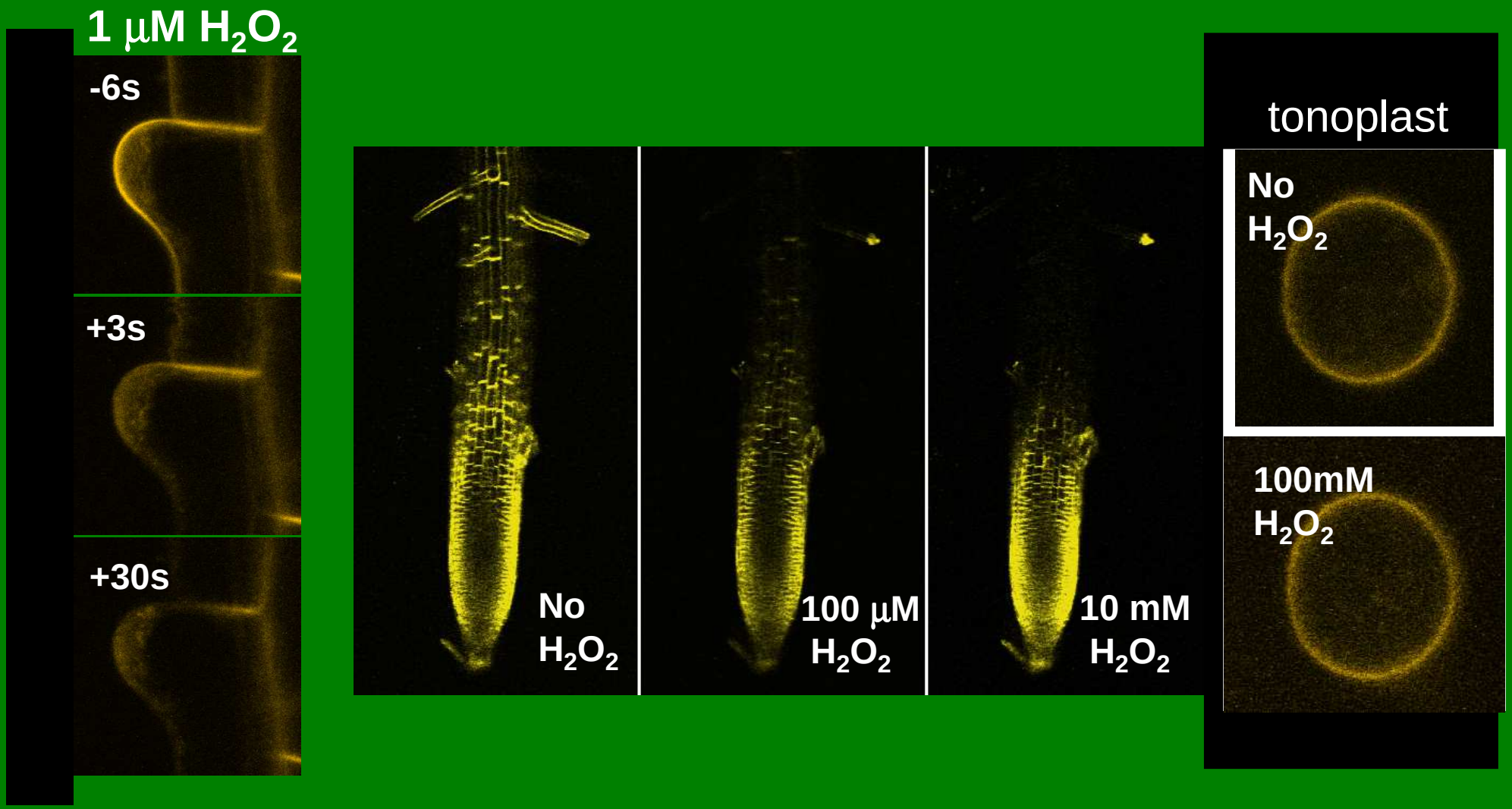


pH-sensitive dye

rhd2 мутант

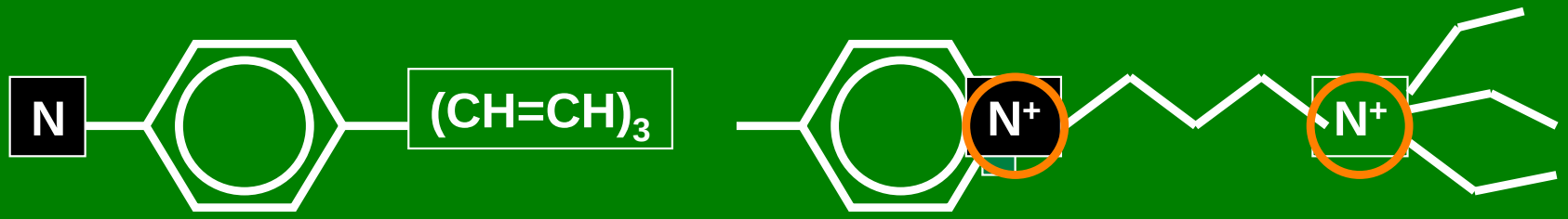
ROS induce disappearance of FM4-64 fluorescence

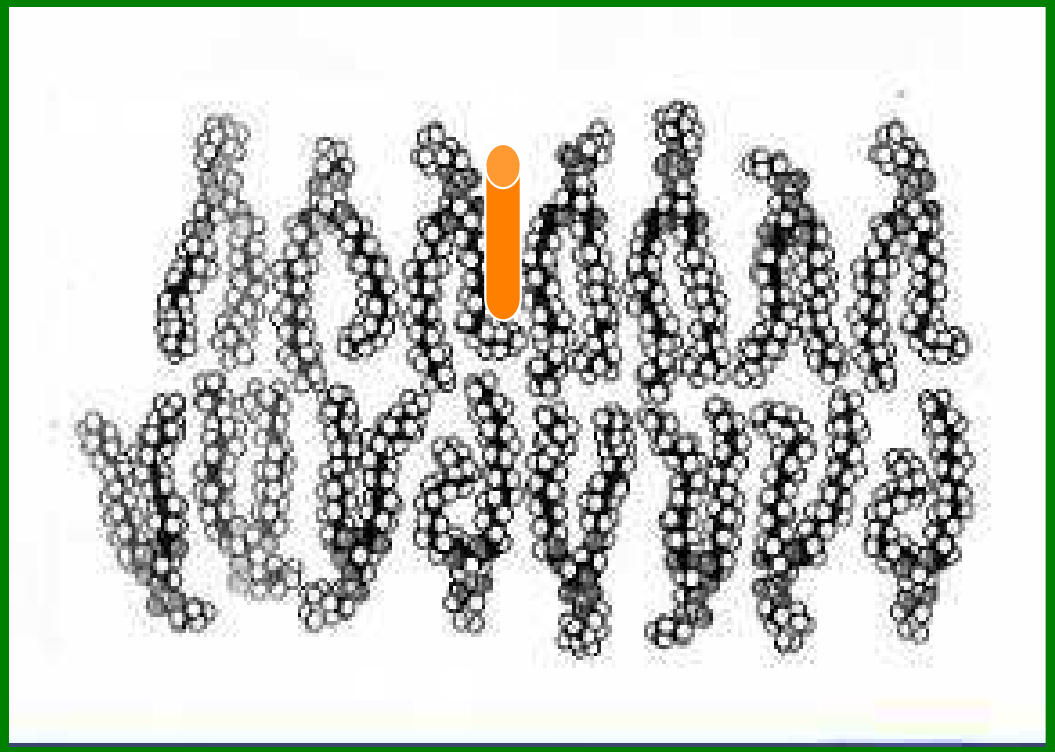
(in a tissue-specific manner)



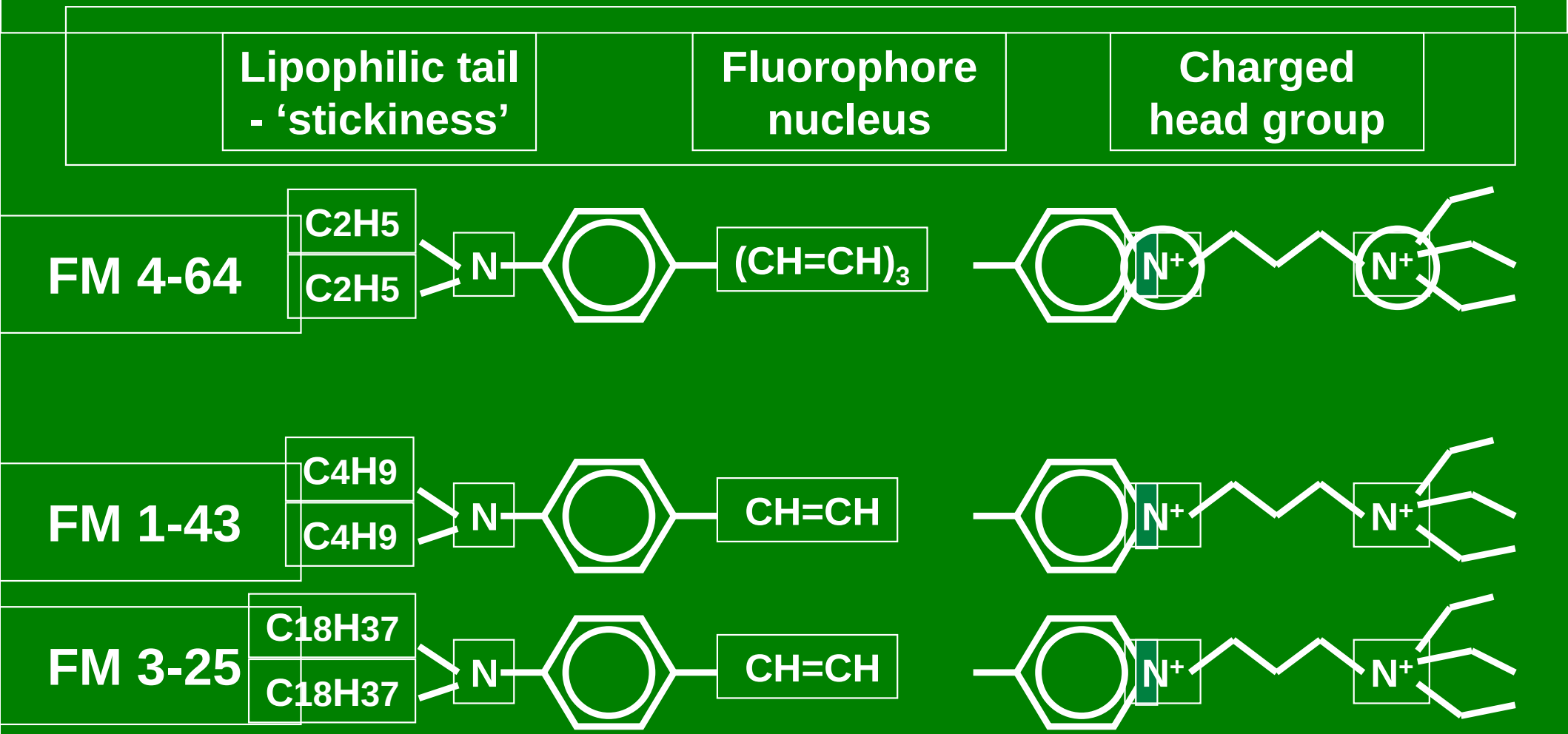
Plasma membrane labeling with FM4-64

FM4-64 - fluorescent membrane-labeling dye

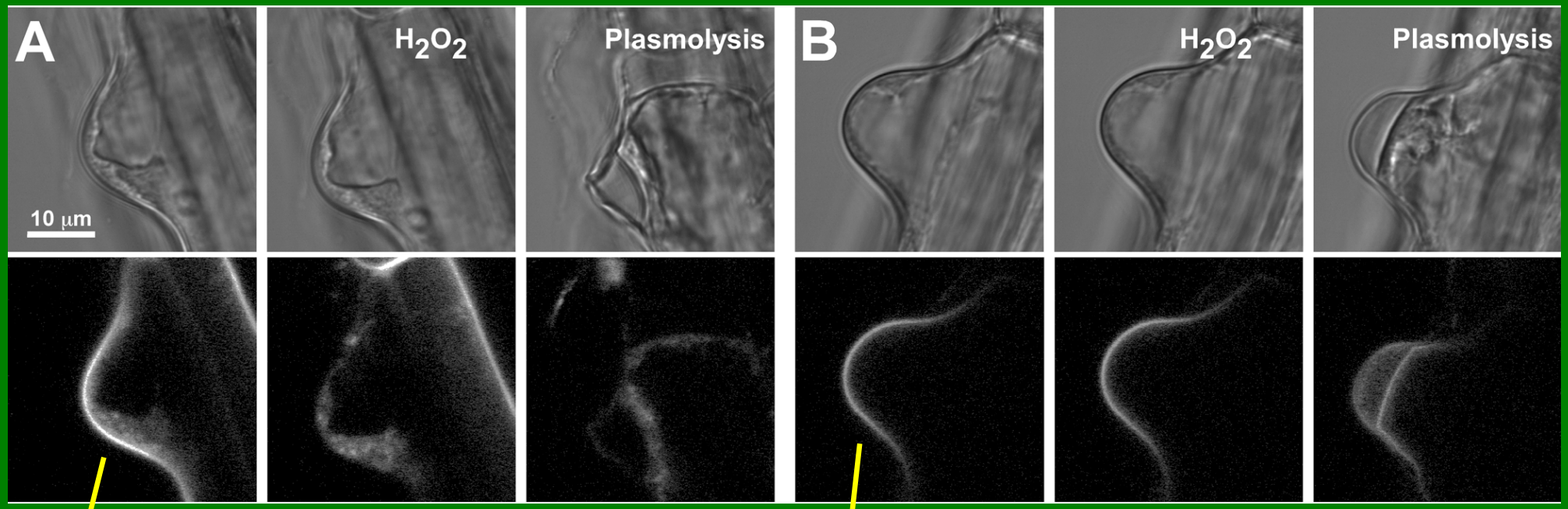




Plasma membrane labeling with FM dyes



ROS-induced changes in membrane characteristics reduce affinity for FM dyes



FM 1-43

FM 3-25

Механорецепция растений

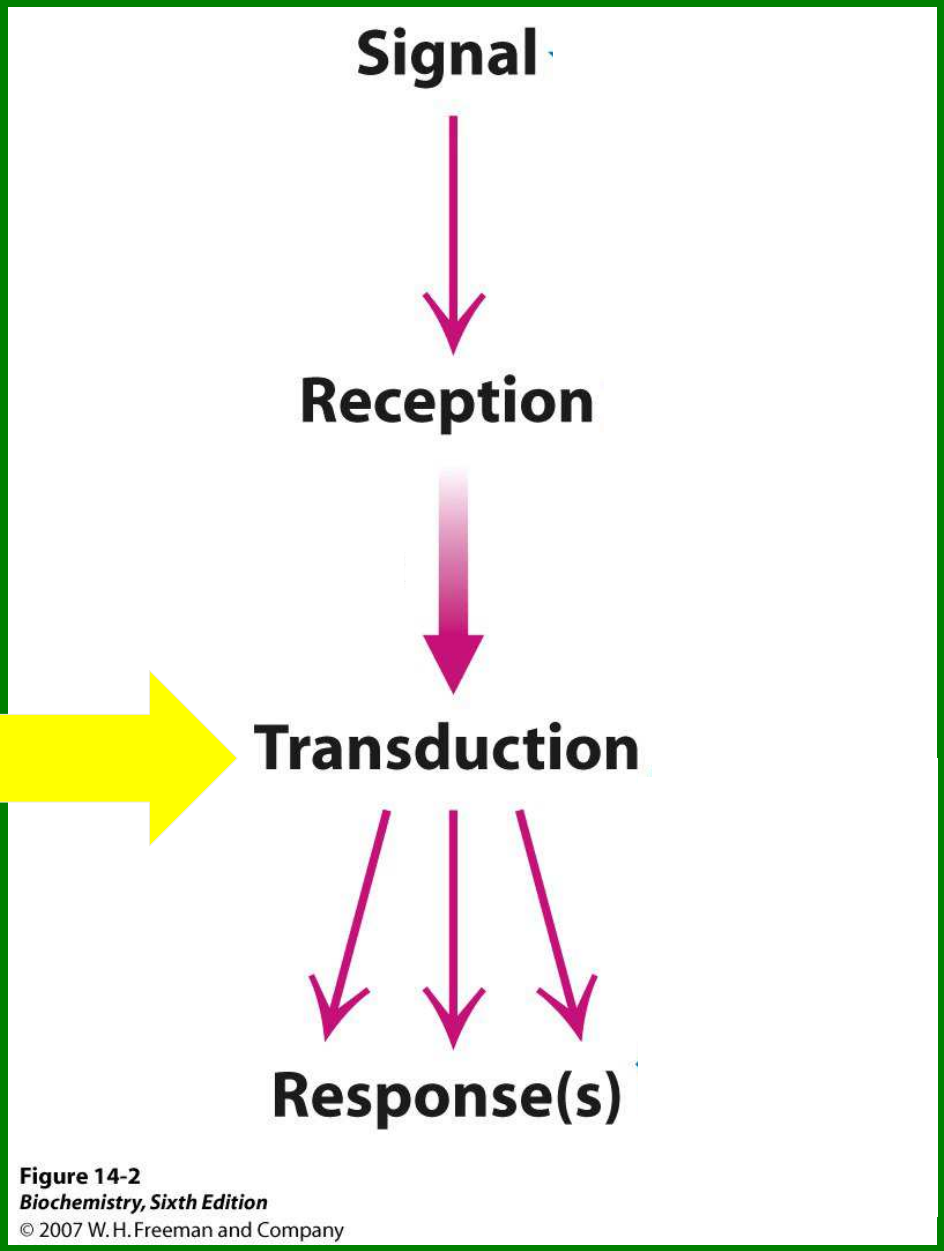
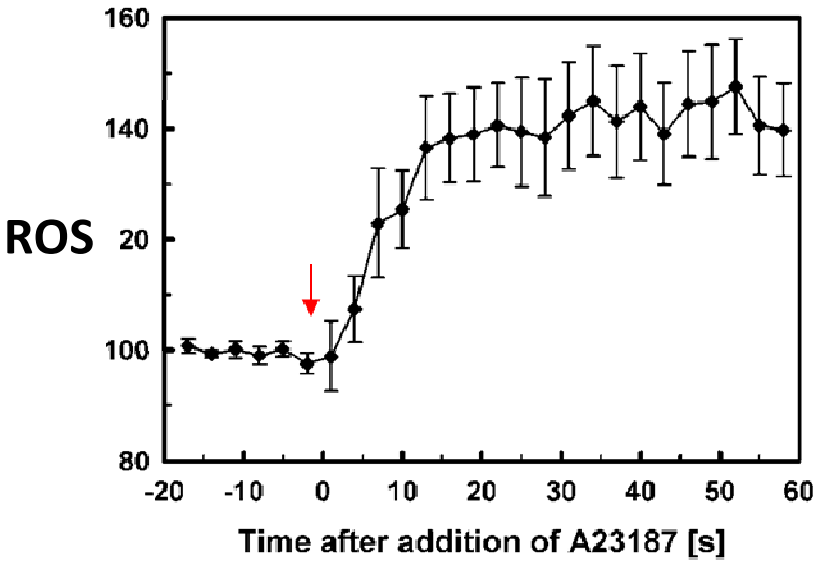
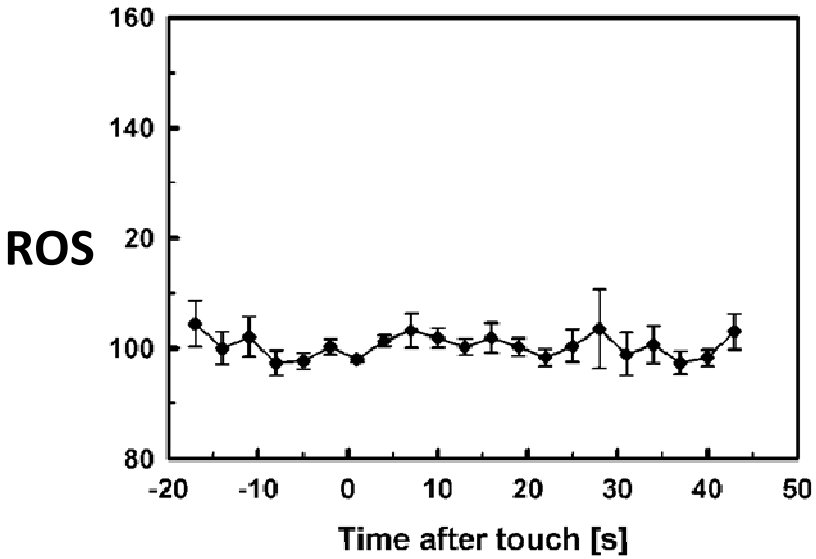


