Минеральное питание

Макроэлементы: - содержание более 0,1%.

Из них «органогены» - C ~ 45%, O ~ 42%, H ~ 6,5%, N ~ 1,5%.

А также: S ~ 0,1%, P ~ 0,2%, K ~ 1,0%, Ca ~ 0,5%, Mg ~ 0,2%

Кроме того Na, Cl, Si.

Fe занимает промежуточное положение.

Возможна другая классификация – физиологическая, по процессам, в которых ключевую роль играют те или иные элементы.

N, S – участвуют в построении органических веществ

P, Si, B – участвуют в запасании энергии и целостности структур клетки

K, Ca, Mg, Cl, Mn, Na – элементы, которые «работают» в ионной форме

Fe, Zn, Cu, Ni, Mo – элементы, играющие роль в **red-ox** реакциях

Относительное содержание элементов в растениях

TABLE 5.1
Adequate tissue levels of elements that may be required by plants

Element	Chemical symbol	Concentration in dry matter (% or ppm)[a]	Relative number of atoms with respect to molybdenum
Obtained from water or carbon dioxide			
Hydrogen	H	6	60,000,000
Carbon	C	45	40,000,000
Oxygen	O	45	30,000,000
Obtained from the soil			
Macronutrients			
Nitrogen	N	1.5	1,000,000
Potassium	K	1.0	250,000
Calcium	Ca	0.5	125,000
Magnesium	Mg	0.2	80,000
Phosphorus	P	0.2	60,000
Sulfur	S	0.1	30,000
Silicon	Si	0.1	30,000
Micronutrients			
Chlorine	Cl	100	3,000
Iron	Fe	100	2,000
Boron	B	20	2,000
Manganese	Mn	50	1,000
Sodium	Na	10	400
Zinc	Zn	20	300
Copper	Cu	6	100
Nickel	Ni	0.1	2
Molybdenum	Mo	0.1	1

Source: Epstein 1972, 1999.

[a] The values for the nonmineral elements (H, C, O) and the macronutrients are percentages. The values for micronutrients are expressed in parts per million.

Восстановление нитратов

pH = 7.2
$\Delta\psi$ = –100 to –250 mV
$[NO_3^-]$ = 1 to 5 mV

Vacuole
pH = 5.5
$\Delta\psi$ = –90 mV
$[NO_3^-]$ = 20 to 70 mV

Plastid
Glutamine

GS-GOGAT

NH_4^+

NO_2^-

Nitrite reductase

NO_3^-

Nitrate reductase

NO_3^- → NO_2^-

ATP H^+ ADP + P_i

Nitrate transporter

2 H^+

NO_3^-

H^+

High pH:
Stroma, matrix, or cytoplasm

Membrane

Low pH:
Lumen, intermembrane space, or vacuole

OH^- OH^- OH^- OH^- OH^- OH^- OH^- OH^-

H_2O

$NH_4^+ + OH^- \rightarrow NH_3 \rightarrow NH_3 + H^+ \rightarrow NH_4^+$

H^+ H^+ H^+ H^+ H^+ H^+ H^+

At high pH, NH_4^+ reacts with OH^- to produce NH_3.

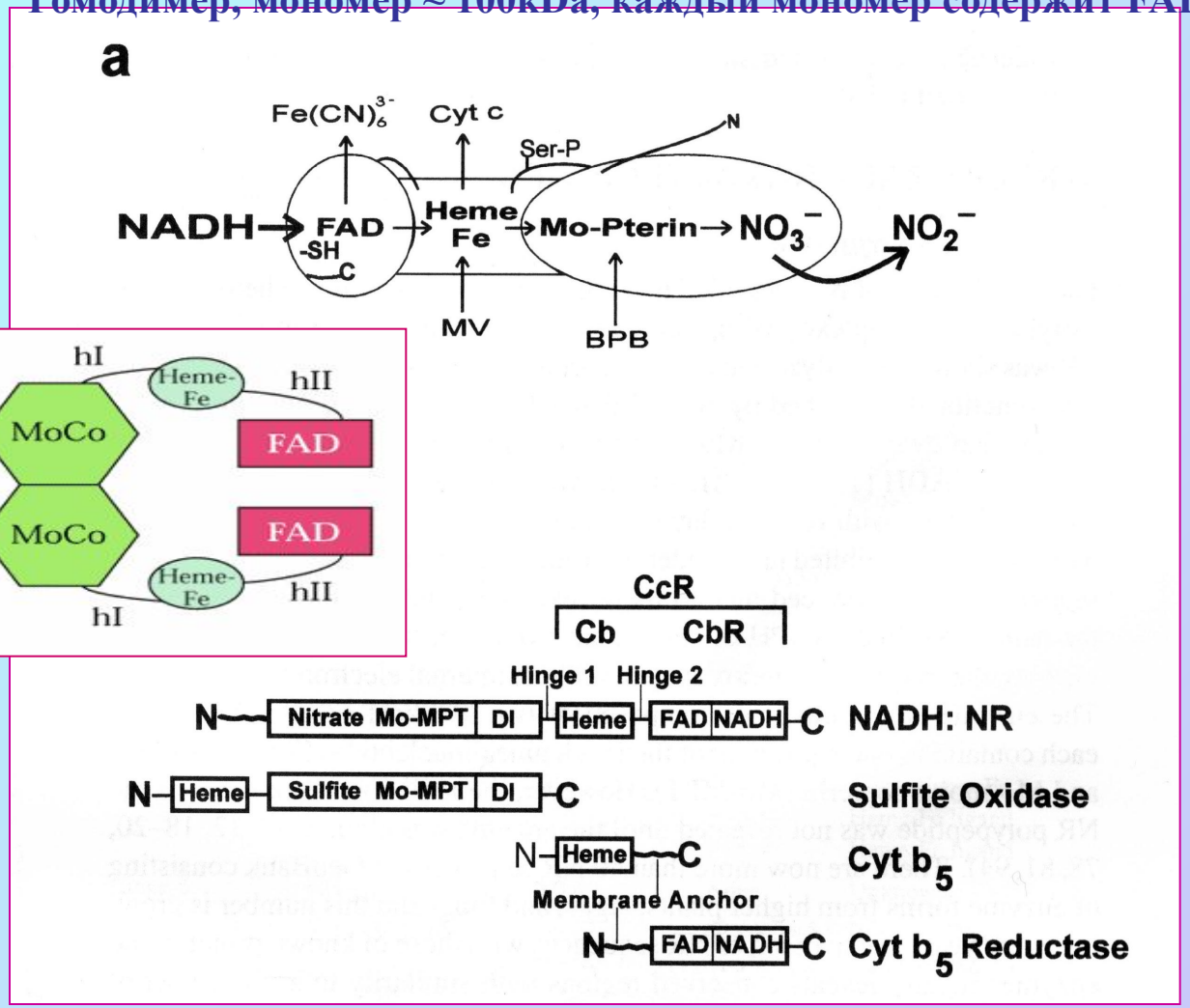
NH_3 is membrane permeable and diffuses across the membrane along its concentration gradient.

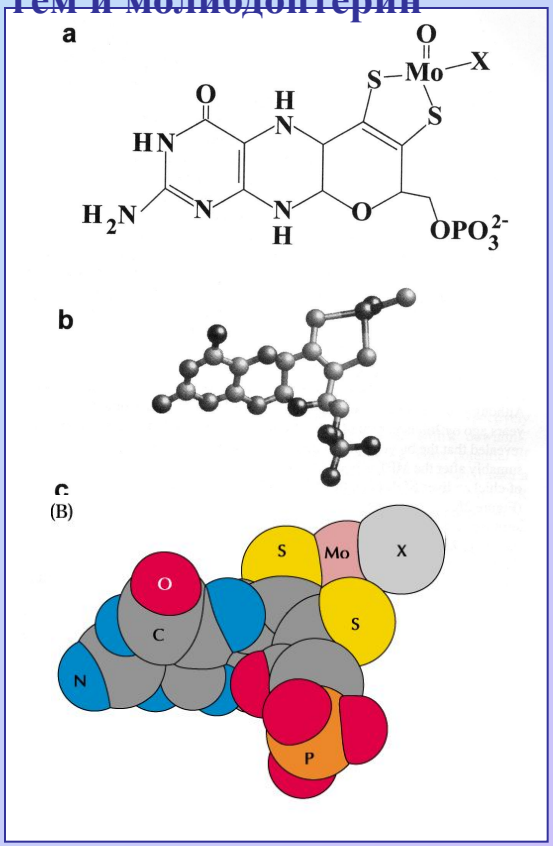
NH_3 reacts with H^+ to form NH_4^+.

Нитратредуктаза: схема работы, домены и структура молибдоптерина

НАДН, НАД(Ф)Н (высшие растения, водоросли), НАДФН (грибы) –специфичная Nr,

Гомодимер, мономер ~ 100kDa, каждый мономер содержит FAD, гем и молибдоптерин





Нитратредуктаза: строение

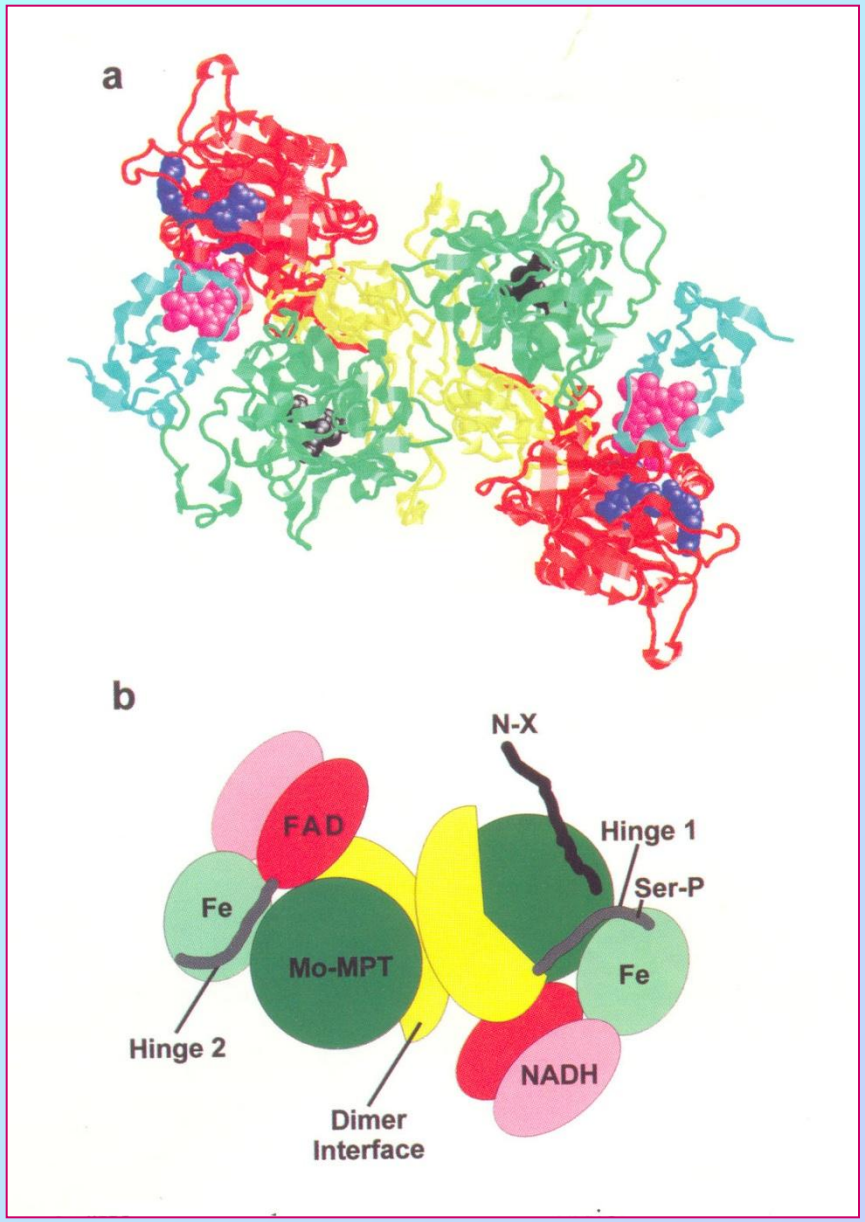


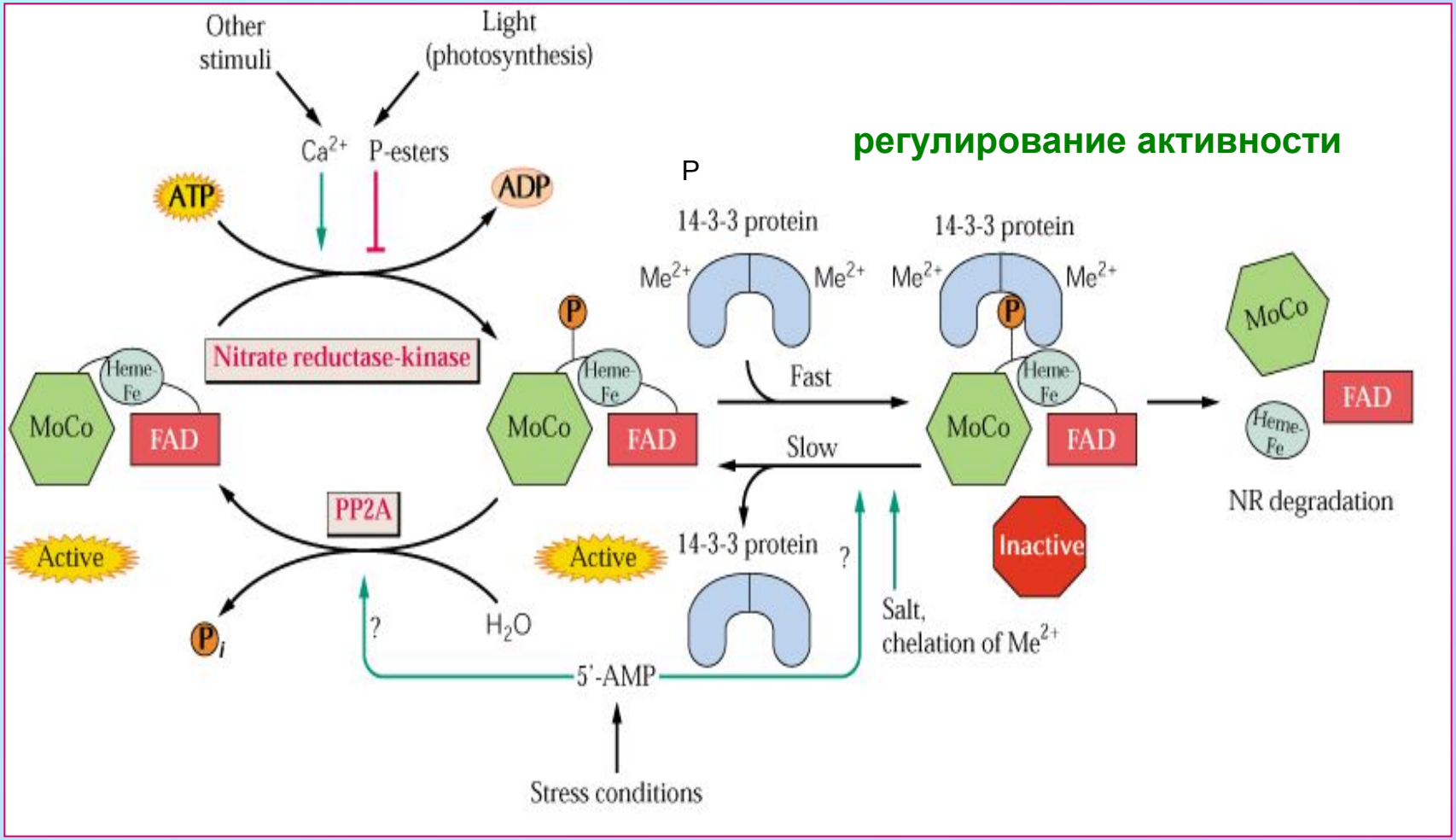
Table 1 Key invariant residues in Arabidopsis NIA2 (GenBank Accession No. J03240)[a]

Domain/region	Span (# residues)	Invariant (# residues/%)	Key residues	Function
N-terminal	1–90 (90)	0/0.0	None	Regulatory/Stability
Mo-MPT	91–334 (244)	33/13.5	8	Nitrate reducing active site
			Arg144	Nitrate binding
			Hist146	MPT binding
			Cys191	Mo ligand
			Arg196	Nitrate binding
			His294	MPT binding
			Arg229	MPT binding
			Gly308	Mo = O ligand
			Lys312	MPT binding
Dimer interface (DI)	335–490 (156)	10/6.4	2	Formation of stable dimer
			Glu360	Ionic bond at interface
			Lys399	Ionic bond at interface
Hinge 1	491–540 (50)	5/10.0	1	Regulatory
			Ser534	Phosphorylated
Cytochrome b (Cb)	541–620 (80)	10/12.5	2	Binds Heme-Fe
			His577	Heme-Fe ligand
			His600	Heme-Fe ligand
Hinge 2	621–660 (40)	0/0.0	None	Unknown
FAD	661–780 (120)	10/8.3	5	Binds FAD/active site
			Arg712	Binds FAD
			Tyr714	Binds FAD
			Gly745	Binds FAD
			Ser748	Binds FAD
			Lys 731	Binds NADH
NADH	781–917 (137)	9/6.6	3	Binds NADH/active sit
			Gly794	Binds NADH
			Cys889	Active site
			Phe917	C-terminal

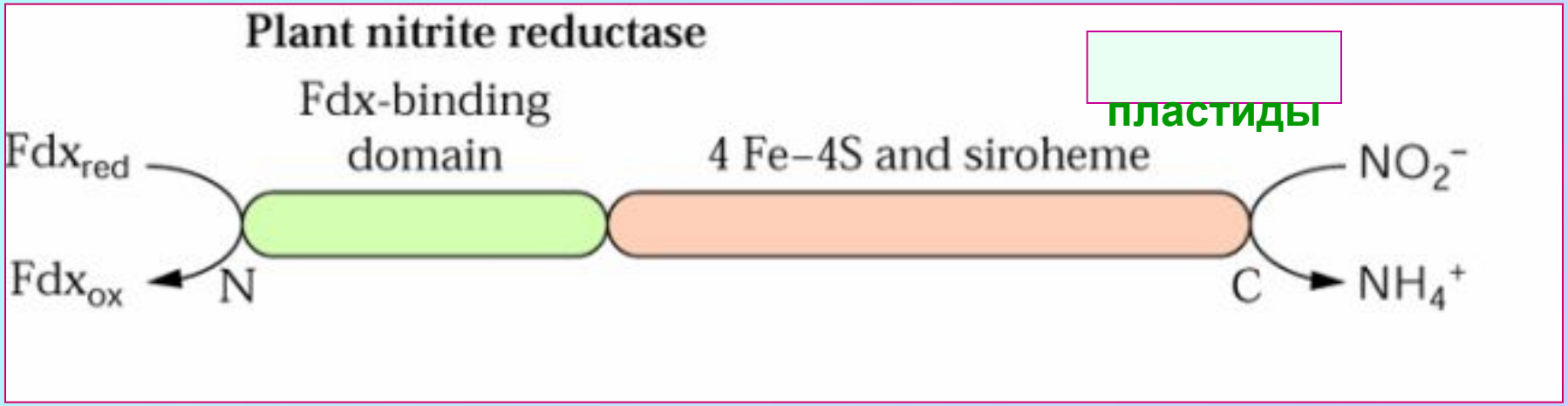
[a]See Figures 1*b* and 3.

