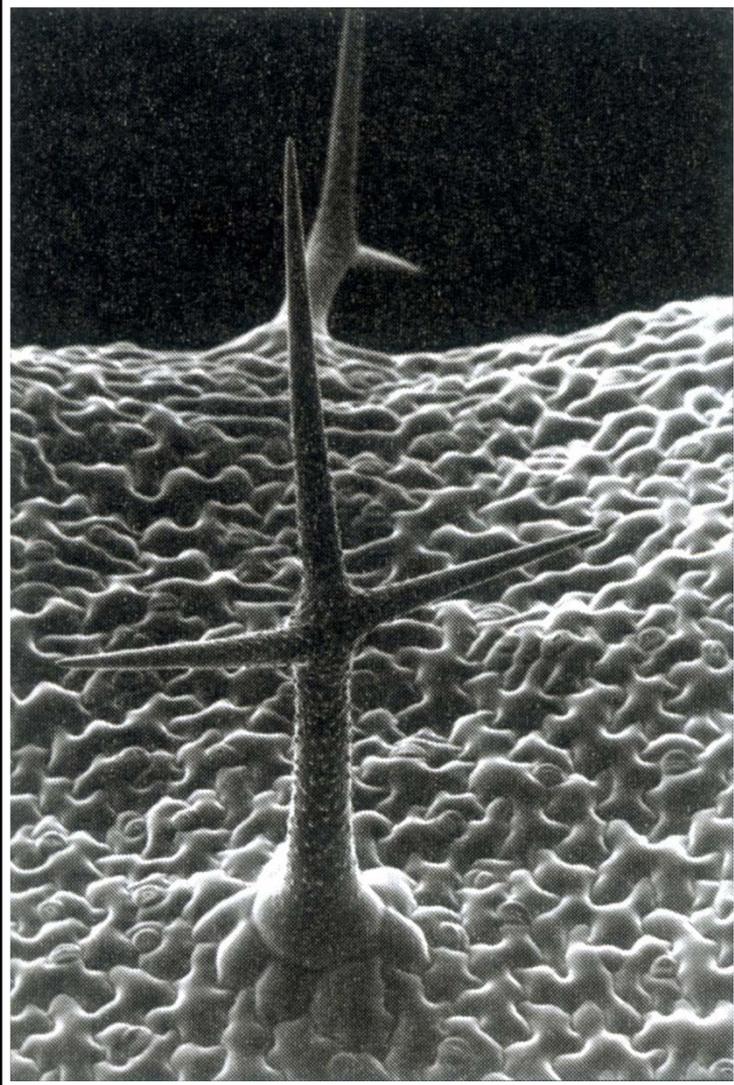


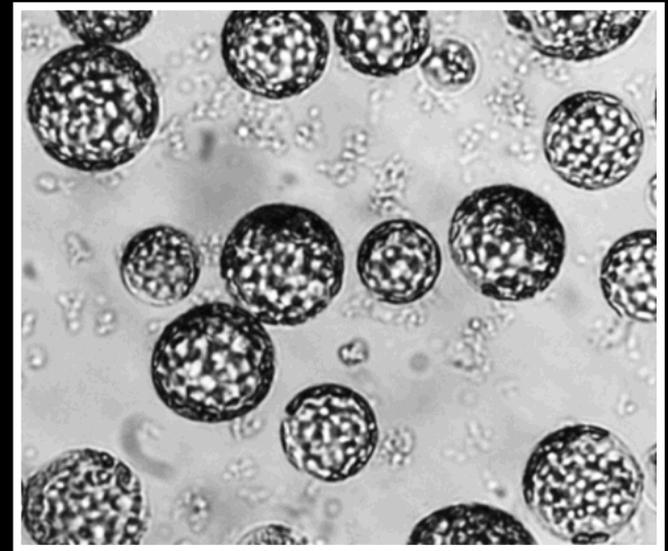
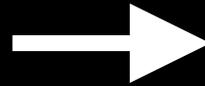
Clase 3

La pared celular:
una estructura
supramolecular

Importancia

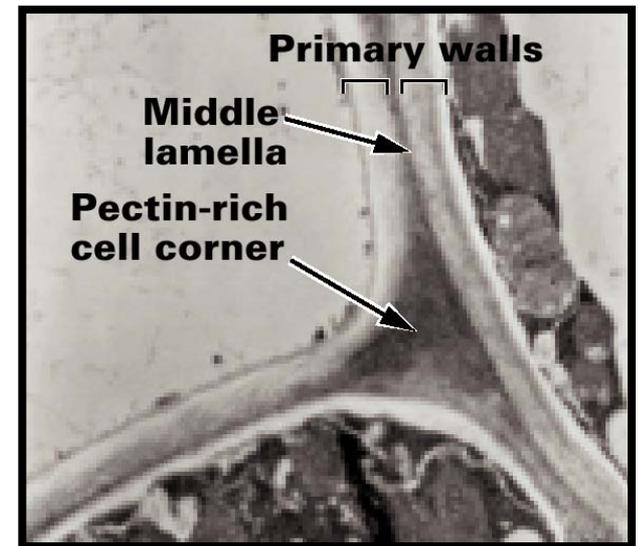
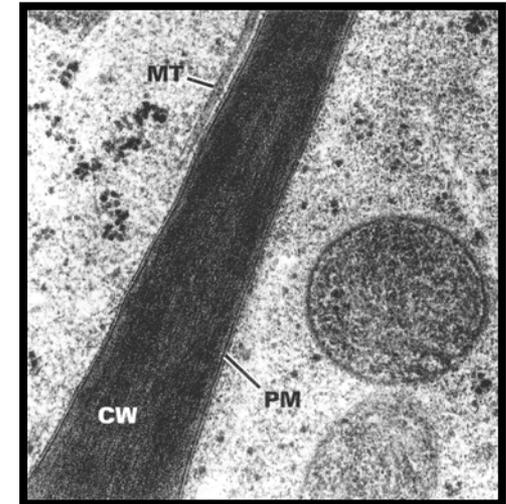
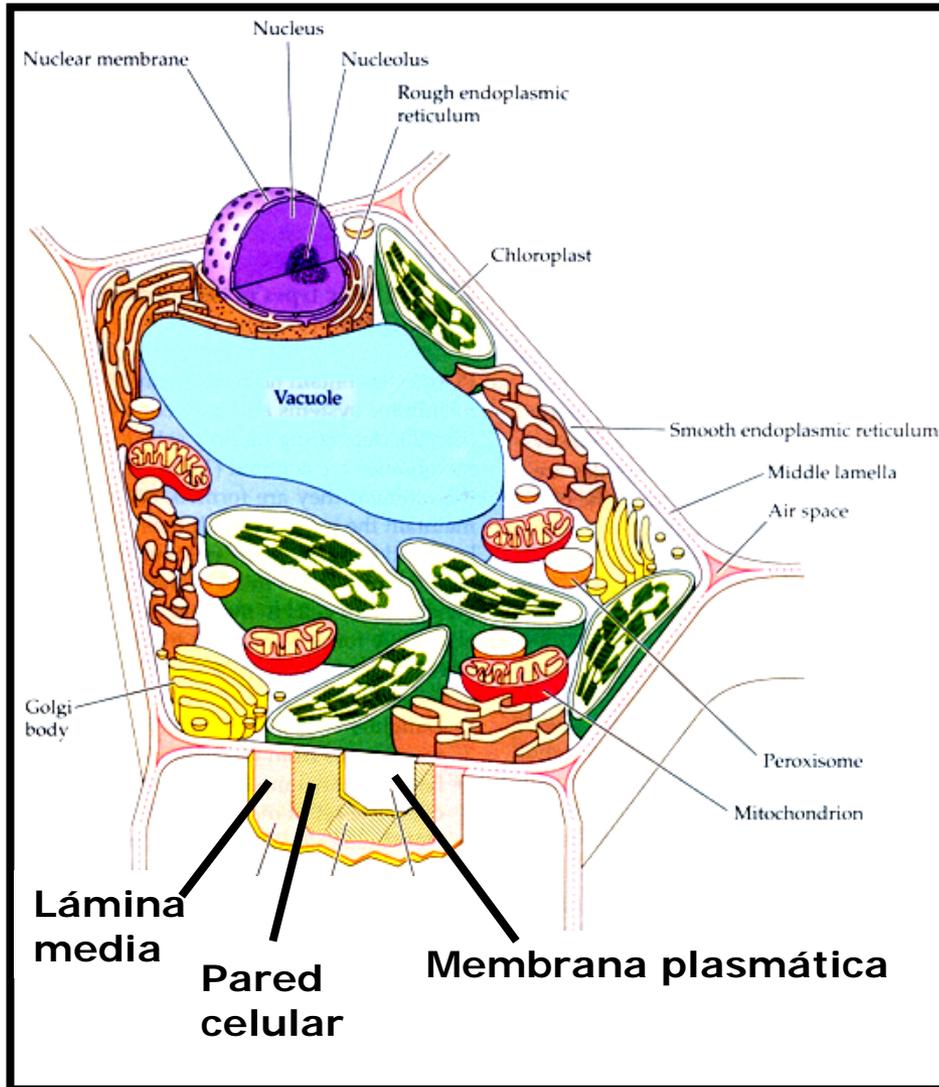


Tricoma



Protoplasto

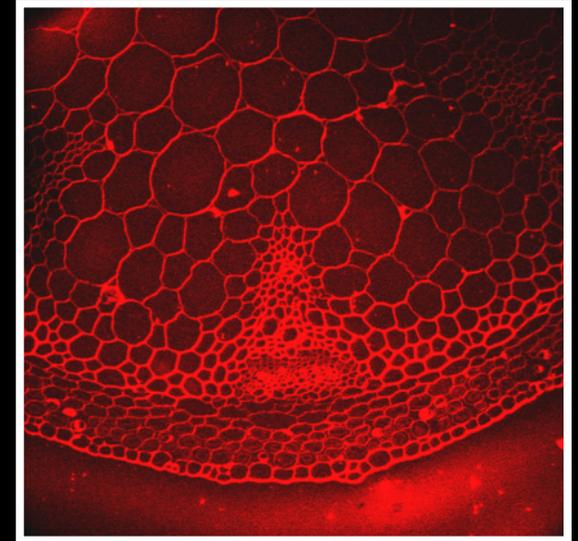
Estructura de las células vegetales



Pared celular = matriz extracelular

roles *in vivo*

- Esqueleto de la planta
- Forma de las células
- Barrera física a los patógenos
- Transporte de agua y resistencia a la sequía
- Adhesión celular y abscisión de hojas y frutos
- Fuente de señales moleculares
- Polímero de almacenamiento

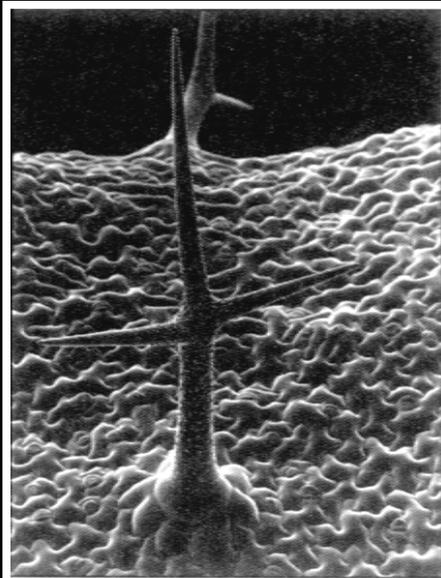


Tallo de *Arabidopsis*



Hechtian strands (hilos) en epidermis de cebolla

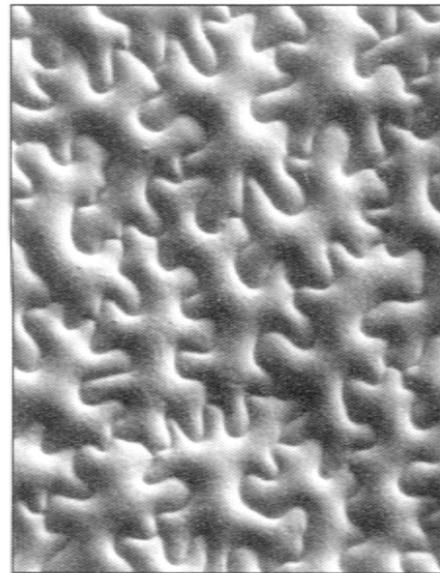
Roles en determinar la forma de las células



(A)

100 μm

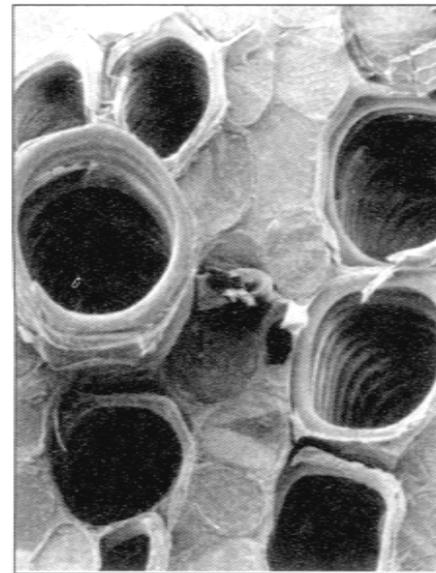
Tricoma
de *Arabidopsis*



(B)

50 μm

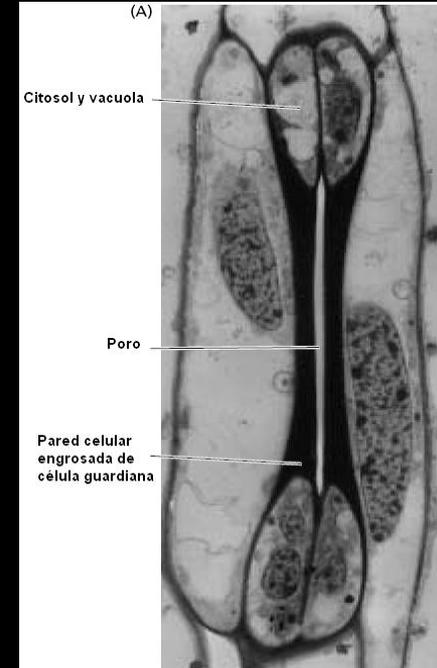
Epidermis
de tomate



(C)

50 μm

Xilema



(A)

Citosol y vacuola

Poro

Pared celular
engrosada de
célula guardiana

Células guardianas
de pasto

Roles en la polinización – estructural (polen y estigma)