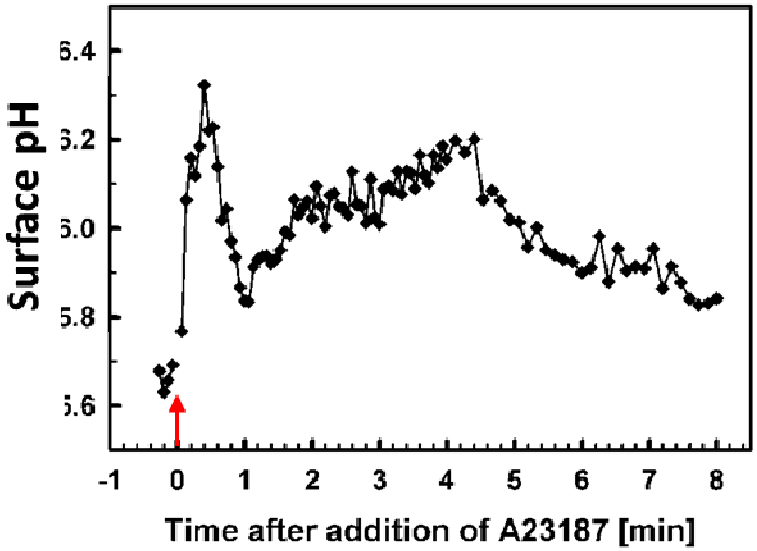
Figure 14-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

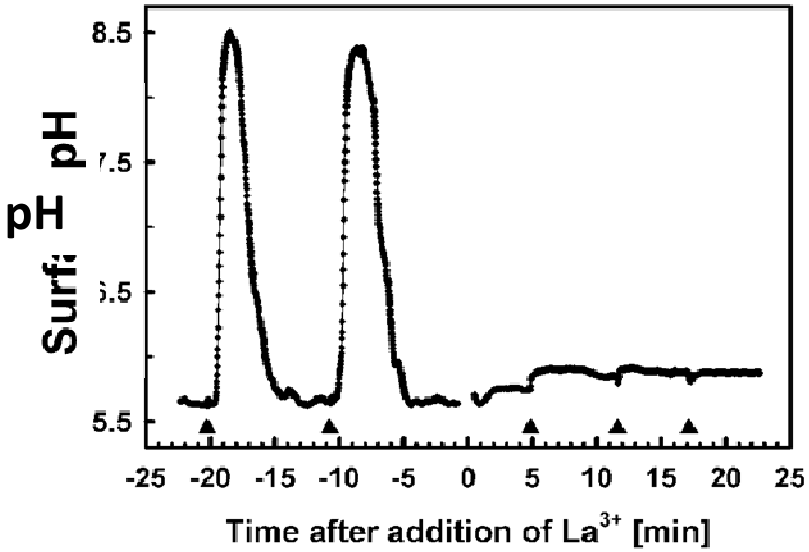
?

Кальций, протоны, АФК – кто главный????





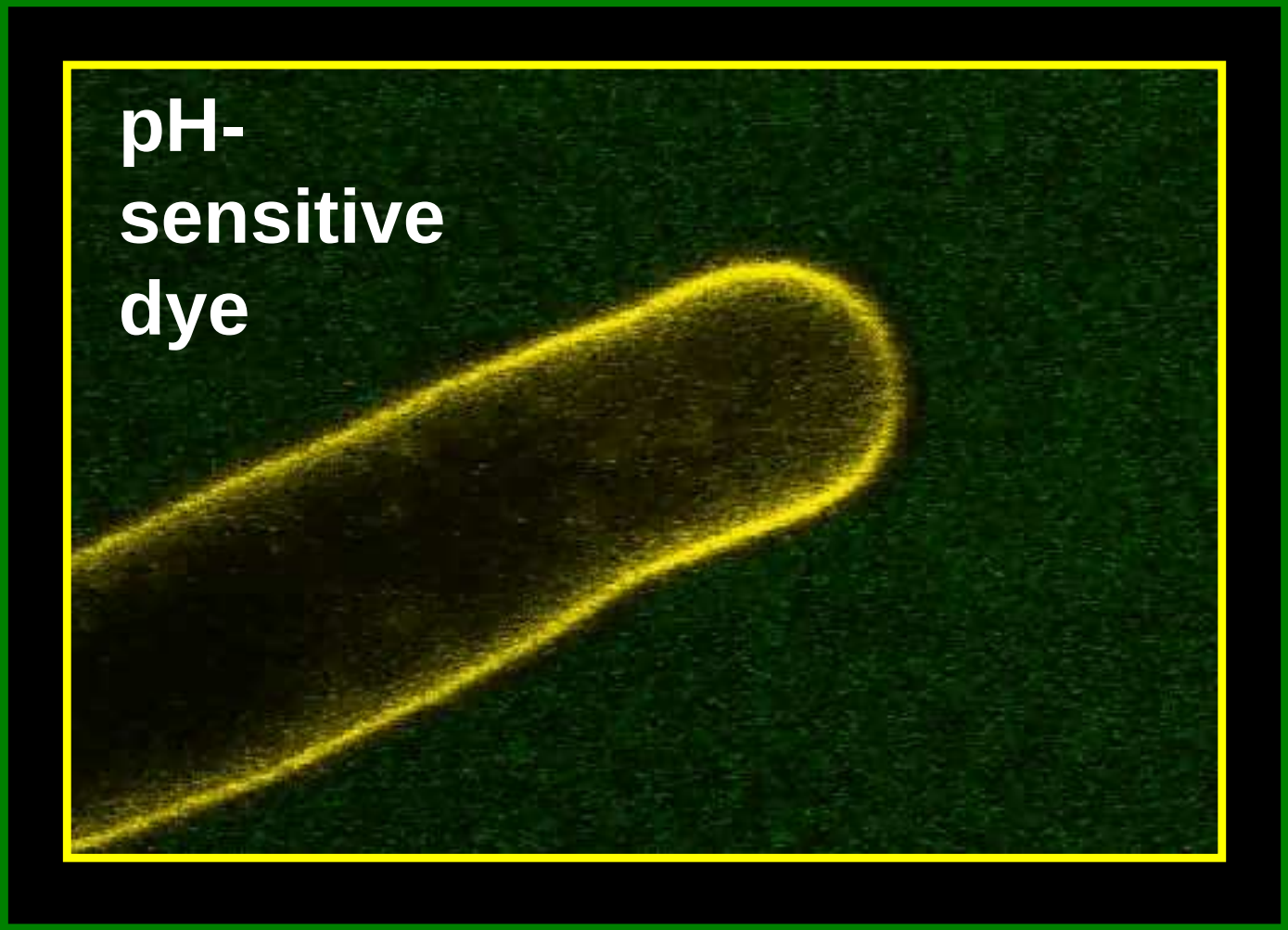




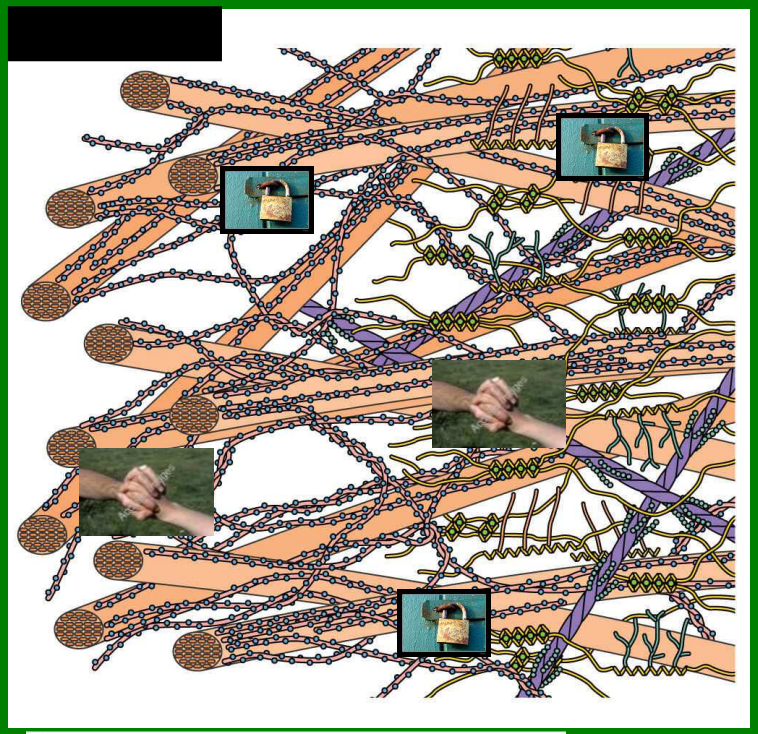
увеличение $[Ca^{2+}]_{cyt}$ стимулирует образование АФК и изменение pH среды

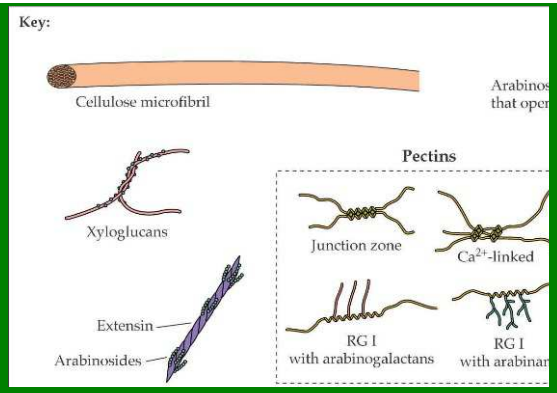
блокатор кальциевых каналов ингибирует образование АФК и изменение pH среды

Увеличение концентрации кальция в цитоплазме вызывает изменение pH апопласта



Роль изменений pH и АФК апопласта ???





высокая концентрация АФК

кросслинкинг белков, пектинов и ксилоглюканов

высокий pH клеточной стенки

ингибирует экспансины

активирует пектин метилэстеразы

ГИПОТЕЗА:

роль увеличения pH и АФК апопласта - укрепление клеточной стенки

Механорецепция растений

?

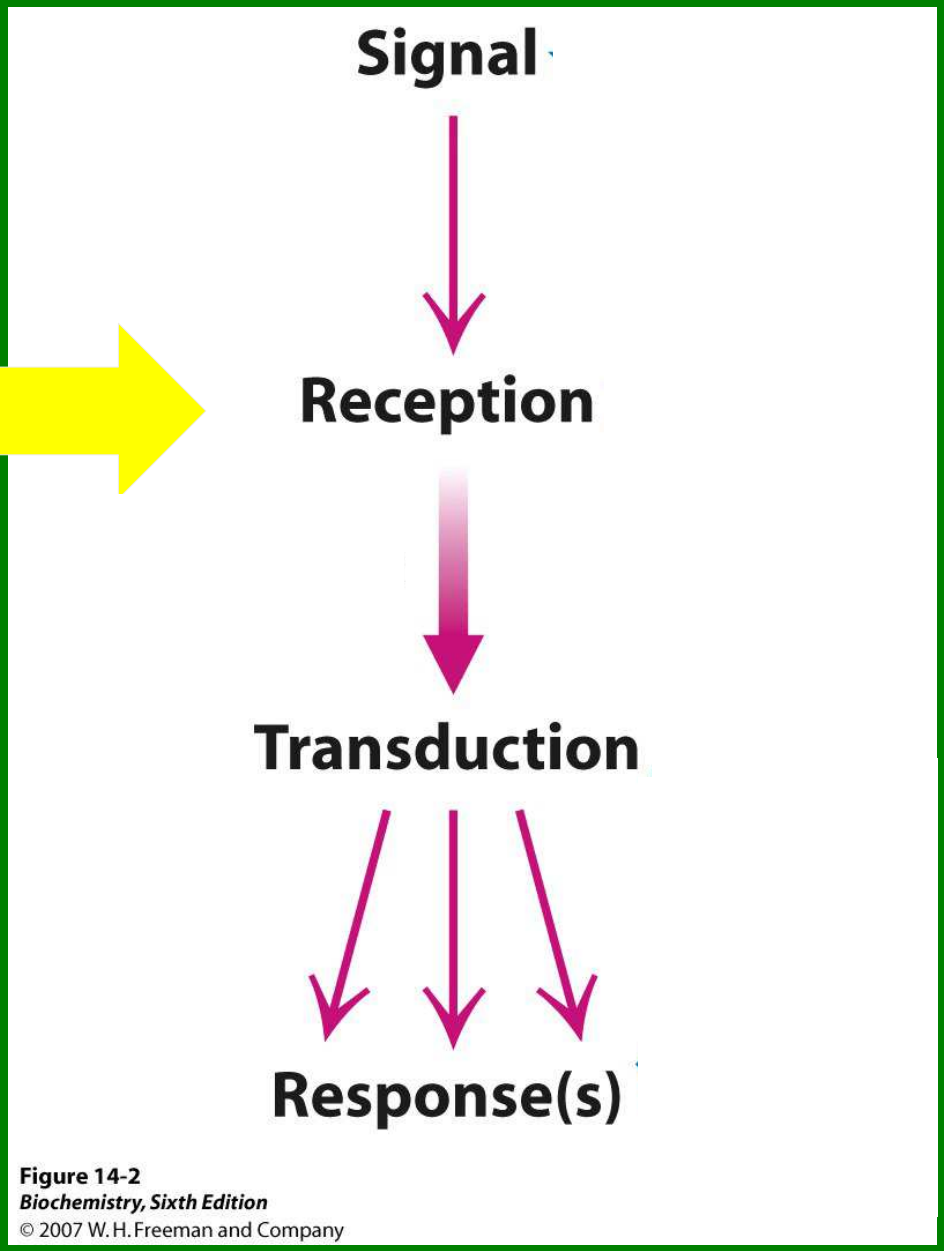
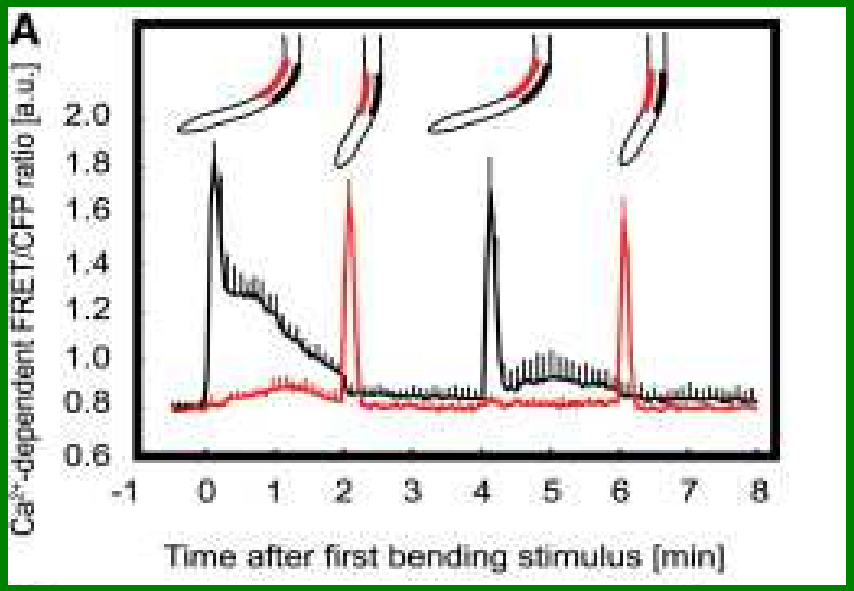
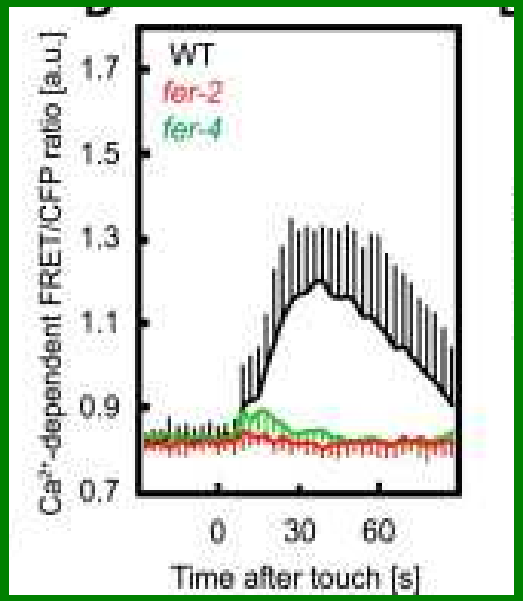
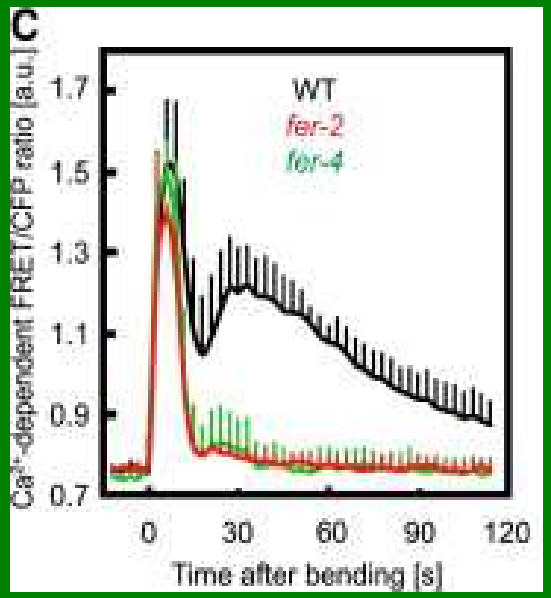


Figure 14-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

В клетках корня мутанта по гену FERONIA нарушено увеличение Ca^{2+} вызванное механической стимуляцией

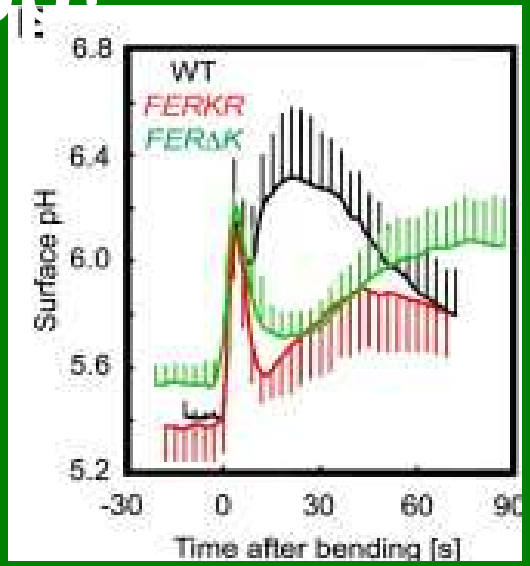






FERONIA – механорецептор?

Рецепторподобная киназа FERONIA неспособная к автофосфорилированию может функционально замещать ее нативную форму.