Регуляция работы нитратредуктазы: на уровне транскрипции, трансляции и регулировании активности

На уровне транскрипции: индукция субстратом (50 мкМ NO_3^- в течение 10 минут), индукция светом, сахарозой.

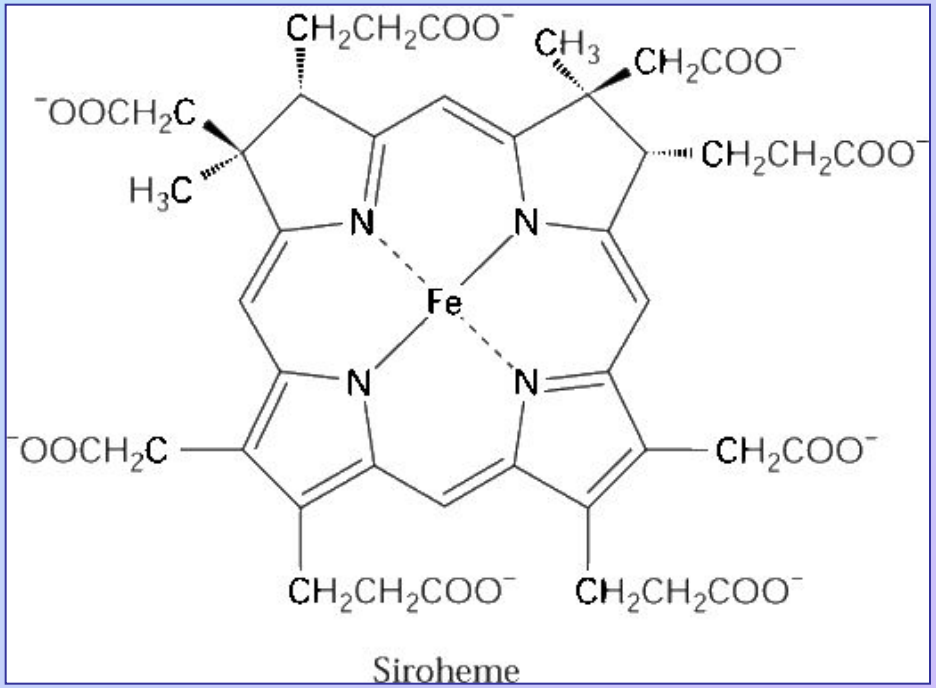


Нитритредуктаза: строение

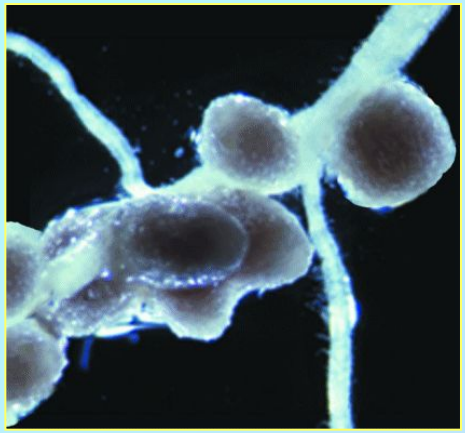


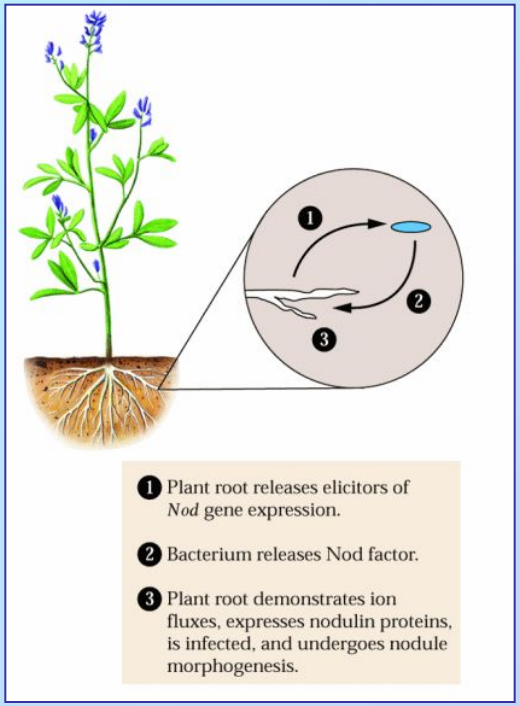
Мономер, 60 – 70кДа.
Активность на порядок выше, чем у нитратредуктазы.
Активируется нитратом (но не нитритом), светом,

В гетеротрофных клетках – ферредоксин за счет ПФ-шунта: Ферредоксин-НАДФ$^+$-редуктаза



Как растение и бактерии «узнают» друг друга





Host compounds that actively induce *nod* gene expression

Flavonoid inducers

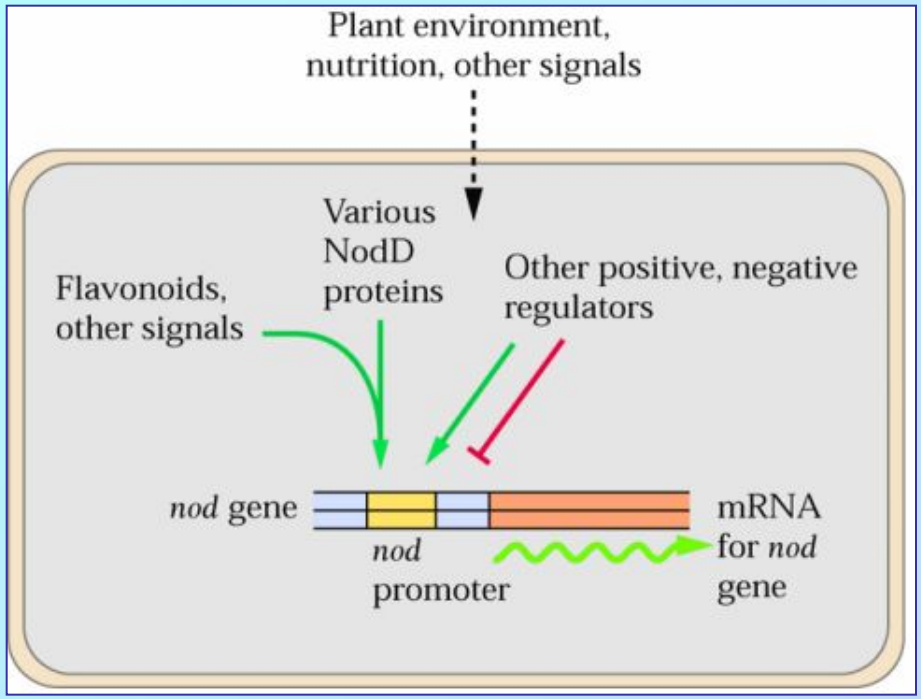
Category	Generic structure	Name/activity	Specific structure
Flavone		Luteolin, a flavone inducer from *Medicago* spp., active on *S. meliloti*	
Chalcone		4,4'-Dihydroxy-2'-methoxychalcone, a chalcone inducer from *Medicago*	
Isoflavone		Daidzein, an isoflavone active on *B. japonicum*	
Flavanone		Naringenin, a flavanone active on *R. leguminosarum* bv. *viciae*	

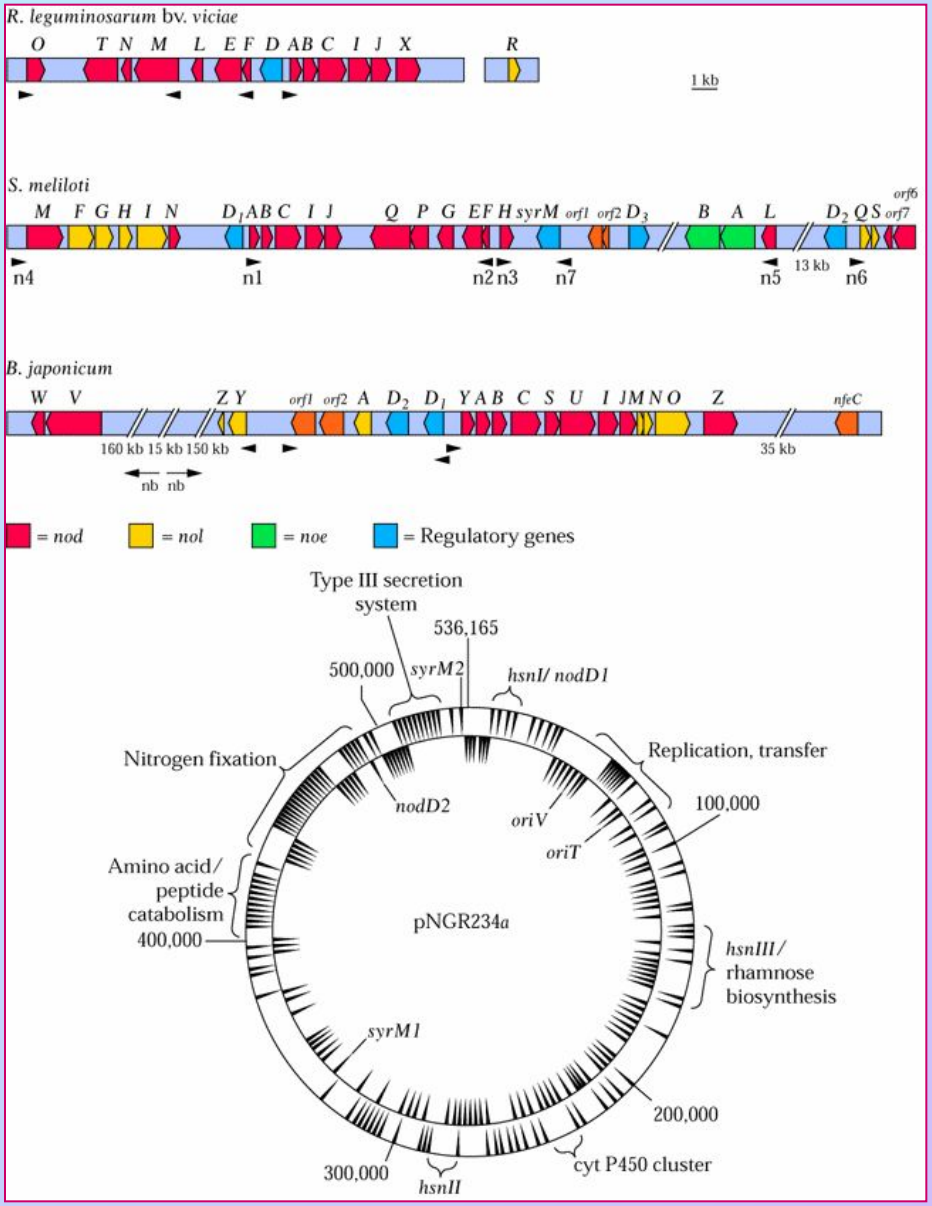
Nonflavonoid inducers

Trigonelline (a betaine)

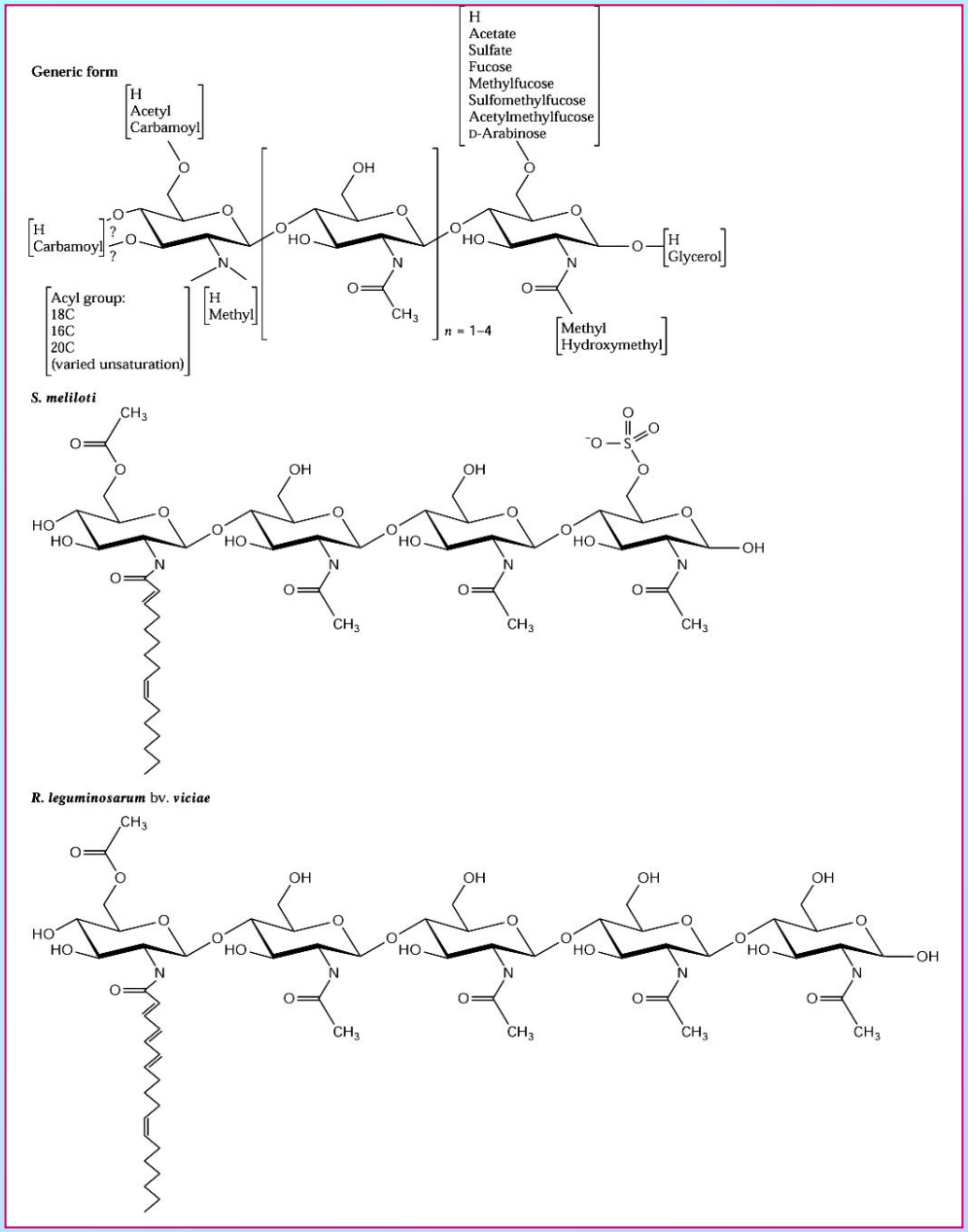
Tetronic acid (an aldonic acid)

Флавоноид + белок NodD активирует транскрипцию *nod*-генов





Продукт активности *nod*-генов - nod-фактор и инфекционный процесс



***Nod*A –*Nod*C гены кодируют ферменты, которые обуславливают формирование базовой структуры липо-хитонового олигосахарида и универсальны для всех ризобий:**

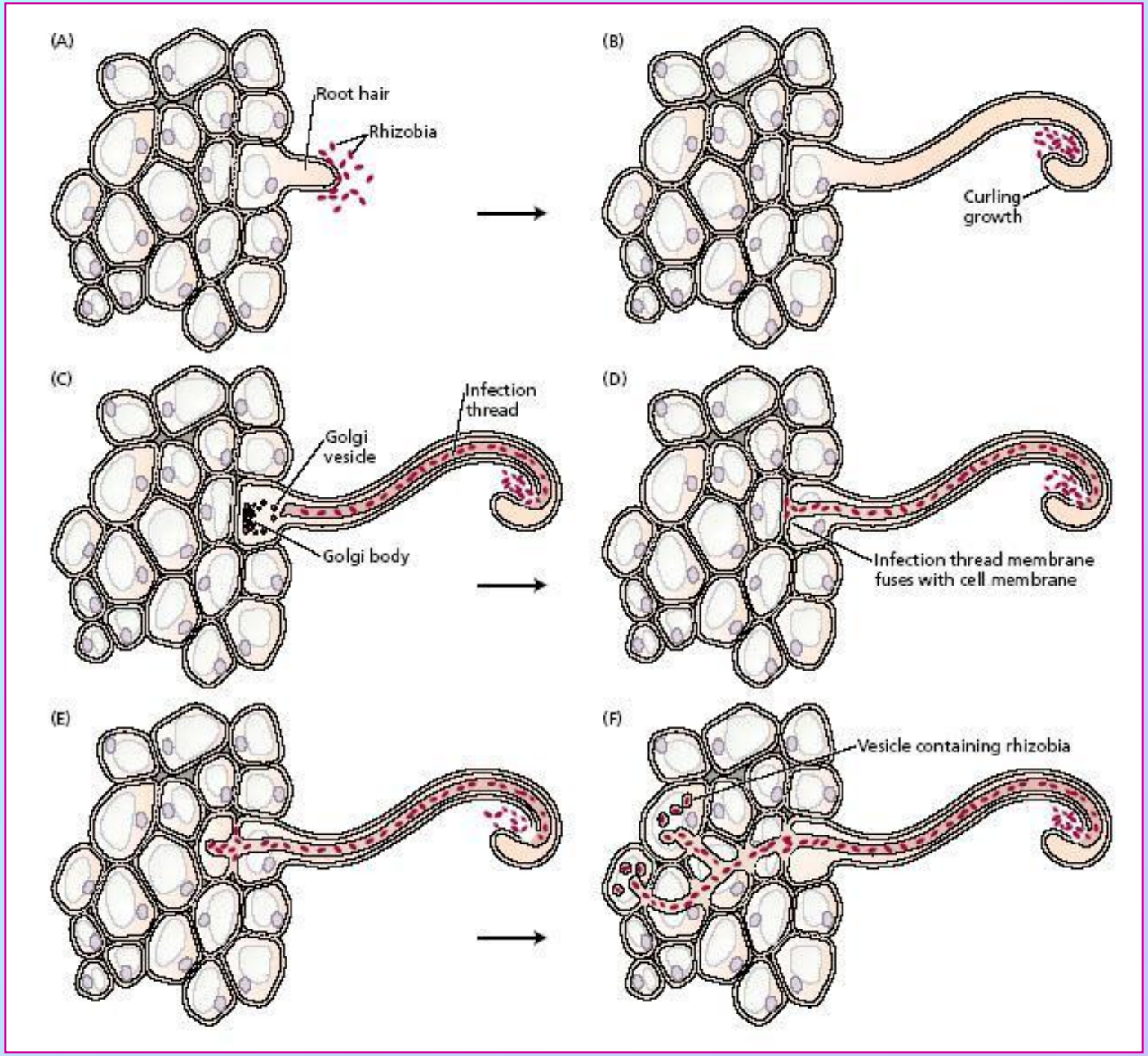
NodA – N-ацетилтрансфераза, присоединяет остатки ЖК