Fenólico de
Sporopolenina

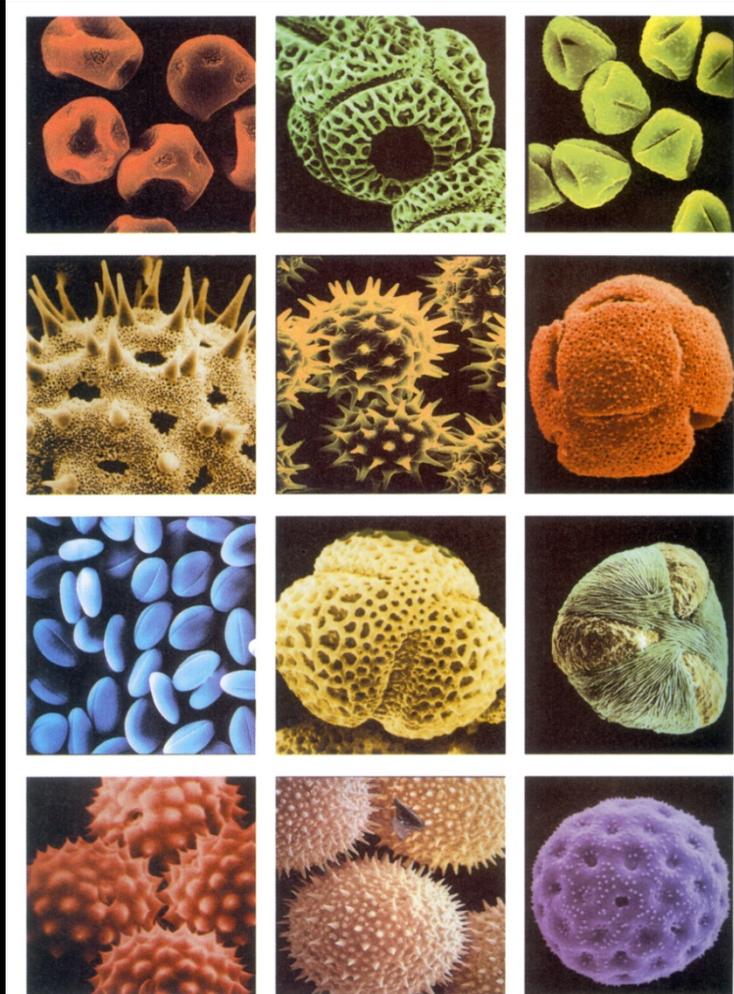
Plantain,
pepper bark,
buttercup

Morning glory,
ox-eye daisy,
lemon vine

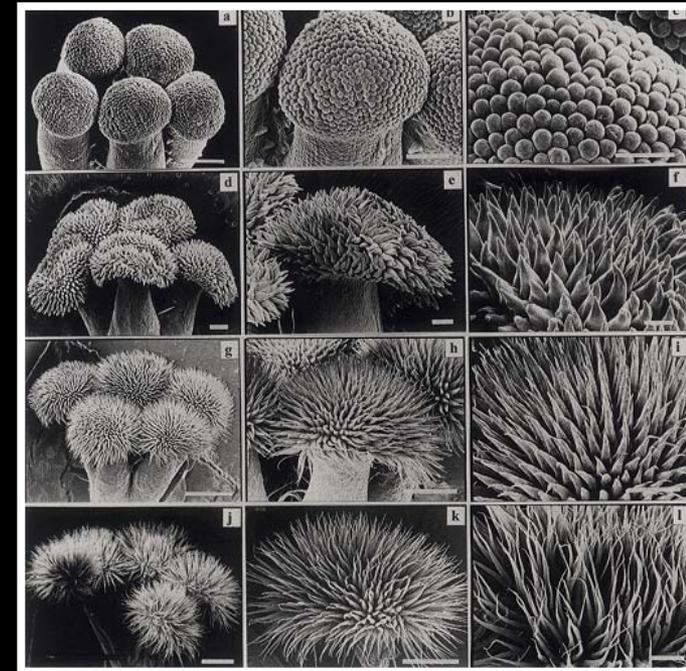
Nettle,
poppy,
sycamore

Ragweed,
hollyhock,
water lily

Polen



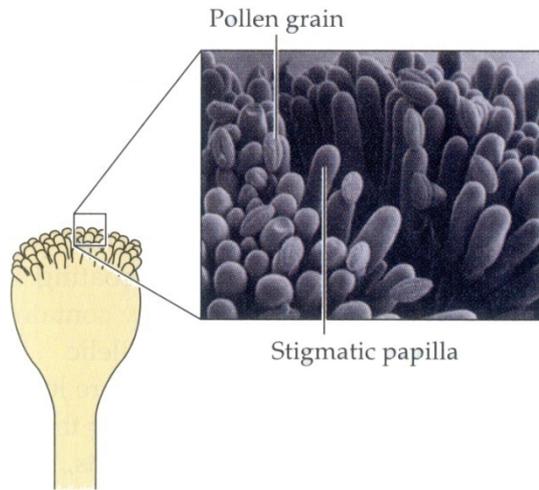
Estigma



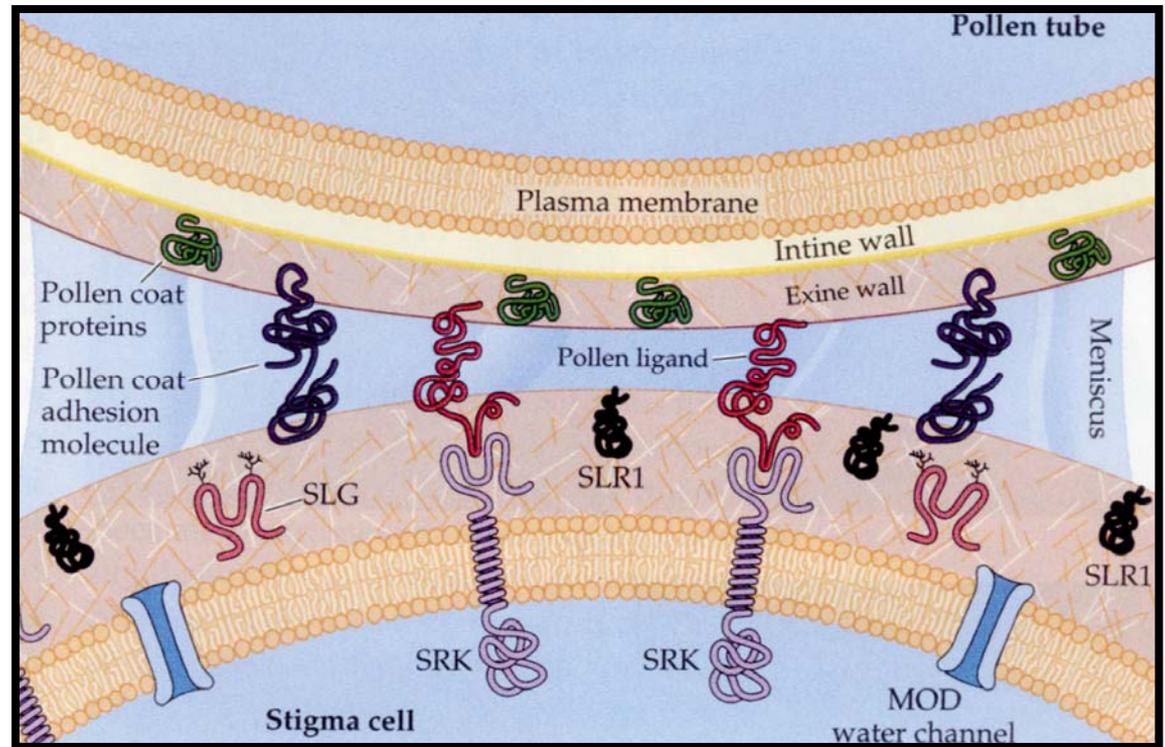
Baldwin

SEM de las papillas
del estigma de
Hibiscus rosa-sinensis

Roles en la polinización – adhesión y comunicación intercelular

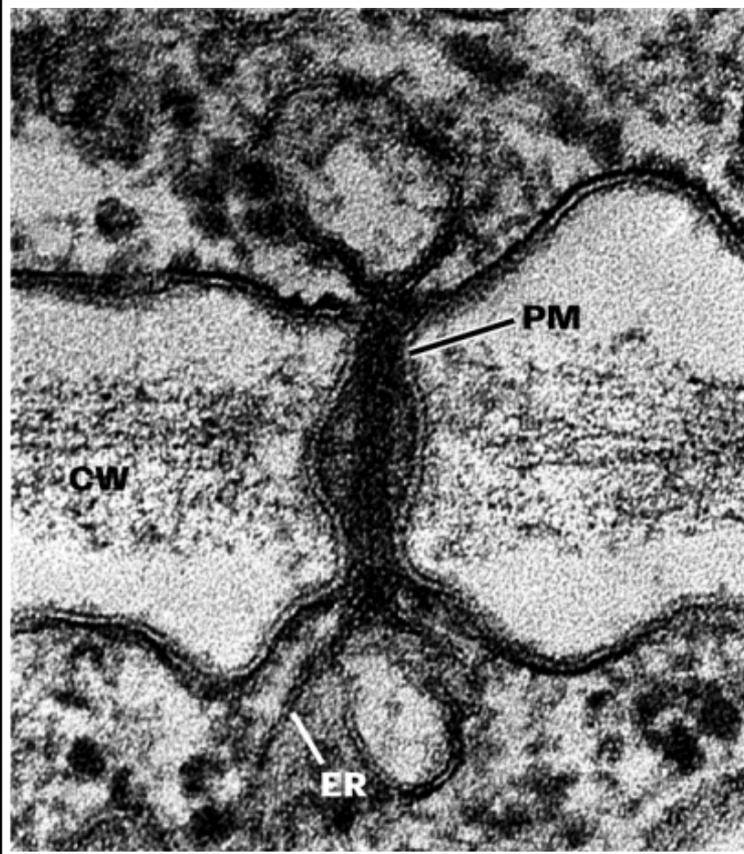


SEM *Brassica*



SLR = S-locus receptor

Roles en la defensa – interacción con patógenos

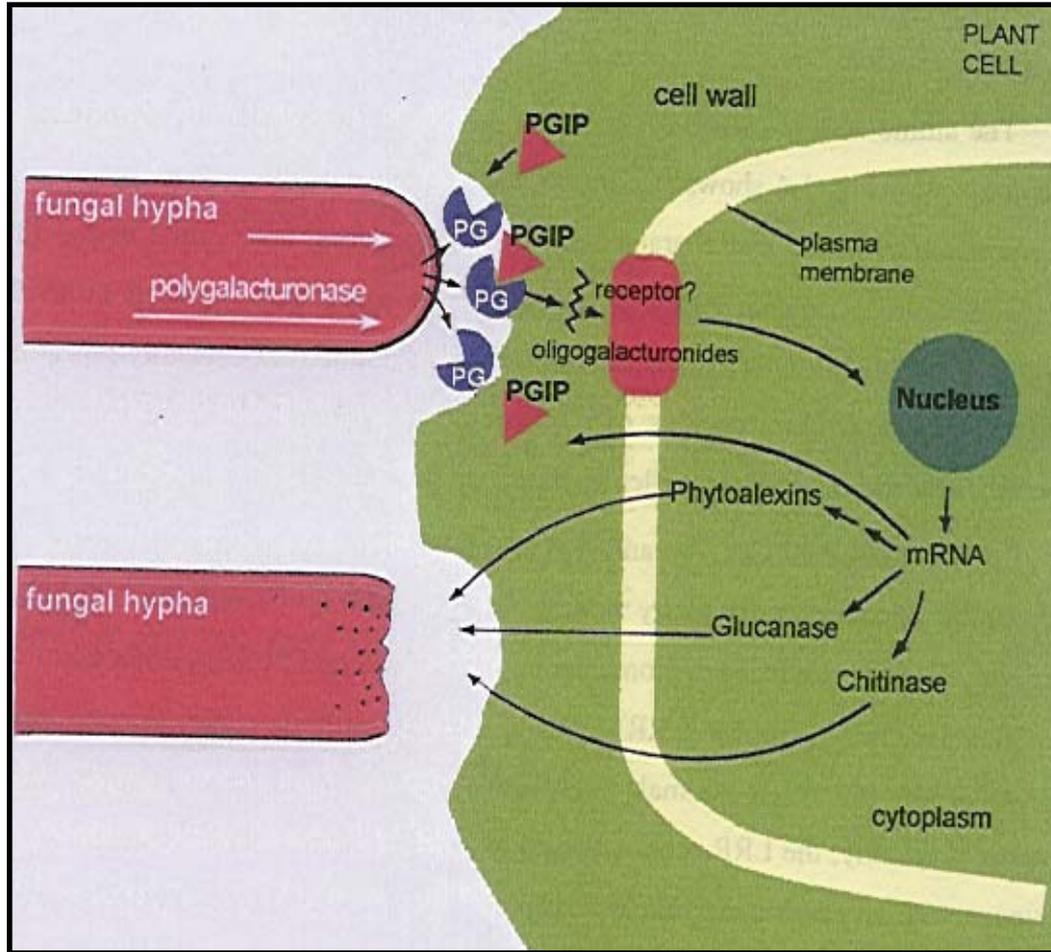


Plasmodesmos
y virus



Uvas y *Botrytis cinerea*

Rol como fuente de señales moleculares



Pectina = Poligalacturonano

PG =
Poligalacturonasa

PGIP =
PG inhibiting protein

Moléculas señales derivadas de degradación por hongo de la pared celular gatillan respuestas de defensa no-específicas

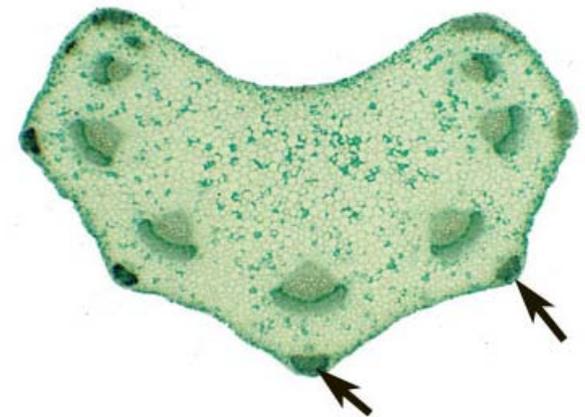
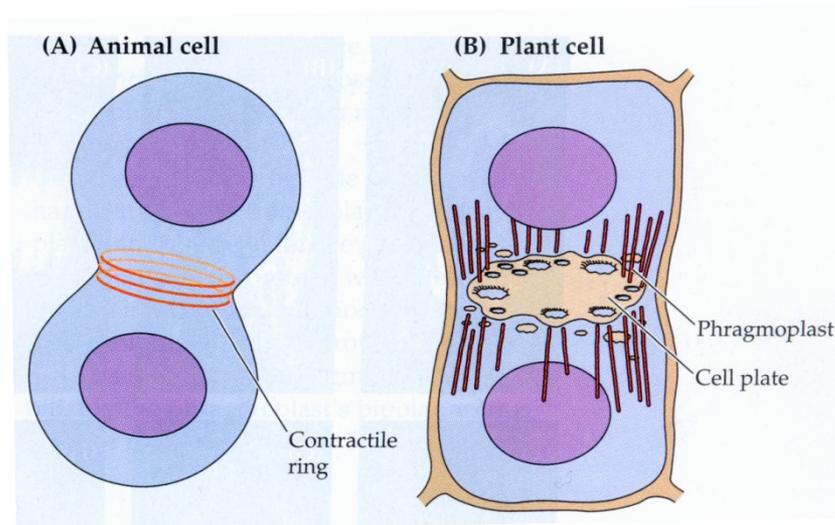
Estructura de la matriz extracelular

Depositado en capas

1 Lámina media

Formado primero entre dos células adyacentes.

Derivado de la Placa de la Célula durante división. Enriquecida en pectina



Colenquima de apio

2 Pared celular primaria

Formada después de la lamina media.

Depositada en forma continua mientras la célula aumenta en volumen.

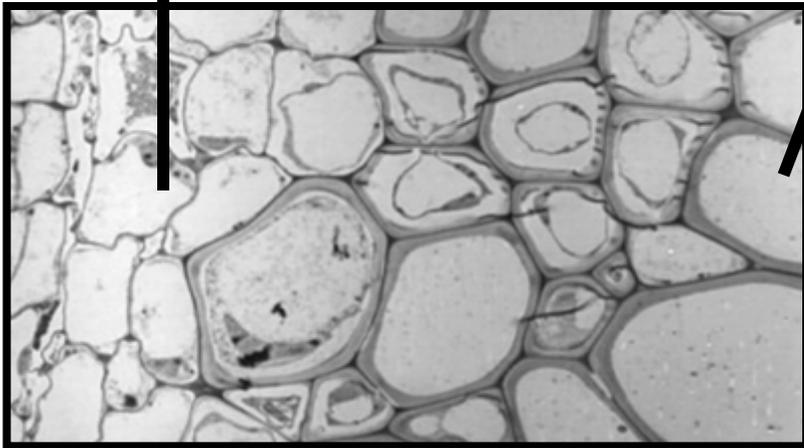
0.1 - 1 μm espesor, aún más en células de la colenquima