Shih et al., 2015

Вопросы:

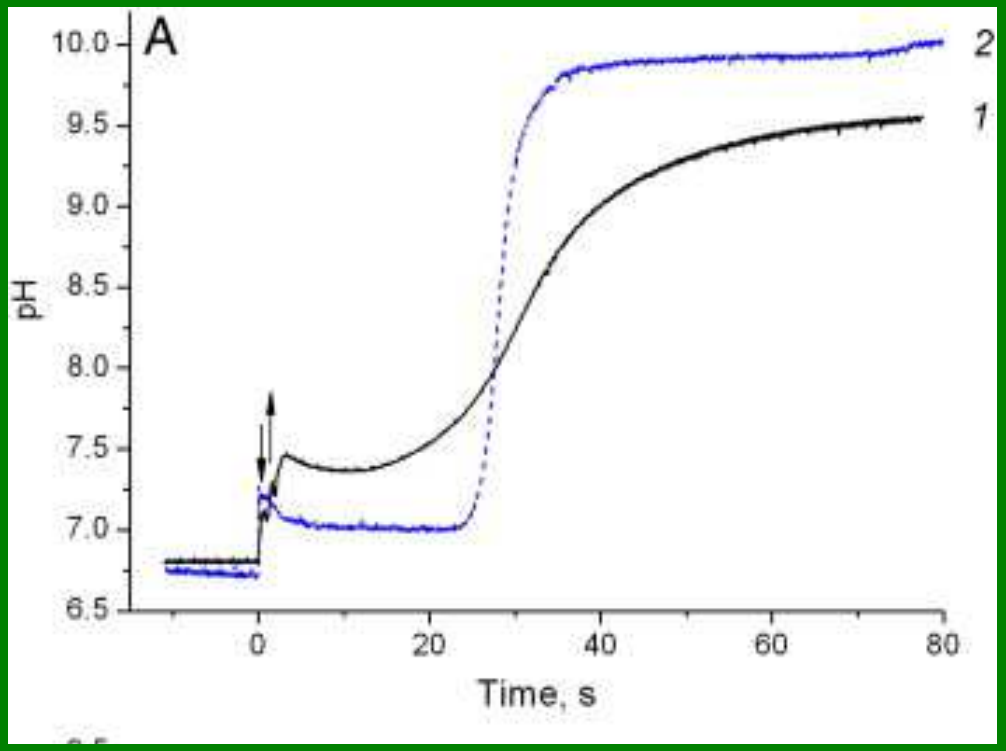
1. Насколько эволюционно древней является механорецепция растений?

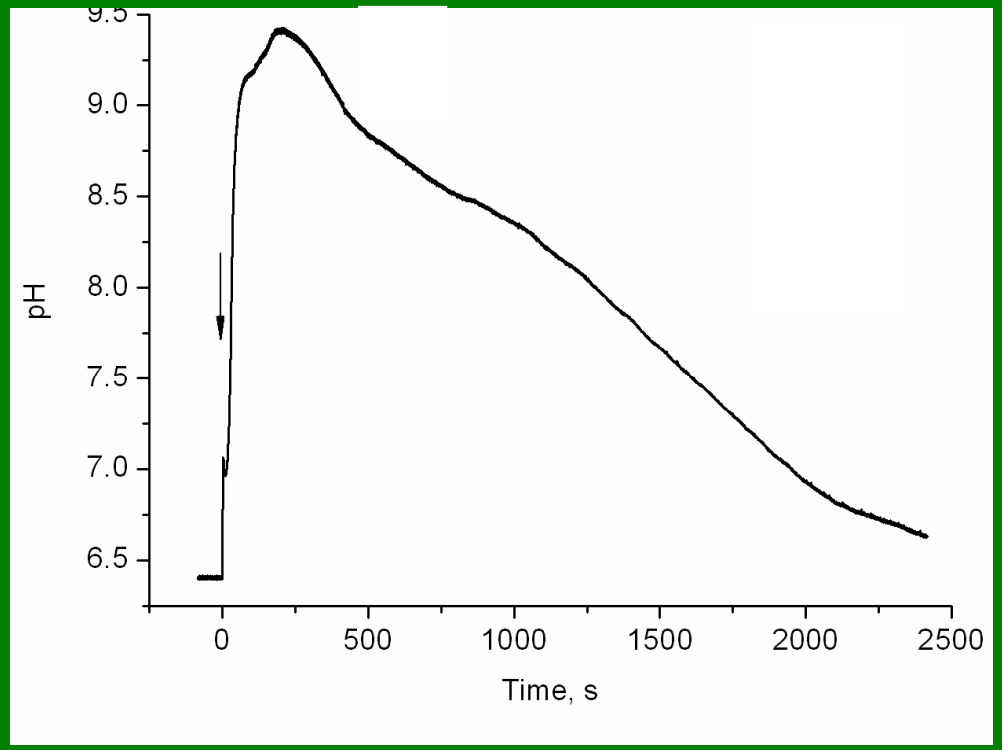
2. Как модифицируется механорецепция если размеры клетки и клеточной стенки увеличены?

3. Как модифицируется механорецепция у фотосинтезирующих клеток?

4. Какова роль цитоскелета в регуляции механорецепции?

Влияние механического раздражения на pH апопласта клетки Хары

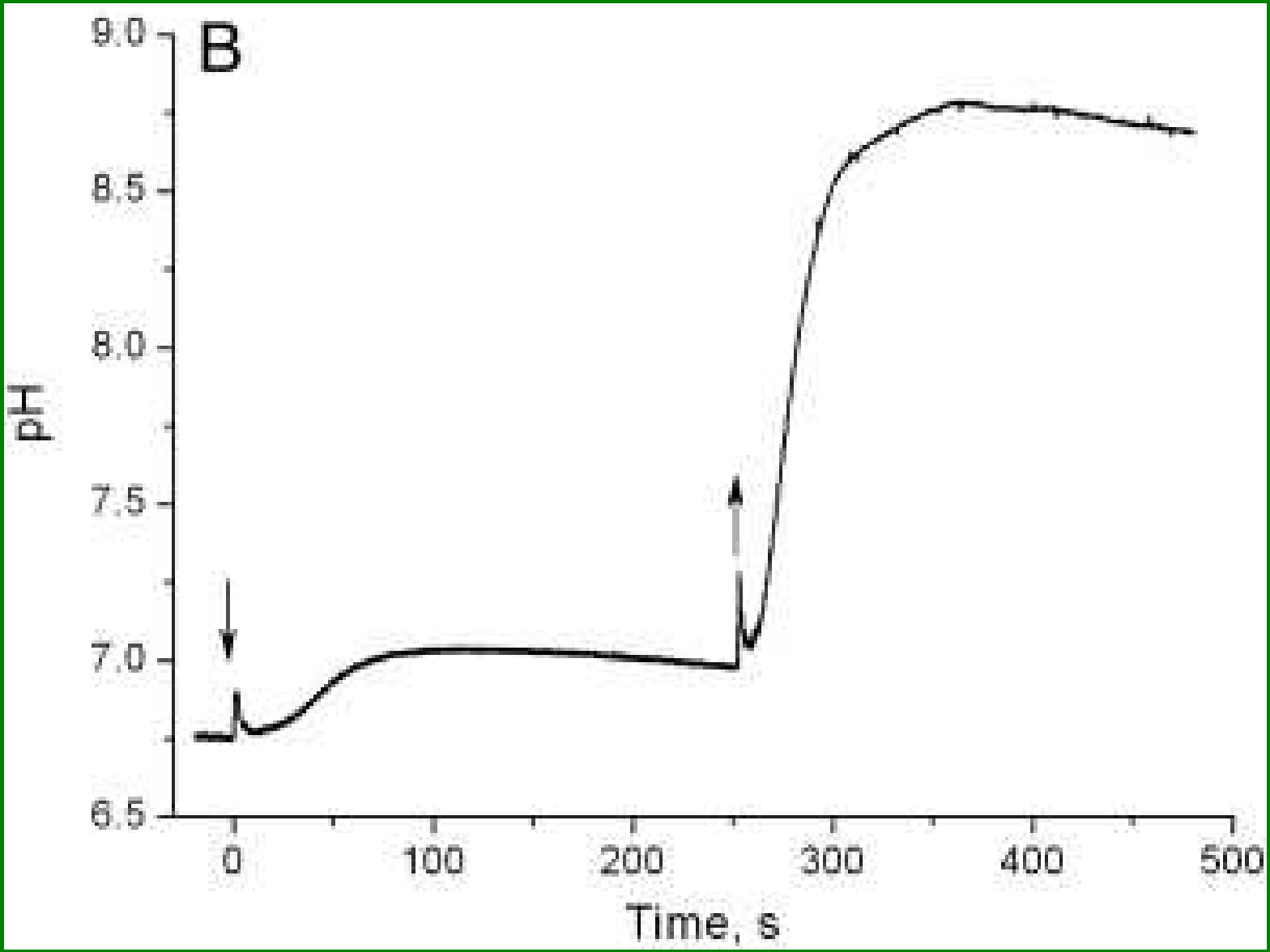


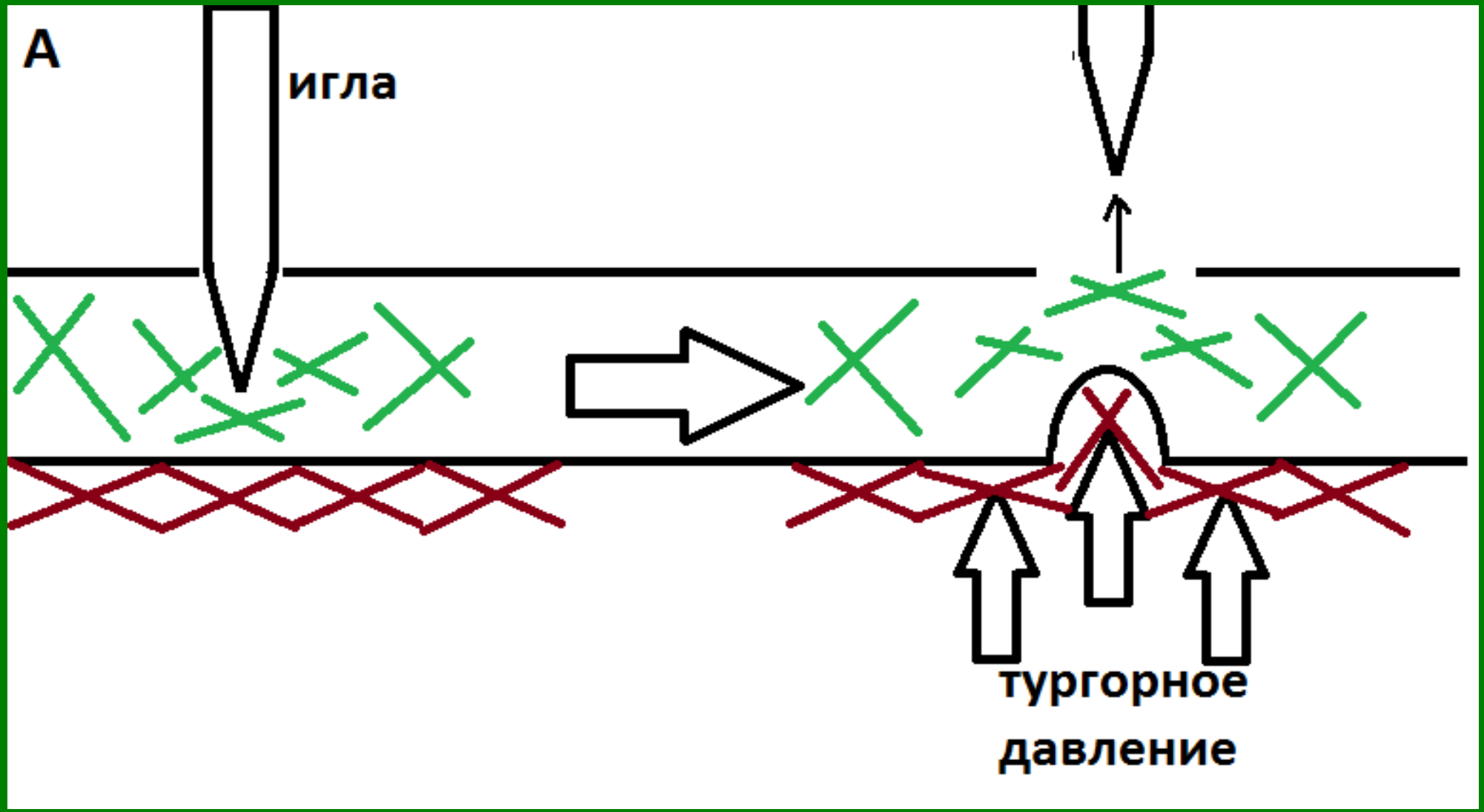


Механическая стимуляция кл. стенки Хары вызывает увеличение pH апопласта на 3 единицы. Алкалинизация апопласта продолжается примерно 40 минут.

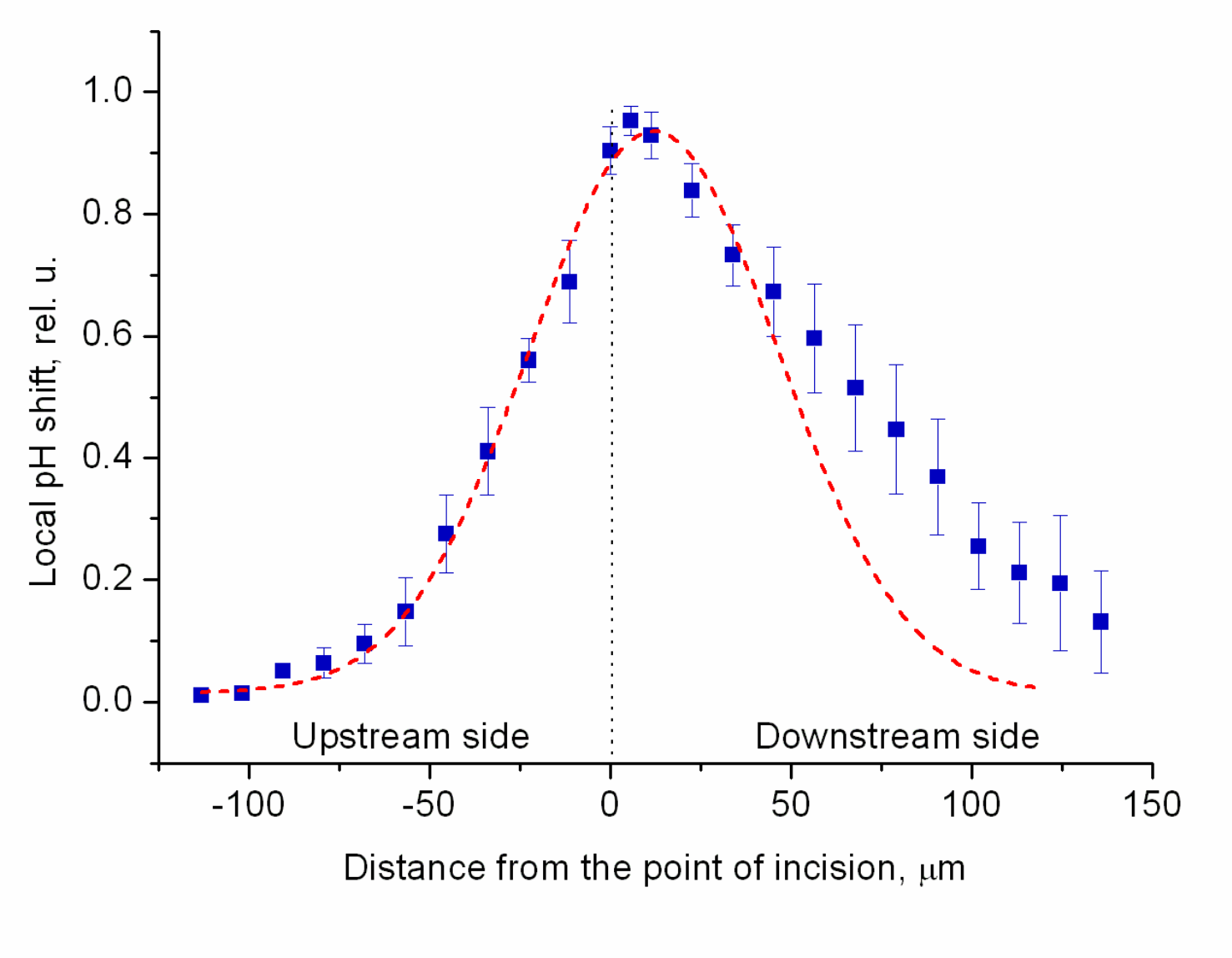
Bulychev et al., 2013

The effect of insertion and removal of micropipette on extracellular pH of Chara internodes




А
игла
тургорное
давление

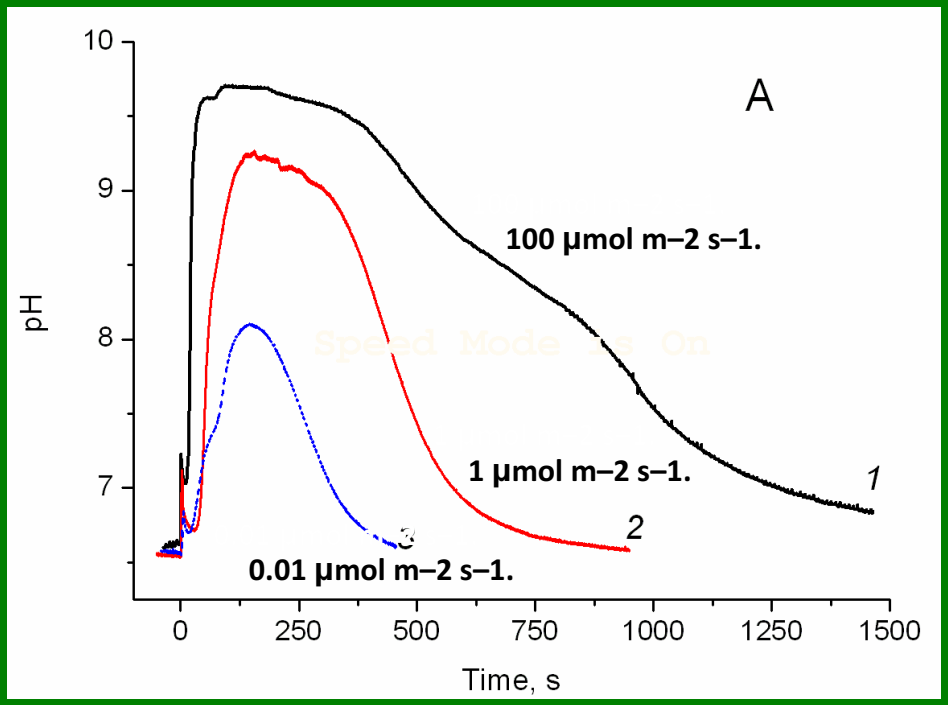
Ответ клетки локализован в районе стимуляции и зависит от циклоза

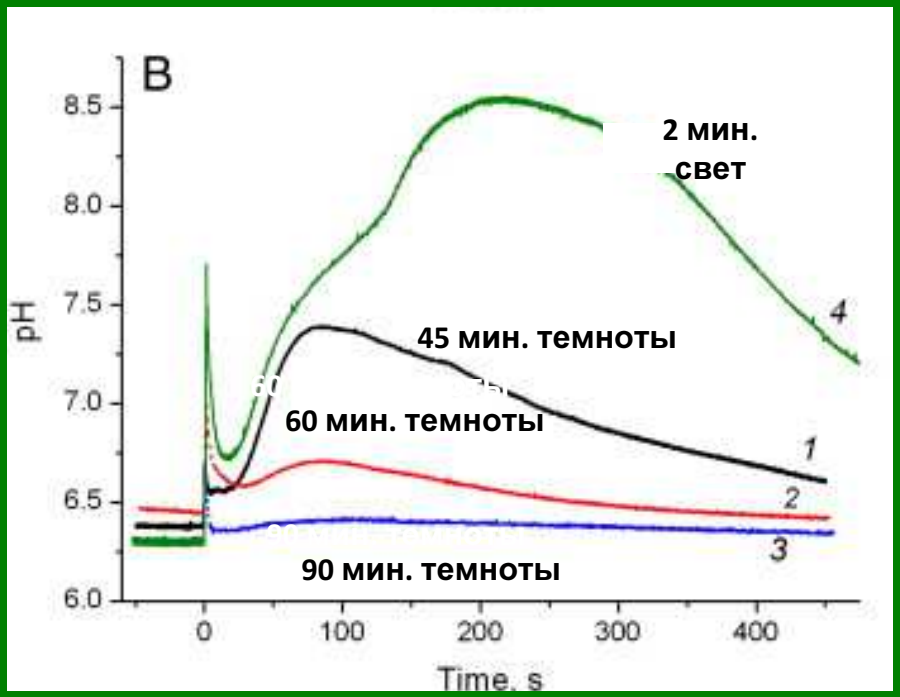


Гипотеза: При мех. стимуляции в цитоплазму выделяется некое вещество (кальций? NADPH?) которое стимулирует ответ клетки.