NodB - хитин-олигосахарид деацетилаза, убирает ацетильную группу от «крайнего» сахара

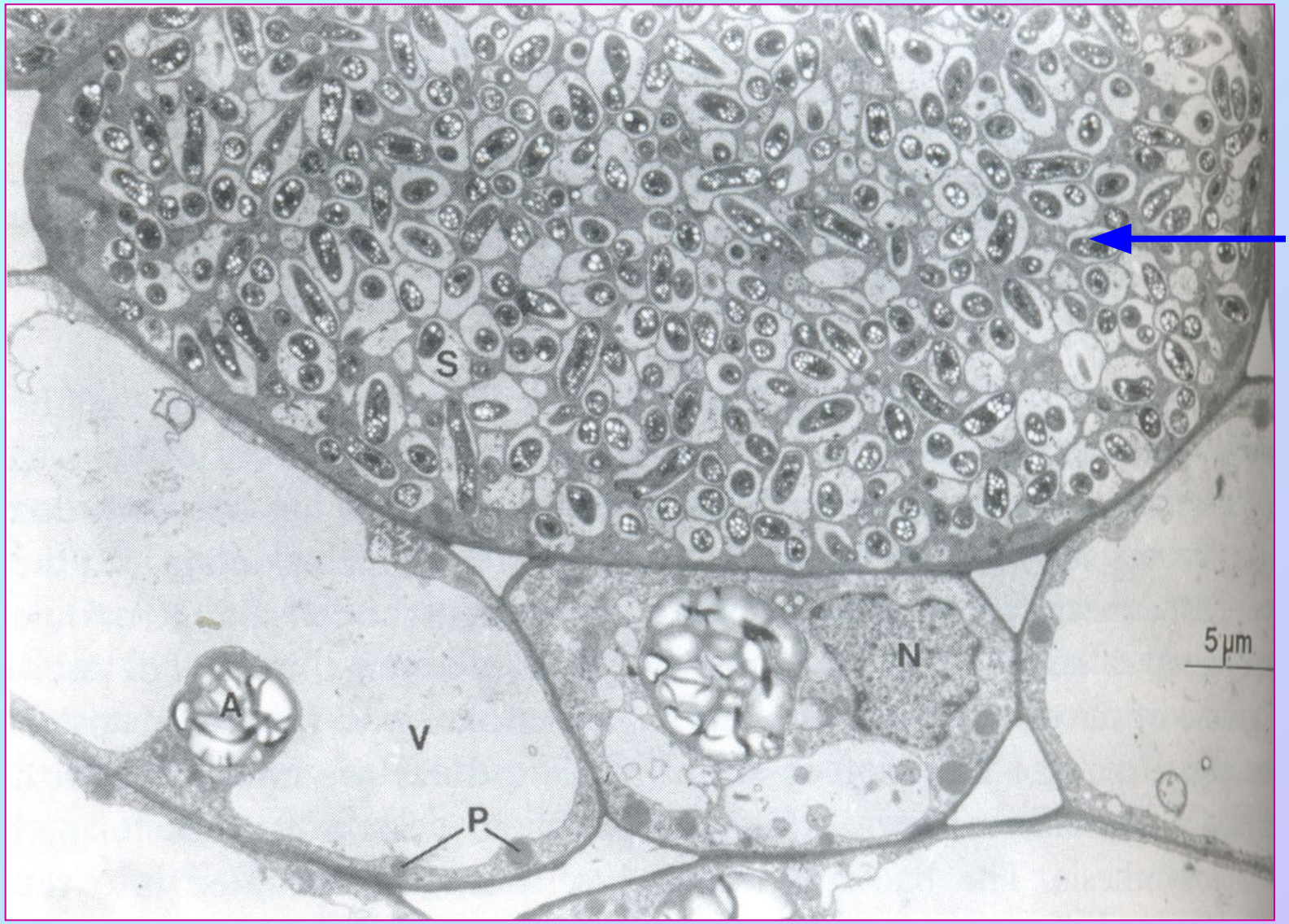
NodC – хитин-олигосахарид синтаза. Соединяет N-ацетил-О-глюкозаминные мономеры.

NodE, NodF, NodL и др. определяют специфичность nod-фактора – длину и насыщенность остатка ЖК (NodE, NodF), добавление специфичных групп.

Формирование бактероидов



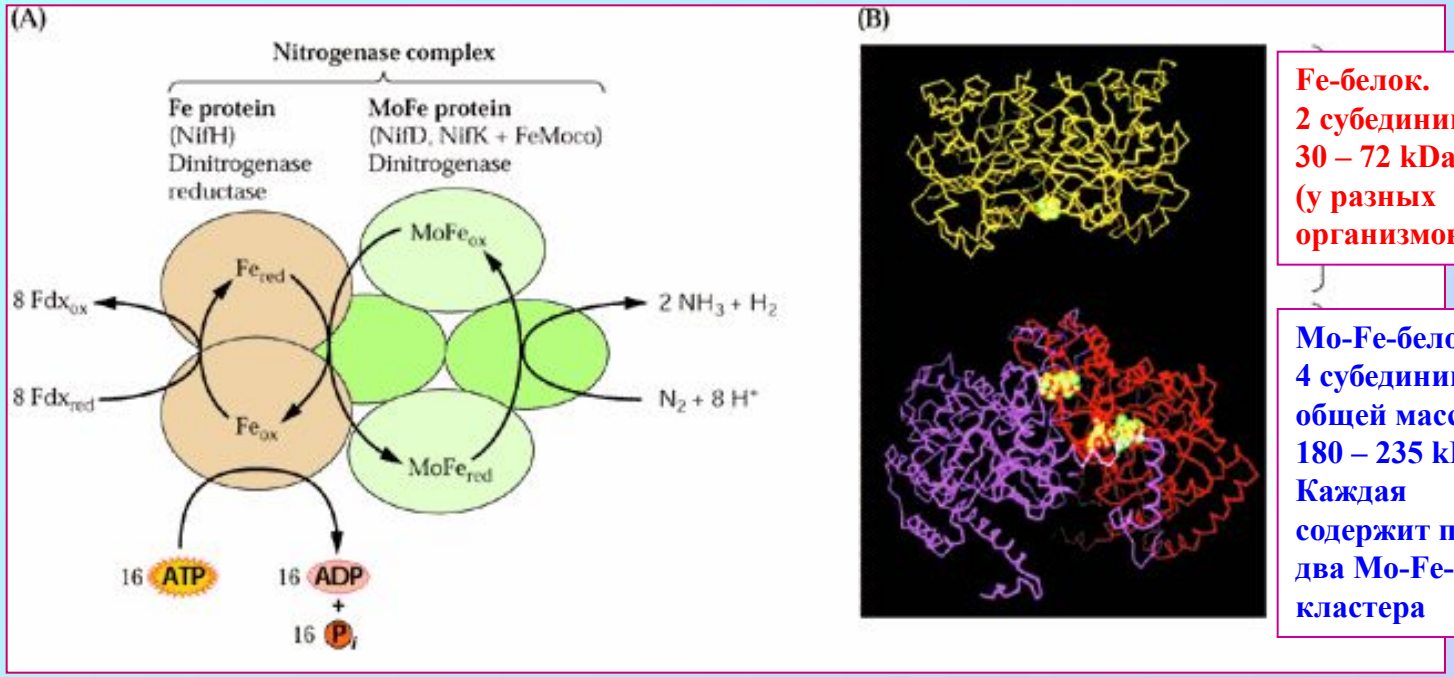
Электронная микрофотография клеток клубенька соевых бобов



Инфициро-ванная клетка с итактными симбиосомами содержащими один или два бактероида.

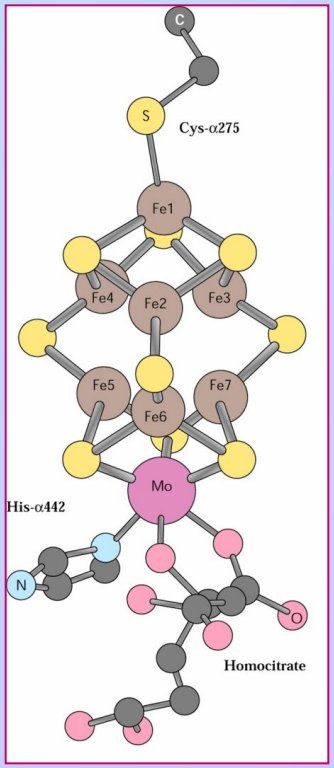
Неинфицированные клетки.
Отмечены ядро (N), вакуоль (V), амилопласты (A), пероксисомы (P)

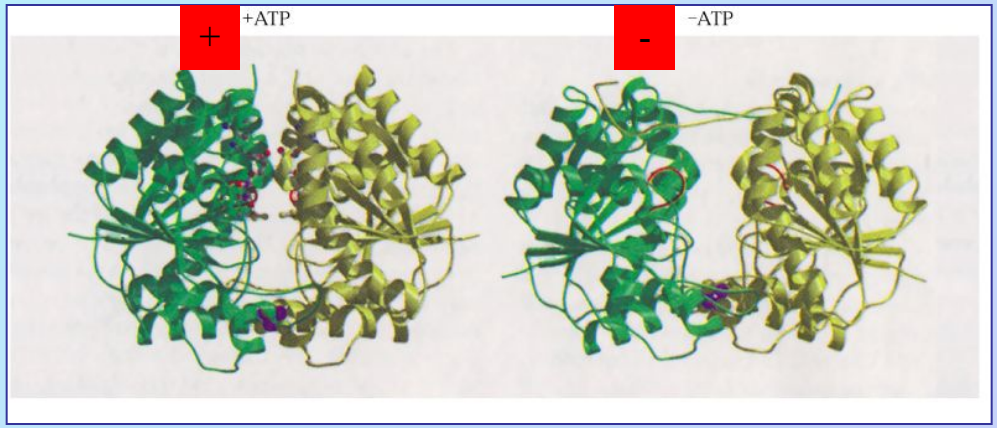
Структура нитрогеназы



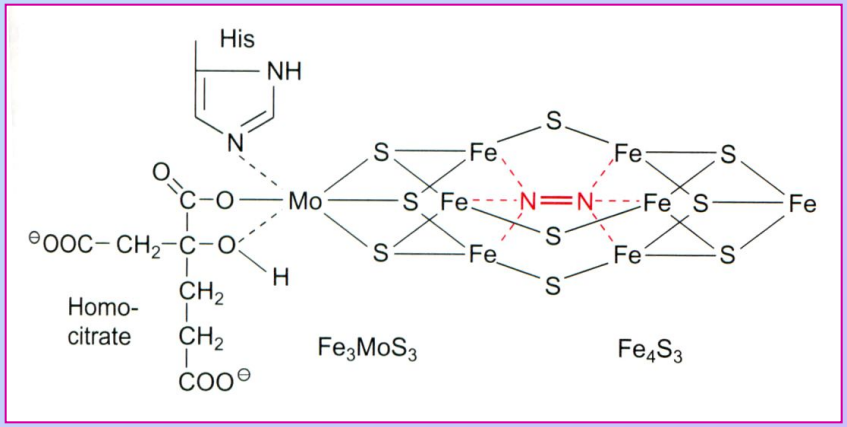
Fe-белок.
2 субединицы
30 – 72 kDa
(у разных организмов)

Mo-Fe-белок.
4 субединицы общей массой 180 – 235 kDa.
Каждая содержит по два Mo-Fe-S-кластера



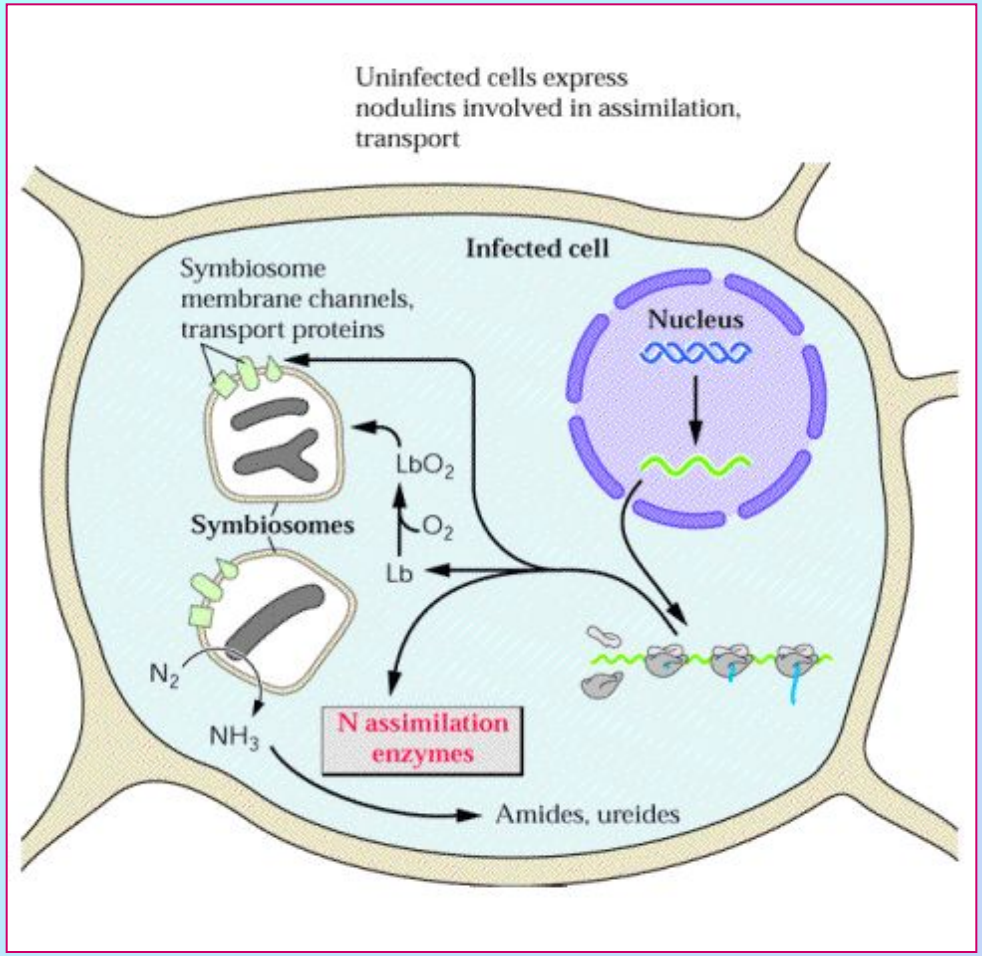


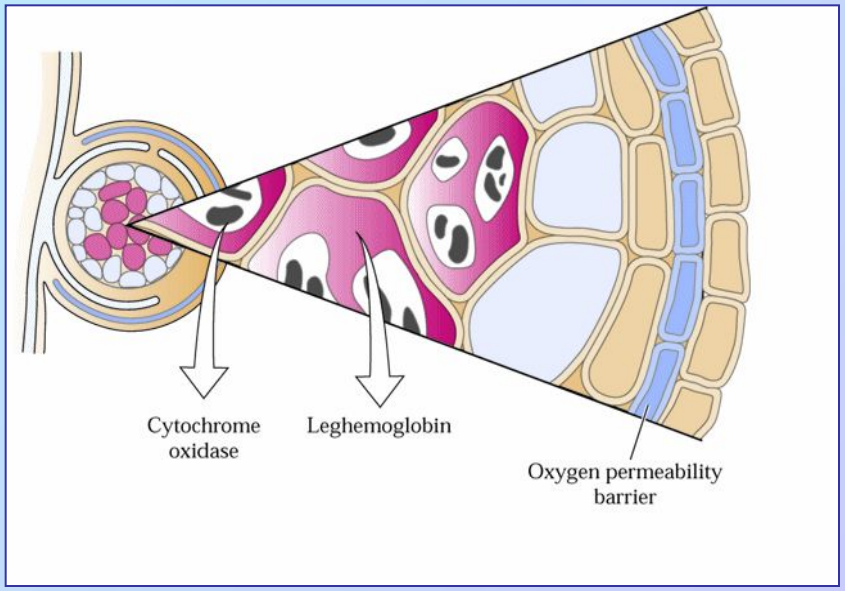
Еще одни Камикадзе… Fe-белок необратимо инактивируется O_2.
Время его полужизни 30 – 45 секунд.
Mo-Fe-белок – тоже. Но он «живет» около 10 минут…