Estructura de la matriz extracelular

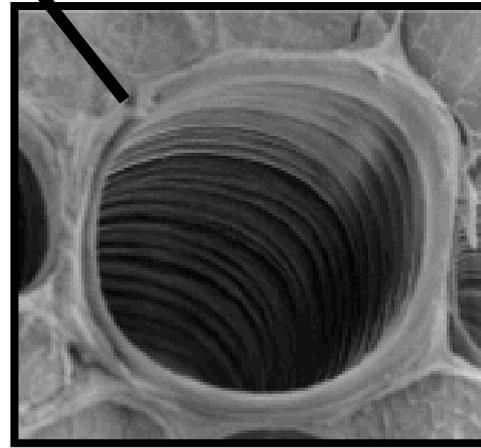
3 Pared celular secundaria

Solo algunas células. Adentro de la pared celular primaria. Fortalece ej: esclerenquima (cáñamo), células pétreas (peras) y xilema que debe resistir presión negativa. Enriquecida en pectina, hemicelulosas y lignina

floema



xilema

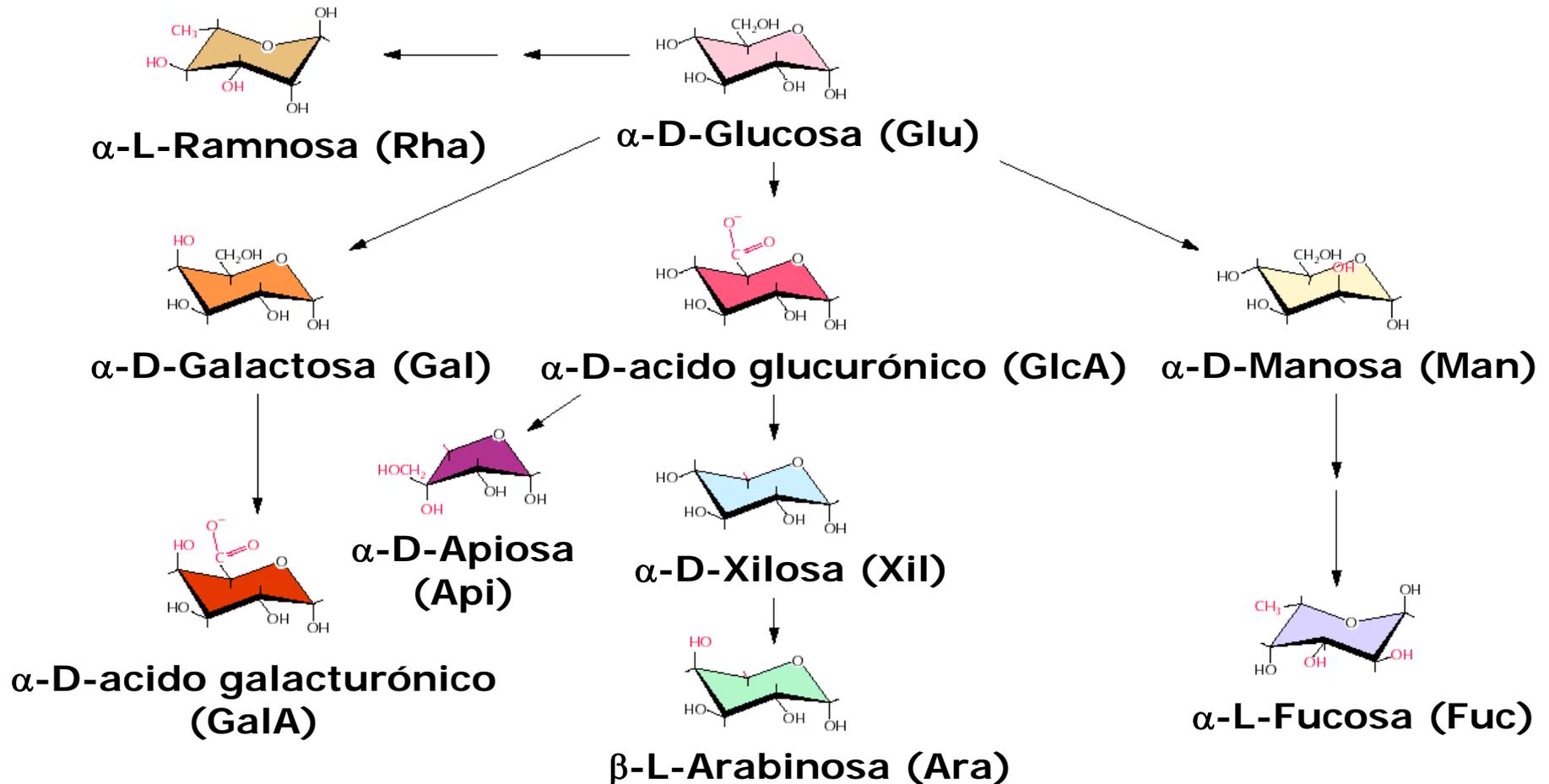


célula pétreá



La composición de estas tres capas en especies de distintas plantas, y en distintos tejidos de la misma planta, puede variar enormemente

Azúcares de la pared celular



Polisacáridos – Variedad de estructuras

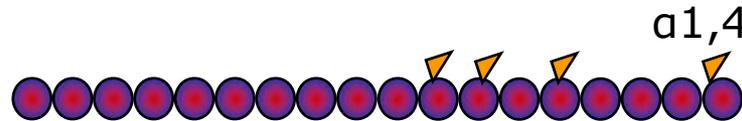
Las **propiedades** de los polisacáridos están definidas por:

- **Composición de azúcares**

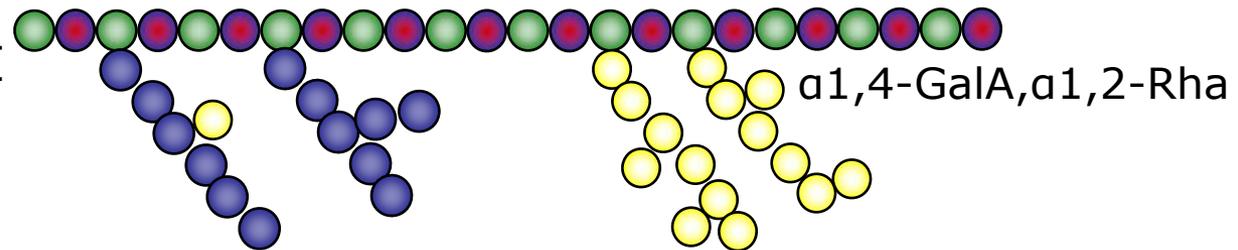
- **Enlaces**

homogéneo o heterogéneo, con o sin ramificaciones

Ácido poligalacturónico



Ramnogalacturonano, RG I



- **Configuración anomérica**

celulosa (β 1,4 glucano) *versus* almidón (α 1,4 glucano)

Pared celular primaria– componentes

'Hormigón reforzada' – fases microfibrillar y matriz

Fase microfibrillar Celulosa

β 1-4 glucano linear, sin ramificaciones. 20-30% PS.
Auto-asocia microfibrillas rígidas paralelas (5-15 nm diameter)

Fase matriz

**Hemicelulosa, pectinas y proteínas
estructurales**

Hemicelulosa (= matriz – pectina)

Dicots y monocots **Xiloglucano** – 20% PS de dicots.

β 1-4 glucosa con ramificaciones

Algunos monocots

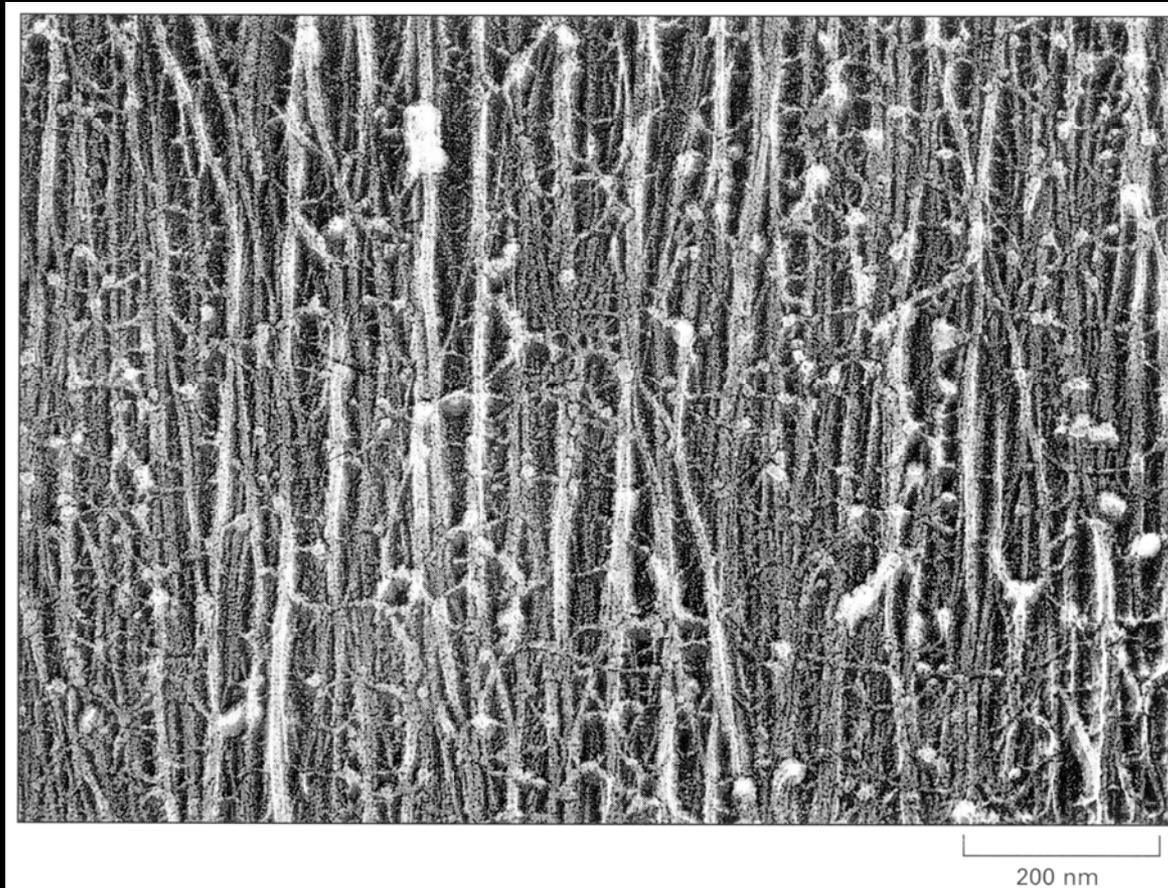
Glucuronarabinosilano

β 1-4 xilosa con ramificaciones

Roles – entrecruzamiento con celulosa

Pectinas – Poligalacturonano, heterogeneo, con ramificaciones, hidratada. Se encuentra en la lámina media, formando geles rígidos e insolubles con Ca^{2+} . Cementar células adyacentes

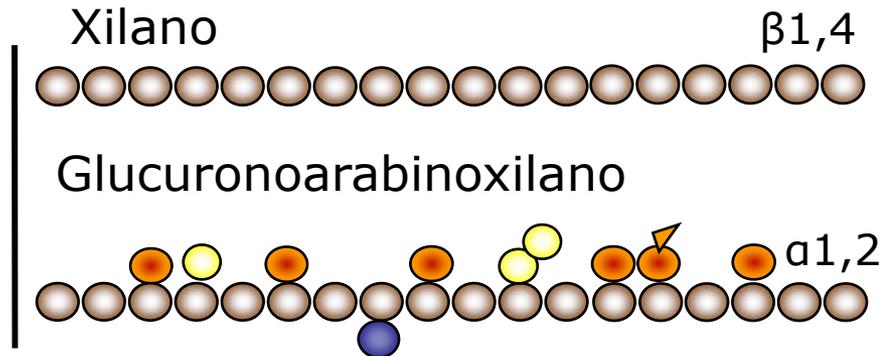
Celulosa



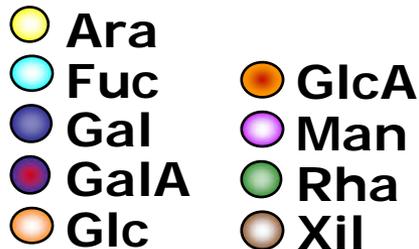
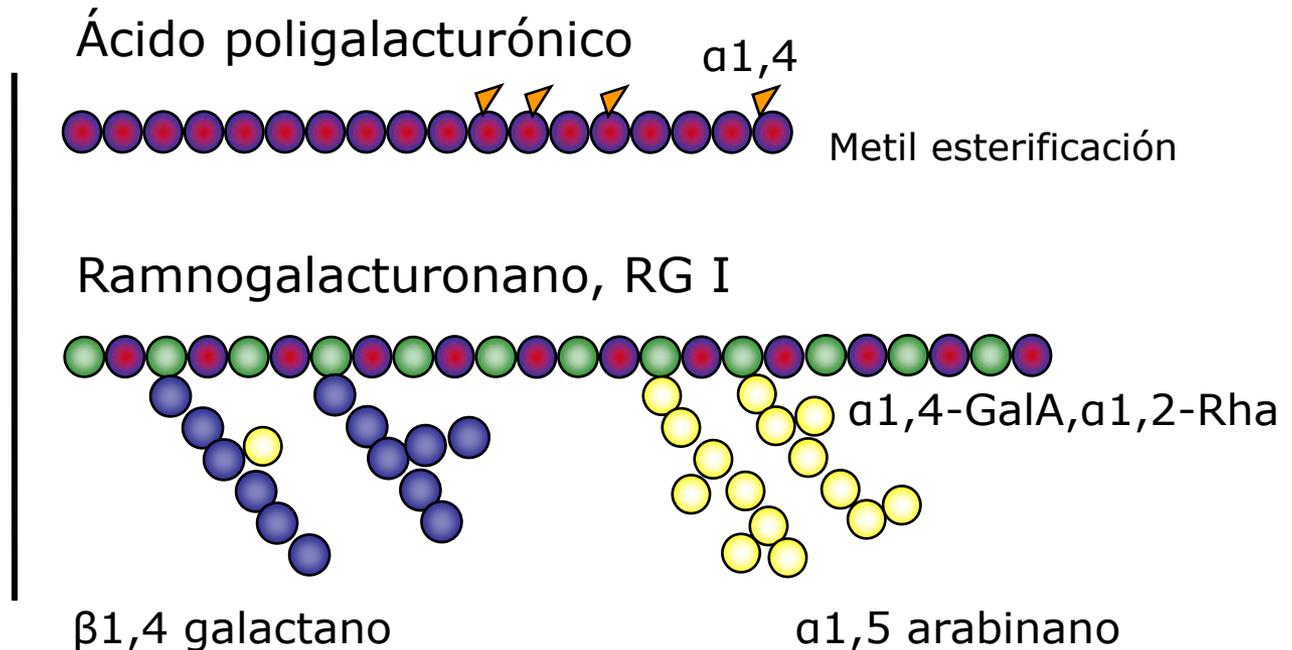
Celulosa en la pared primaria de zanahoria