Bulychev et al., 2013

Амплитуда ответа клетки зависит от интенсивности освещения

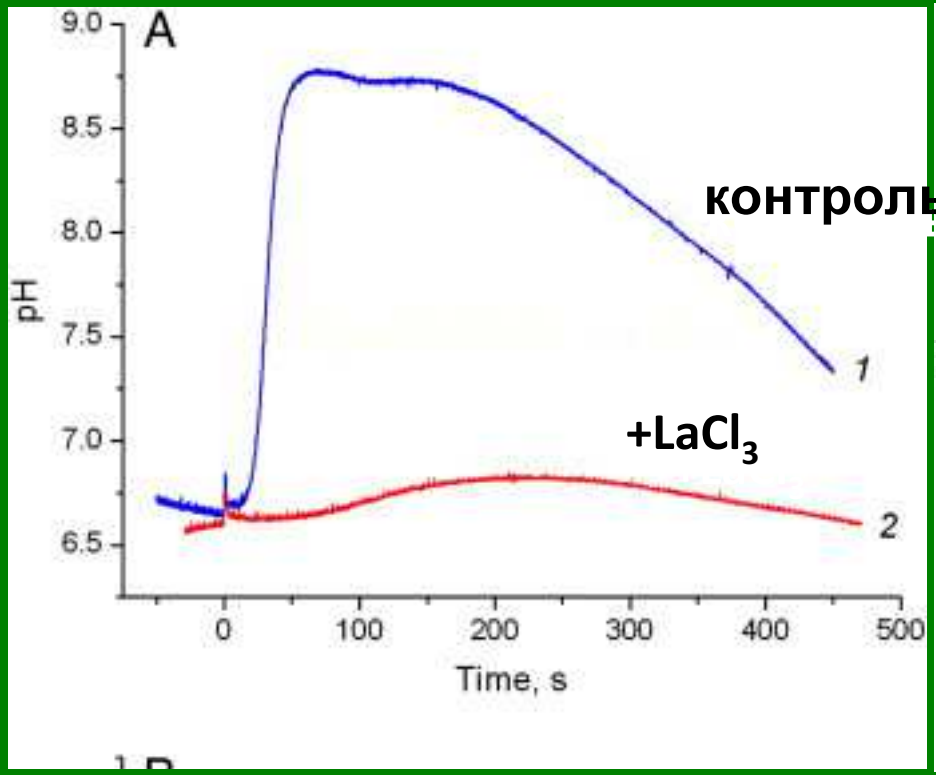


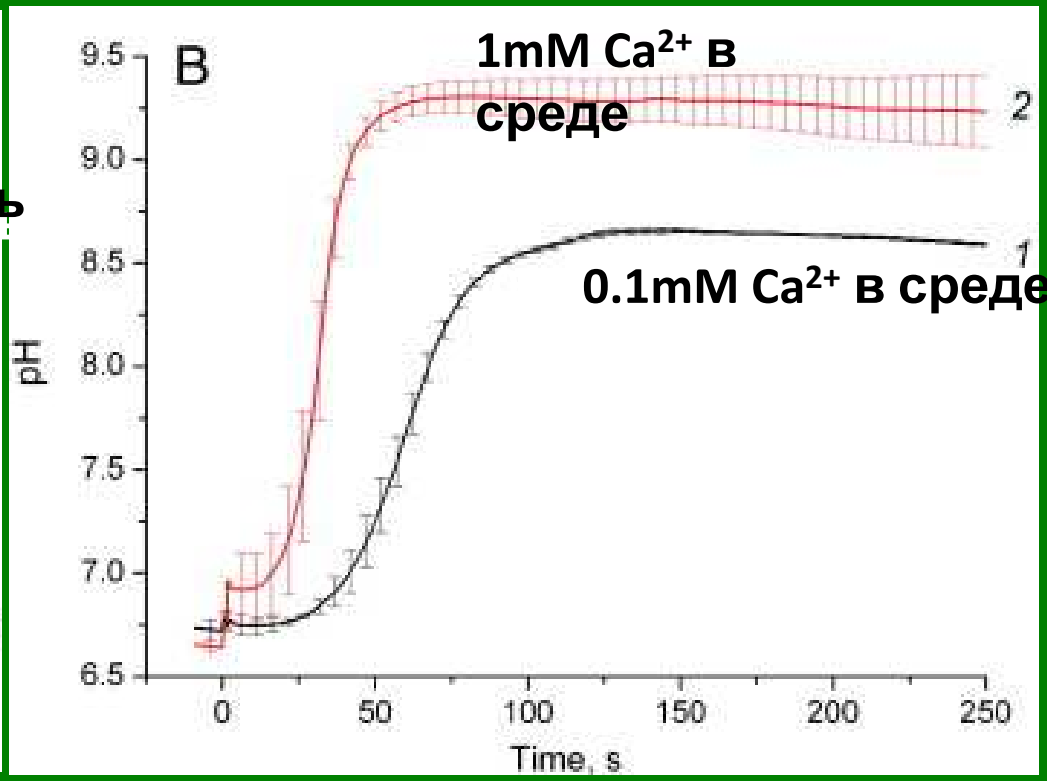


В отличии от клеток корня Арабидопсиса, ответ клеток междоузлий Хары на мех. стимуляцию зависит от освещенности.

Bulychev et al., 2013

Амплитуда ответа клетки зависит от концентрации Ca^{2+} в цитоплазме

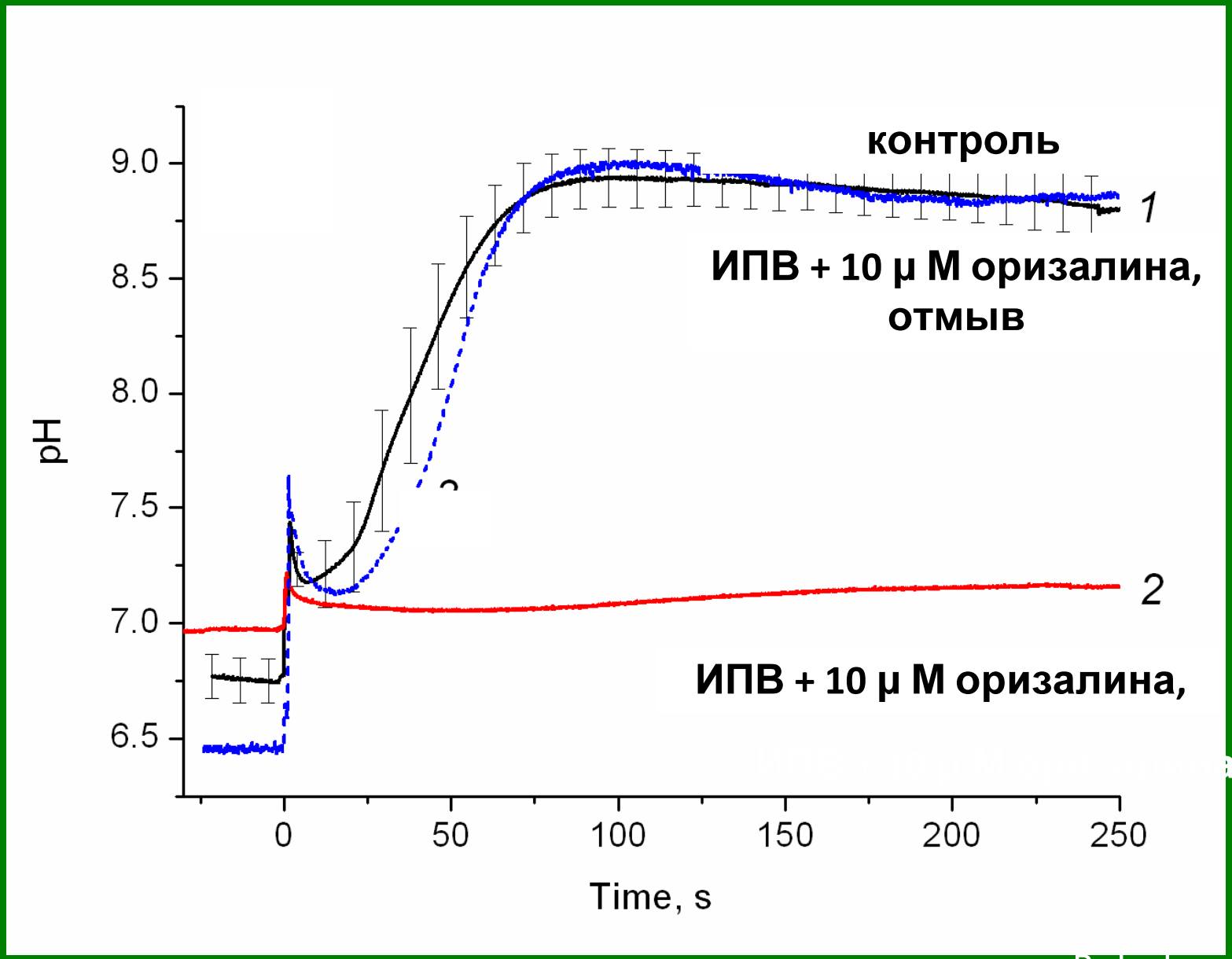




Ингибиторы кальциевых каналов полностью ингибируют ответ, а увеличение концентрации кальция в среде стимулирует ответ.

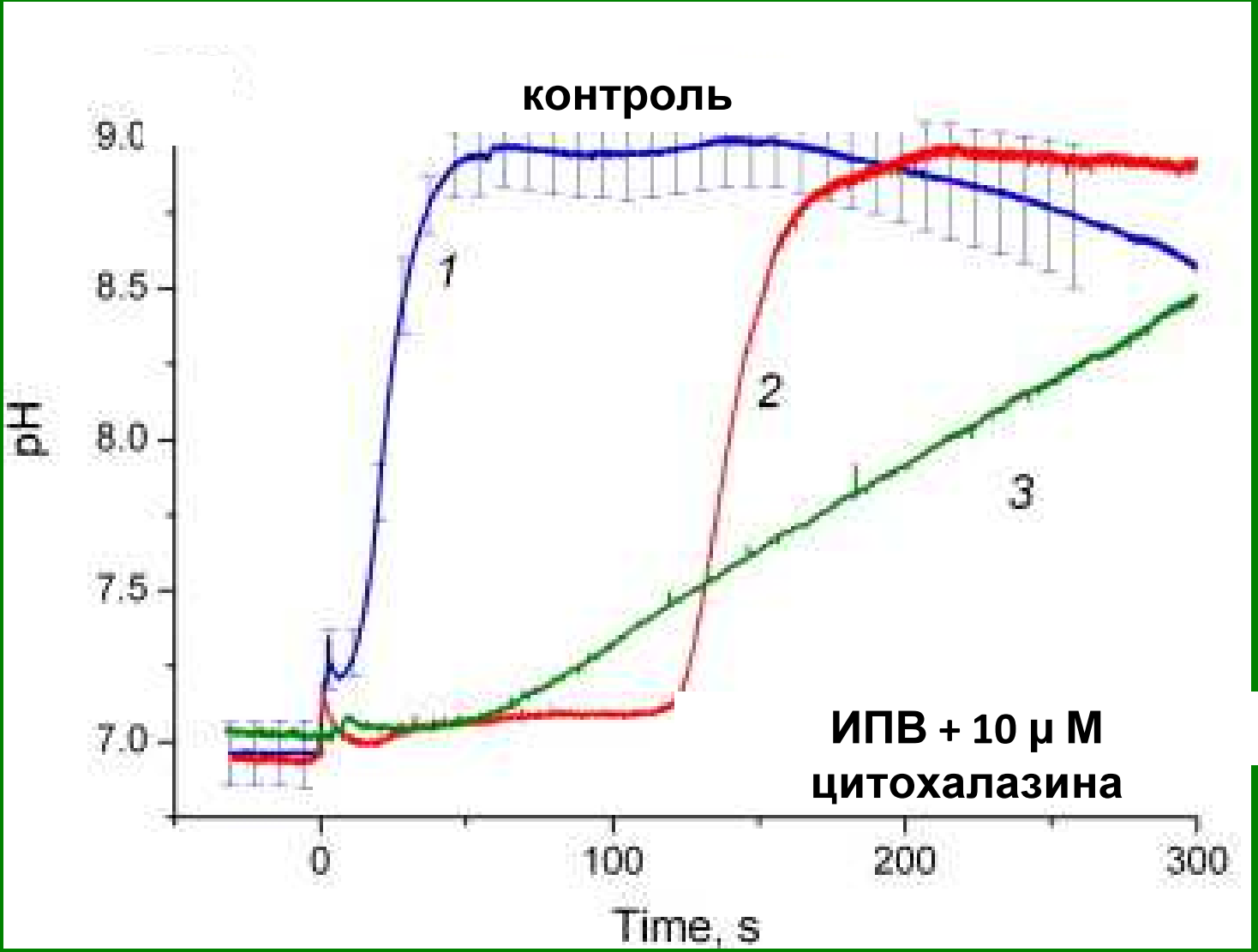
Bulychev et al., 2013

Роль цитоскелета: Искусственное нарушение нормальной динамики микротрубочек ингибирует ответ

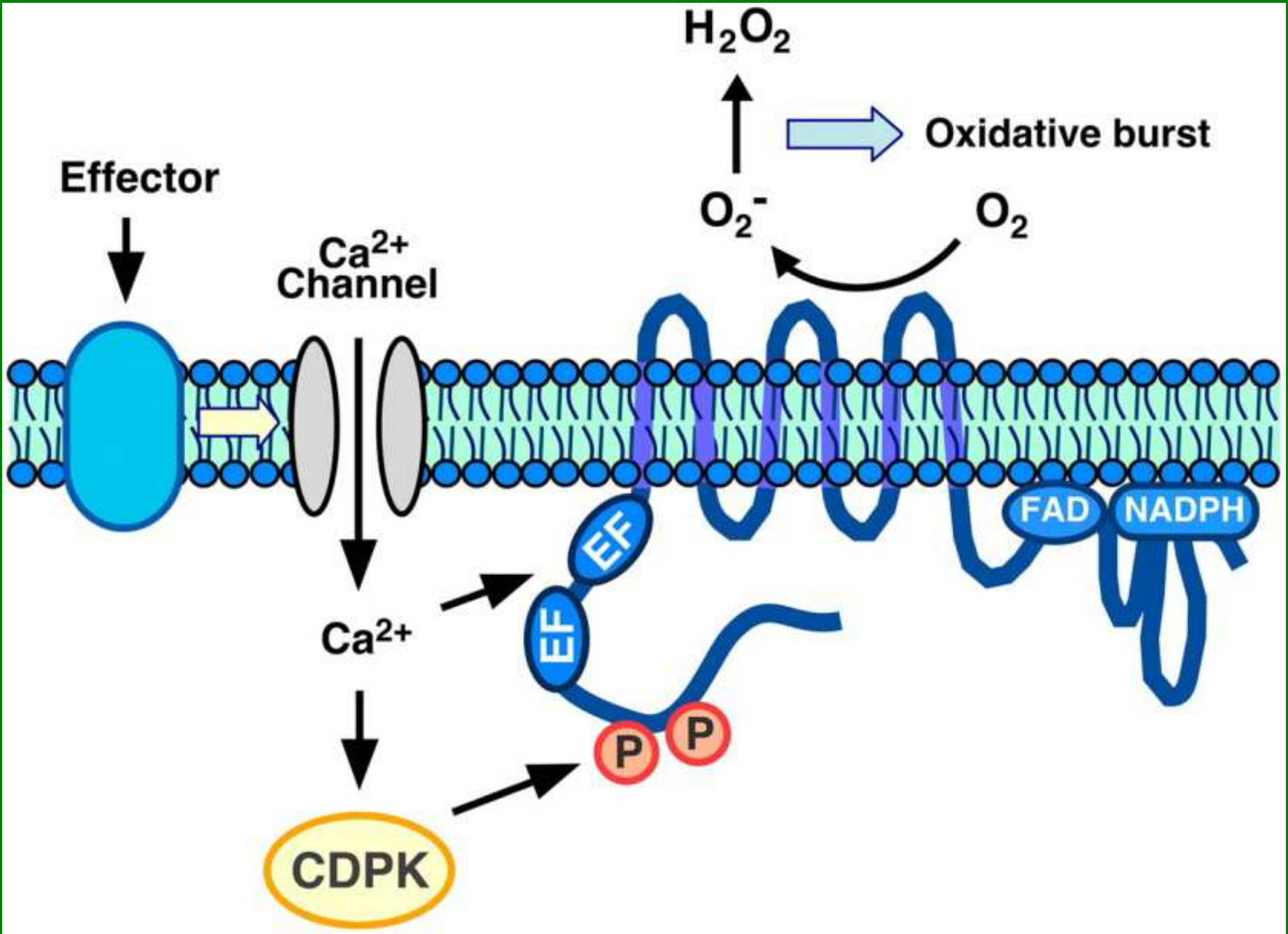


Bulychev et al., 2013

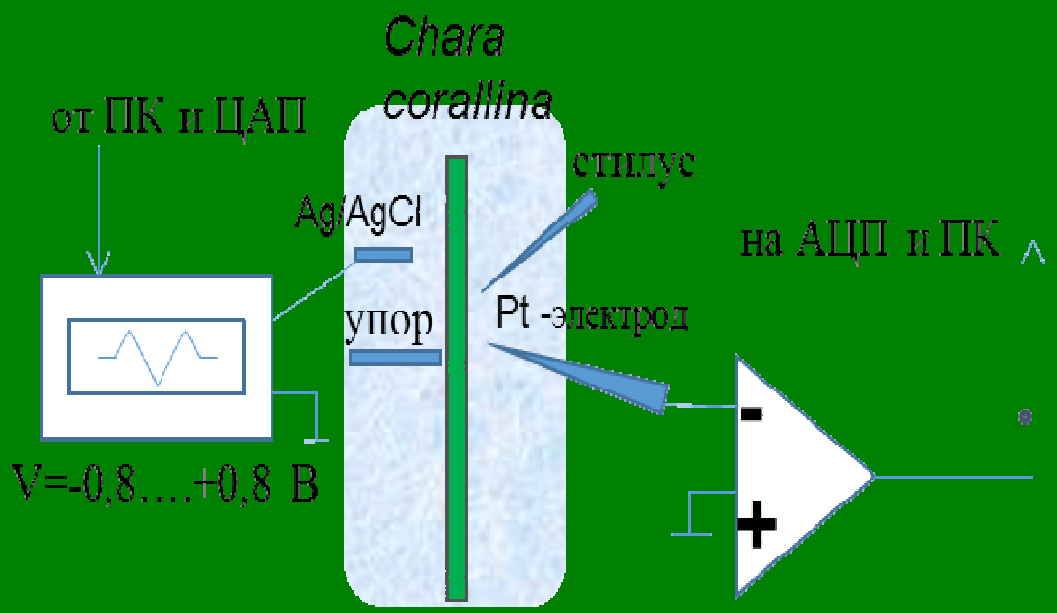
Роль цитоскелета: Искусственное нарушение нормальной динамики актина влияет на ответ