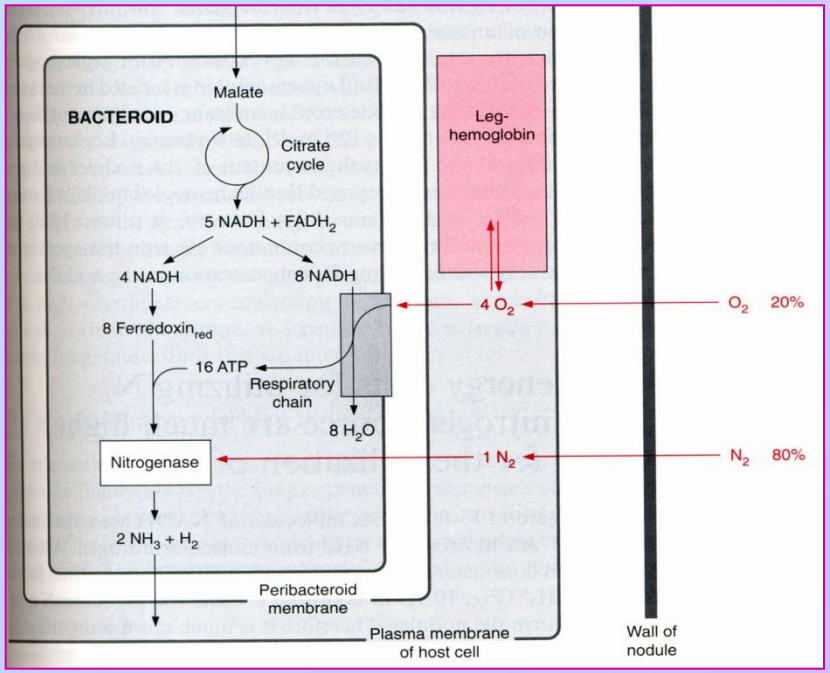


Структура Mo-Fe-S-активного центра.
Место связывания азота – предположительно…

В ядре клеток растения активируются гены, необходимые для симбиоза



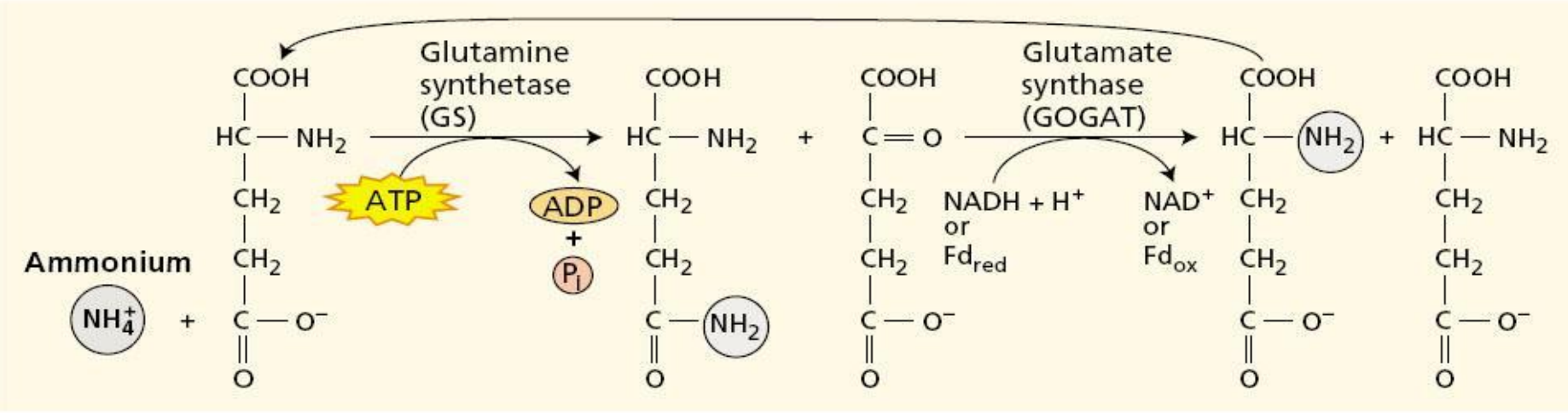




Легоглобин – белок синтезируется растением, гем – бактерией. K_mO_2 = 0,01μM, на порядок меньше чем у гемоглобина…

В бактероиде – в ЭТЦ специальная терминальная оксидаза с K_mO_2 = 0,007μM (!)

Включение азота в органические соединения. Система ГС – ГТС (ГОГАТ)



ГС: Мв ~ 330 kDa, Km (NH_4) = 3-5μM, 8 субъединиц, 2 тетрамера Mg^{2+} или Mn^{2+}-зависимая.

Две изоформы:

GS1 (цитозоль) гены *gln1*. Не регулируется светом и содержанием углеводов. Прорастающие семена, клетки сосудистых пучков, для внутриклеточного транспорта.

GS2 (пластиды). ген *gln2*. Регулируется светом и содержанием углеводов.

В корнях – образование амидов для локального потребления и транспорта,

В листьях – первичная ассимиляция, фотодыхание.

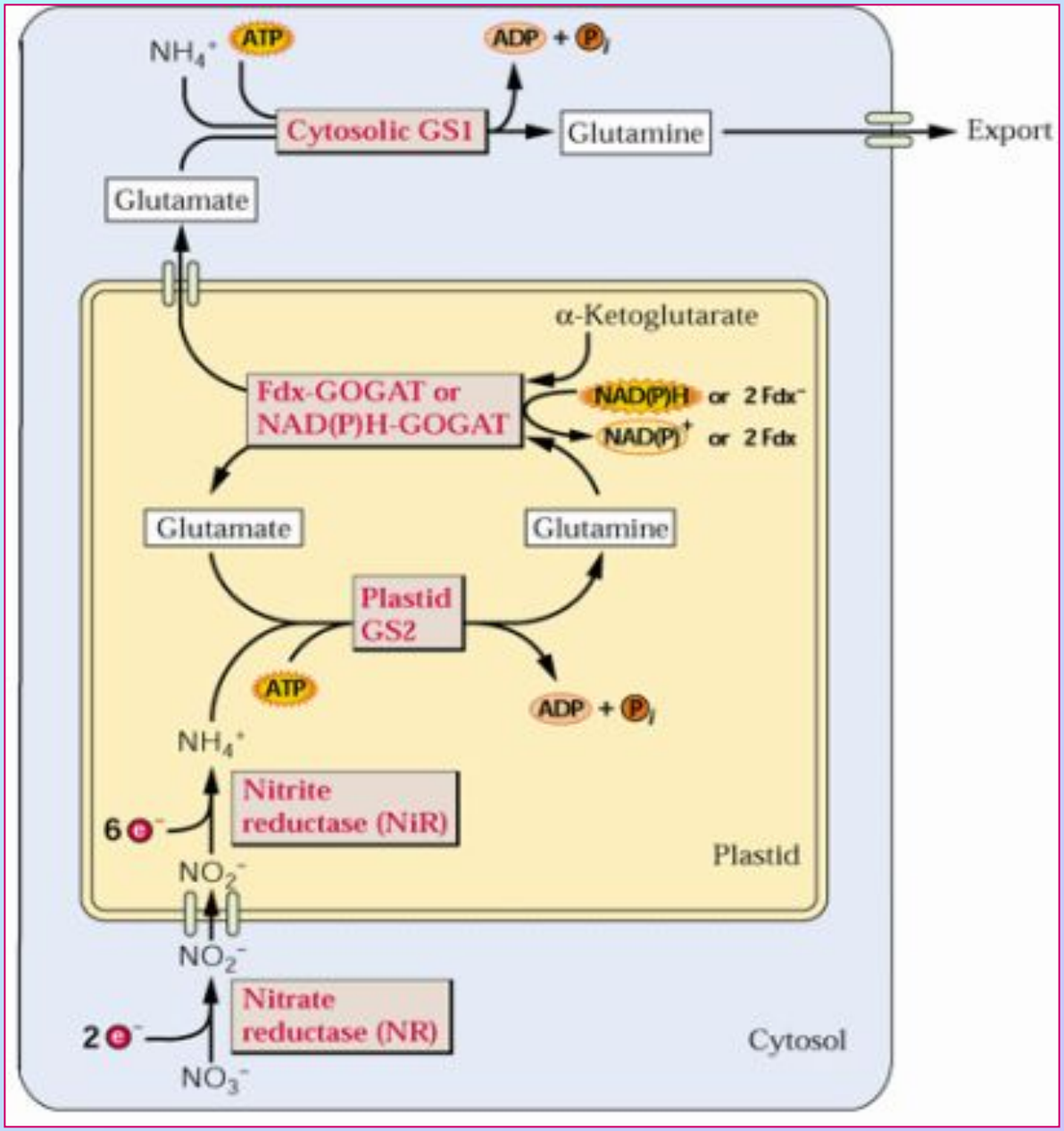
ГОГАТ: Мв ~ 150 kDa. Пластиды. Две изоформы:

Фд-ГОГАТ ***2 гена: glu1*** - ***в листьях***, в хлоропластах - для фотодыхания (реассимиляция NH_4^+)

glu2 - ***в листьях и корнях*** – для первичной ассимиляции NH_4^+

НАДН-ГОГАТ (растения и бактерии) – конститутивно. В пластидах гетеротрофных тканей: корни - ассимиляция NH_4^+, сосудистые пучки - ассимиляция глутамата из корней.

Различные изозимы работают в разных компартментах клетки



Вторая система: глутаматдегидрогеназа. Каковы ее функции?

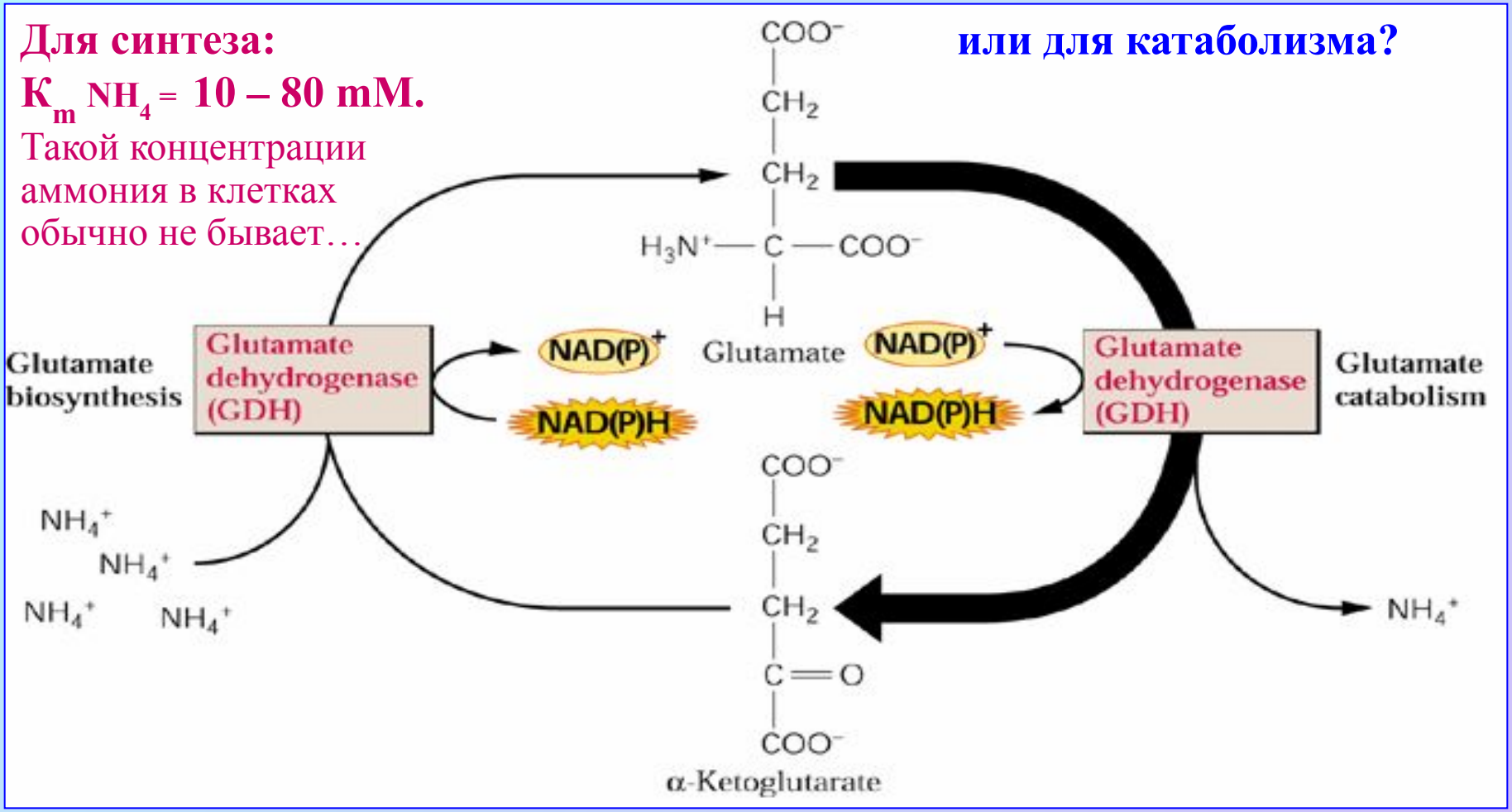
ГДГ: 2 формы - НАД-ГДГ (митохондрии) и НАДФ-ГДГ (пластиды). Гексамер. Состоит из двух типов субъединиц – GDH1 и GDH2. Если все субъединицы – GDH1- синтез глутамата, если GDH2 – распад. Если обе – работа в «обе стороны»

Для синтеза:

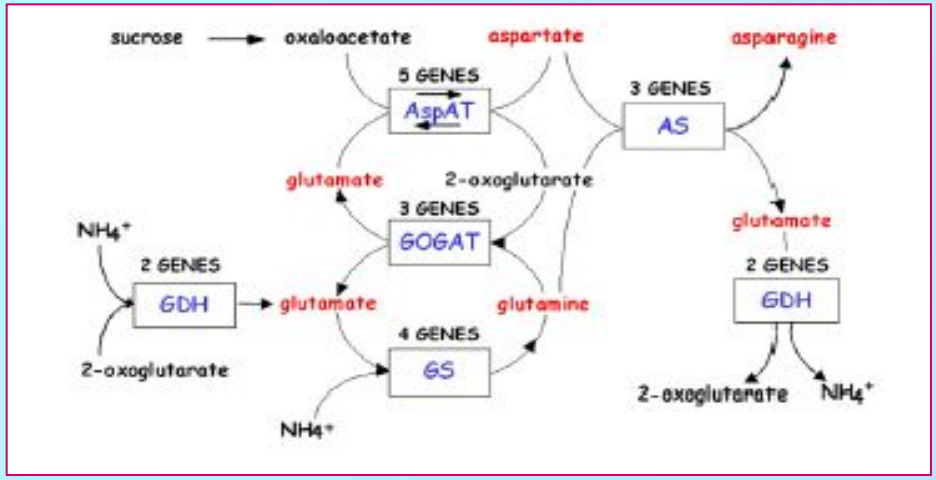
K_m NH_4 = 10 – 80 mM.

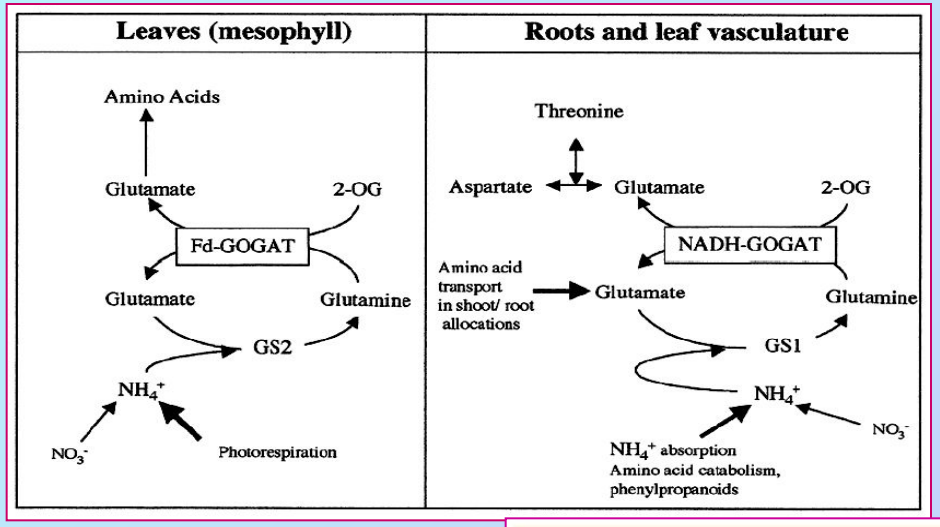
Такой концентрации аммония в клетках обычно не бывает…

или для катаболизма?