Algunas hemicelulosas y pectinas de la pared celular

Hemicelulosas

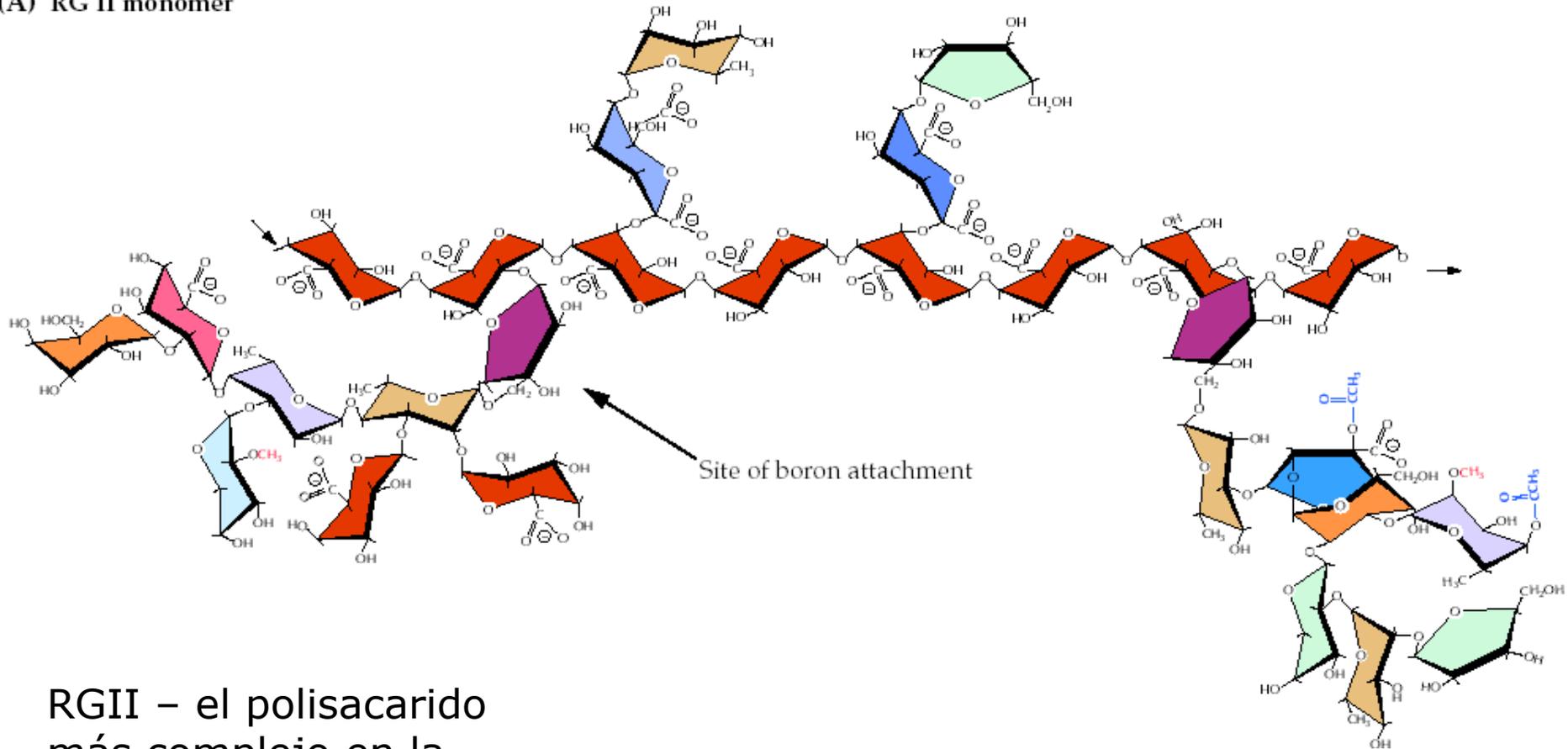


Pectinas



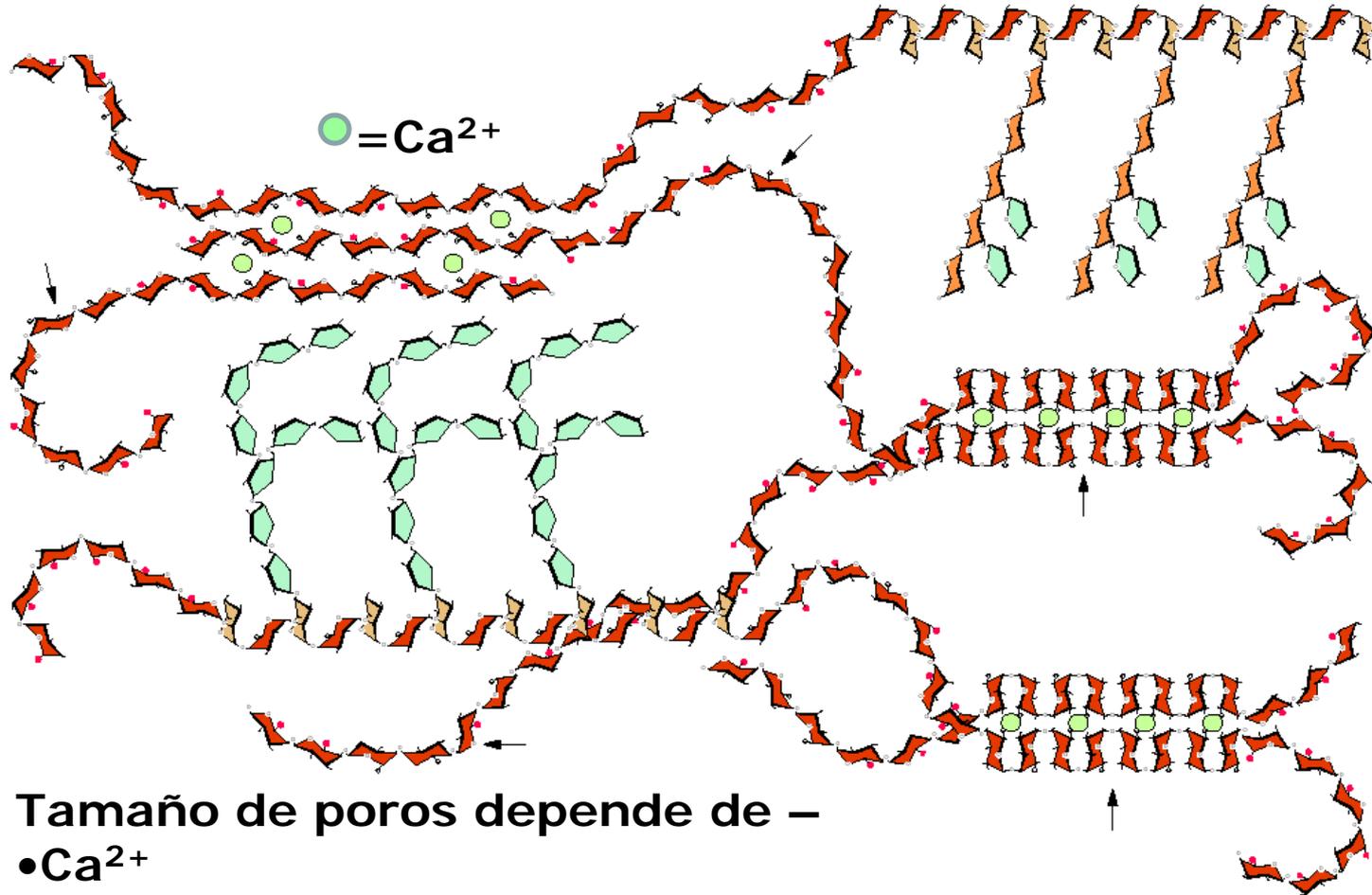
Monómero de ramnogalacturonano II

(A) RG II monomer



RGII – el polisacarido más complejo en la naturaleza

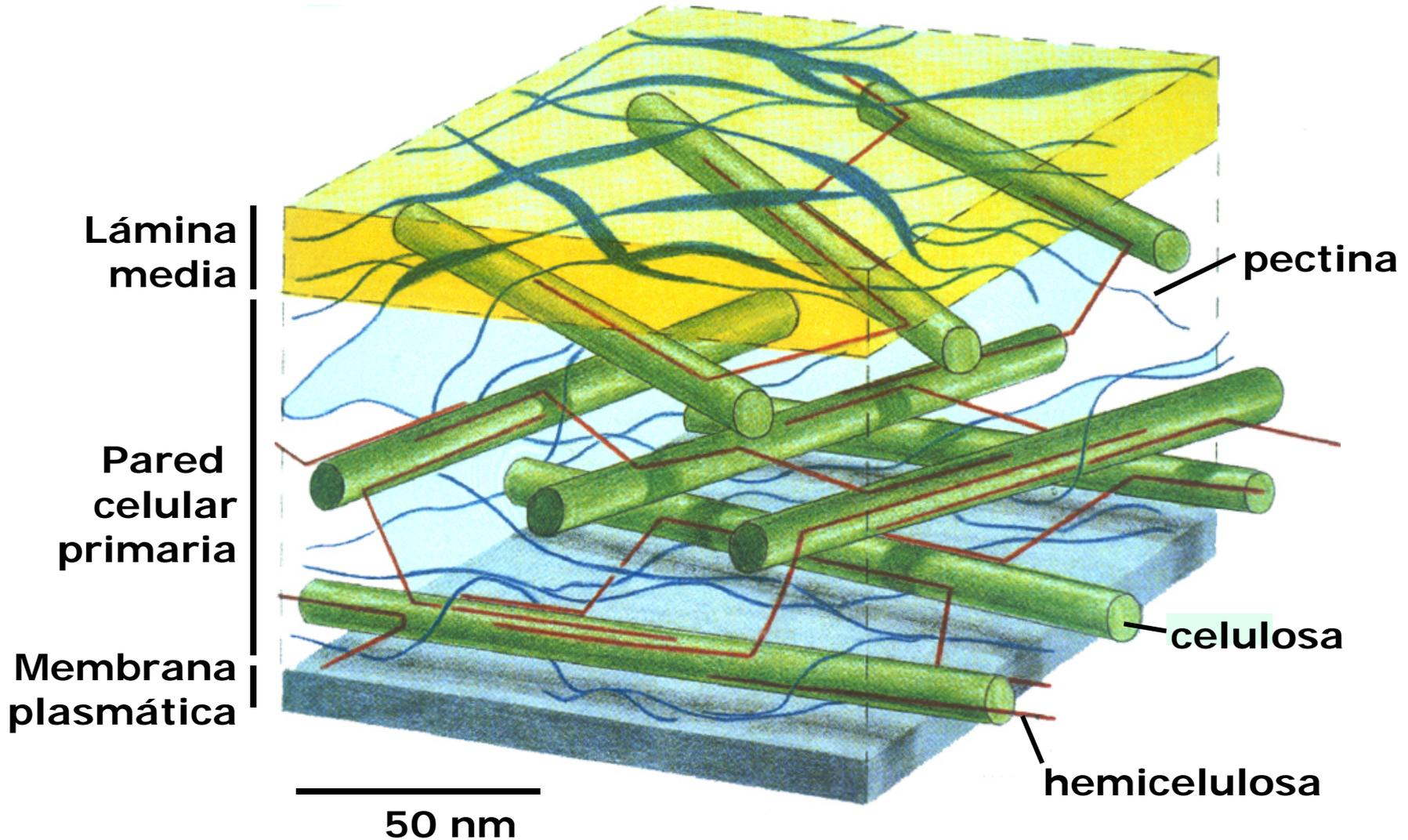
Matriz de pectina



Tamaño de poros depende de –

- Ca^{2+}
- Metil esterificación
- Ramificaciones

Estructura de la pared celular



Las paredes celulares no son uniformes en la planta...

Anti- β 1,4-galactano
(LM5 monoclonal)

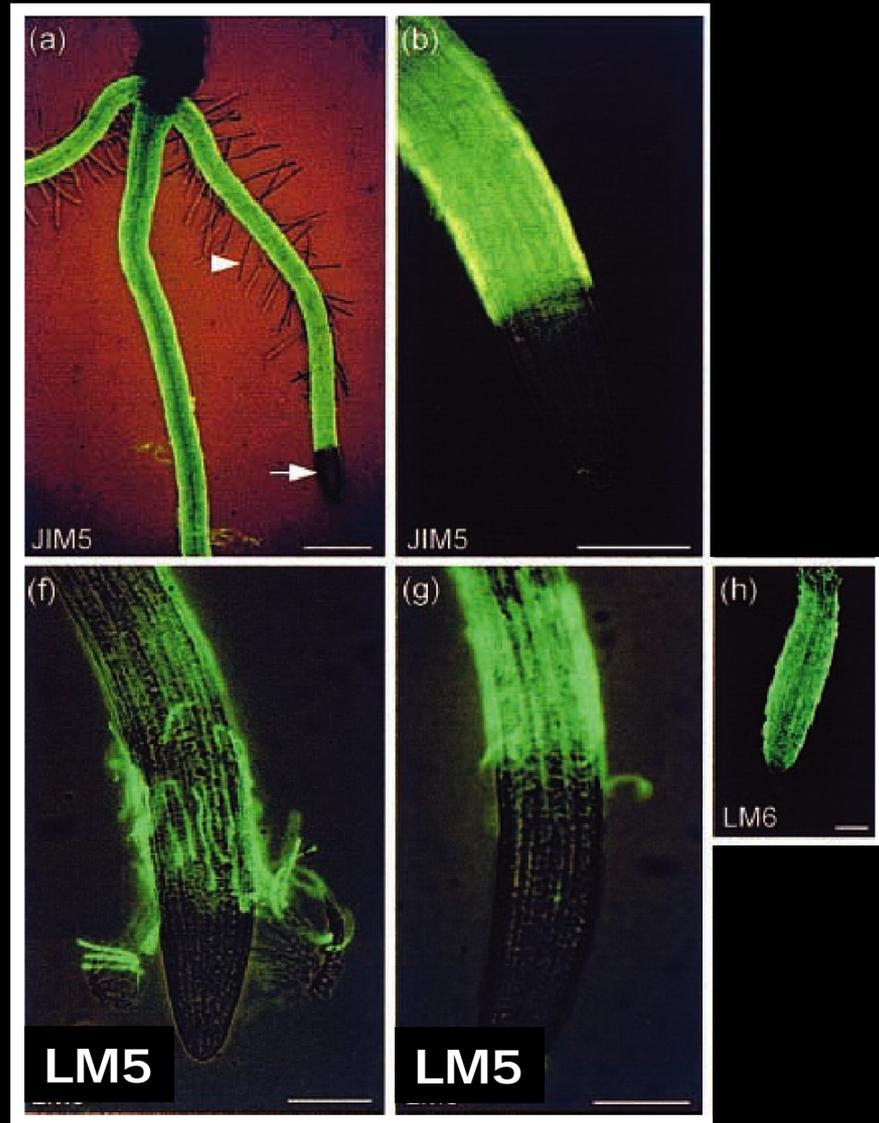


Parte de la
estructura de RGI



Anti- α 1,5-arabinano
(LM6 monoclonal)

Raíces de
Arabidopsis

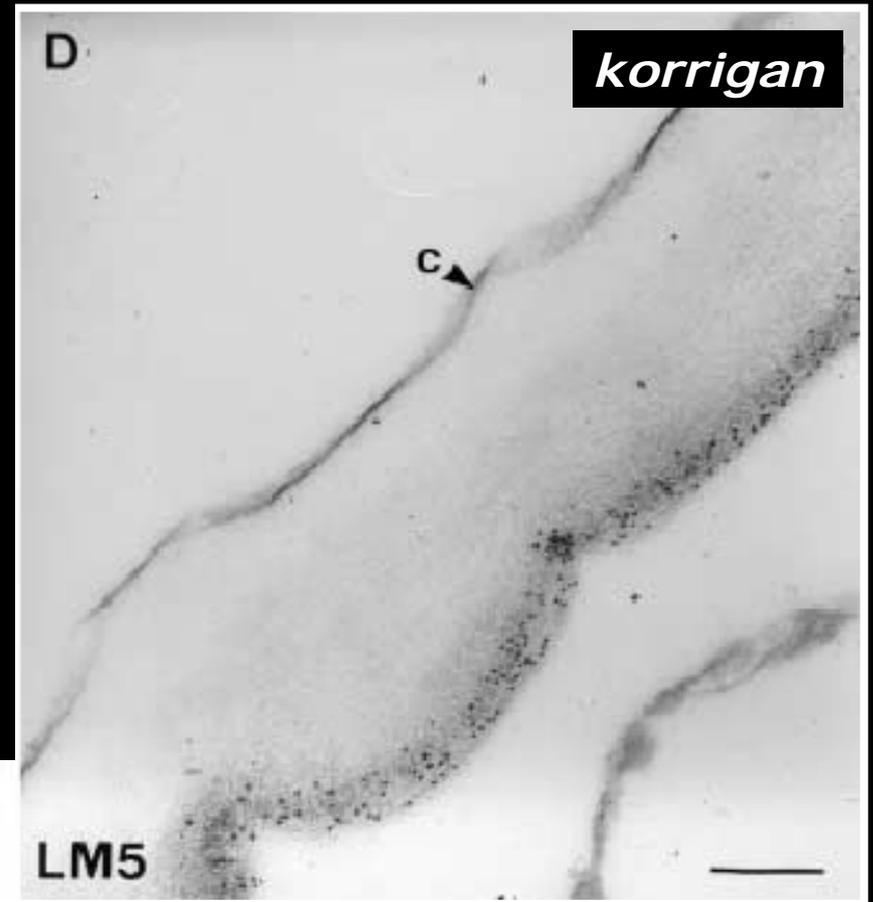
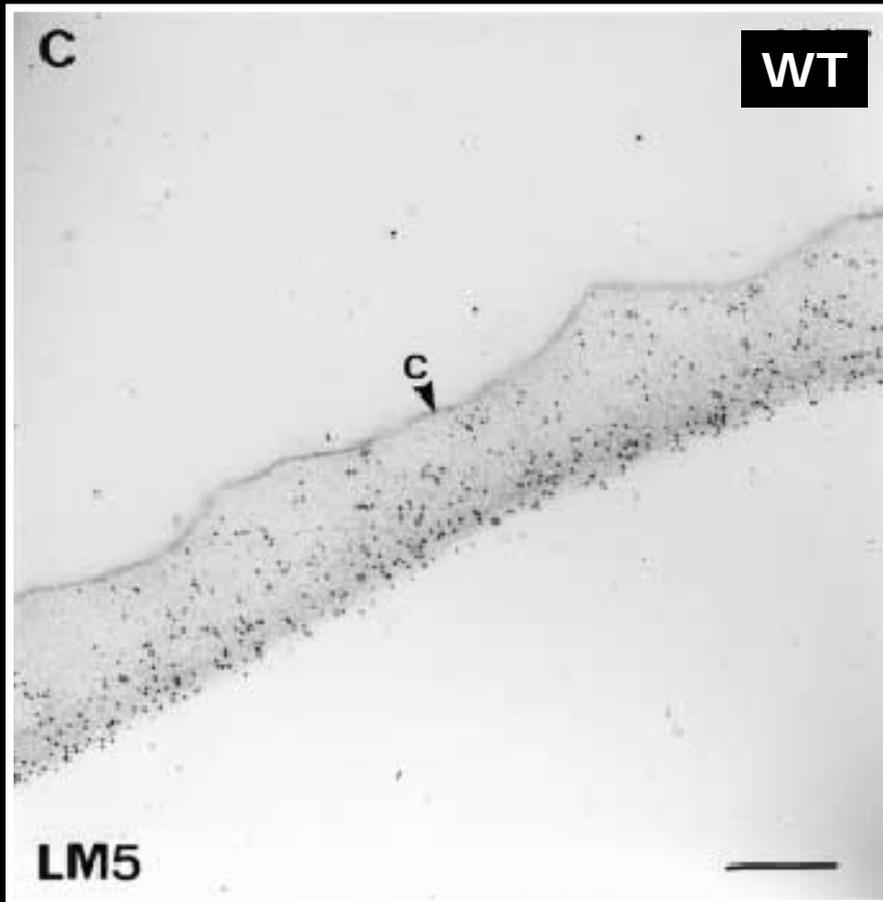


LM6

...ni en la misma célula

Anti- β 1,4-galactano (LM5 monoclonal)

endo-glucanasa



Arabidopsis epidermis; 250nm

Composición de la pared celular – proteínas estructurales e enzimáticas

Proteínas estructurales

Extensinas - Glicoproteínas enriquecidas en hidroxiprolina - HGRP

- Ser(Hyp)₄ – arabinosilados (hip), galactosilados (ser)
- Bajo EM, se parecen como palitos
- Se acumulan en respuesta a heridas en la planta, patógenos, etileno y elicitores de oligosacáridos.
- Funciones putativas – contribuir al control de expansión mediante entrecruzamiento – altos niveles de extensina causan menos crecimiento.