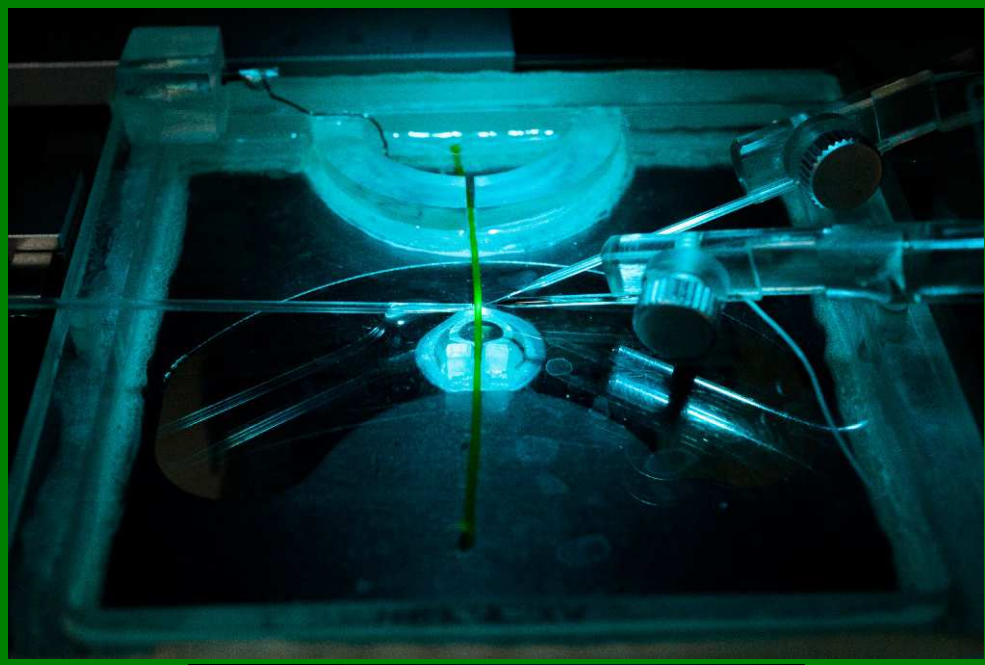


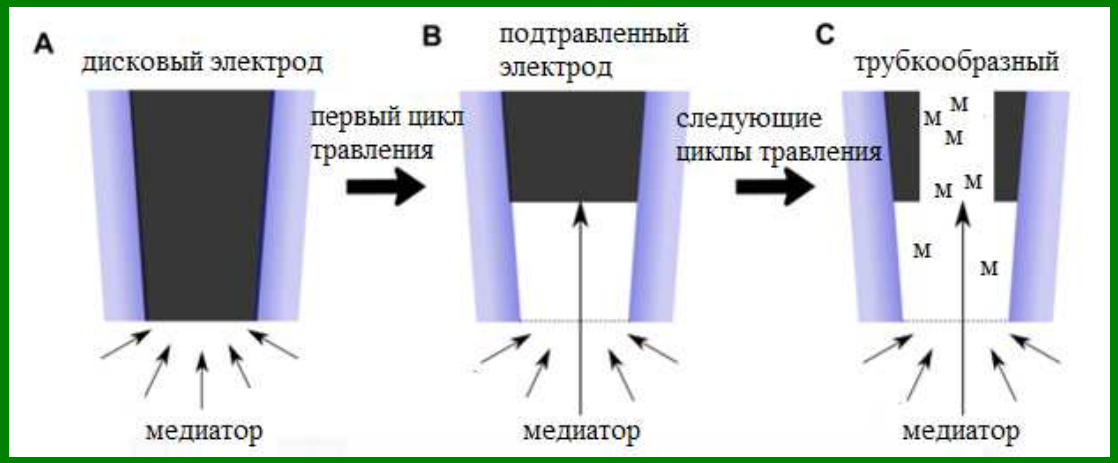
Bulychev et al., 2013

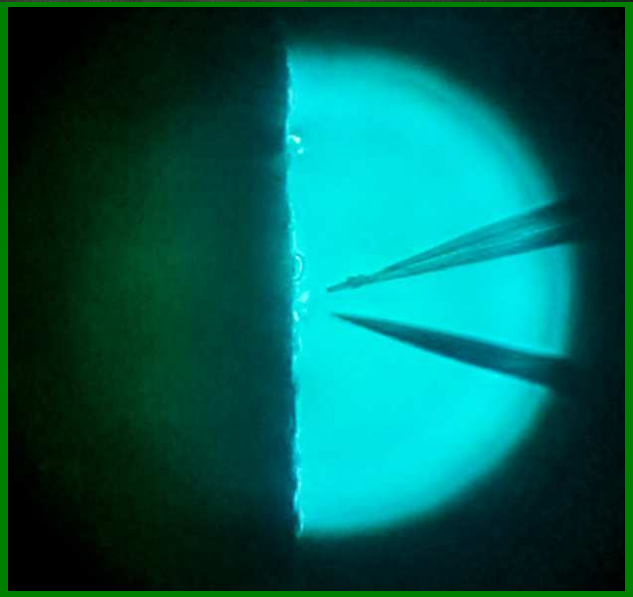

H_2O_2
Oxidative burst
Effector
O_2^-
O_2
Ca^{2+}
Channel
FAD
NADPH
EF
EF
Ca^{2+}
P
P
CDPK

Measure oxygen concentration

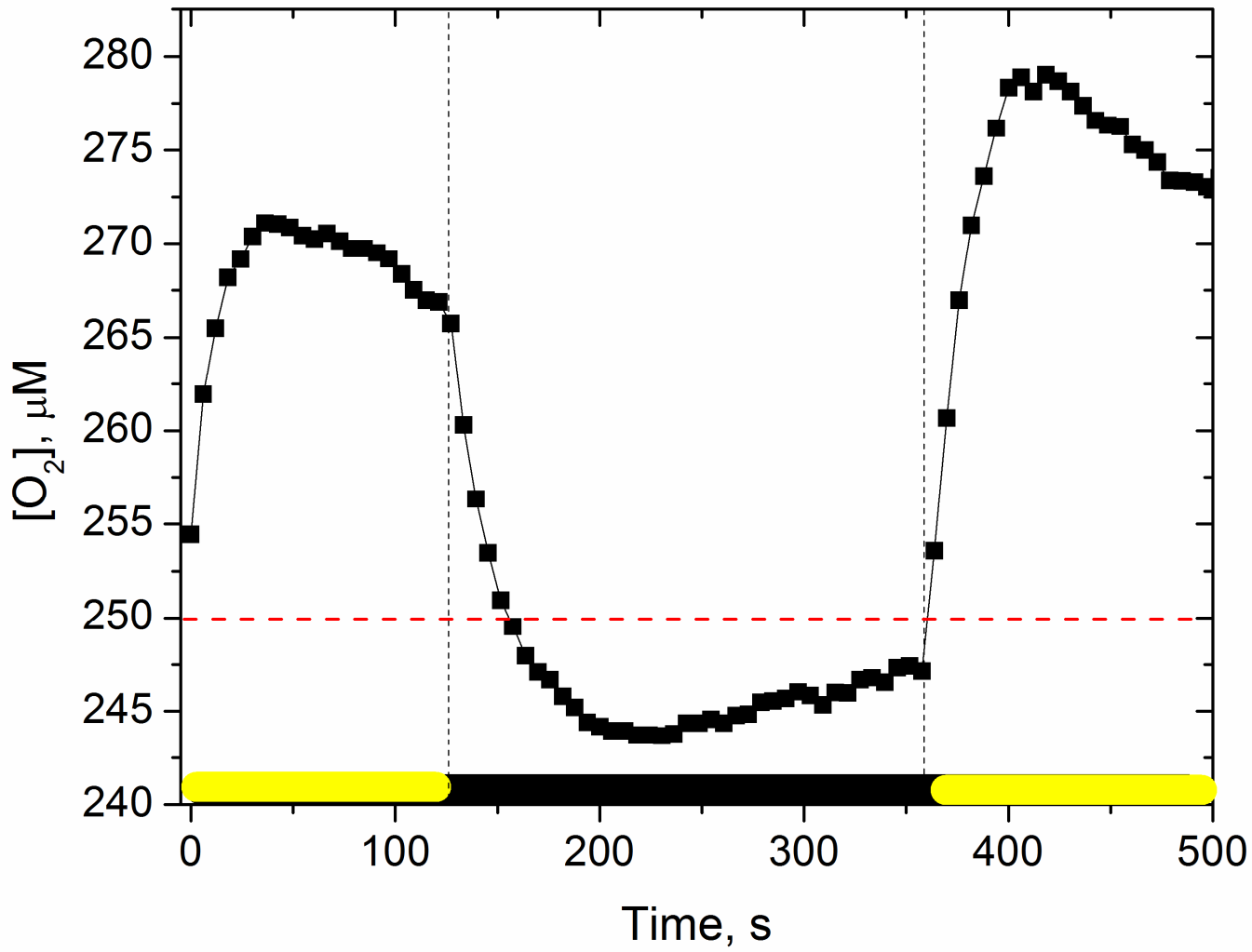




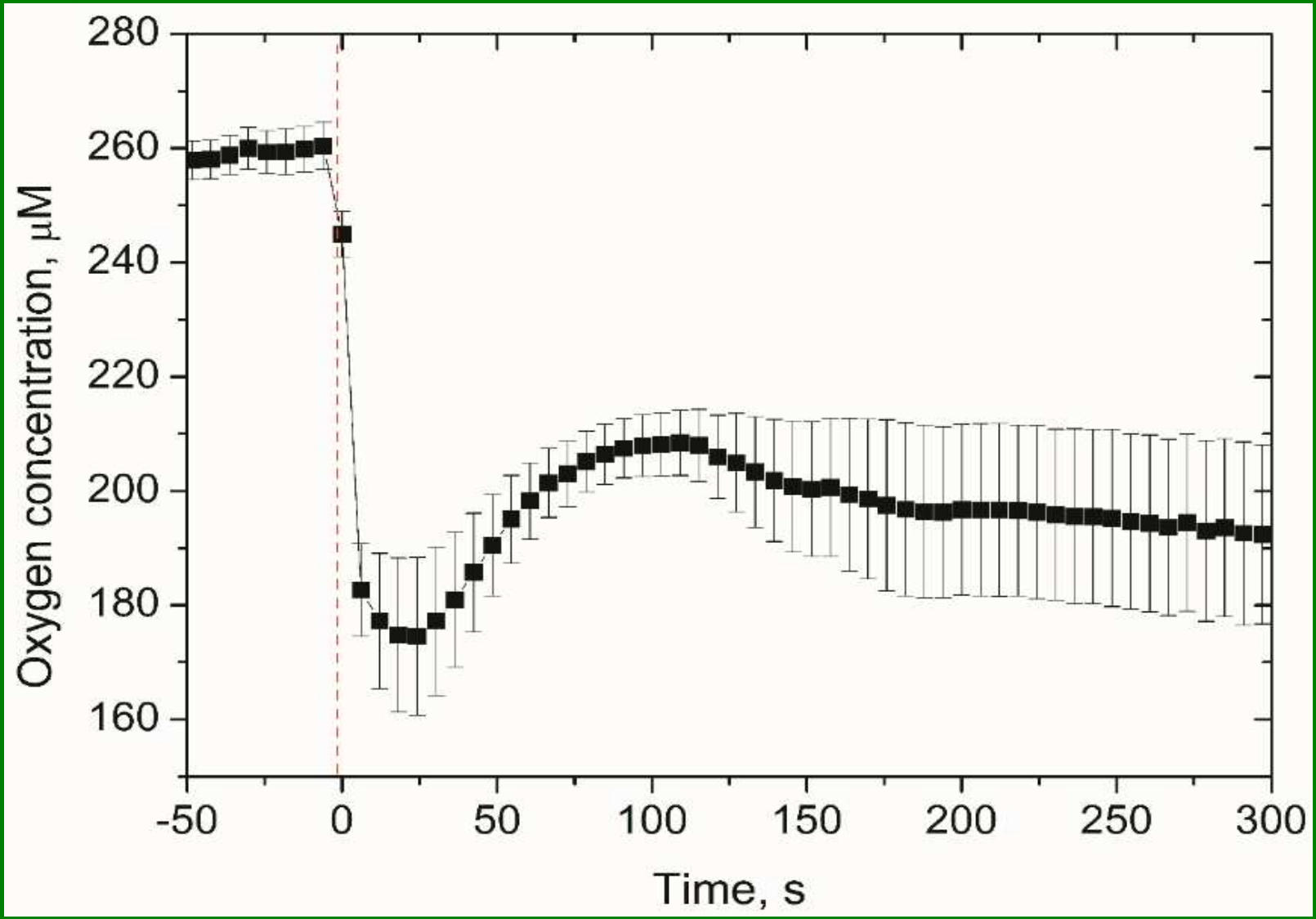




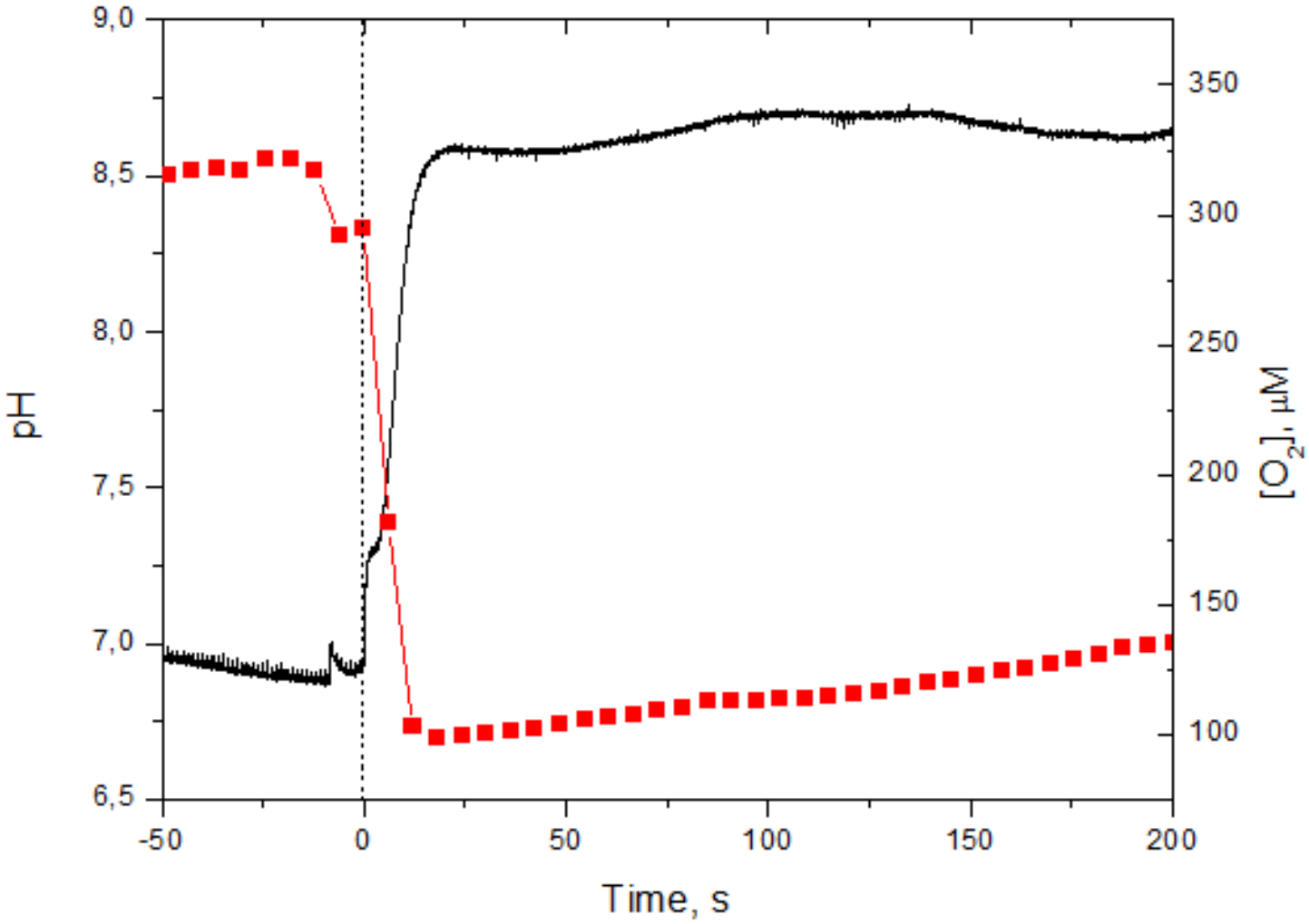
Effect of light on oxygen concentration near Chara internode



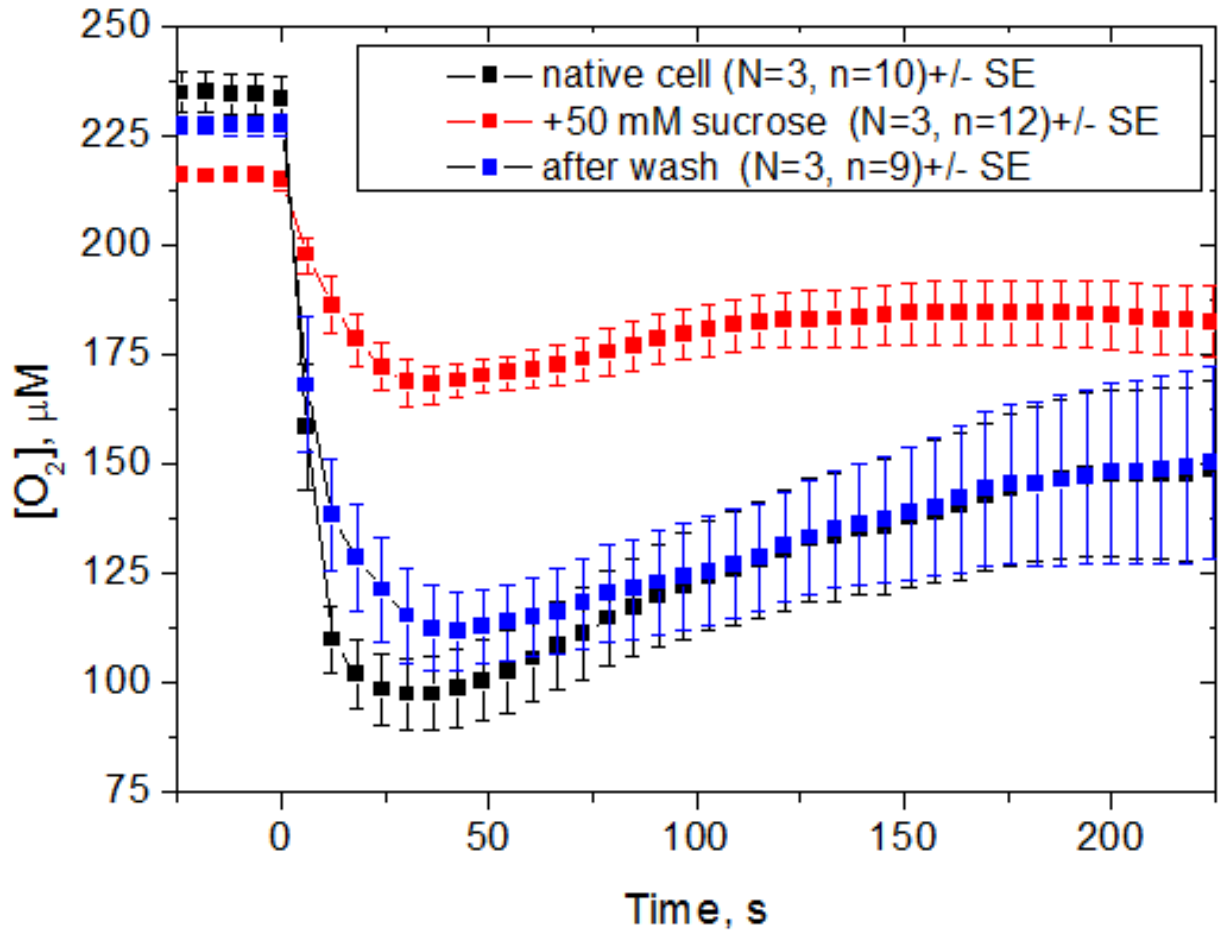
Effect of mechanical stimulation on oxygen concentration near Chara internode