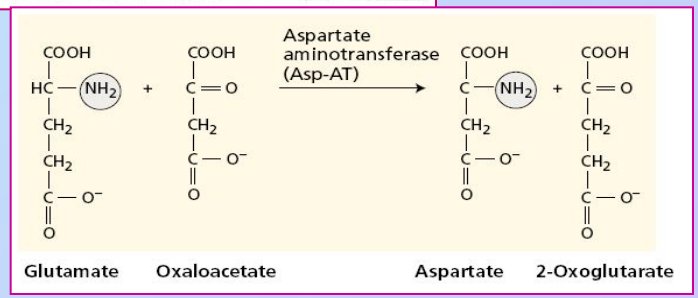
Итак, включение азота в органические соединения

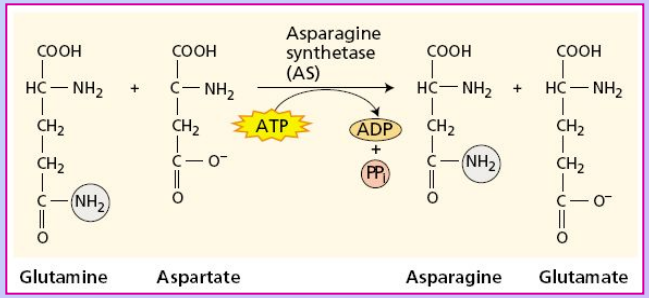




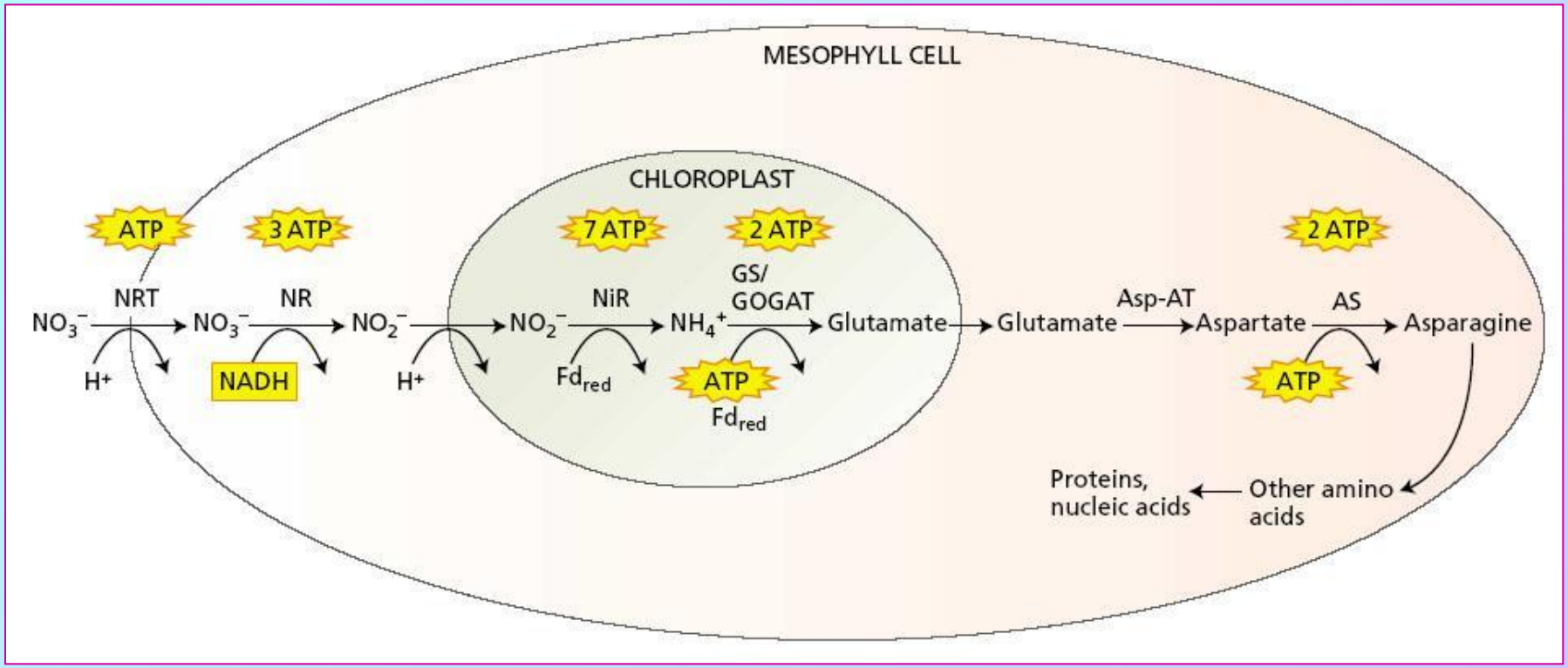
Amino Acid	Enzyme	Gene Name	Gene ID#	Organelle
Glutamine	GS glutamine synthetase	*GLN 2*	At5g35630	Chloroplastic
		GLN 1.1	At5g37600	Cytosolic
		GLN 1.2	At1g66200	Cytosolic
		GLN 1.3	At3g17820	Cytosolic
Glutamate	Fd-GOGAT glutamate synthase	*GLU 1*	At5g04140	Chloroplastic
		GLU 2	At2g41220	Chloroplastic
	NADH-GOGAT glutamate synthase	*GLT 1*	At5g53460	Chloroplastic
	GDH glutamate dehydrogenase	*GDH 1*	At5g18170	Mitochondrial
		GDH 2	At5g07440	Mitochondrial
Aspartate	AAT aspartate asminotransferase	*ASP 1*	At2g30970	Mitochondrial
		ASP 2	At5g19550	Cytosolic
		ASP 3	At5g11520	Peroxisomal
		ASP 4	At1g62800	Cytosolic
		ASP 5	At4g31990	Chloroplastic
Asparagine	ASN asparagine synthetase	*ASN 1*	At3g47340	Cytosolic
		ASN 2	At5g65010	Cytosolic
		ASN 3	At5g10240	Cytosolic

Аспарагин – амид с высоким удельным содержанием азота: на четыре атома С – два атома N…





«Добыча» азота растением – очень дорогой процесс…

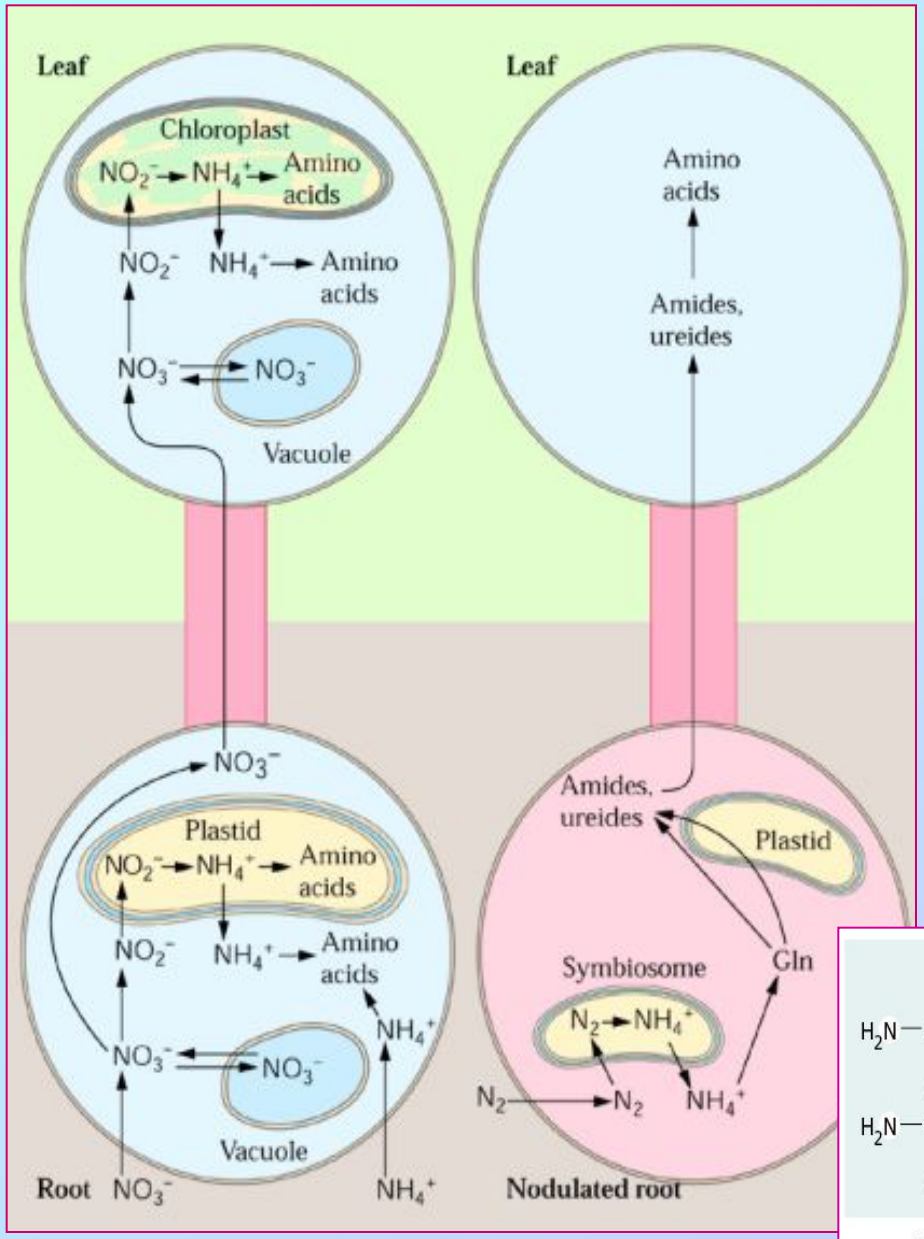


На один атом ассимилированного азота идет минимум 12 АТФ. (атмосферного – 16 АТФ). Не считая НАД(Ф)Н и ферредоксинов..
На этот процесс растения тратят до четверти своего энергетического запаса, хотя азот обычно составляет не более 2% от сухой массы растения…

Основная часть энергии используется в хлоропластах за счет фотосинтеза.

Фотоассимиляция – процесс сопряжения ассимиляции элементов питания (азот, сера) с ЭТЦ фотосинтеза. Фотоассимиляция азота конкурирует с ассимиляцией углекислоты (циклом Кальвина). В то же время при недостатке CO_2 это еще один вариант защиты фотосинтетического аппарата от перевосстановления…

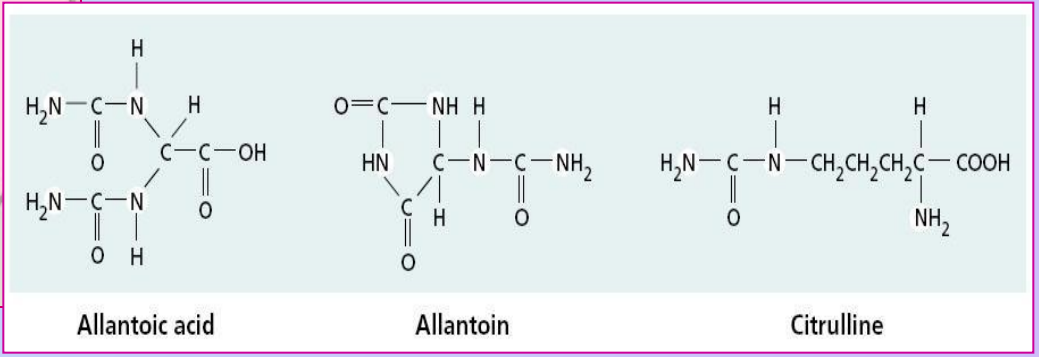
Транспорт азота осуществляется различными соединениями



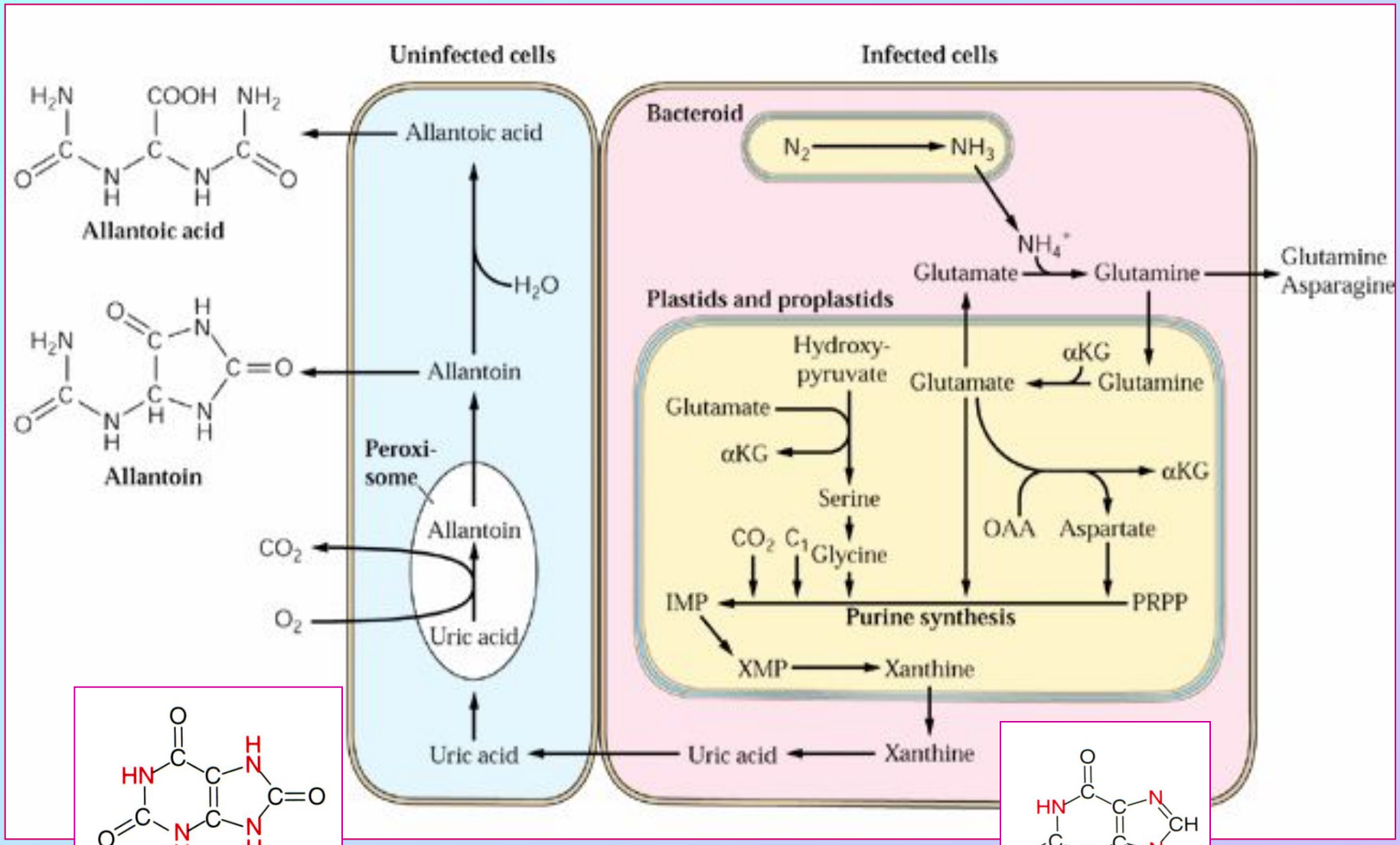
Только у травянистых растений транспорт азота может осуществляться в виде NO_3^-.
В других случаях:

1. Аминокислоты (глутаминовая и аспарагиновая кислоты и их амиды).
2. Небелковые аминокислоты:
цитруллин (например, береза)
азетидин-2-карбоновая к-та (лилейные)
3. Продукты окисления мочевой кислоты (уреиды):
алантоин (бурачниковые),
алантоиновая кислота (клен)

При симбиотической азотфиксации – амиды (аспарагин и глутамин) и уреиды. Причем, у растений умеренных широт (горох, клевер, кормовые бобы, чечевица) – амиды, у тропических (соя, фасоль, арахис) уреиды.



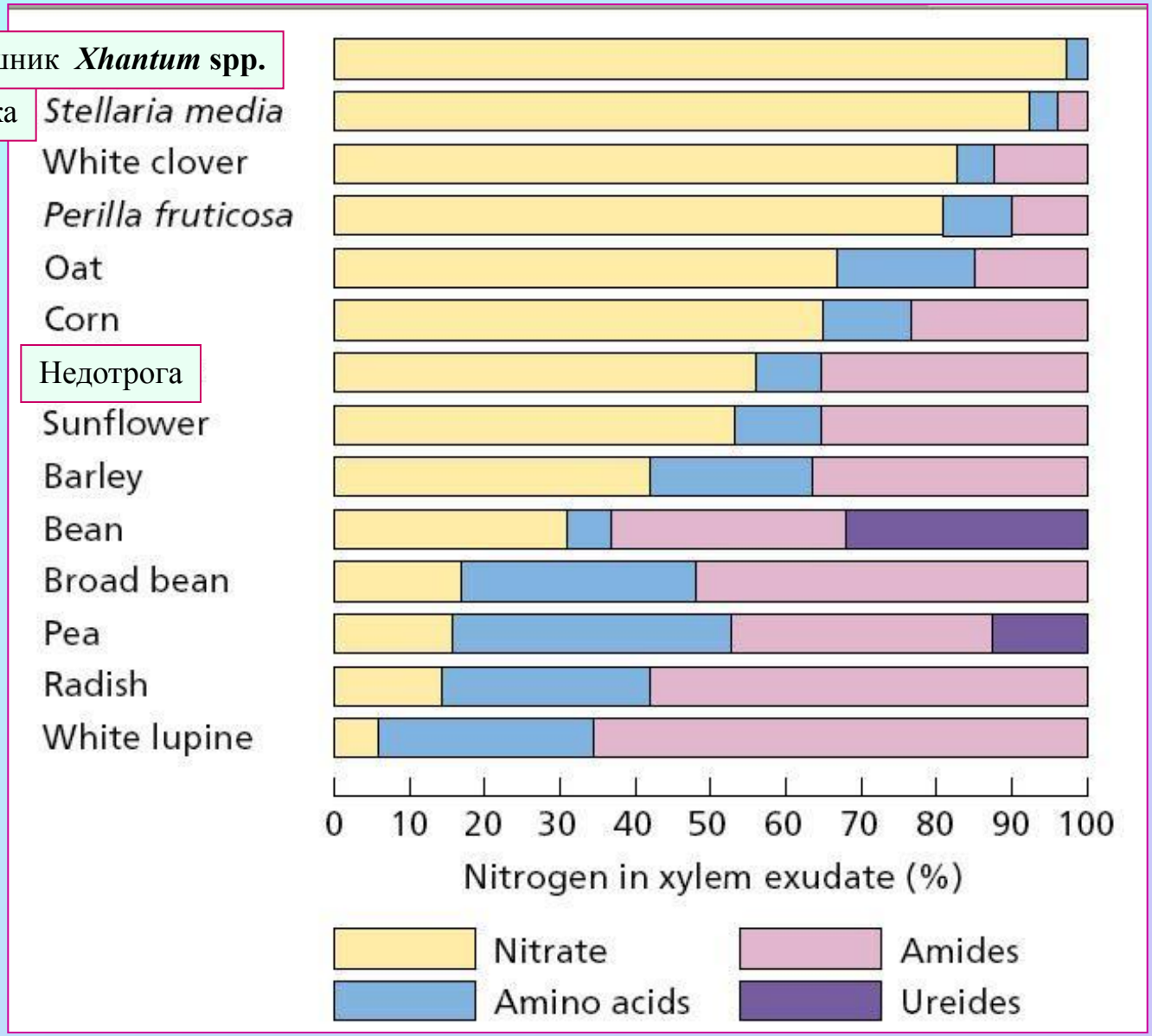
Включение азота в органические соединения при азотфиксации



Uric acid

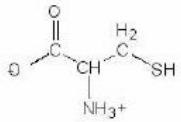
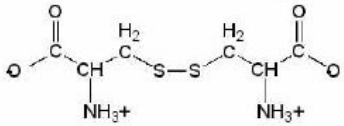
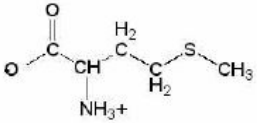
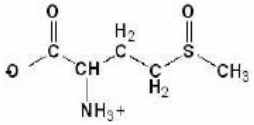
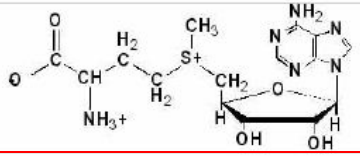
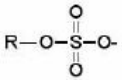
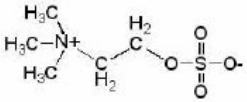
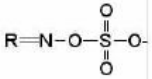
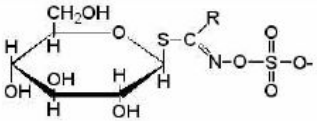
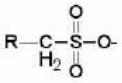
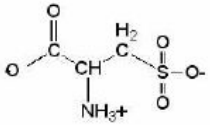
Xanthine

Относительное содержание нитратов и других азотсодержащих соединений в ксилемном экссудате.