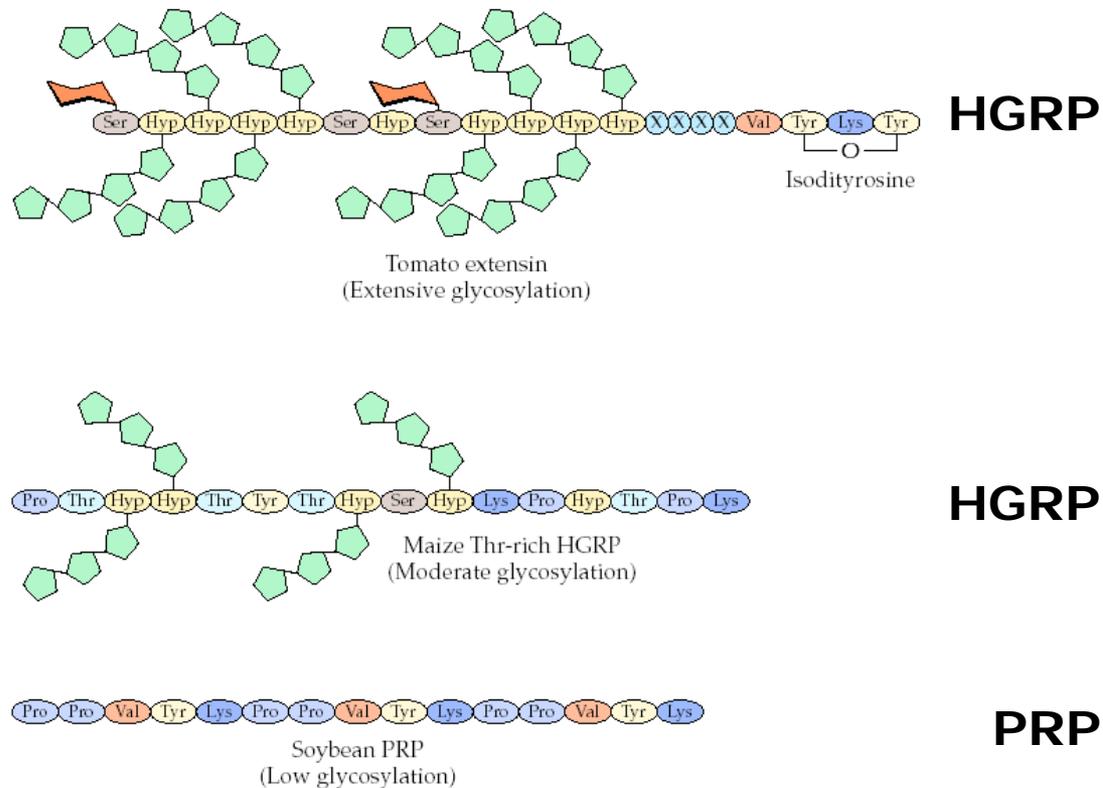
Proteínas enriquecidas en prolina (PRP)

- ProProNNN.
- Sin o poca glicosilación.
- Funciones putativas – guiar polen, nodulación.

Proteínas arabinogalactanas (AGP)

- Enriquecidas en Hip y Pro, Val, Ser, Thr, Ala, Gly. PAPAP motivo.
- Hasta 95% PS carbohidratos. Cadenas de galactano con ara terminal.
- Funciones putativas - estructural y/o señal.

Composición de la pared celular – proteínas estructurales



Poco definidas las familias -

HGRP, PRP y AGPs forman un continuo; algunas proteínas tienen características de más de una clase.

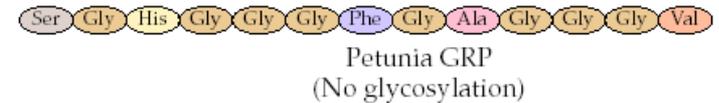
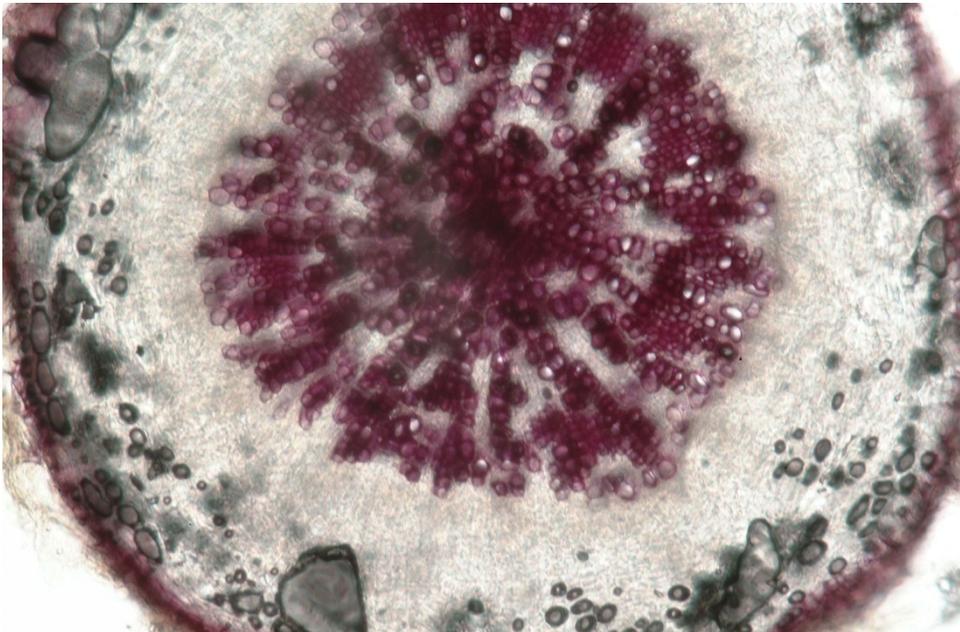
Todas están codificadas en familias multigénicas

Composición de la pared celular – proteínas estructurales y lignina

Proteínas enriquecidas en glicina (GRP)

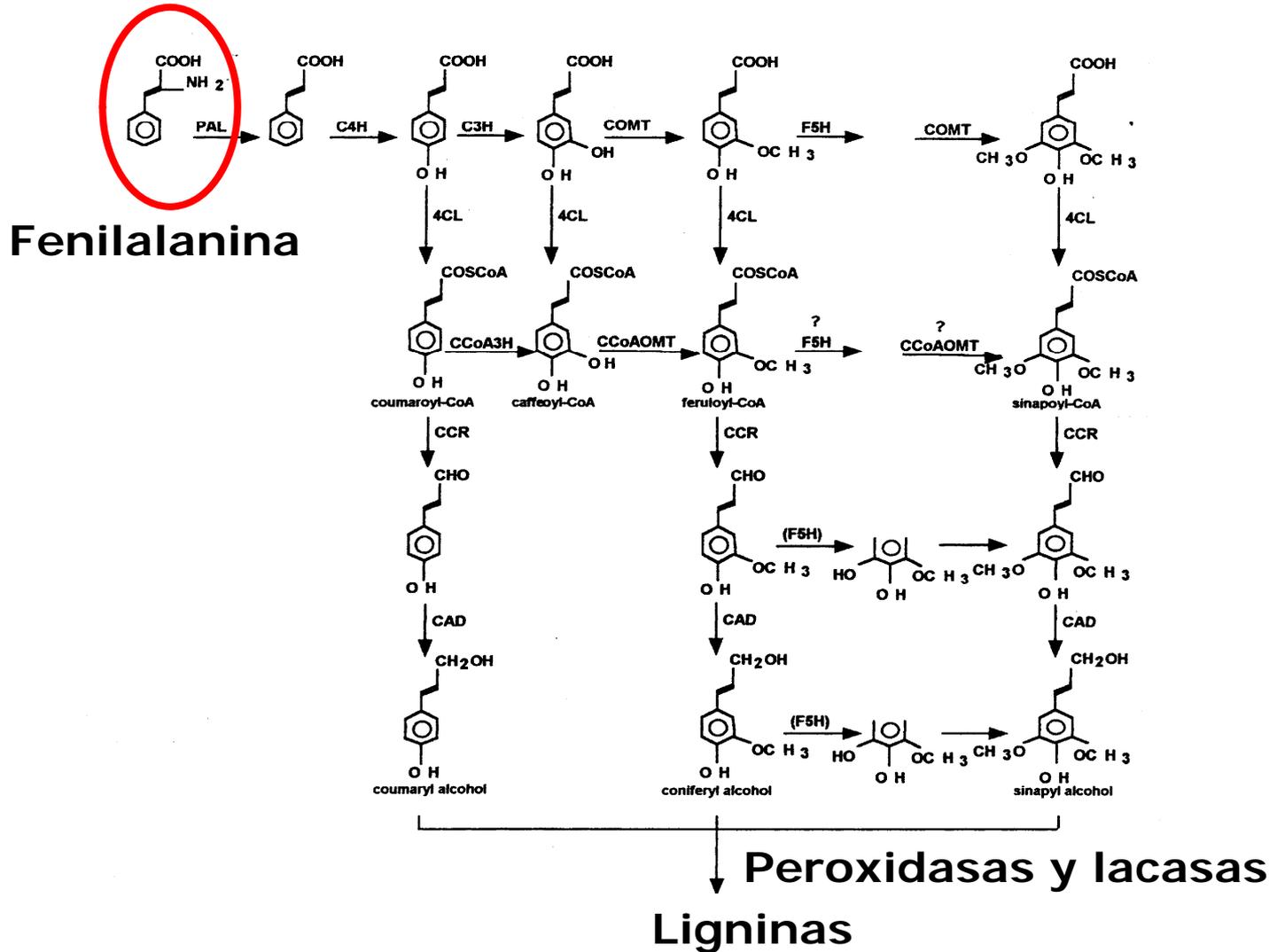
- Hasta 70% glicina, repetición de GlyN, (N puede ser Gly).
- Sin glicosilación
- Regulada durante el desarrollo
- Función putativa. En el xilema, GRPs actúan como un andamio para la deposición de lignina, agregando rigidez e impermeabilidad a la célula.

Lignina



Fondo del tallo de *Arabidopsis*
pared secundaria; floroglucinol

Lignina, una molécula polifenólica



Lignina enlaza la pared celular secundaria

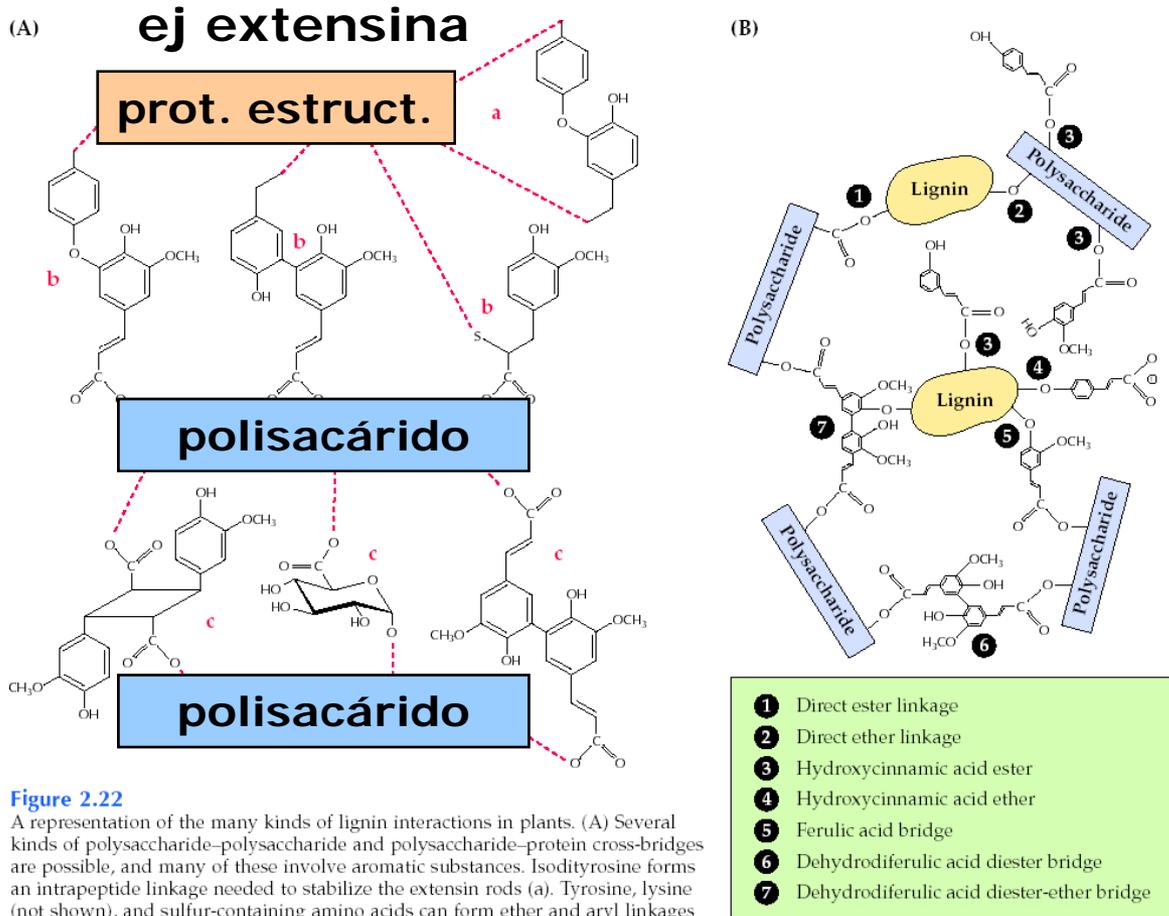


Figure 2.22

A representation of the many kinds of lignin interactions in plants. (A) Several kinds of polysaccharide-polysaccharide and polysaccharide-protein cross-bridges are possible, and many of these involve aromatic substances. Isodityrosine forms an intrapeptide linkage needed to stabilize the extensin rods (a). Tyrosine, lysine (not shown), and sulfur-containing amino acids can form ether and aryl linkages with hydroxycinnamic acids esterified to polysaccharides (b). Neighboring polysaccharides may contain cross-bridges esterified directly to sugars (c). (B) A summary of the kinds of aromatic ester and ether cross-links between carbohydrate and lignin.