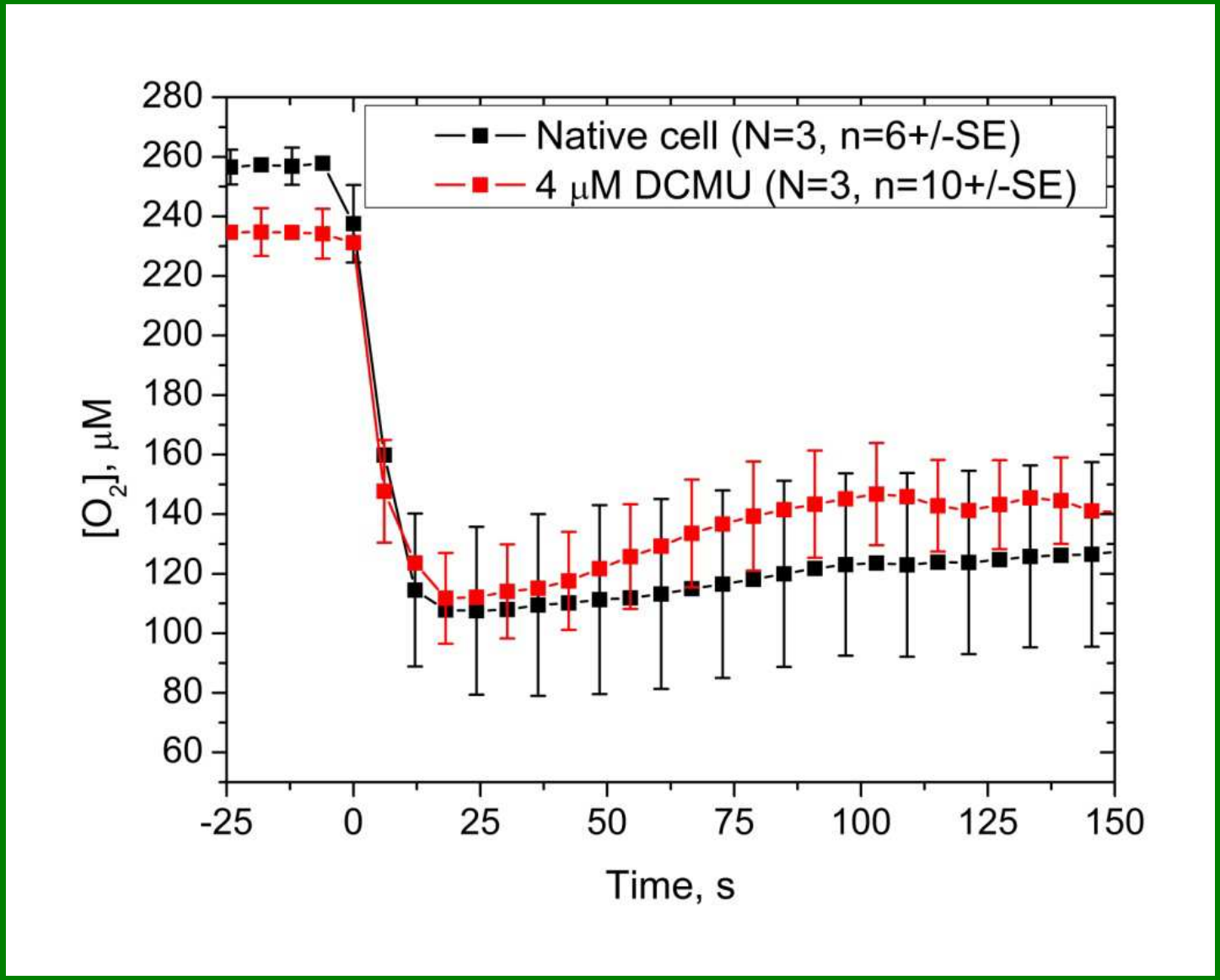
Effect of mechanical stimulation on oxygen concentration and pH near Chara internode