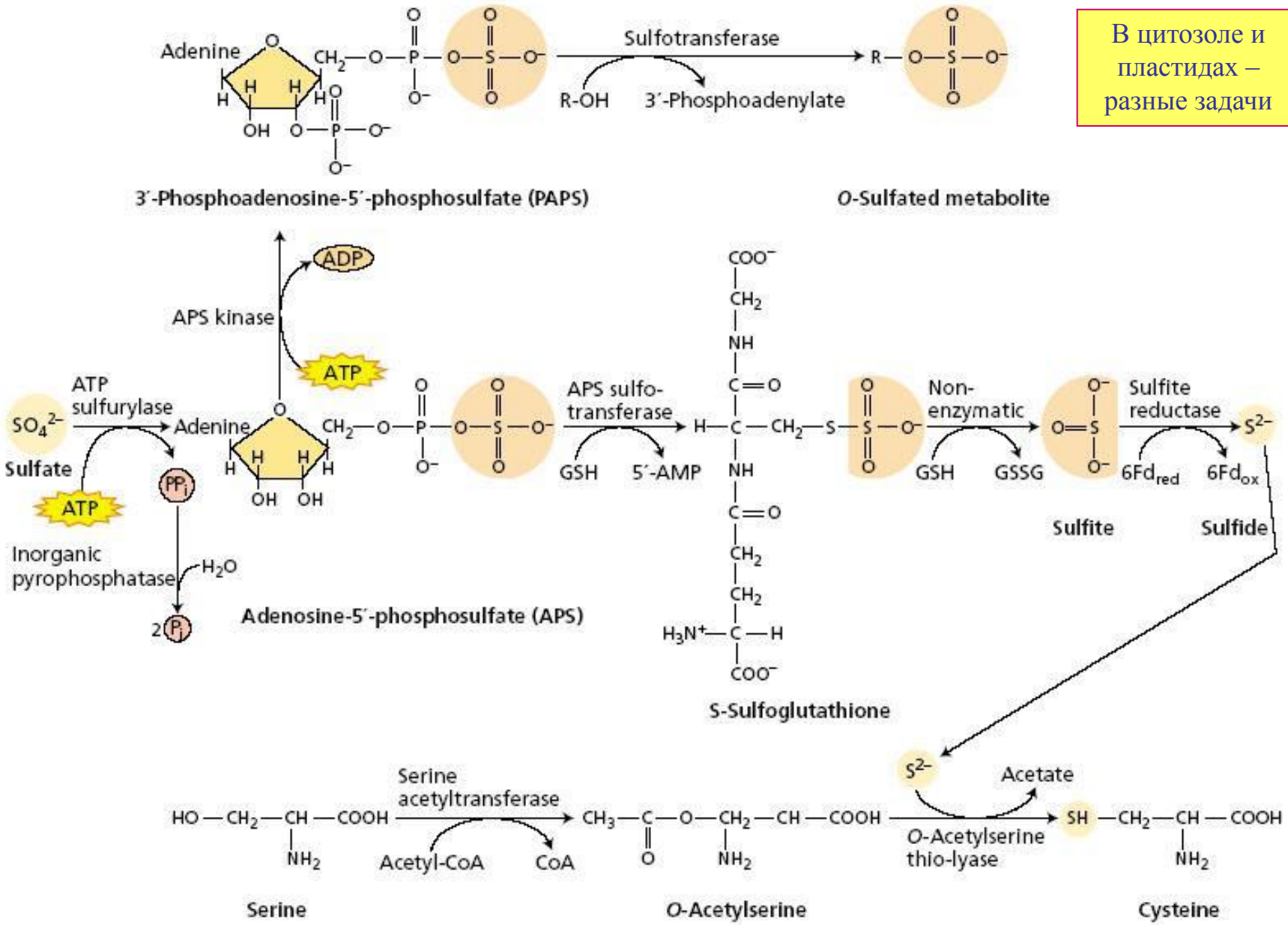
Сера, в отличие от азота, «работает» в разных степенях окисления

TABLE 2. EXAMPLES OF ORGANIC SULFUR COMPOUNDS IN PLANTS

Form of Sulfur	General Structure	Example	Structure
Thiols	RSH	**cysteine** (others-coenzyme A, reduced glutathione, protein thiols)	
Disulfide	RSSR	**cystine** (others- oxidized glutathione, protein disulfides)	
Thioethers	R_1SR_2	**methionine** (others- biotin, thiamine pyrophosphate)	
Sulfoxides	R_1SOR_2	**methionine sulfoxide** (others- allicin the onion flavor compound)	
Methylsulfonium	$(H_3C)S^+(R)_2$	***S*-adenosylmethionine** (others- dimethyl-sulfoniopropionate, *S*-methylmethionine)	
Sulfate Esters		**choline-*O*-sulfate** (others- sulfated brassinosteroids)	
Sulfamates		**glucosinolate-** flavor compound of Brassica	
Sulfonic Acids		**cysteic acid** (others- sulfoquinovosyl diacylglycerol)	

Метаболизм серы

В цитозоле и пластидах – разные задачи



Восстановление сульфатов. Основные ферменты.

1. АФС-сурфурилаза: $SO_4^{2-} + ATP = APS + PP_i$ **Реакция термодинамически не выгодна..**
Две изоформы. Основная – пластидная (85 – 90% всей активности),
Минорная – цитозольная. Татрамеры, каждая субъединица по 50 kDa. K_m **0,04 μM (!)**

2. АФС–сульфотрансфераза = АФС-редуктаза.
Тиолзависимая оксидо-редуктаза с редуктазным доменом, гомологичным ФАФС-редуктазам бактерий и глютаредоксинным доменом на С-конце

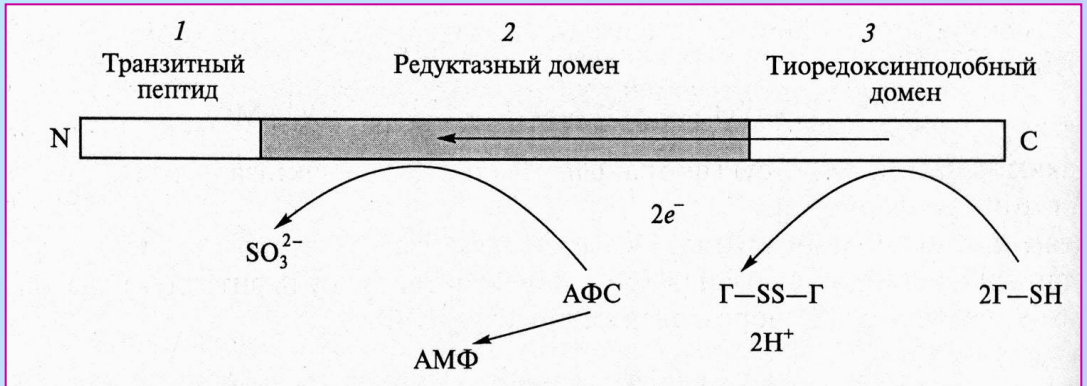
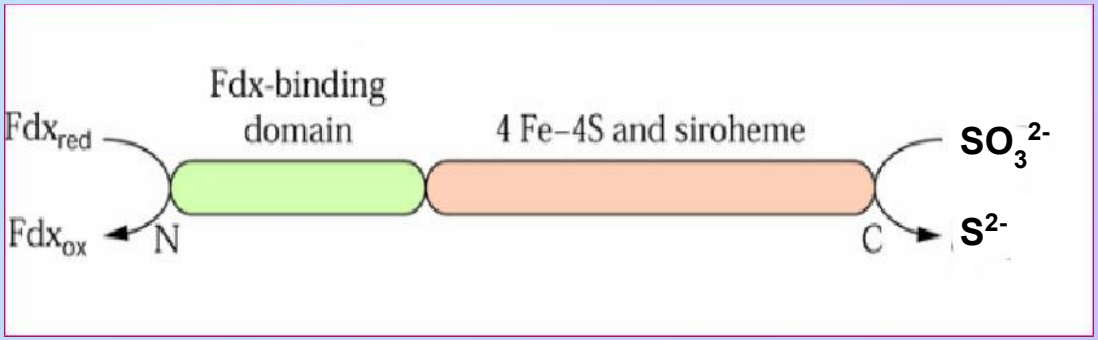


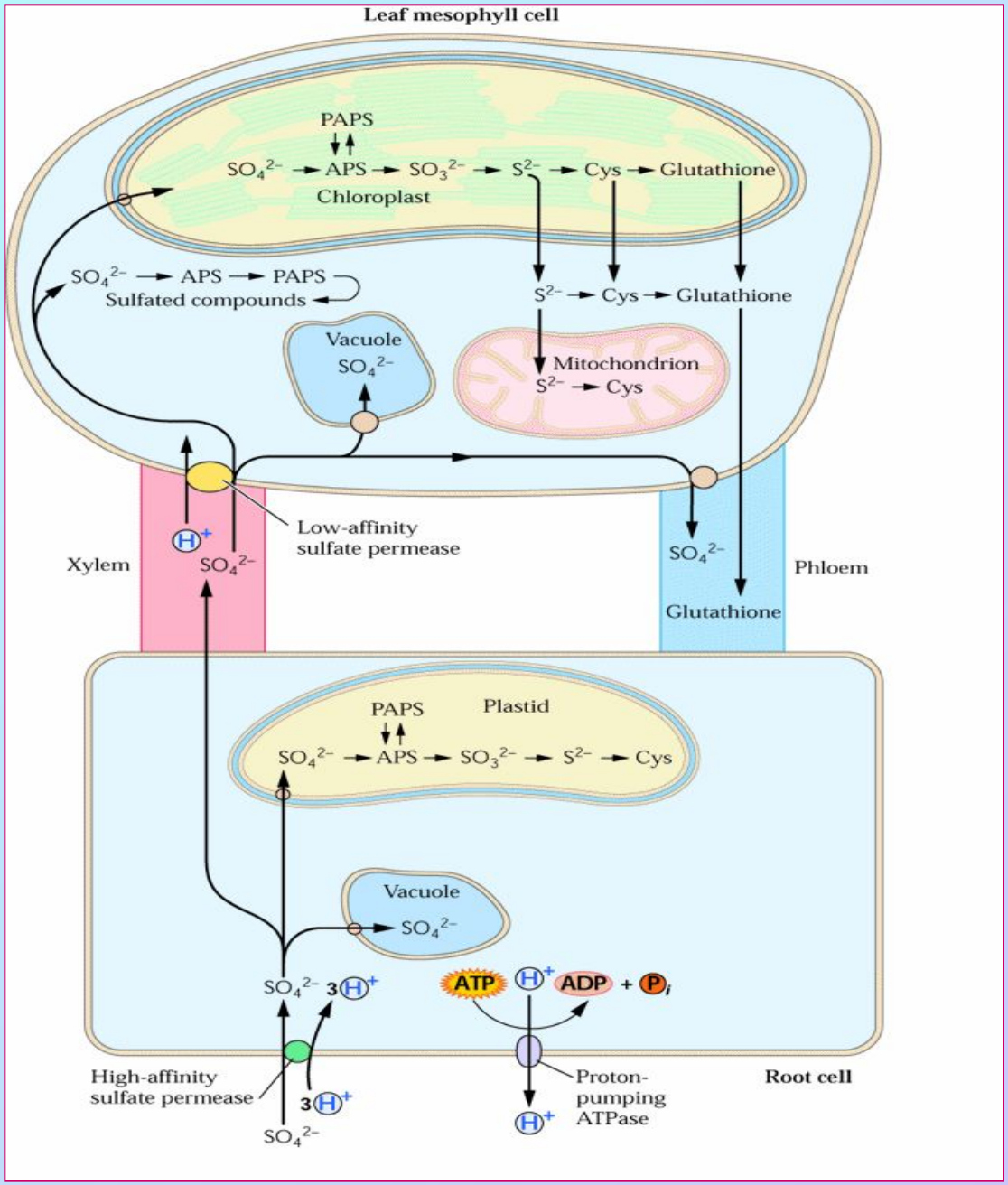
Рис. 6.50. Схема строения и работы АФС-редуктазы.

3. Сульфитредуктаза.
Весьма похожа на нитритредуктазу (но нет FAD). Гемопротеин, состоит из двух или четырех субъединиц по 64–71 kDa. Каждая субъединица имеет сирогем и 4Fe-4S-кластер.
K_m SO_3^{2-} **= 10 μM**



Восстановление серы – тоже весьма «дорогой» процесс. Поэтому как правило проходит в листьях и использует продукты фотосинтеза - фотоассимиляция…

Обмен серы в растении



Поглощение ионов корнем

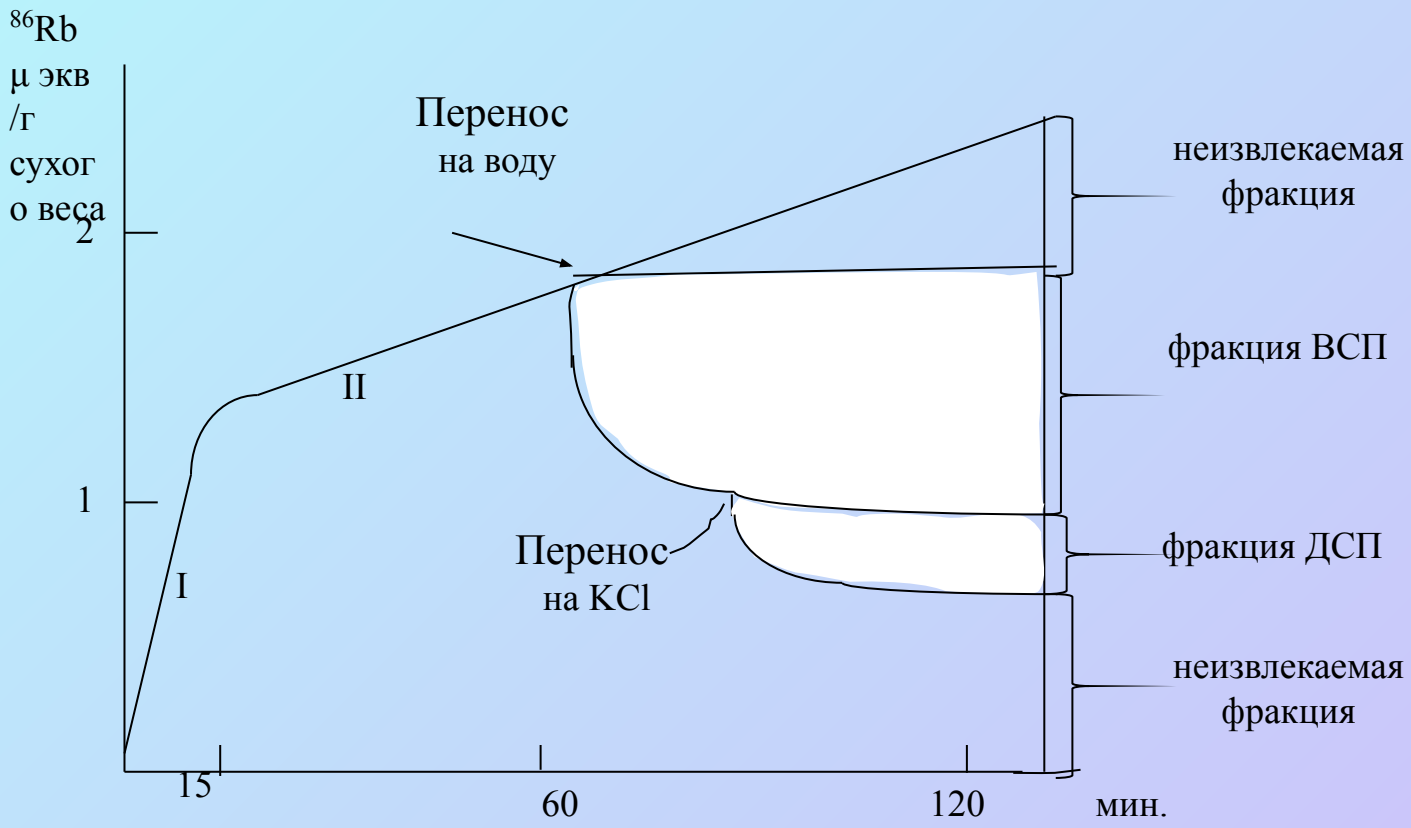
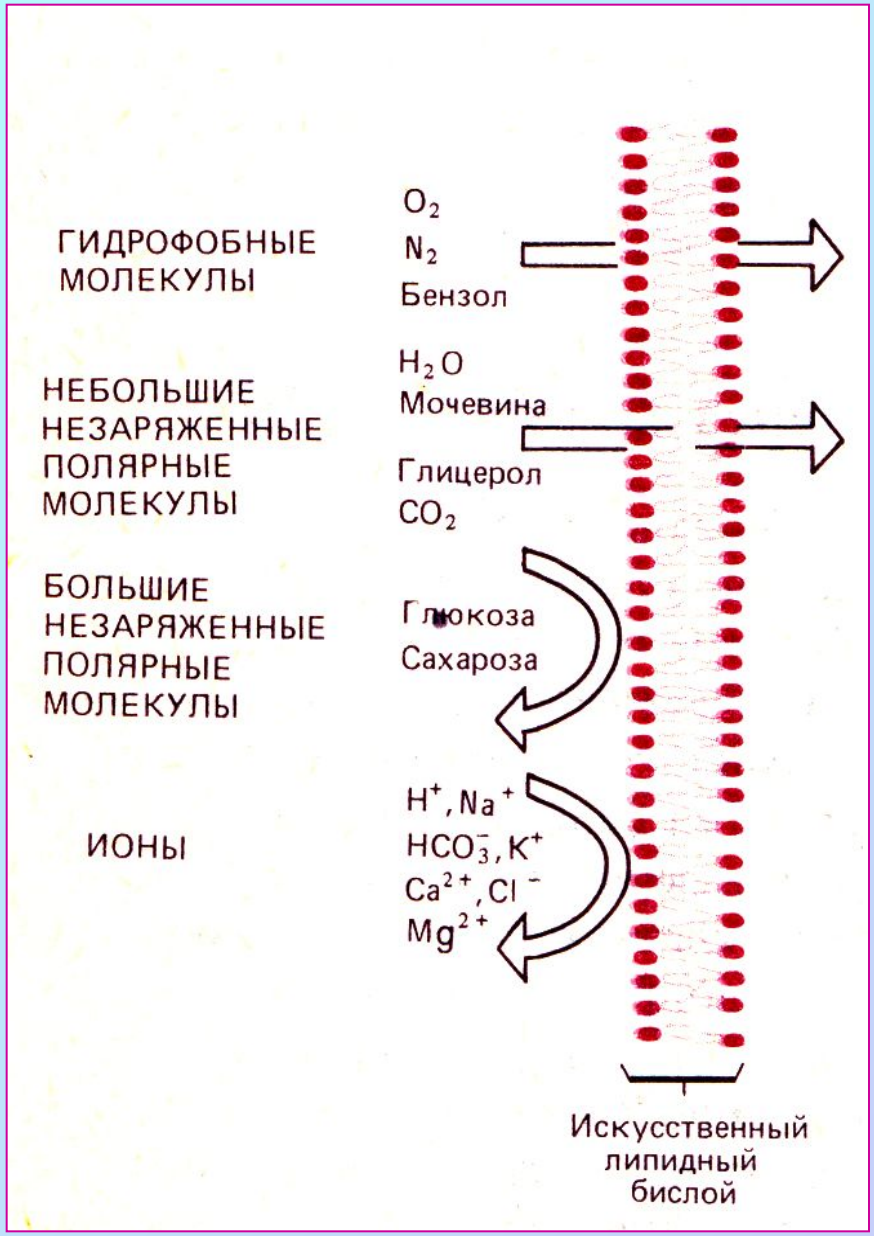
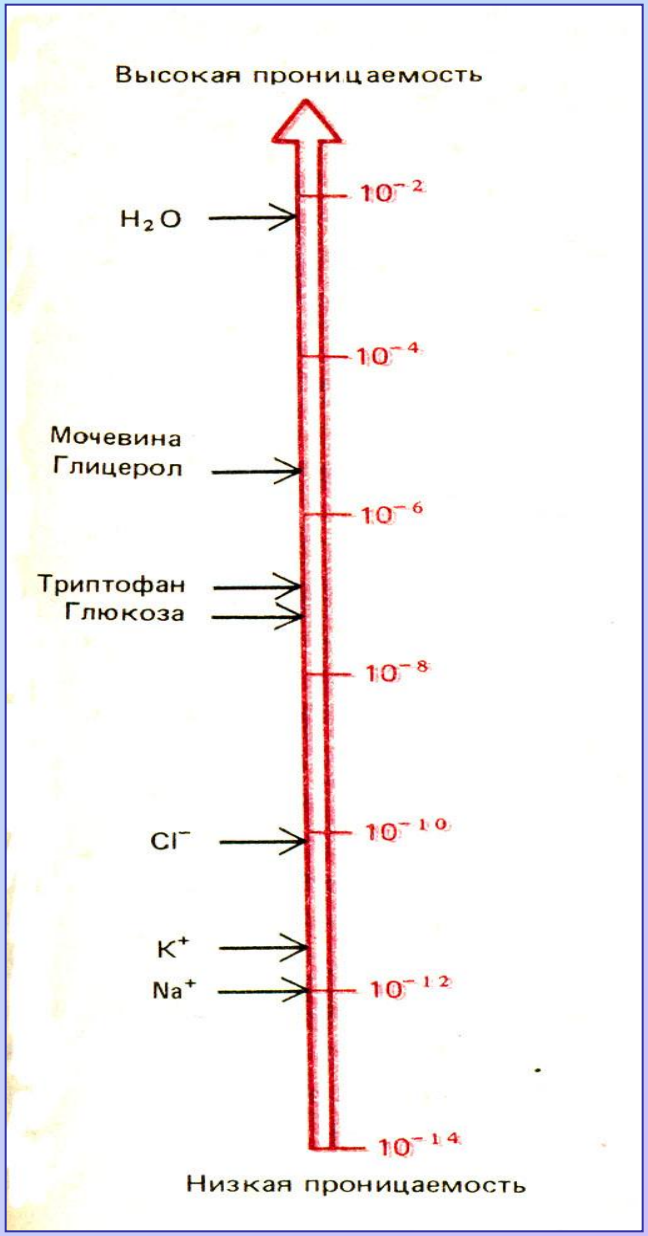