Composición de la pared celular – proteínas enzimáticas

Enzimas

Polimerización de lignina :

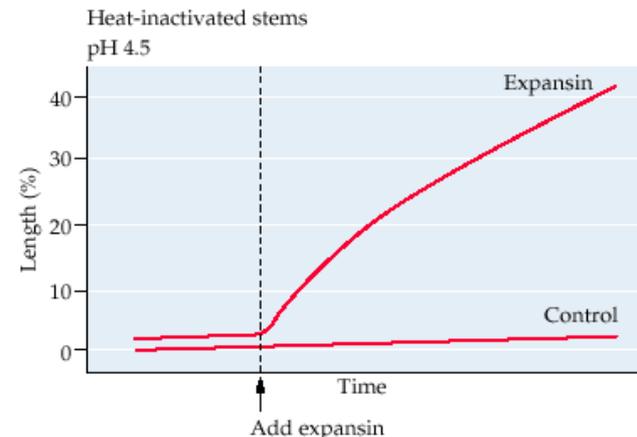
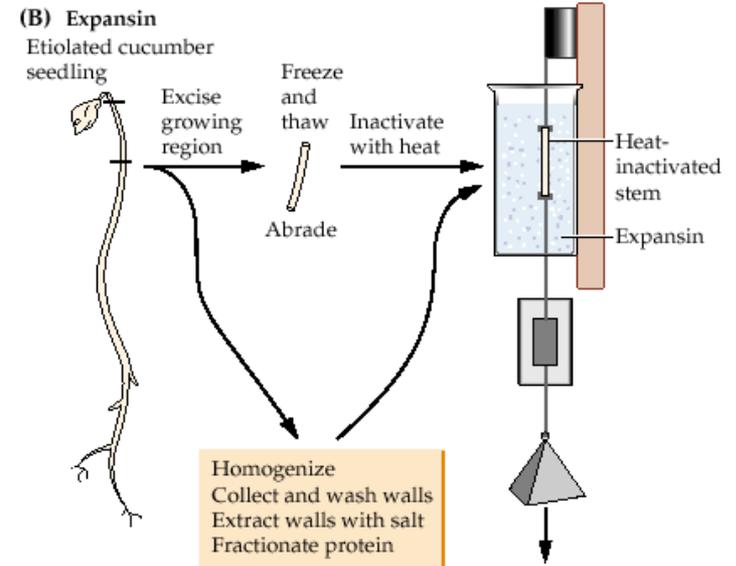
Peroxidasas (H_2O_2)

Lacasas (O_2)

Expansión celular :

Se necesita soltar, en una manera controlada, las hemicelulosas como xiloglucano, permitiendo el desplazamiento de las microfibrillas de celulosa mediante la fuerza de turgor

Las **expansinas** promueven la extensión de la pared



Expansión de la célula

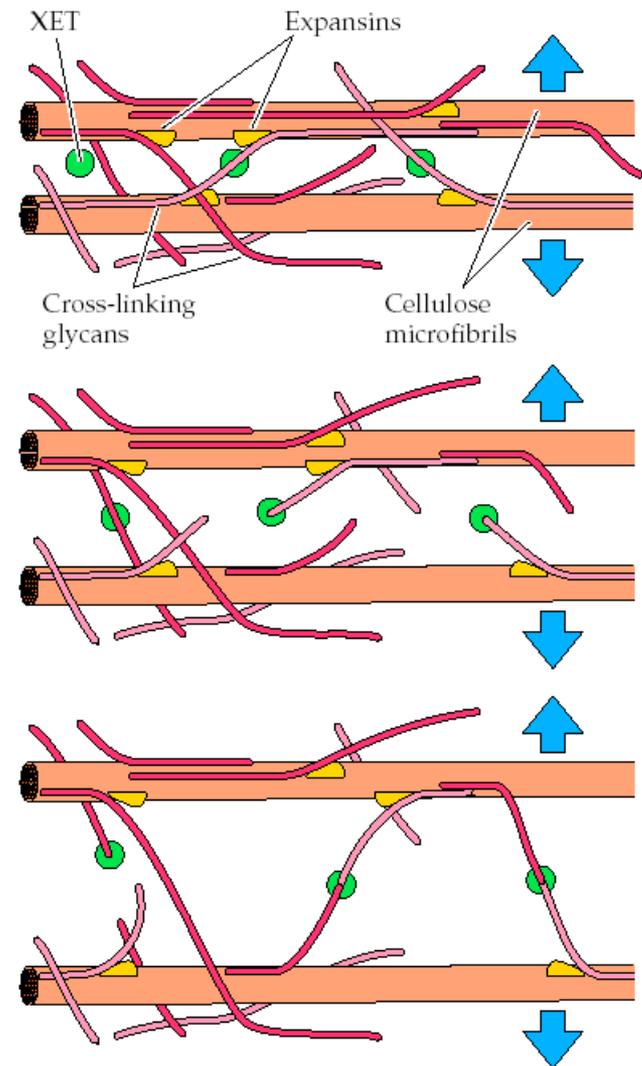
Mediante **Xiloglucano endotransglucosilasa (XET)**.

¿Cómo se incorporan polisacáridos nuevos a la pared celular? ¿Cómo se mantiene la fuerza de la pared durante la expansión?

XET corta y junta de nuevo cadenas de xiloglucano.

Familia multigénica

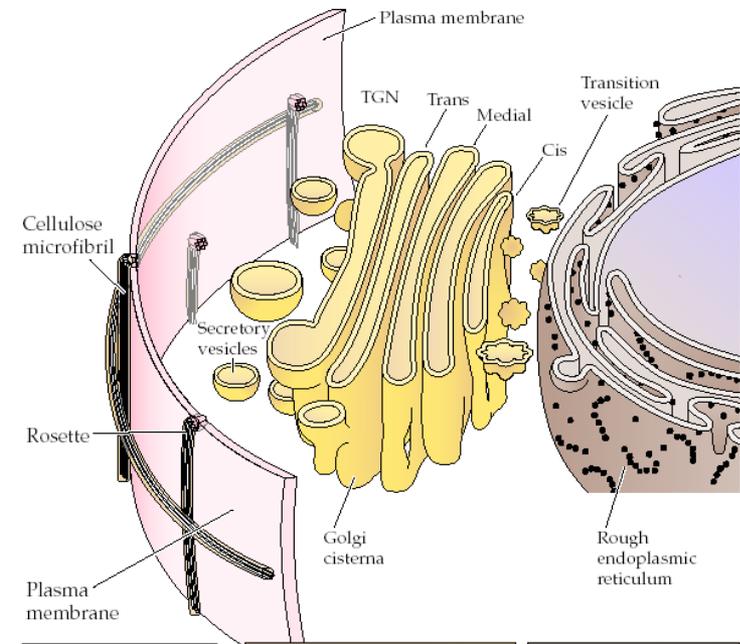
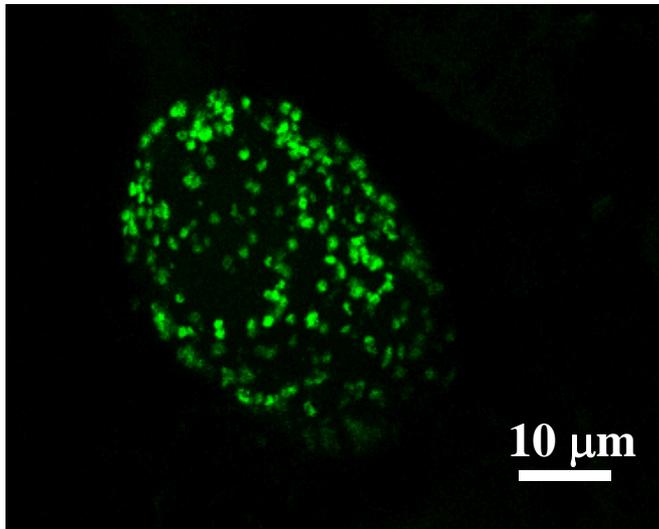
(Aún) no se ha descubierto equivalentes para los otros componentes de la pared



Síntesis de la pared celular

Compartimentalizada
ER, Golgi, MP

- Anticuerpos contra proteínas y polisacáridos
- Ensayos *in vitro*
- Proteínas etiquetadas (galactosiltransferasa)



Site of synthesis for:

Cellulose
Callose

Site of synthesis for:

Pectins
HGA
RG I
RG II

Cross-linking glycans
Xyloglucan
Glucuronoarabinoxylan
β-Glucan
Galactomannan

Site of glycosylation of:

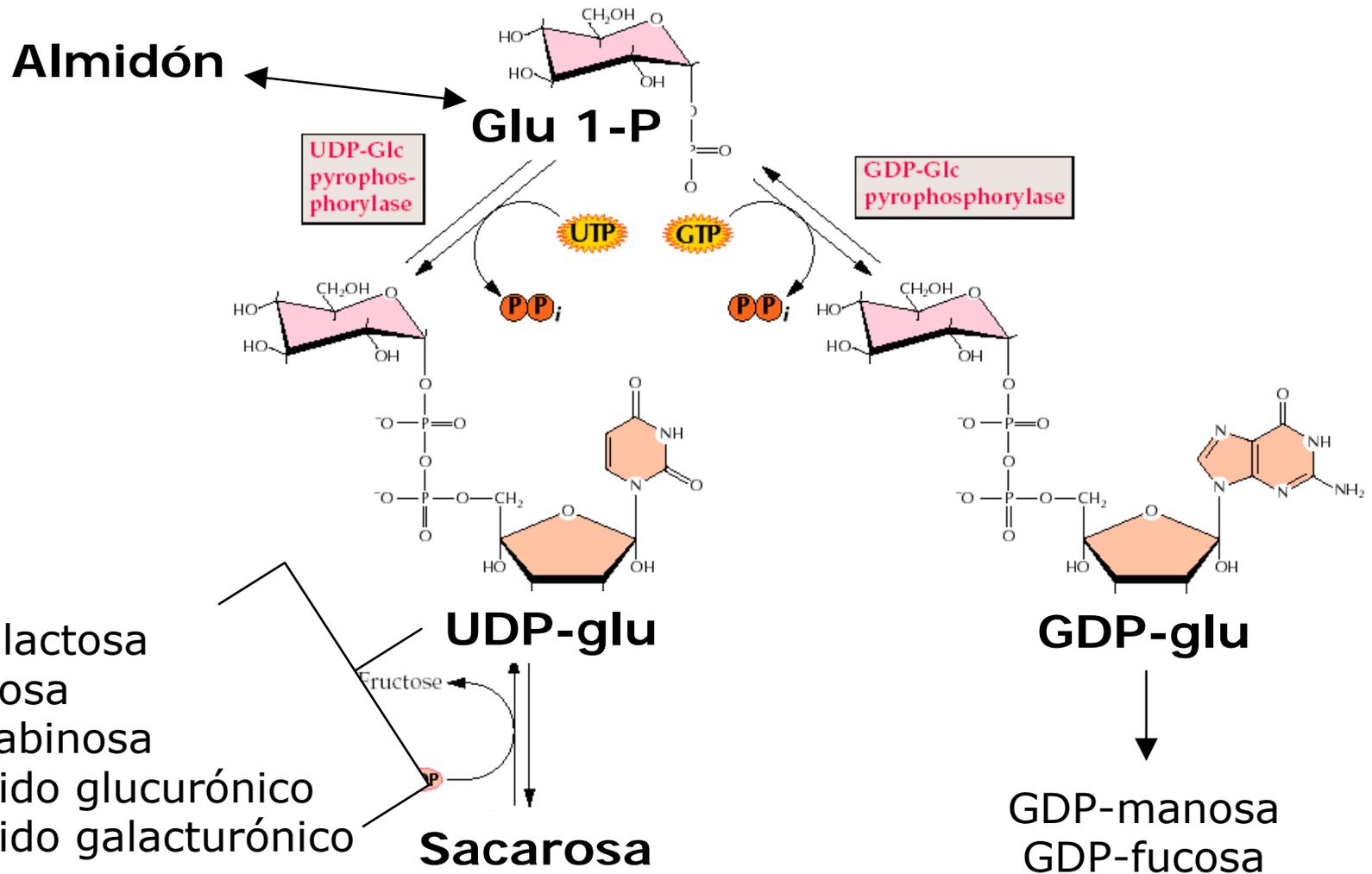
HRGPs
AGPs
Modified glycoproteins

Site of synthesis for:

Cell wall proteins
HRGPs
PRPs
CRPs
AGPs

Enzymes
Hydrolases
Esterases
Peroxidases
Polysaccharide synthase

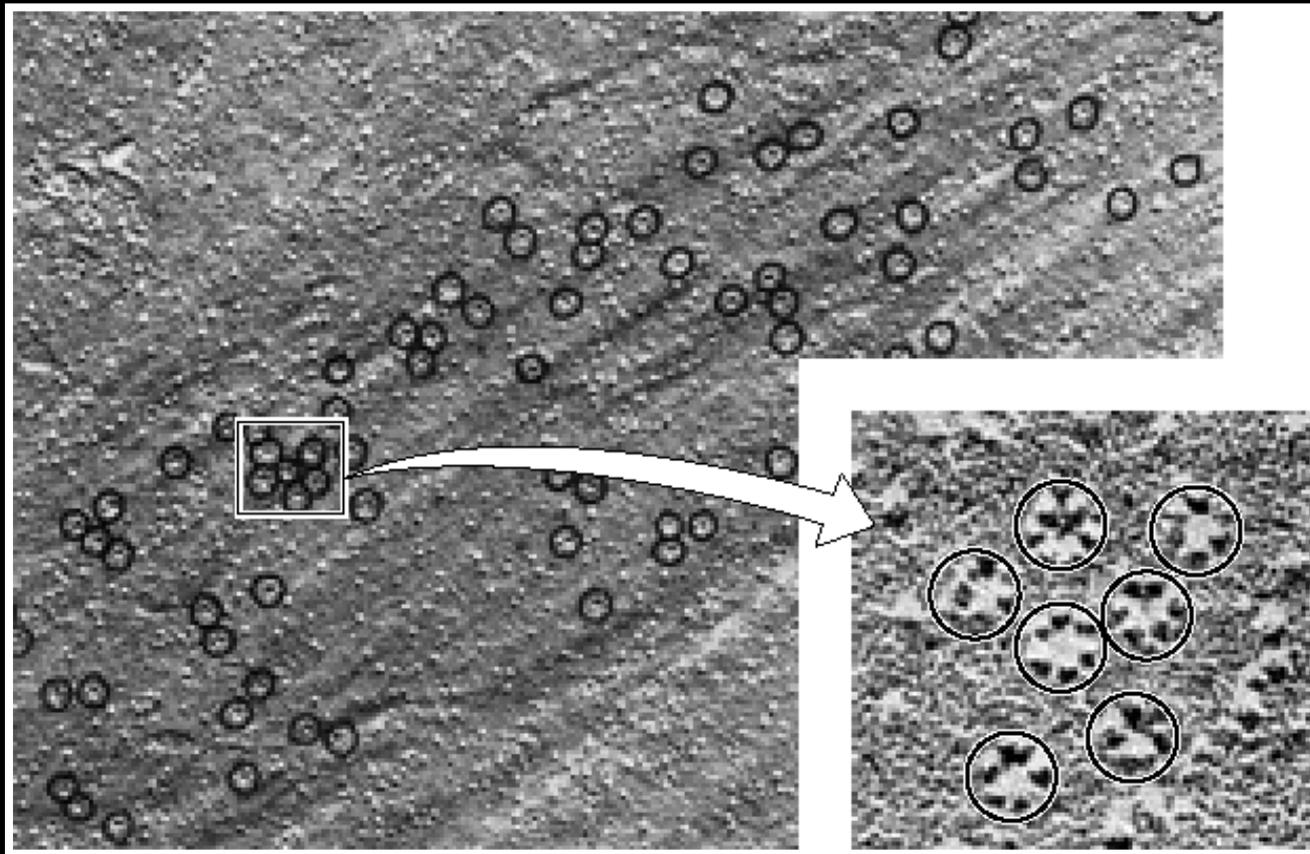
La síntesis de los polisacáridos necesita nucleótidos-azúcar



Síntesis de la celulosa

Sintetizada en la MP

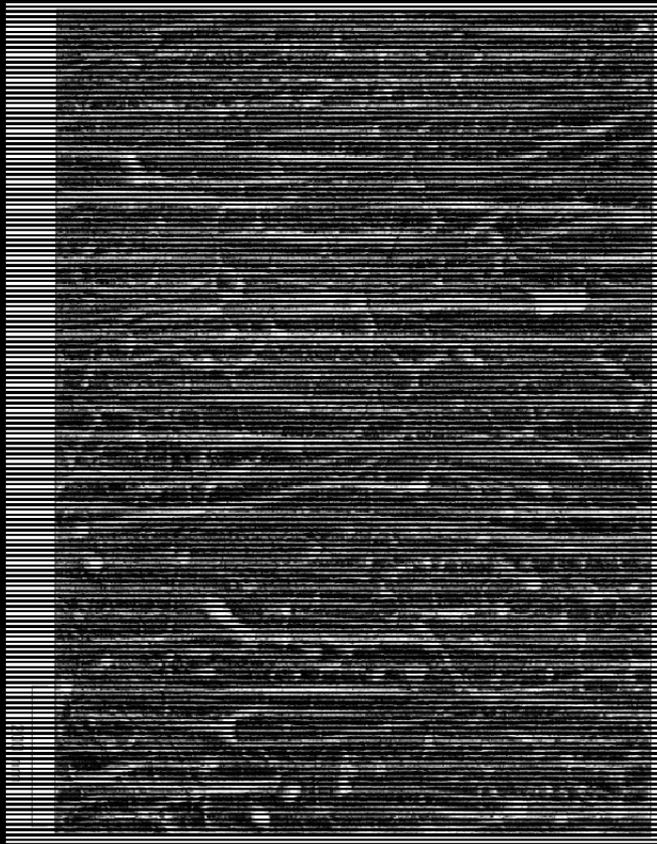
Celulosa nace en rosetas, unidas a los microtúbulos