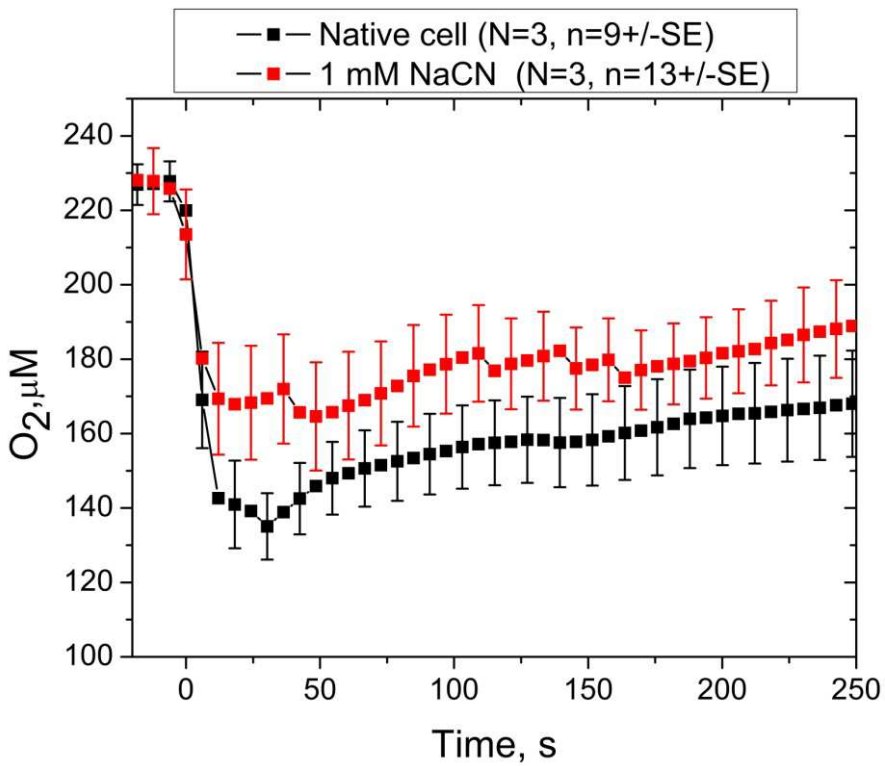
Role of hydrostatic pressure

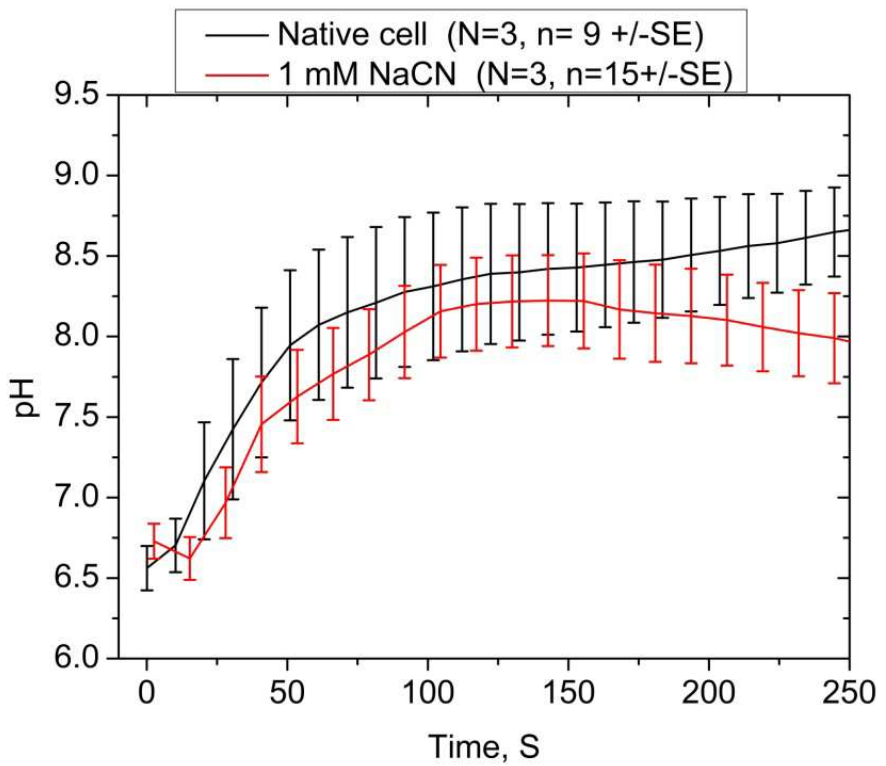


DCMU – inhibitor of electron transport in photosynthesis

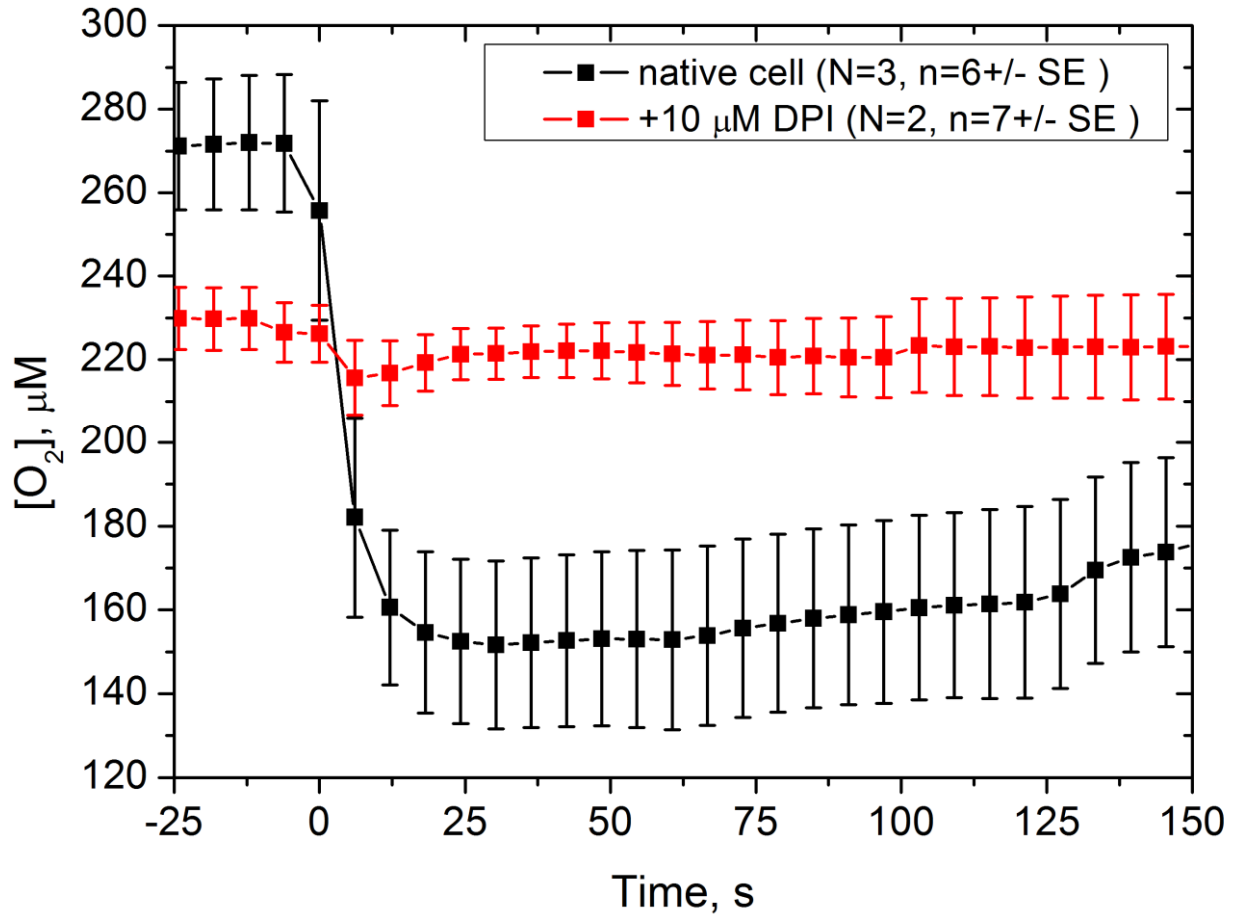


NaCN – inhibitor of mitochondria cytochrome oxidase

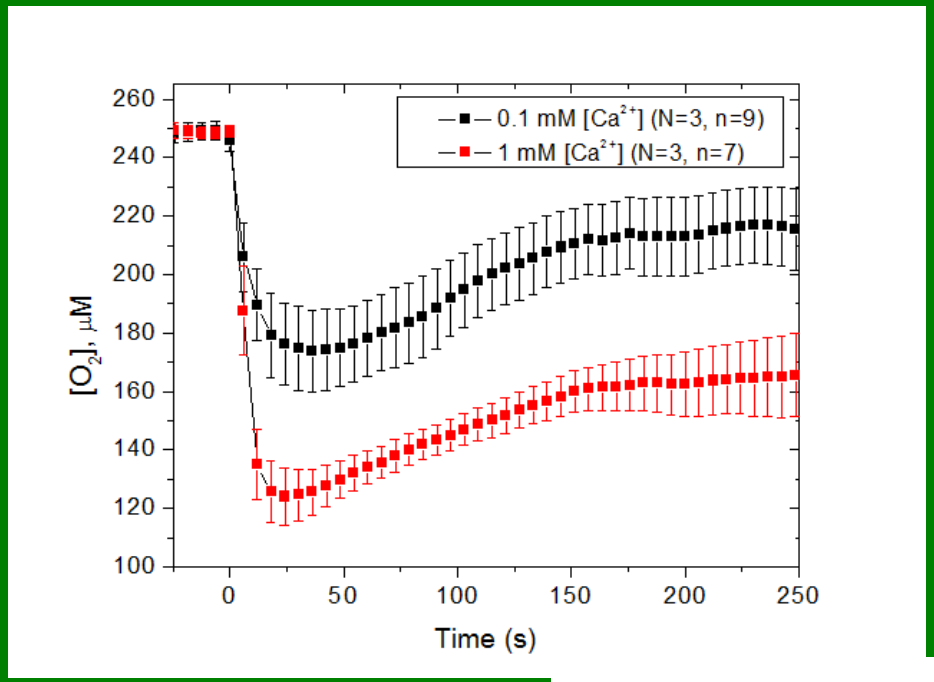


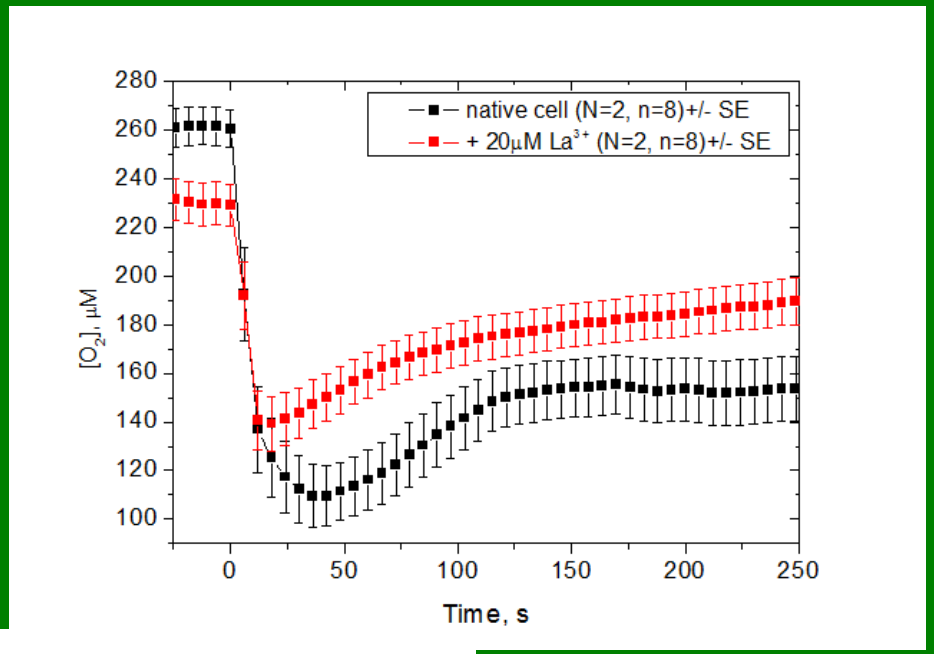


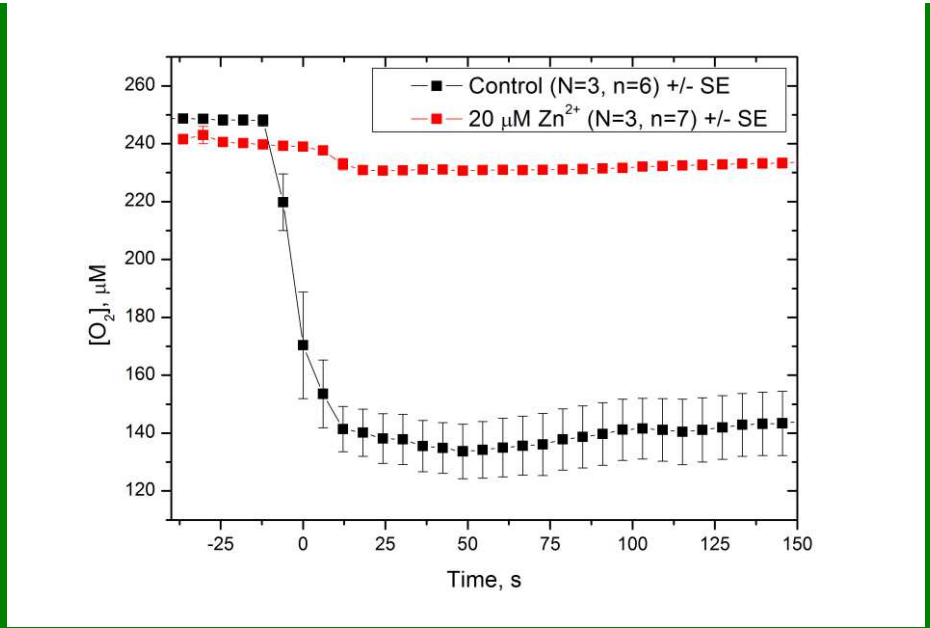
DPI – НАДФН-oxidase inhibitor



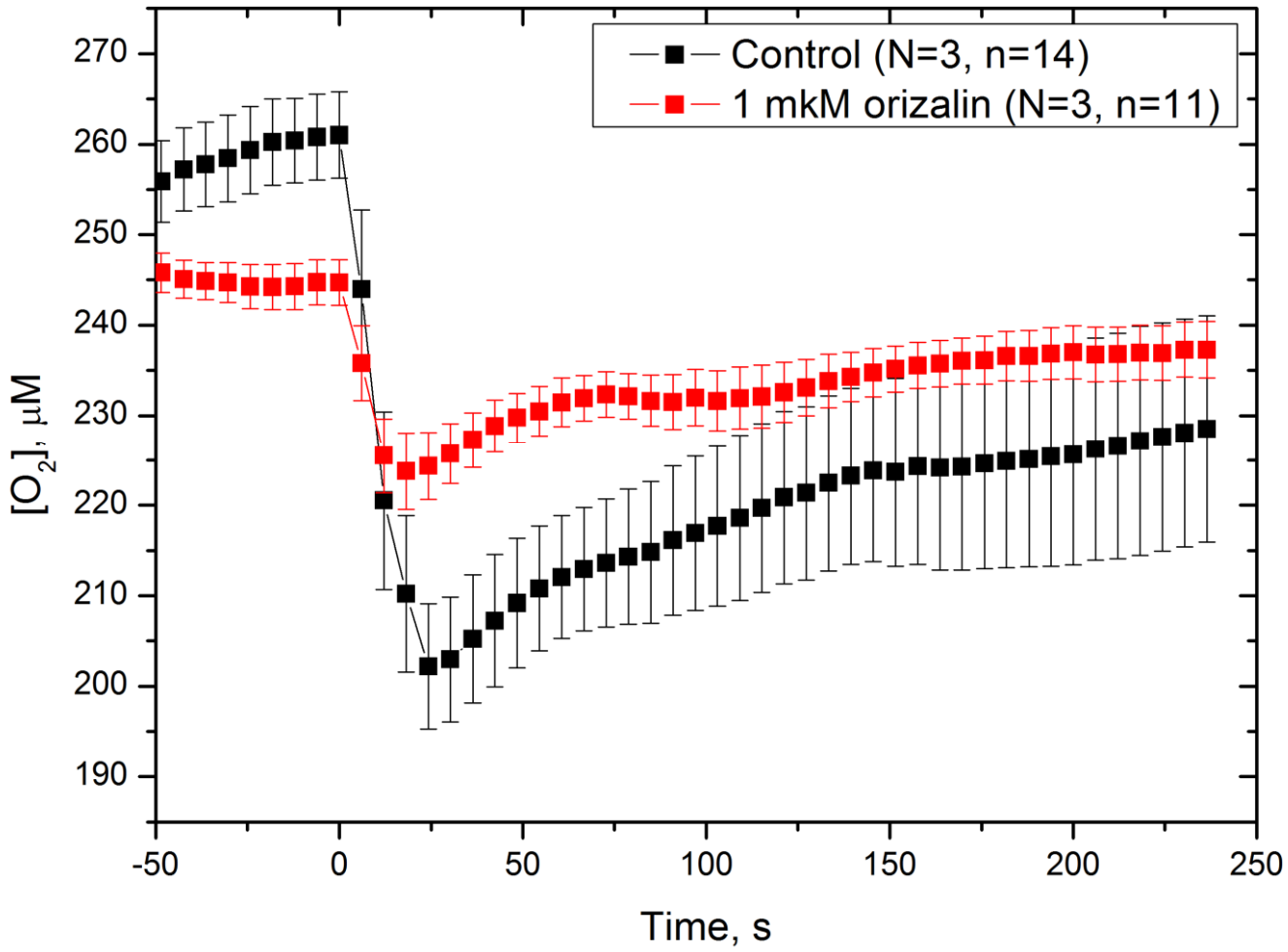
Role of Ca^{2+}- channels







Role of microtubules



Механорецепция растений

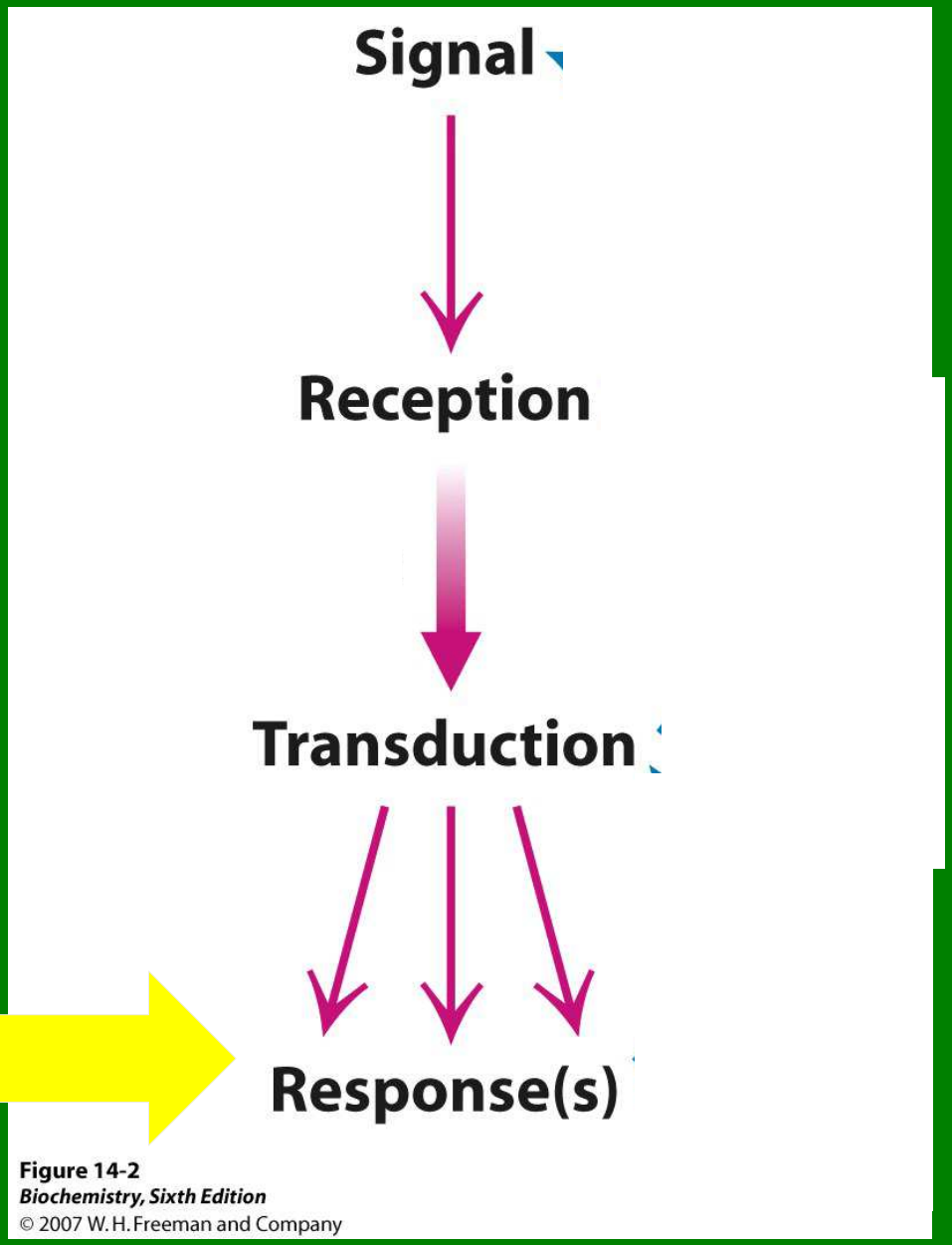
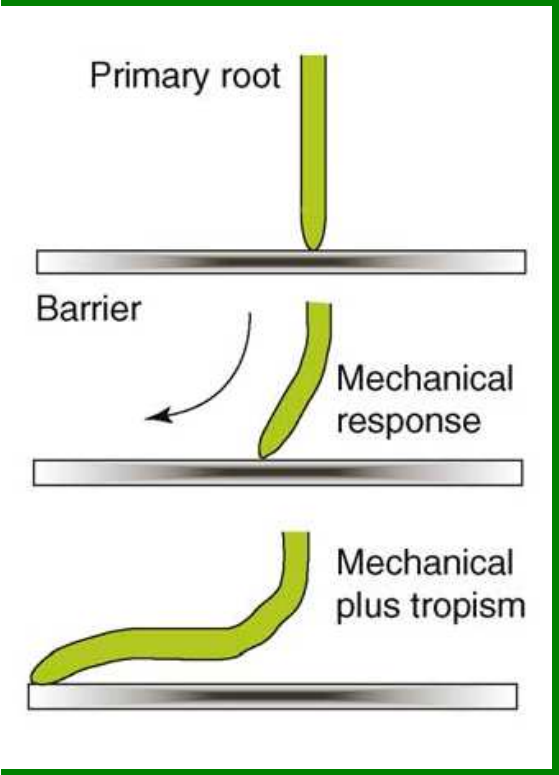
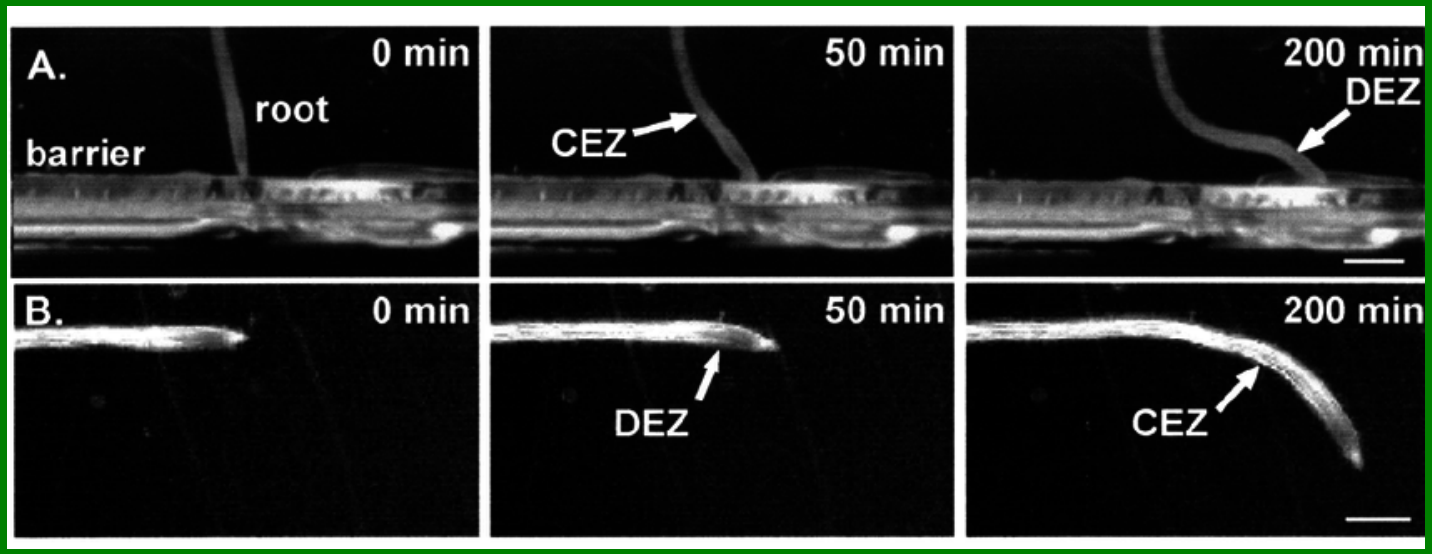


Figure 14-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

?

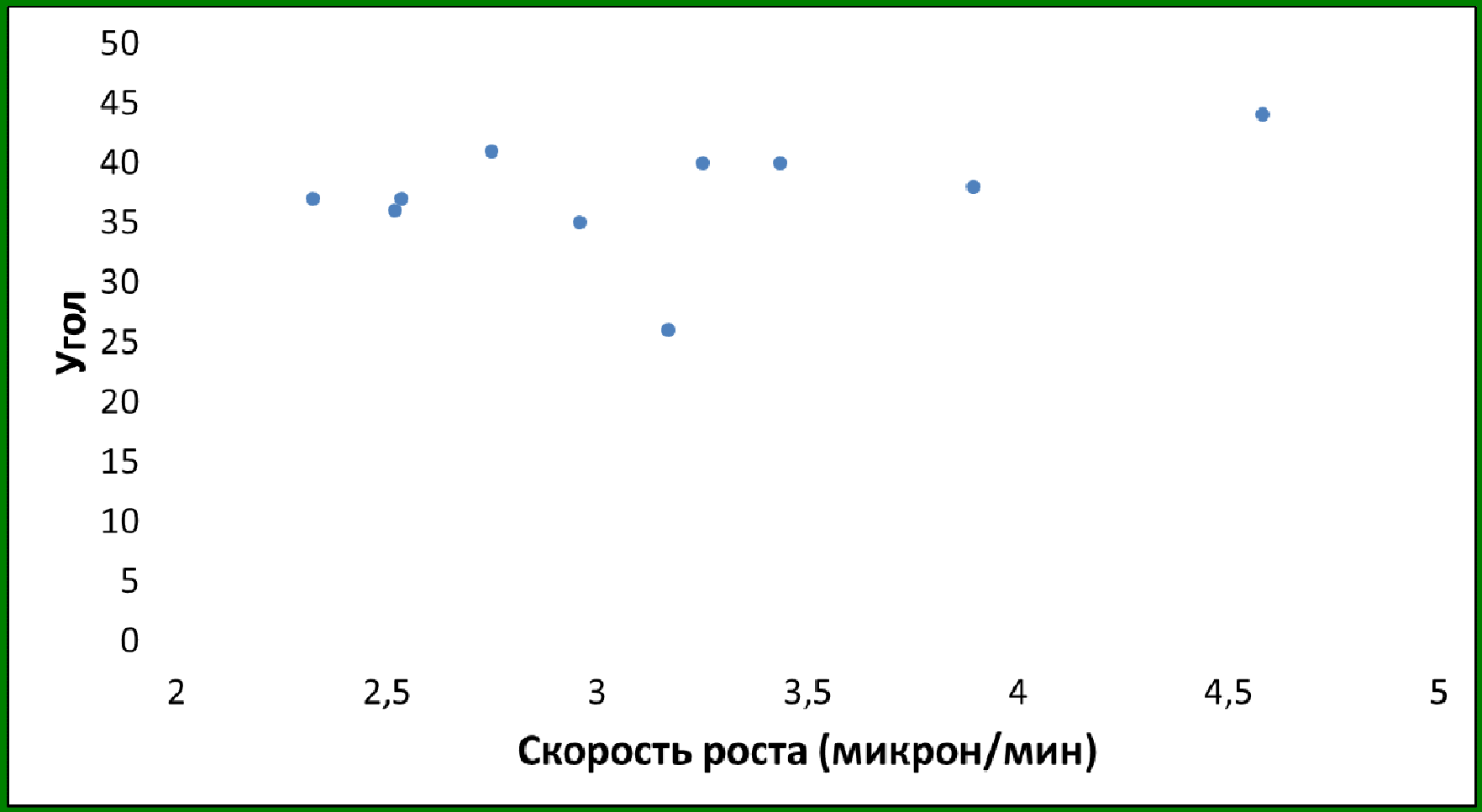
Механорецепция растений: встреча корня с препятствием





2018-06-21, 20:49:23

Угол наклона корня по отношению к препятствию не зависит от скорости роста корня



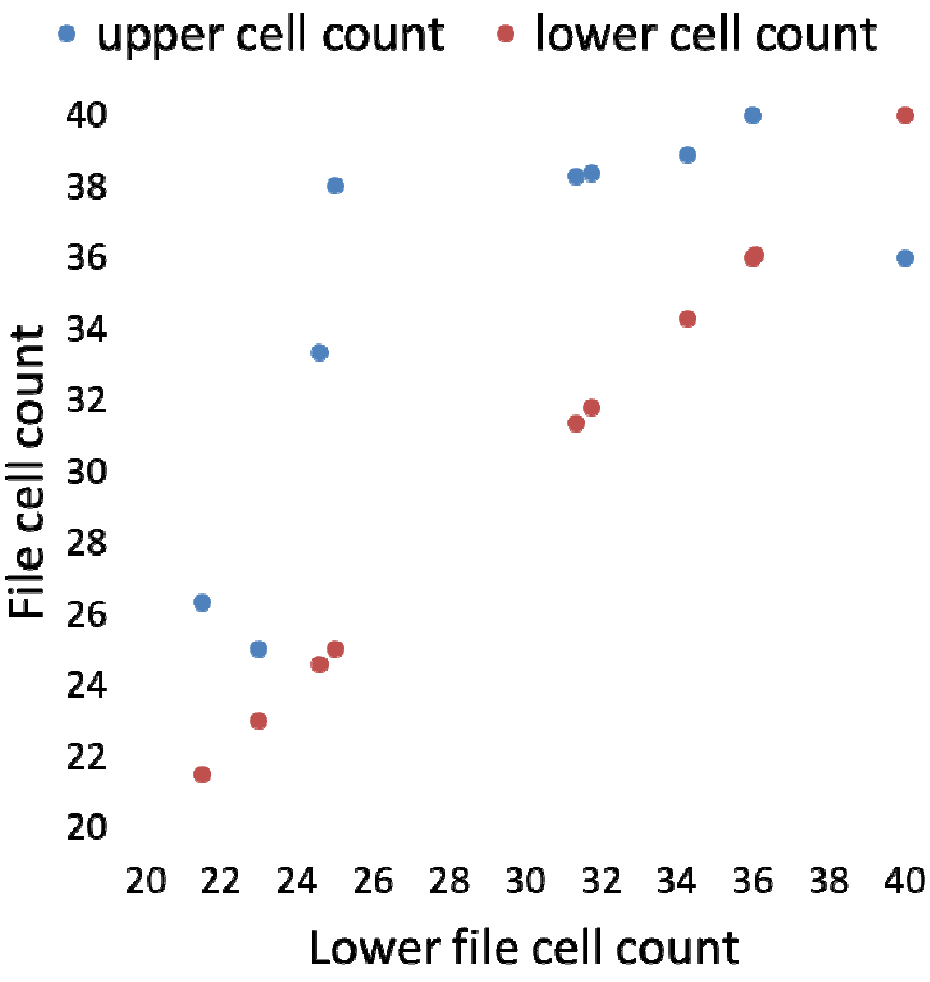
Влияние механической стимуляции на структуру меристемы

Кончик корня арабидопсиса, экспрессирующий маркер плазматической мембраны – PIP2

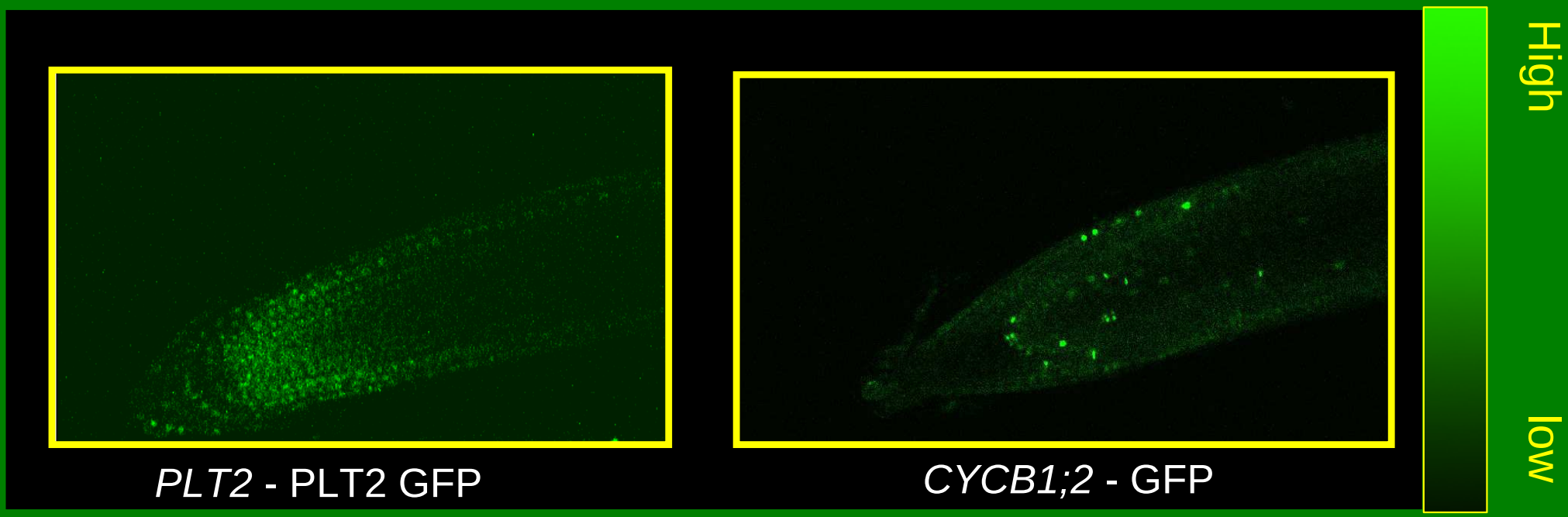
Влияние механической стимуляции на структуру меристемы

Кончик корня арабидопсиса, экспрессирующий маркер плазматической мембраны – PIP2

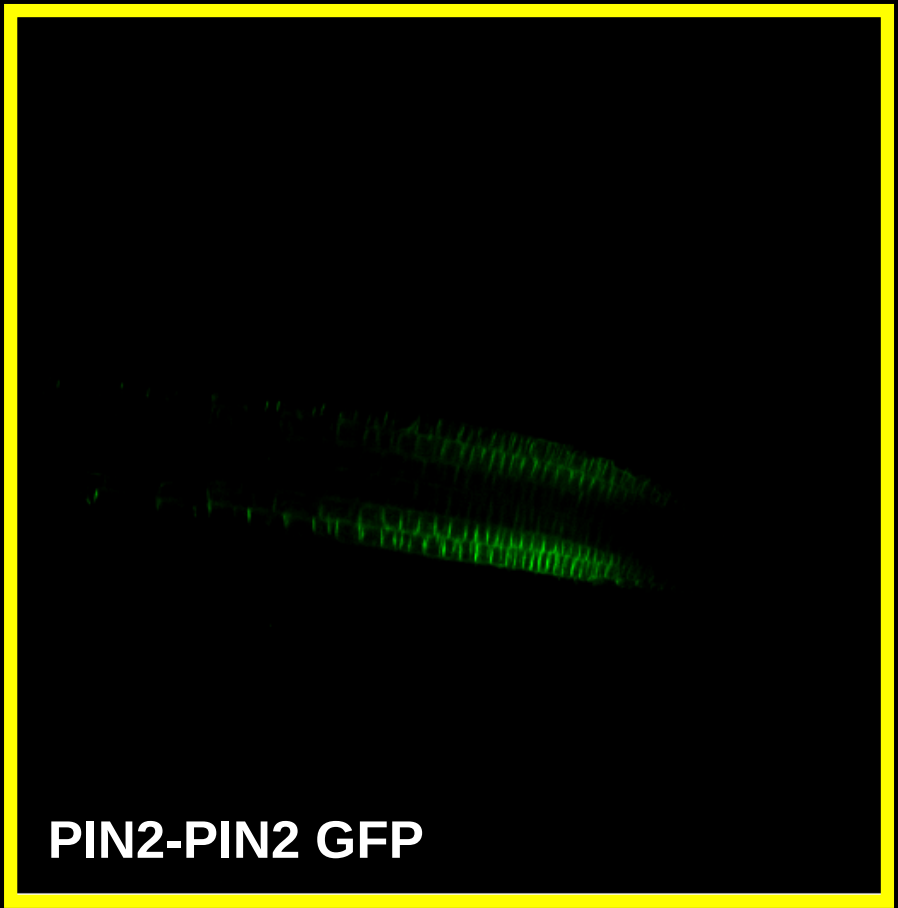
Влияние механической стимуляции на структуру меристемы