Рис. VI.**10**. Поглощение K^+ (использован его аналог $^{86}Rb^+$) и его выход из свободного пространства корней кукурузы (по Sutcliffe a. Baker, 1974 из Baker a. Hall, 1988). ВСП – водное свободное пространство; ДСП – доннановское свободное пространство.

Проницаемость биологических мембран





Поступление в клетку.
Перенос через плазмалемму.

1. **Электрофизиологический подход**
2. **Кинетический подход**
3. **Молекулярно биологический подход**

Электрофизиологический подход

Потенциал Нернста может быть использован, чтобы установить тип транспорта: активный или пассивный?

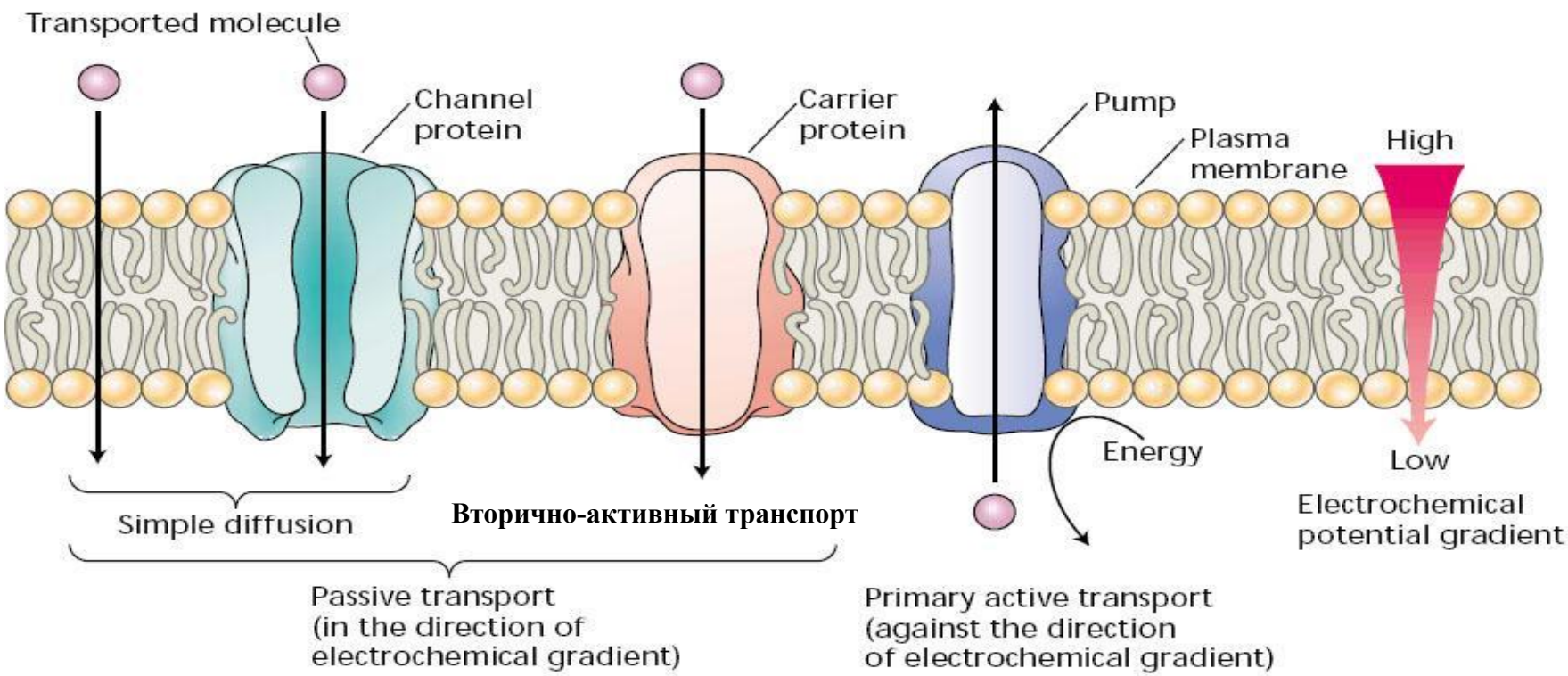
$$\mu = \mu_0 + RT\ln a + zFE$$

μ - электрохимический потенциал

Электрофизиологический подход позволяет предсказать тип транспорта.

- **Пассивный транспорт – движение иона через мембрану в сторону его меньшего электрохимического потенциала.**
- **Активный транспорт - перемещение иона через мембрану в сторону его более высокого электрохимического потенциала.**

Варианты транспортных процессов через мембрану



Три класса мембранных транспортных белков: каналы, переносчики и насосы.

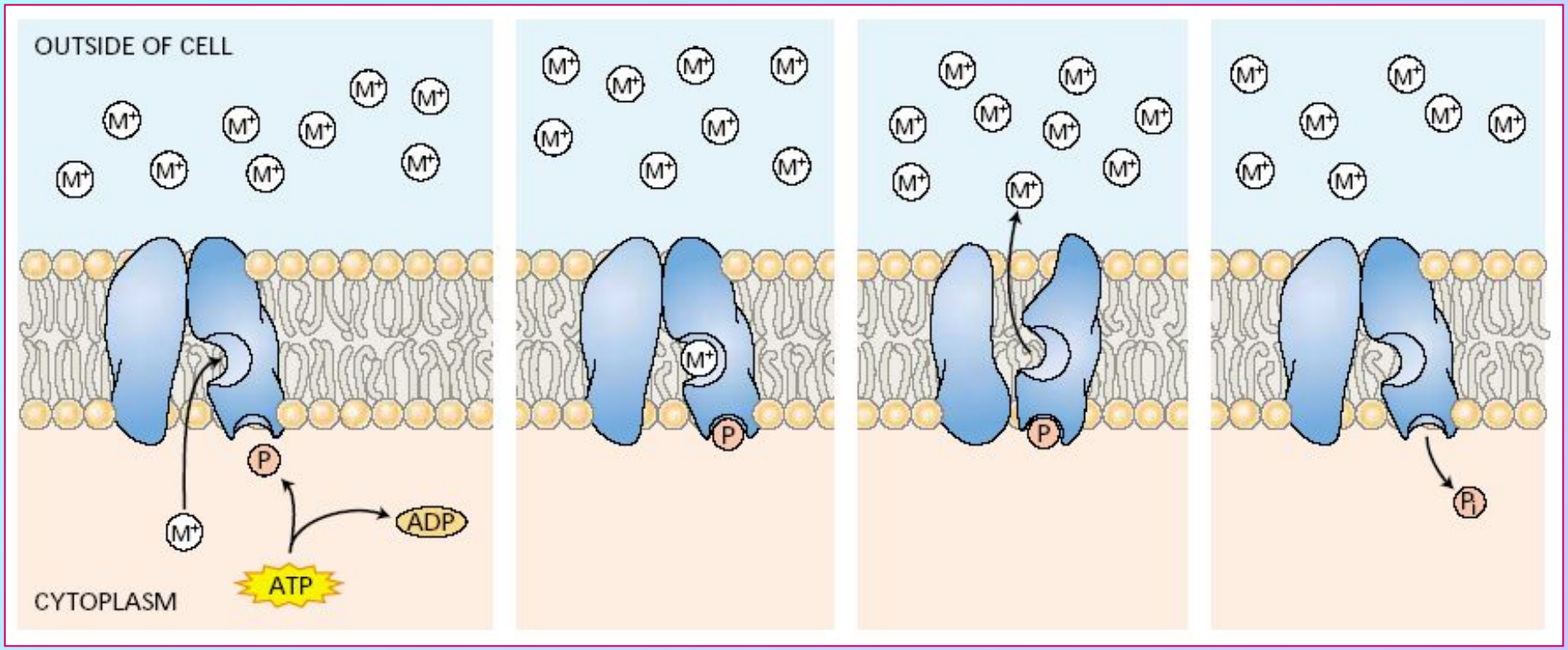
Каналы и переносчики осуществляют пассивный транспорт через мембрану за счет простой или «принудительной» («вторично-активный транспорт») диффузии соответственно по градиенту электрохимического потенциала.

Каналы работают как специфичные регулируемые (открыт – закрыт) мембранные поры.

Переносчики связывают транспортируемые молекулы на одной стороне мембраны и высвобождают на другой, при этом если в процессе участвует сопрягающий ион (протон), переносчики осуществляют «вторично активный» транспорт: $\Delta\mu H^+$ обеспечивает транспорт веществ против градиента их концентрации .

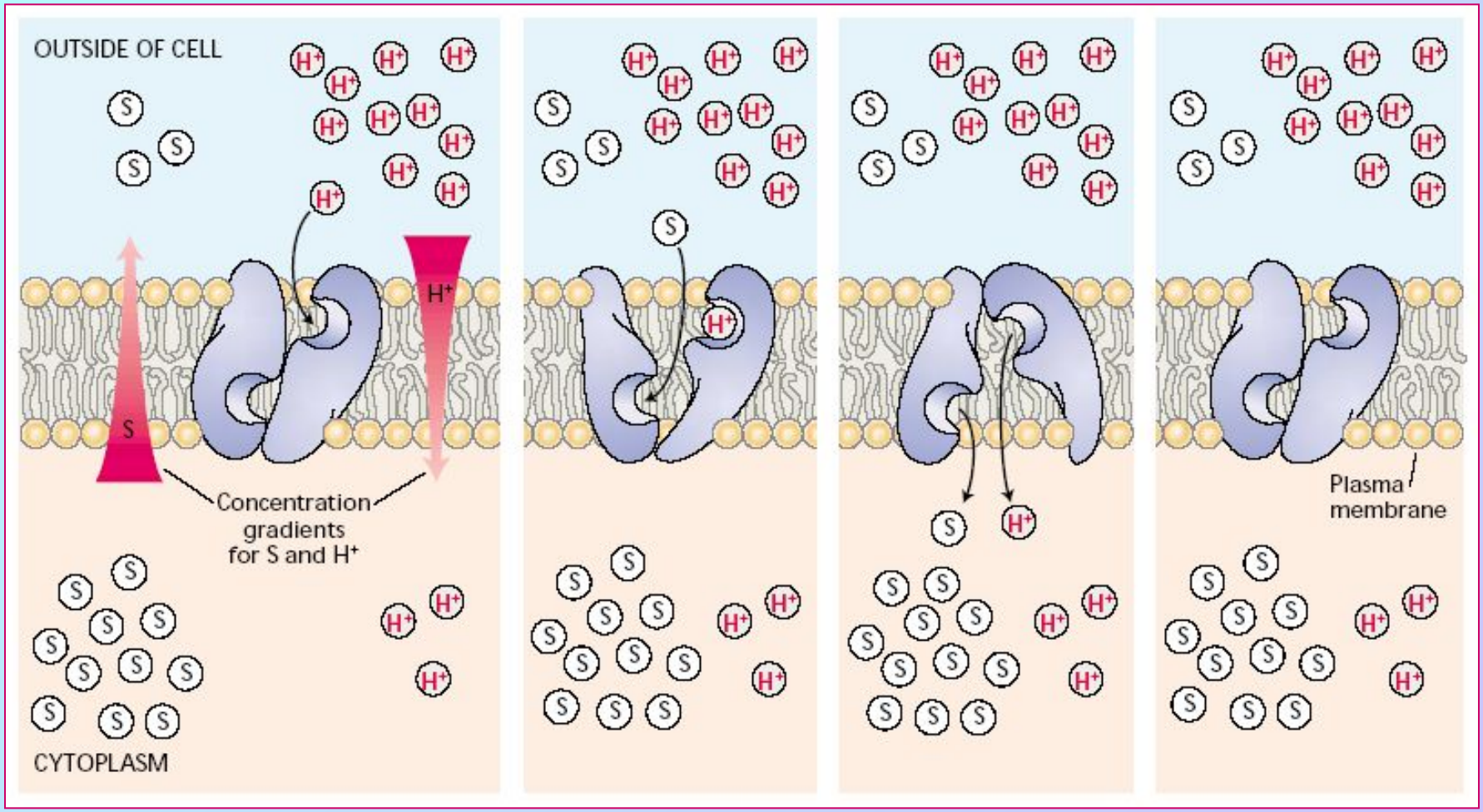
Насосы осуществляют первично-активный транспорт - они переносят ионы против градиента их концентрации используя для этого энергию гидролиза АТФ непосредственно.

Модель первично-активного транспорта.
Насосы (помпы) – используют для транспорта АТФ «напрямую»

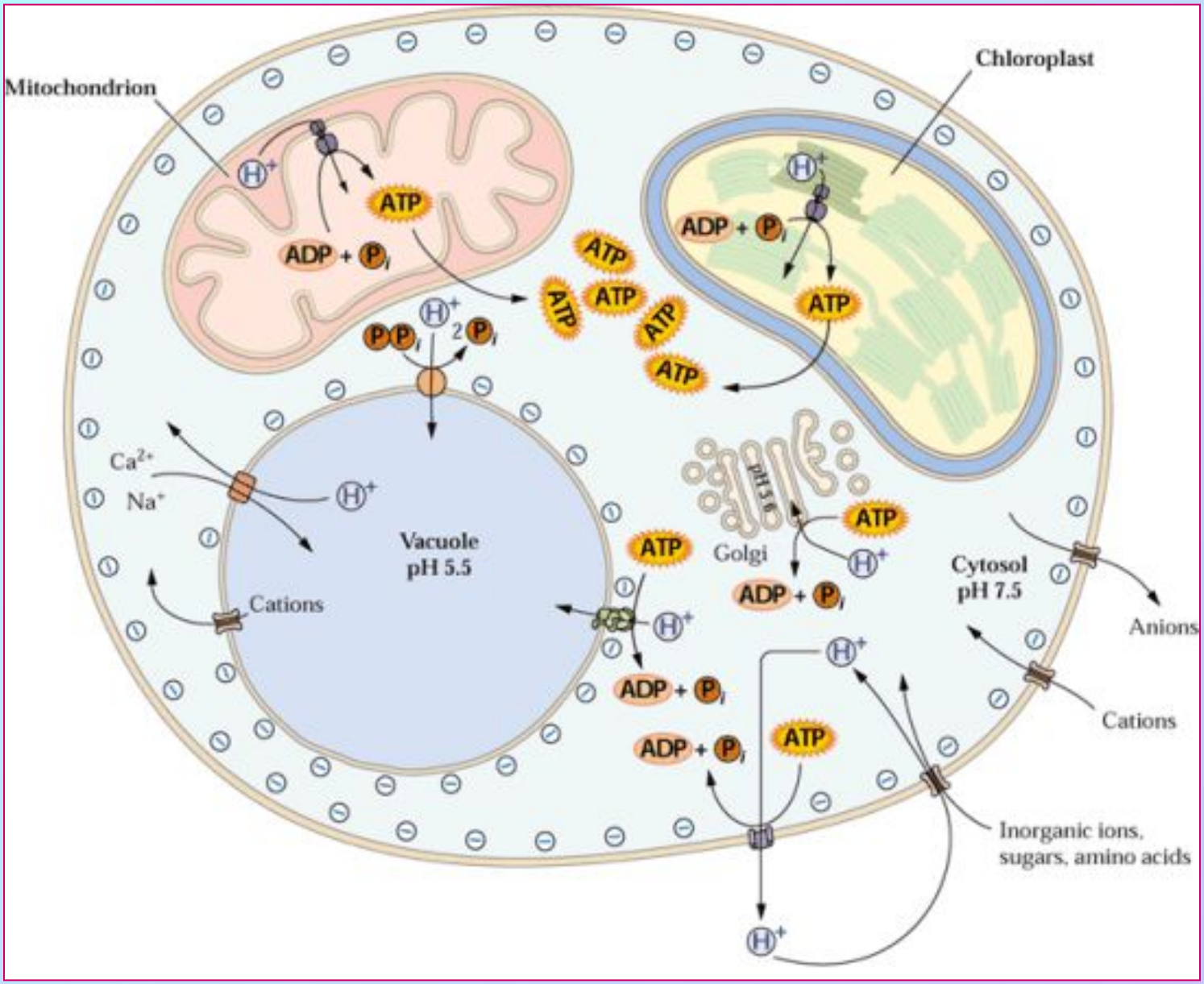


Модель вторично-активного транспорта.