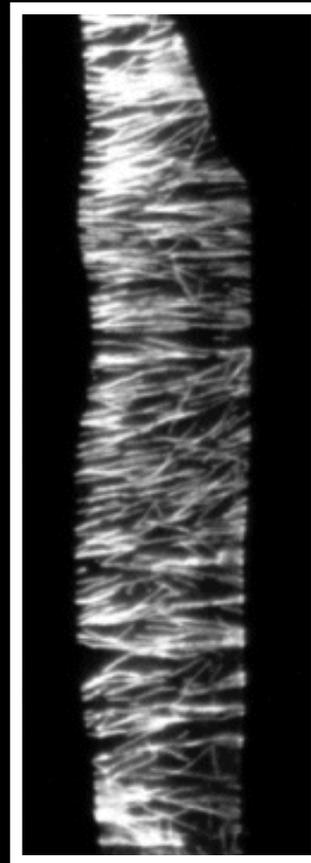
Membrana Plasmática, cara interna

Síntesis de la celulosa

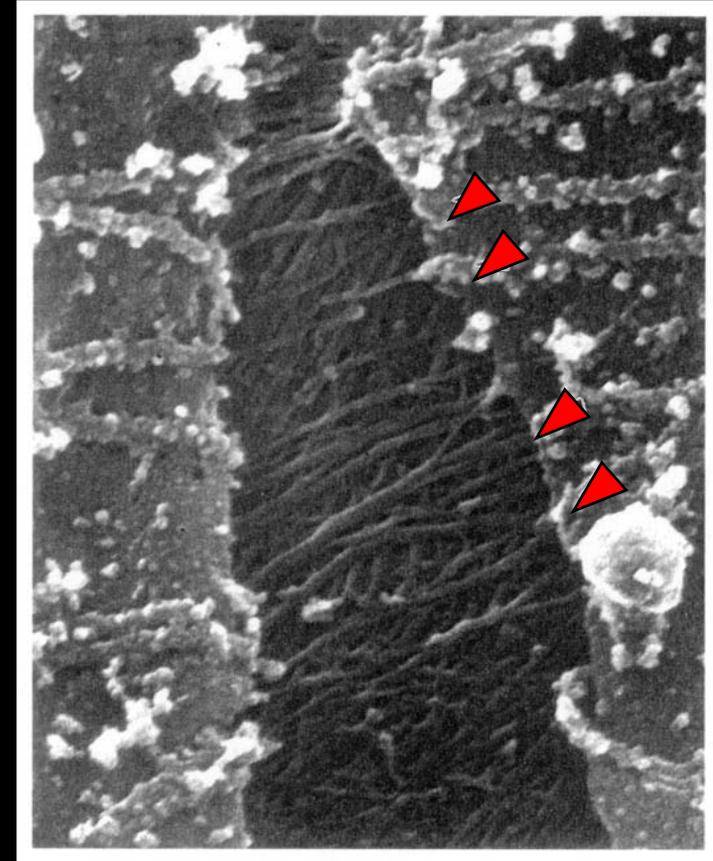
Deposición de los microfibrillas de celulosa



Celulosa en la pared primaria de la zanahoria



MTs



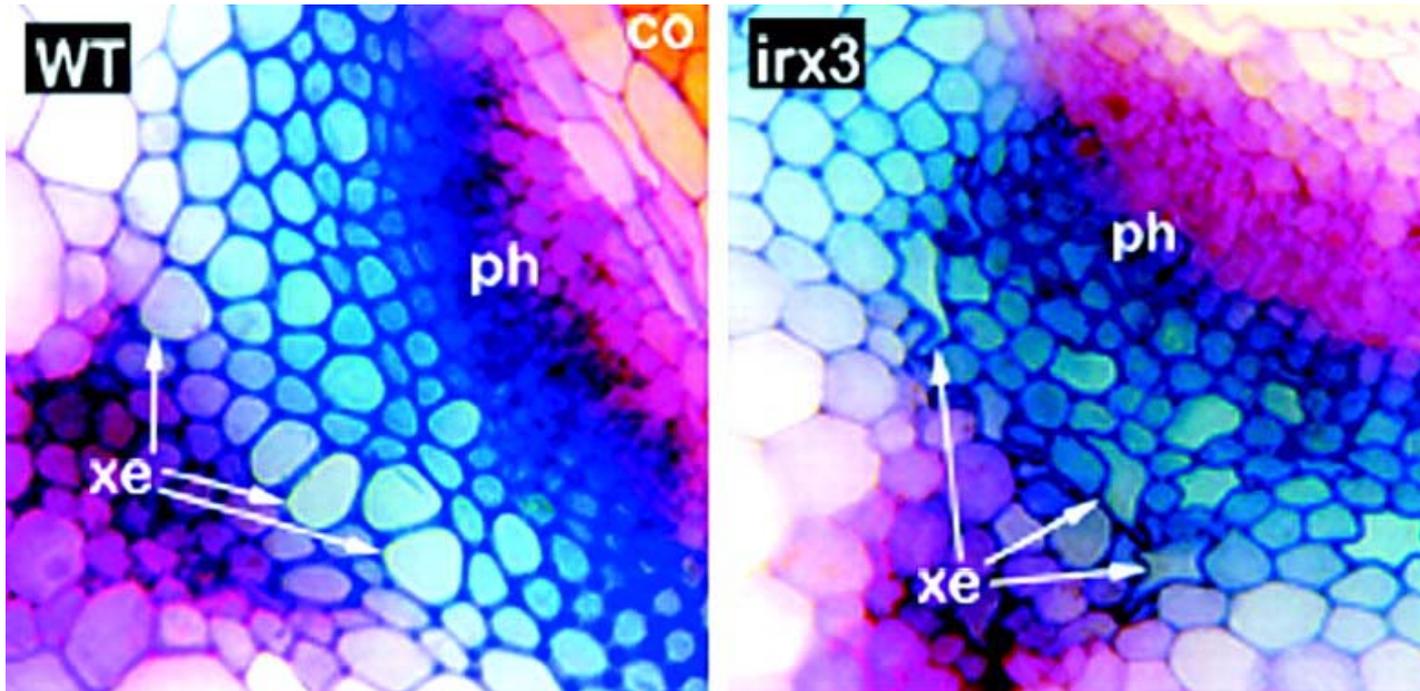
Cara interior de célula de raíz de cebolla

Síntesis de la celulosa – uso de mutantes

Genes de la Celulosa sintasa de plantas (CesA) encontrados por similitud en su secuencia nucleotídica a los de bacteria (CesA).

Arabidopsis thaliana como planta modelo

Mutantes de *Arabidopsis* en CesA: Familias multigénicas, pero mutantes en un solo gen tienen fenotipo (ej. Rsw1; Irx1, Irx3; Prc)



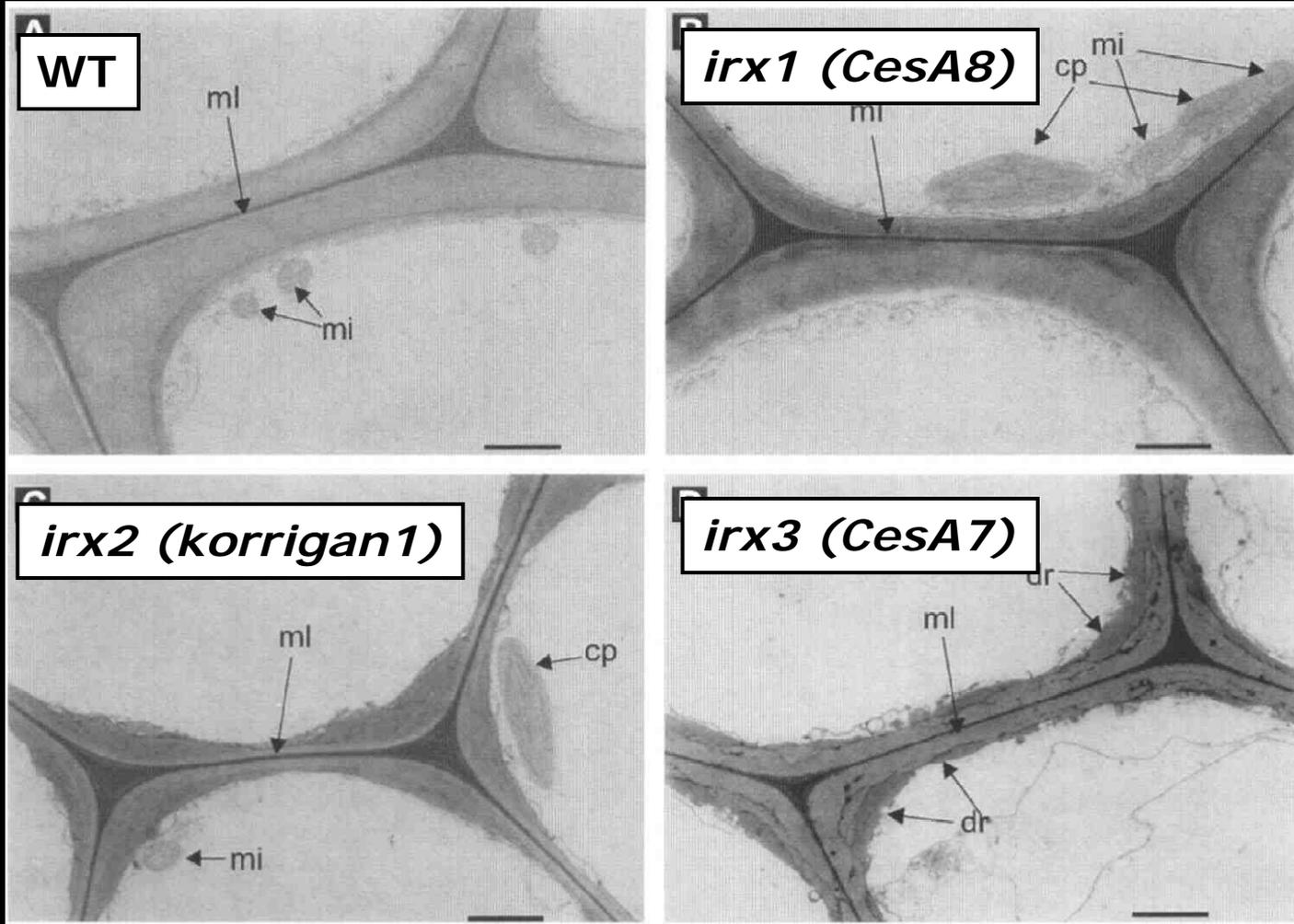
Arabidopsis thaliana

Dicot modelo

- Pequeño
- Corto tiempo de generación
- Auto-fertiliza, 100s de semilla
- Genoma pequeño y secuenciado (2000)
- Posee muchos fenotipos



Síntesis de la celulosa – uso de mutantes



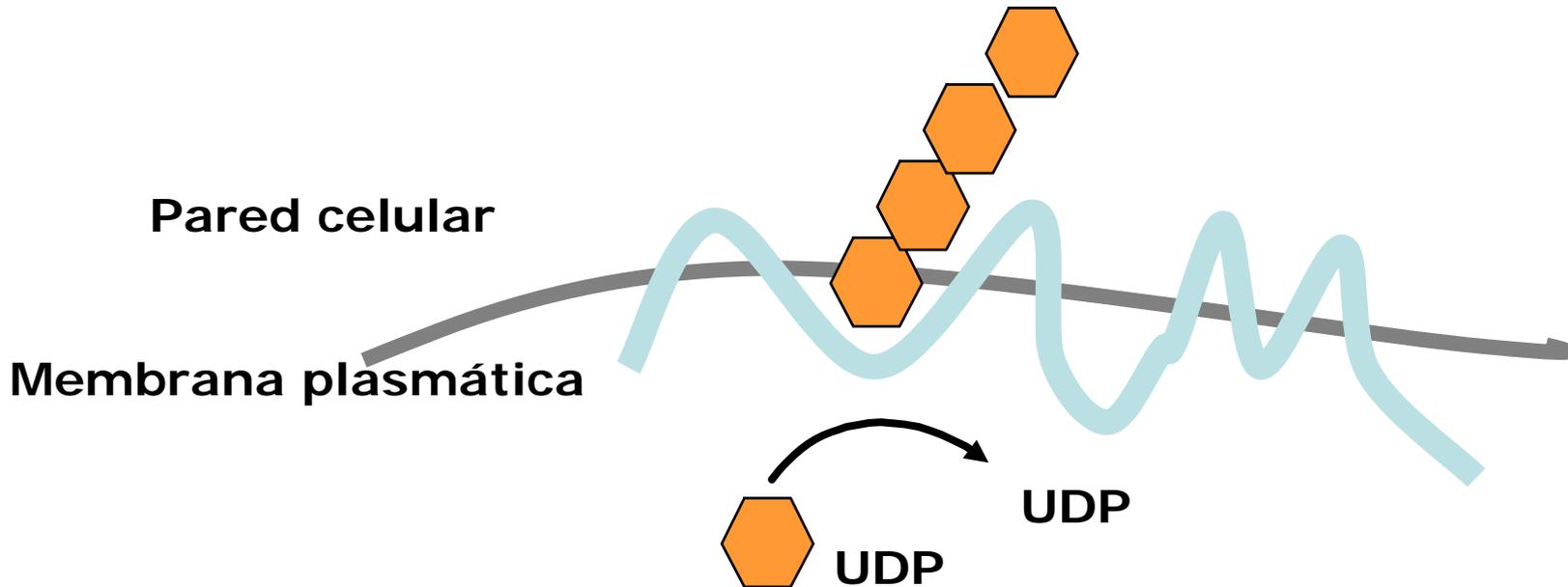
irx = Irregular xylem

1.5 μ m

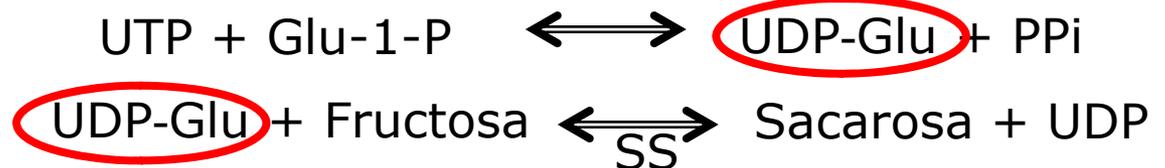
Turner and
Somerville
1997

Síntesis de la celulosa – La celulosa sintasa

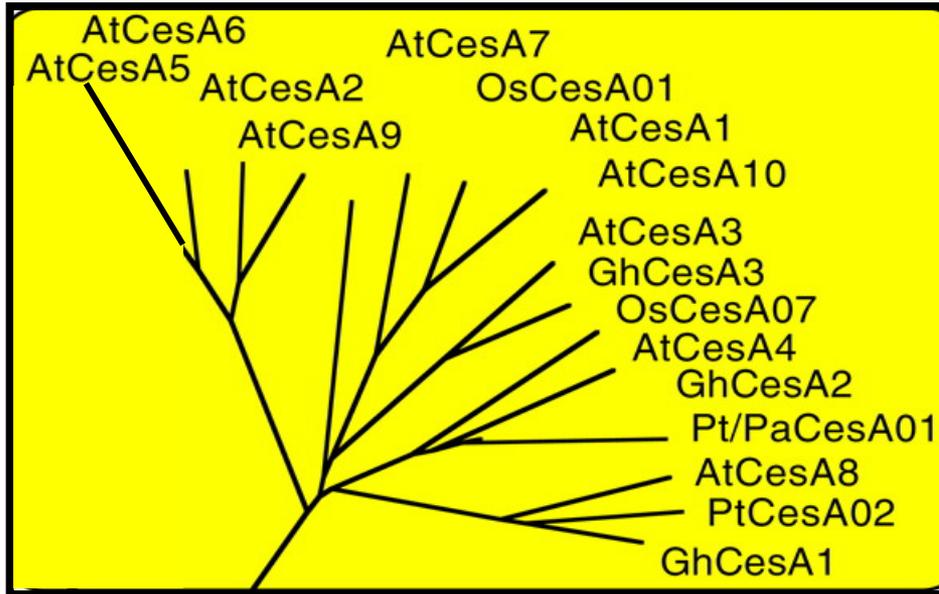
- Proteínas poseen múltiples pasos transmembrana (8 PTMs)
- UDP-glucosa del citosol es la fuente del azúcar



- Involucra sintasa de sacarosa, endoglucanasa (*korrigan1/irx2*) y esteroides



La celulosa sintasa – una familia multigénica



CesA1* = *rsw1
CesA3* = *ixr1
CesA4* = *irx5
CesA6* = *ixr2/prc1
CesA7* = *irx3
CesA8* = *irx1

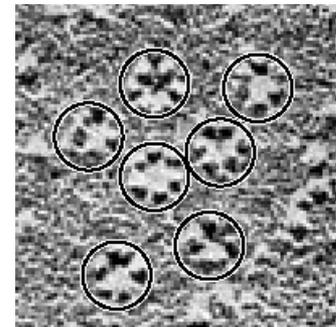
10 *CELLULOSE SYNTHASE1* (CesA) genes in *Arabidopsis*.