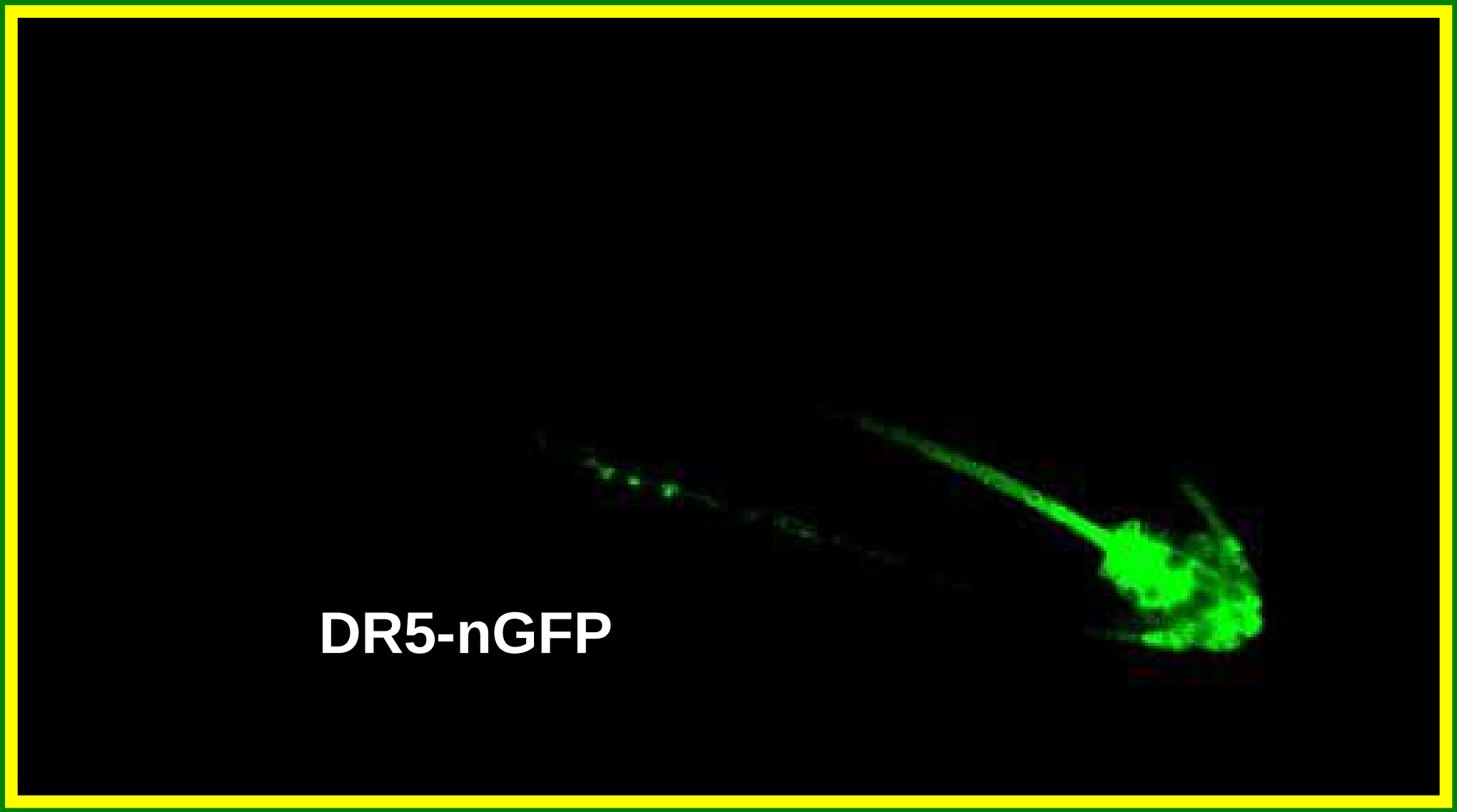
Влияние механической стимуляции на частоту делений и локализацию фактора транскрипции PLT2



Влияние механической стимуляции на локализацию транспортеров ауксина PIN2



Влияние механической стимуляции на локализацию ауксина



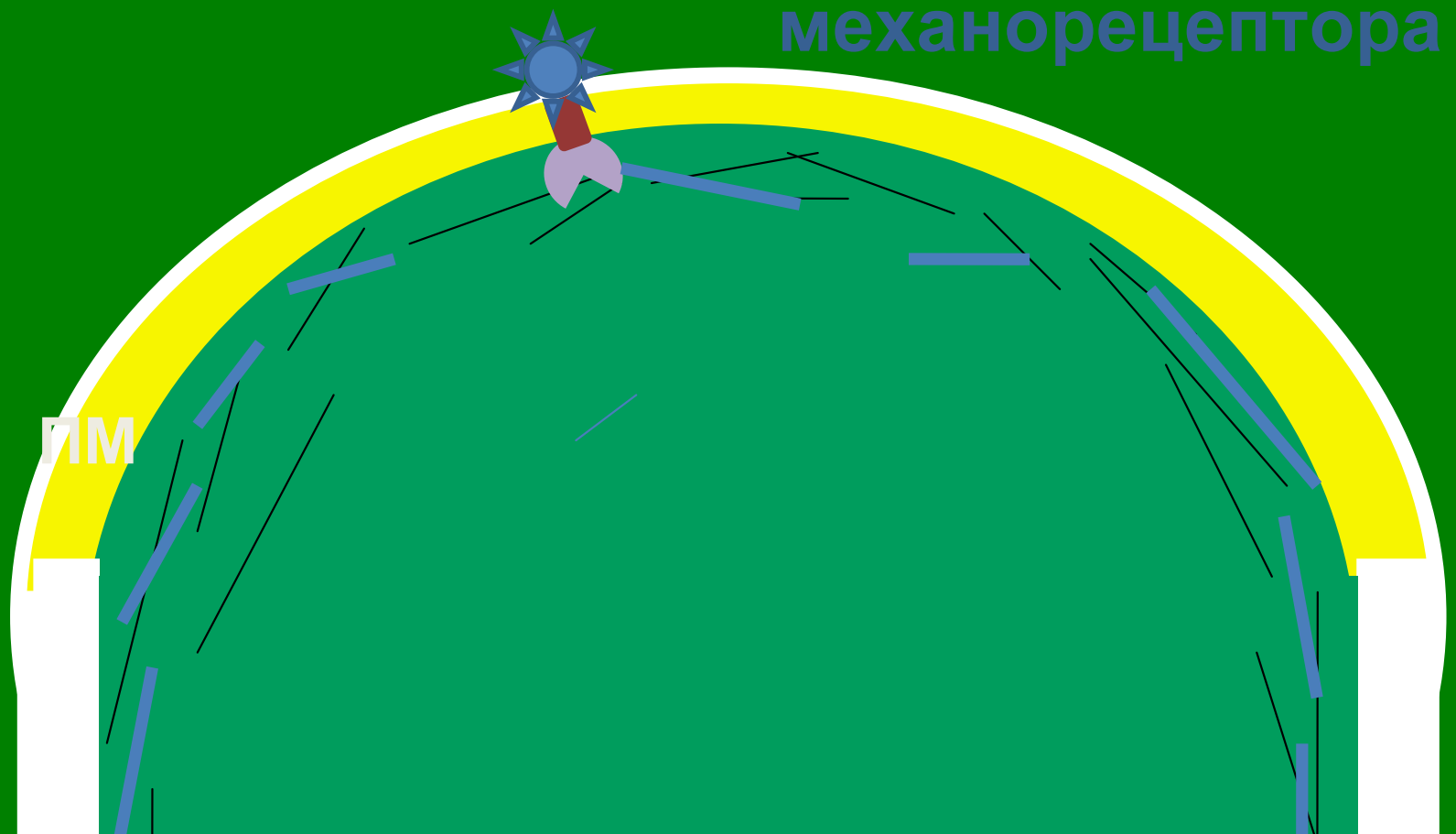
Гипотеза:

Гипотеза:

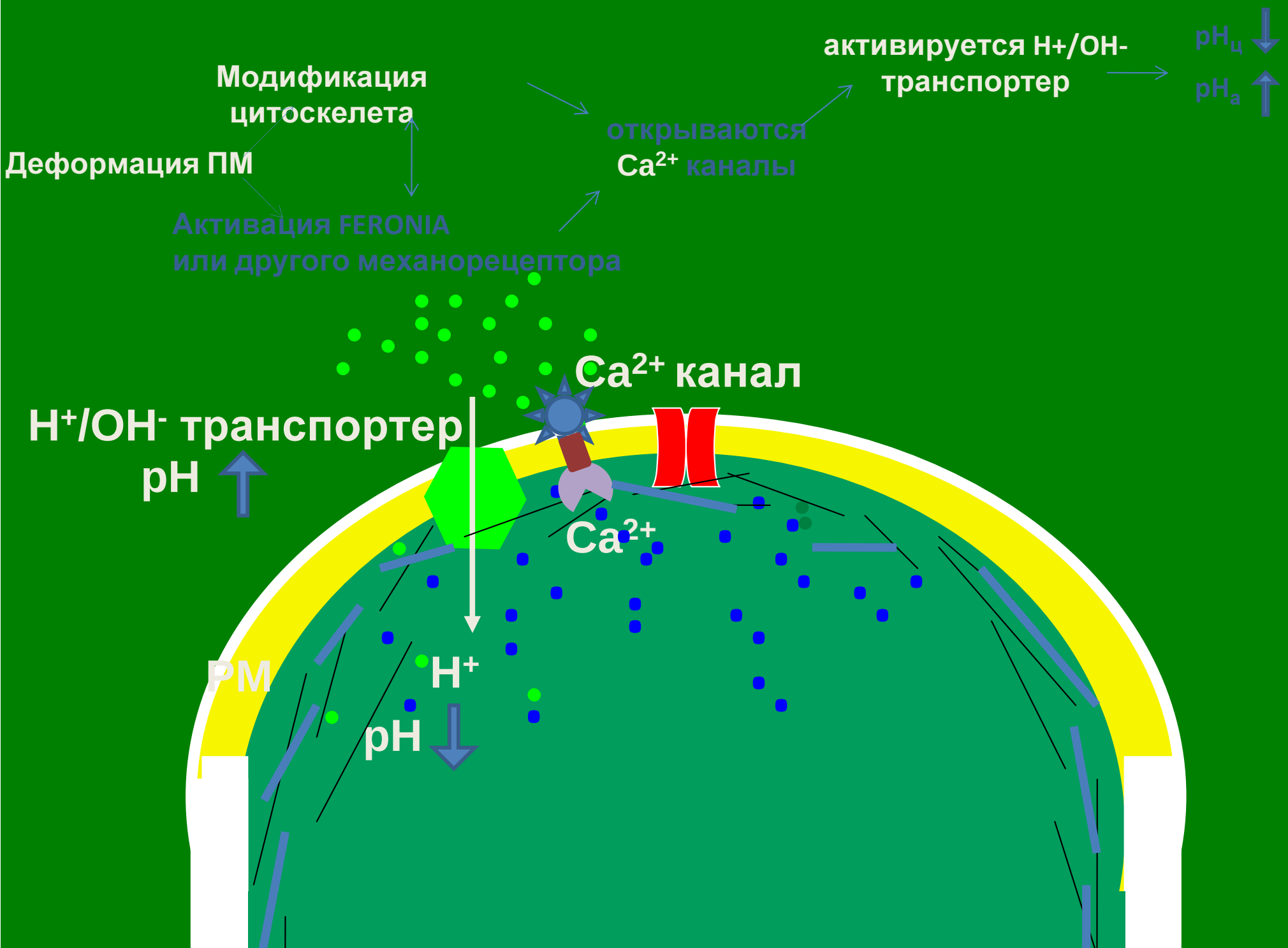
Деформация ПМ

Модификация цитоскелета

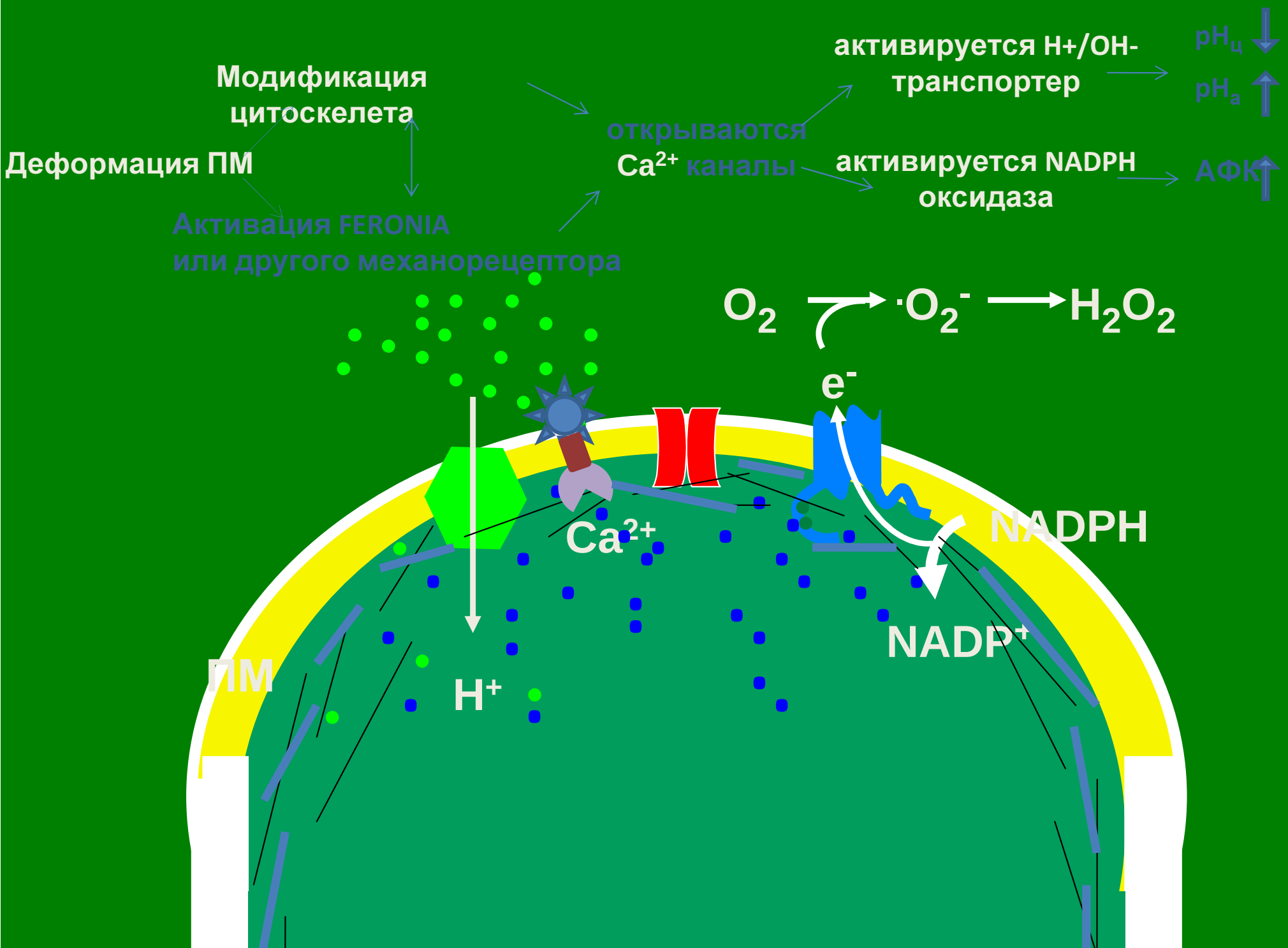
Активация FERONIA или другого механорецептора



Гипотеза:

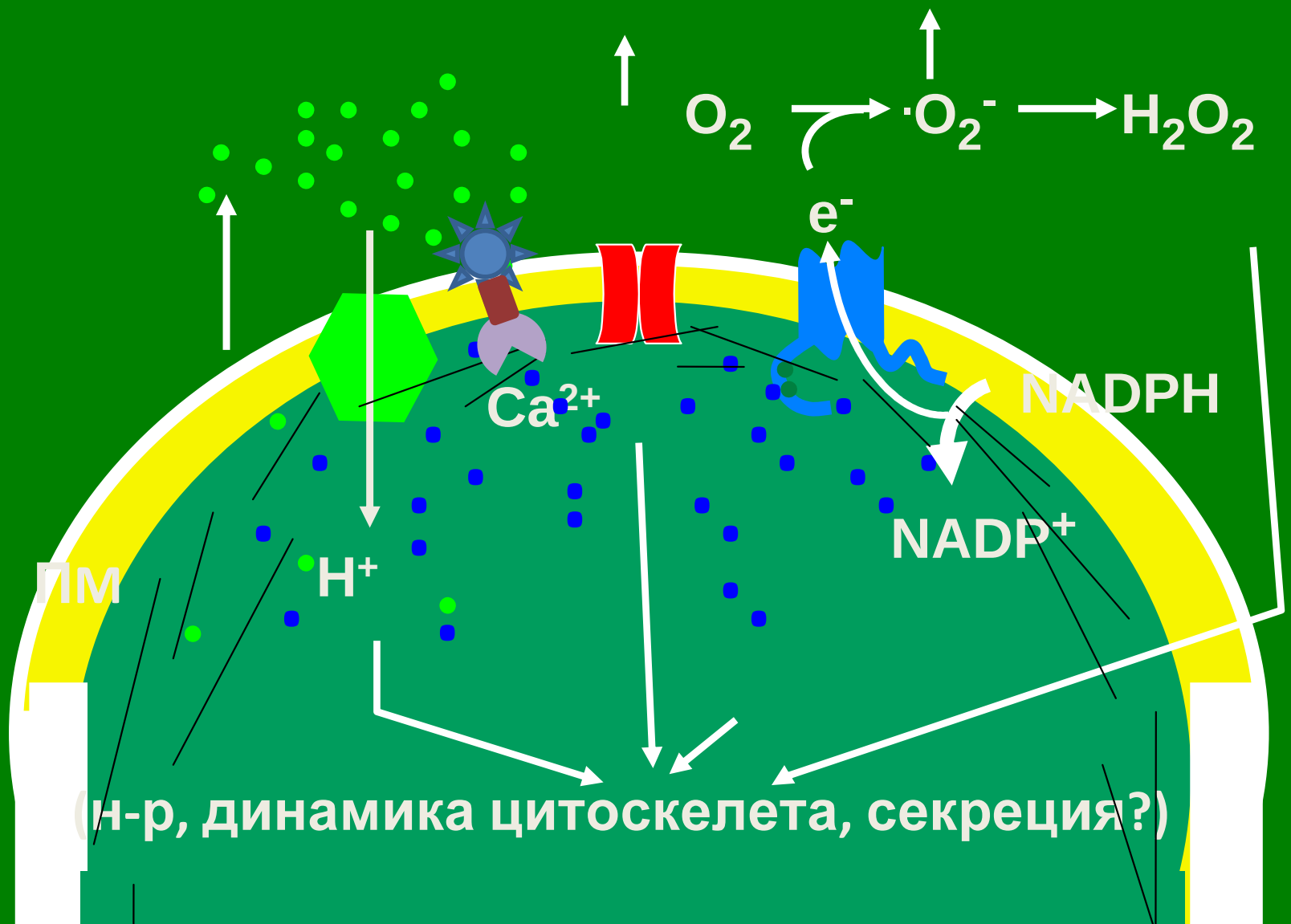

Модификация цитоскелета
Деформация ПМ
Активация FERONIA или другого механорецептора
открываются Ca^{2+} каналы
активируется H+/OH- транспортер
$pH_ц$
$pH_а$
Ca^{2+} канал
H^+/OH^- транспортер
pH
Ca^{2+}
ПМ
H^+
pH

Гипотеза:


Модификация цитоскелета
Деформация ПМ
Активация FERONIA или другого механорецептора
открываются Ca^{2+} каналы
активируется H+/OH- транспортер
активируется NADPH оксидаза
$pH_ц$
pH_a
АФК
$O_2 \rightarrow {}^{\cdot}O_2^- \rightarrow H_2O_2$
e^-
Ca^{2+}
NADPH
$NADP^+$
ПМ
H^+

Гипотеза:

Локальное укрепление клеточной стенки (пектин метилэстеразы, пероксидазы, окислительный кросслинкинг)



Благодарности

Булычев А.А.

Комарова Аня

Шилович Александр

Monshausen Gabriele

Richter Greg

Gilroy Simon