Características comunes:

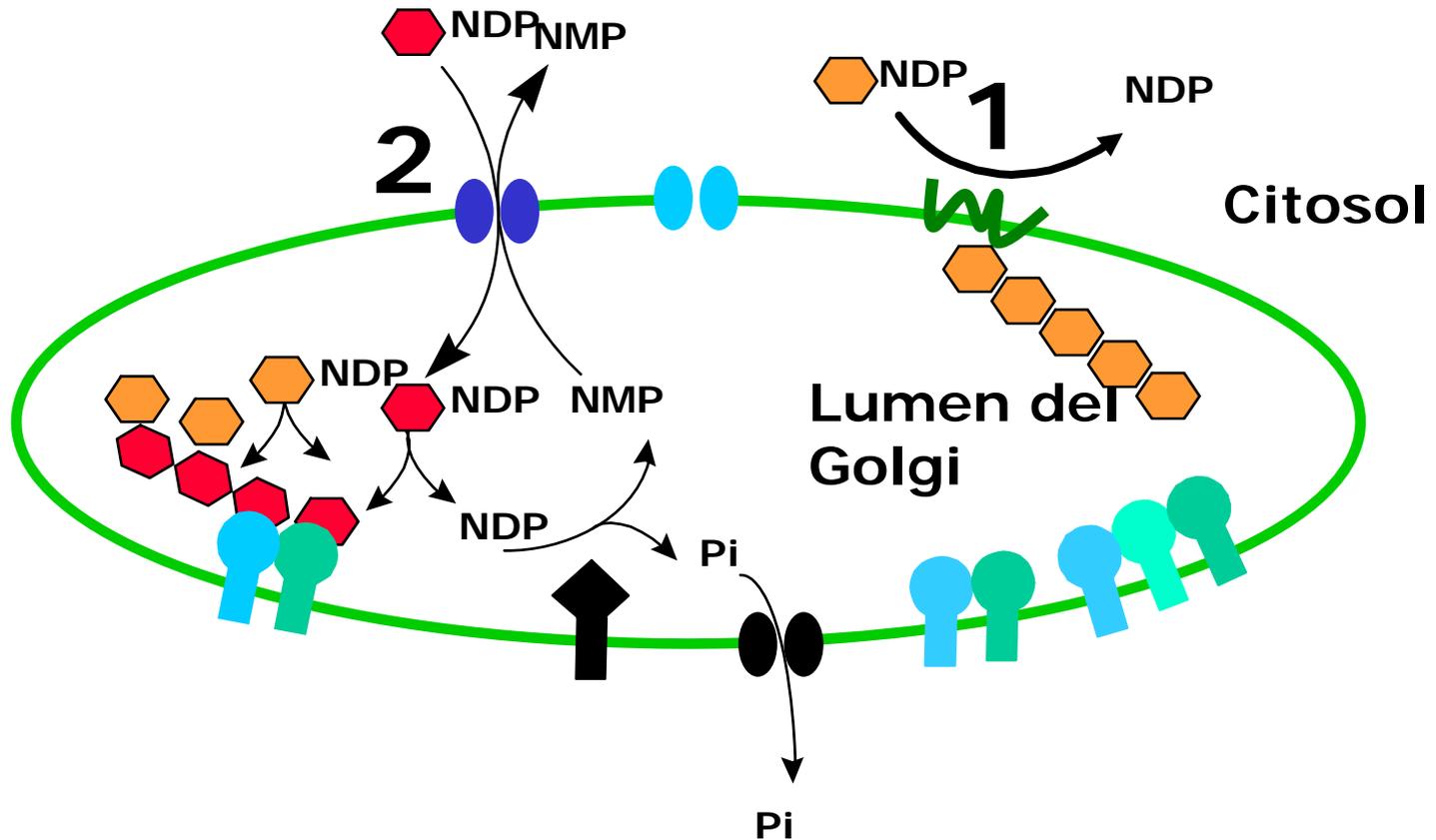
- 8 Pasos TransMembrana
- D,D,DQxxRW motif
- Dominio de unión a Zn²⁺

¿Porque tantas?

- Distintas partes de la pared
- Distintas etapas de desarrollo
- Función en conjunto en las rosetas



Biosíntesis de polisacáridos non-celulósicos



 Azúcar

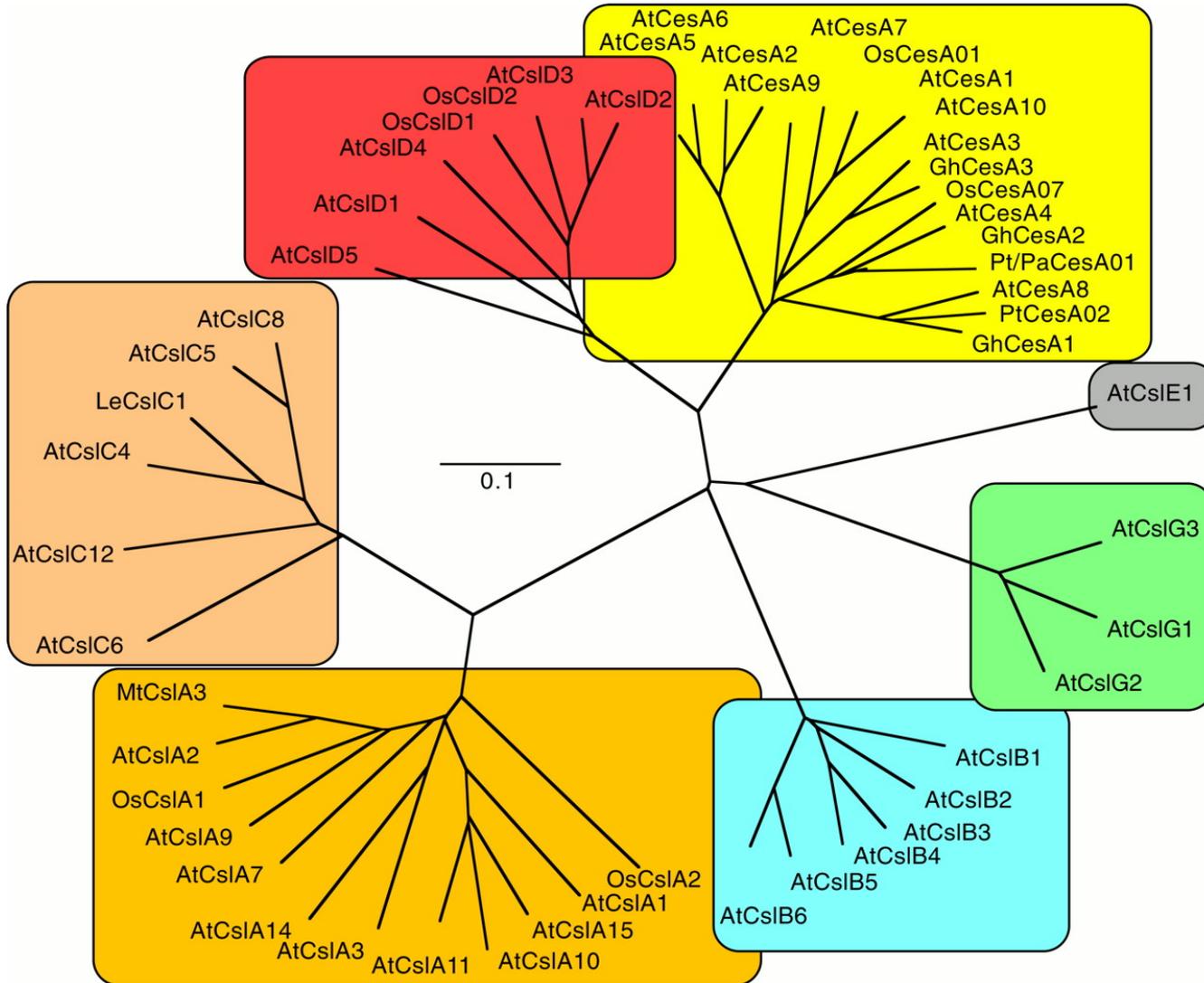
 GDPasa/UDPasa

 Tipo II Glicosiltransferasa

 Tipo celulosa sintasa (Csl) glicosiltransferasa

 Transportador de nucleótido-azúcar

Modelo 1: Tipo celulosa sintasa (Csl)

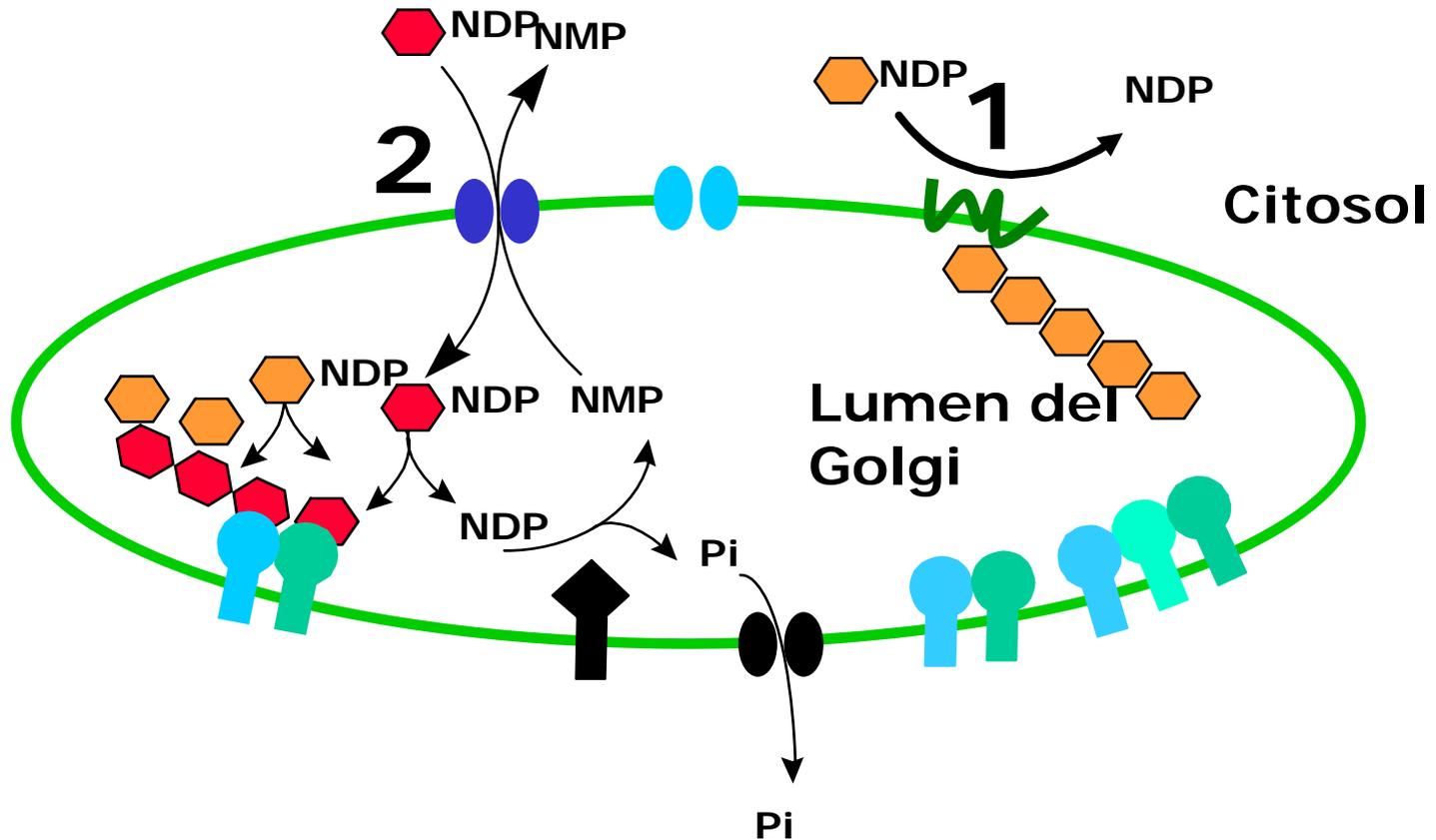


Características
Sintasas de
 β 1,4-glicanos
Celulosa

Xiloglucano
Manano
Galactano
Xilano

Pero....
---Otras enlaces
existen:
Arabinogalactano
(β 1,3 y β 1,6 Gal)
Pectina
(α 1,4)
---Ramificaciones

Biosíntesis de polisacáridos non-celulósicos



 Azúcar

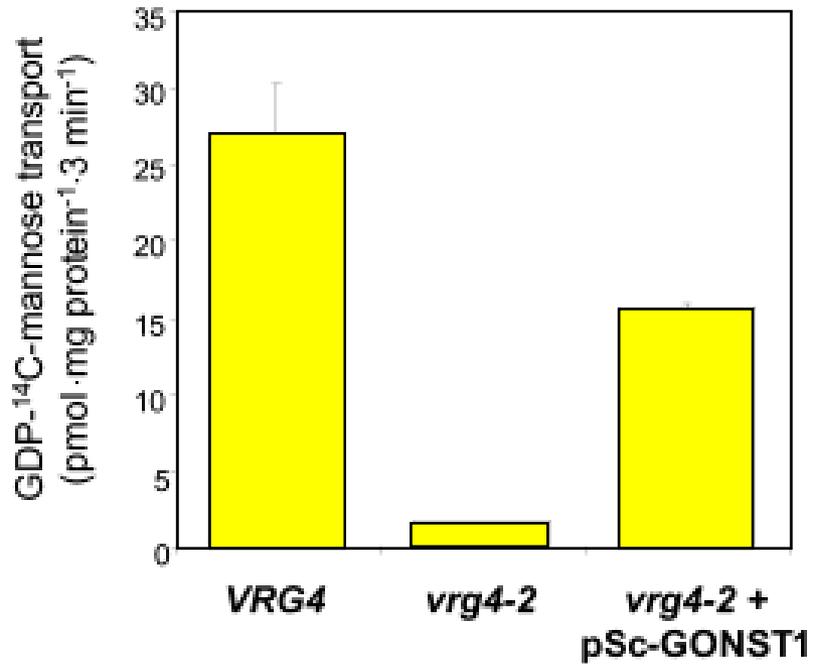
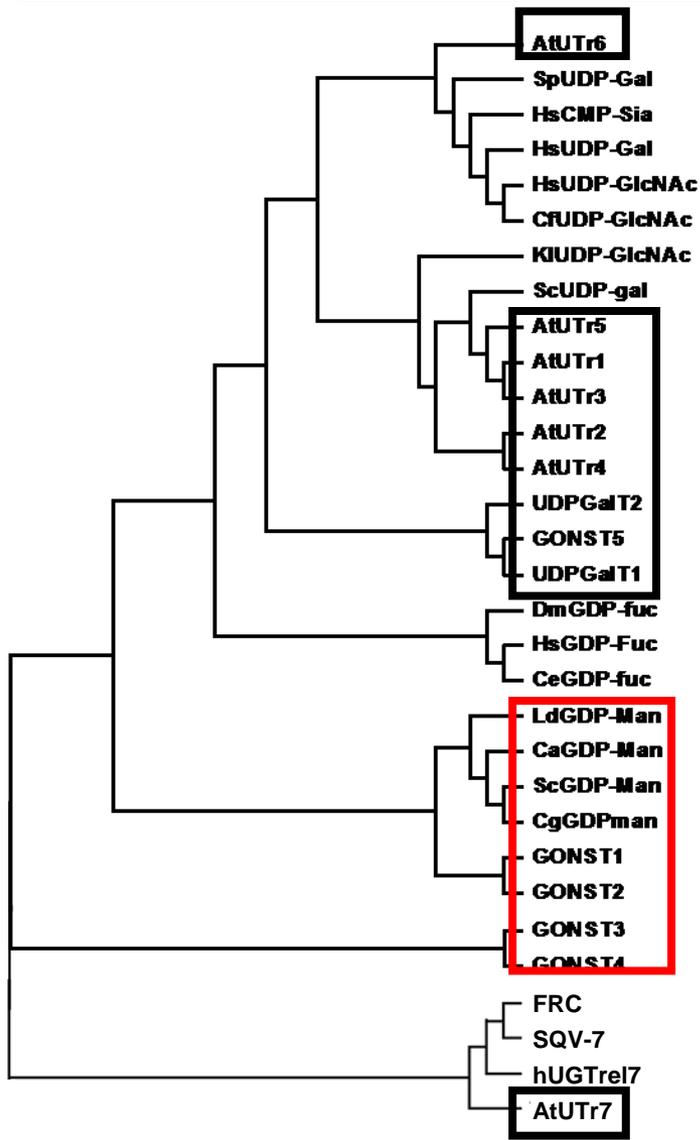
 GDPasa/UDPasa

 Tipo II Glicosiltransferasa

 Tipo celulosa sintasa (Csl) glicosiltransferasa

 Transportador de nucleótido-azúcar

Modelo 2 – Transportadores de nucleótidos-azúcares



Genética reversa

- La proteína VRG4p transporte GDP-man en levadura
- La proteína GONST1 de *Arabidopsis* posee 25% identidad a nivel amino-acídico con VRG4p
- GONST1 expresado en *vrg4* mutante de levadura complementa su deficiencia en el transporte de GDP-man

Resumen

Clase 3

- La pared celular es dinámica, con múltiples papeles *in vivo*
- Compuesta por varias redes de polisacáridos, proteínas y fenólicos
- Poco conocido..... el papel preciso de cada componente, por qué existe tanta variedad de estructuras y cómo se regula su desarrollo
- Se sintetiza celulosa y callosa en la MP, el resto en el aparato de Golgi. Todos requieren nucleótido-azúcares
- De las proteínas involucradas, han sido identificadas y caracterizadas solo algunas celulosa sintasas (CesA), y muy pocas Csl, glicosiltransferasa y transportadores de nucleótido-azúcares. Todos forman familias multigénicas
- Todas estas proteínas juegan un papel en el control de la síntesis de glicanos