Переносчики (транспортеры). Используют энергию протонного (или Na+) градиента



Принципиальная схема транспортных процессов растительной клетки

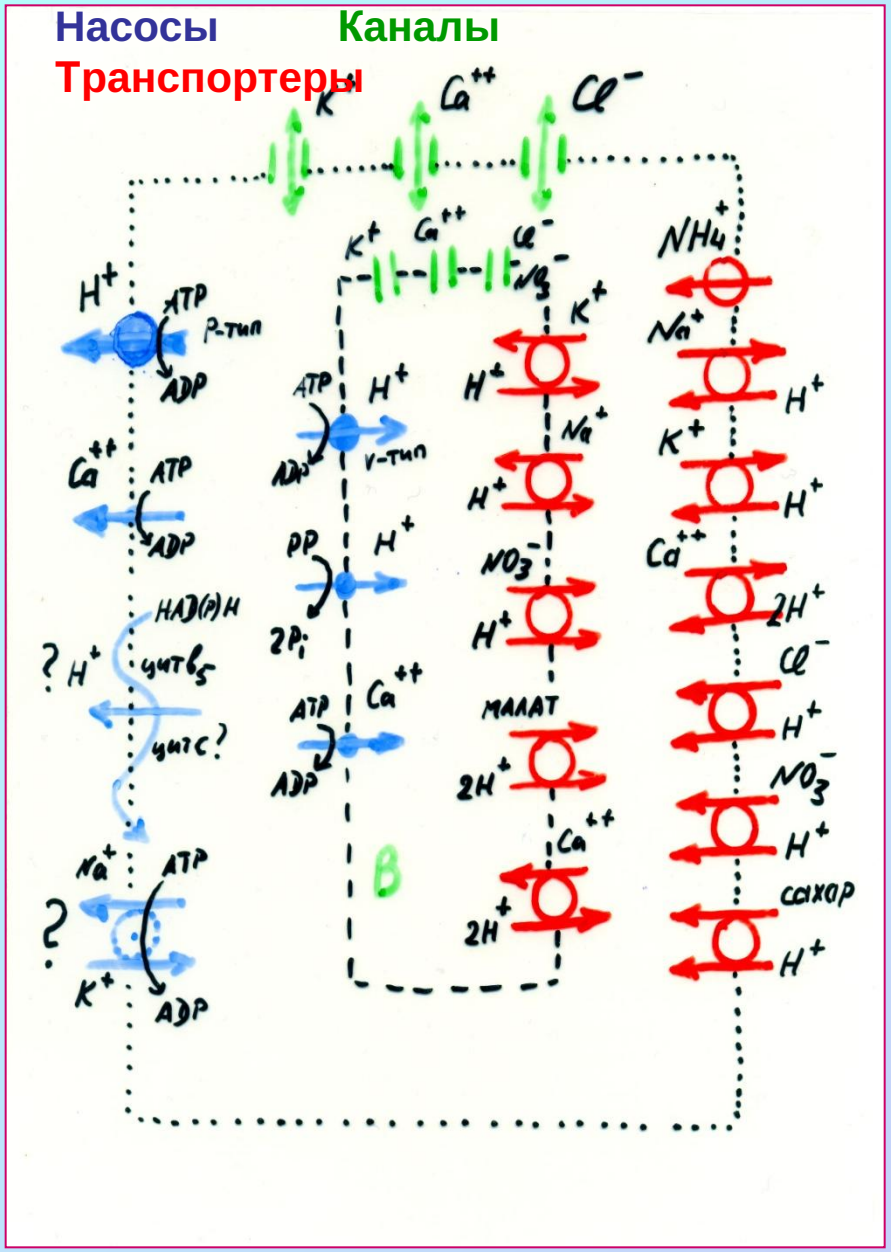


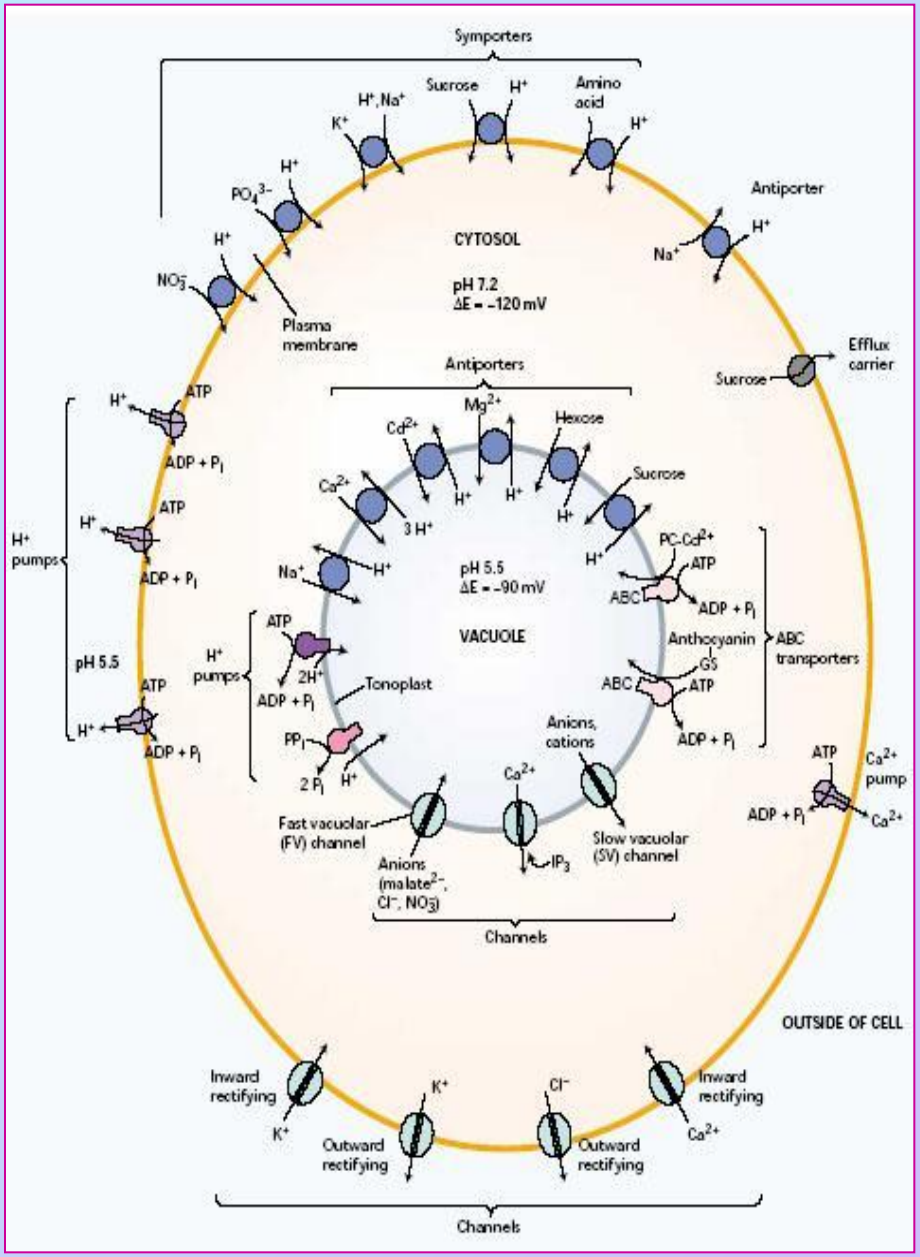
Если бы все транспортировалось пассивно…

Измеренные и предсказанные как равновесные концентрации ионов (mM) в тканях корней гороха *(P. sativum)*, имеющих мембранный потенциал -110 мВ (по Higinbotham et al., 1967)

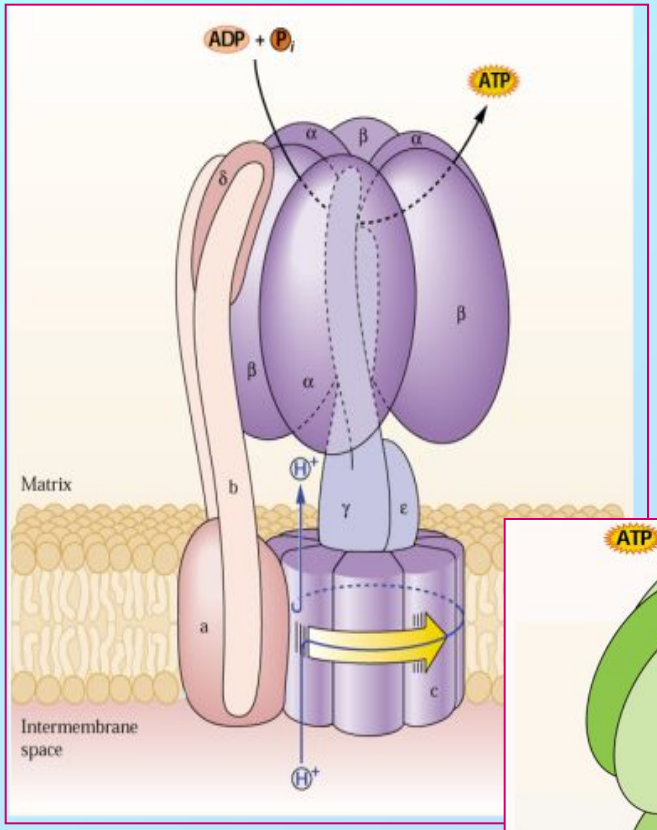
Катион	Концентрация в растворе (C_{out})	Внутренняя концентрация (C_{in})	
		рассчитанная	измеренная
K^+	1	74	75
Na^+	1	74	8
Mg^{2+}	0,25	1340	3
Ca^{2+}	1	5360	2
Анион			
NO^{3-}	2	0,0272	28
Cl^-	1	0,0136	7
$H_2PO_4^-$	1	0,0136	21
SO_4^{2-}	0,25	0,00005	19

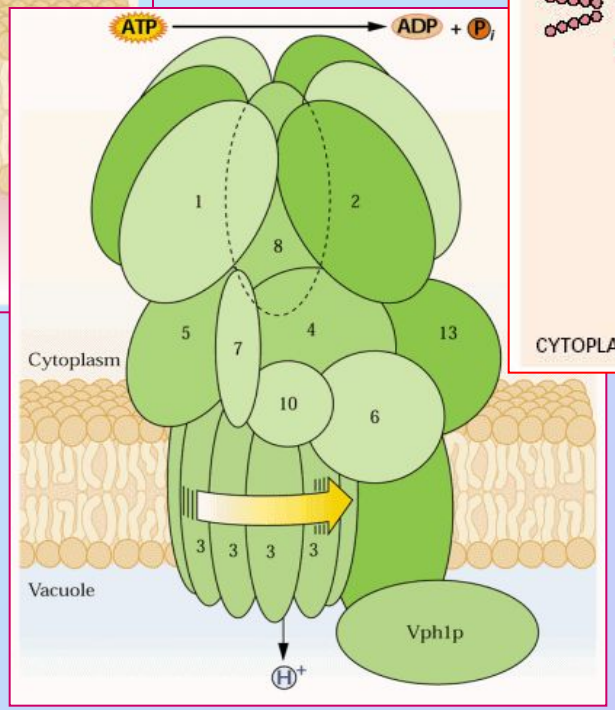
Схема транспортных систем растительной клетки

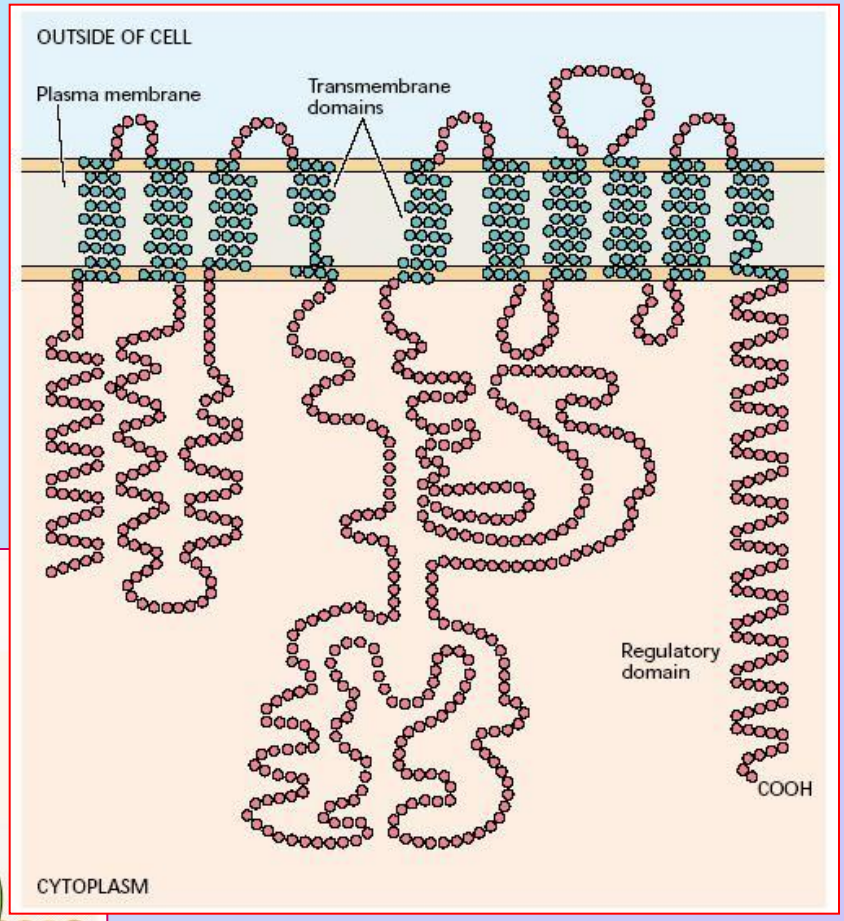




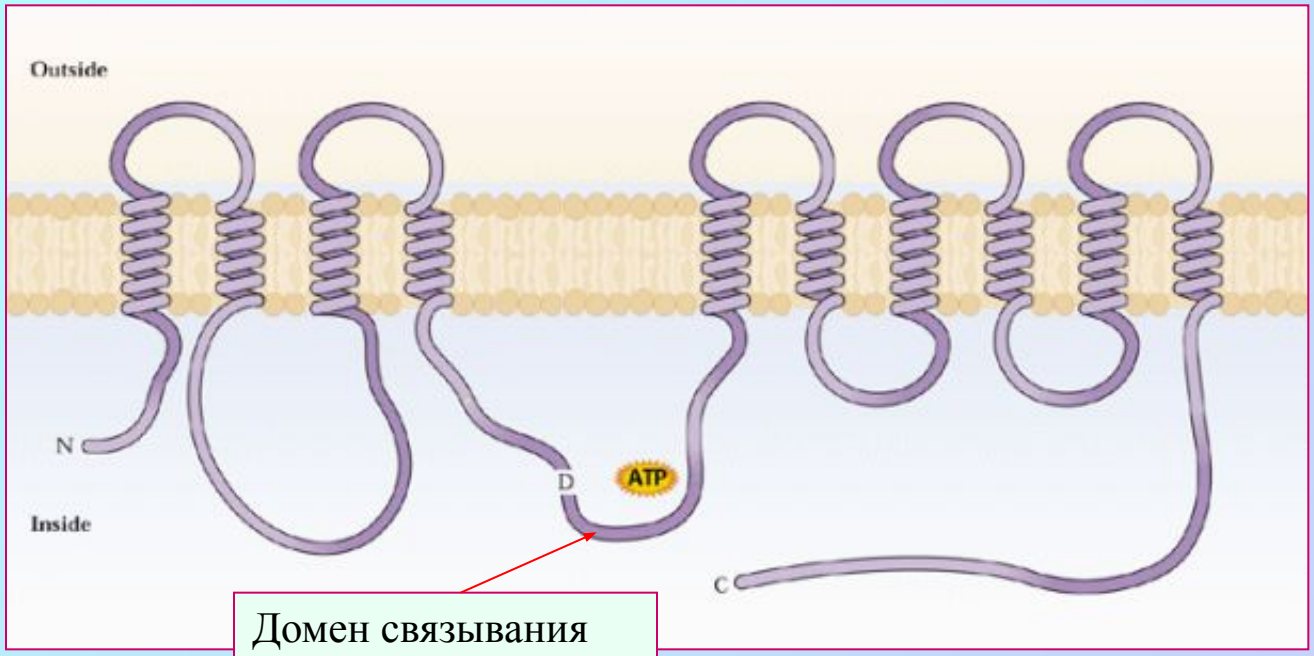
Три типа АТФ-аз растительной клетки: F-, p- и V-типа







Структура белка Н-АТФазы плазмалеммы

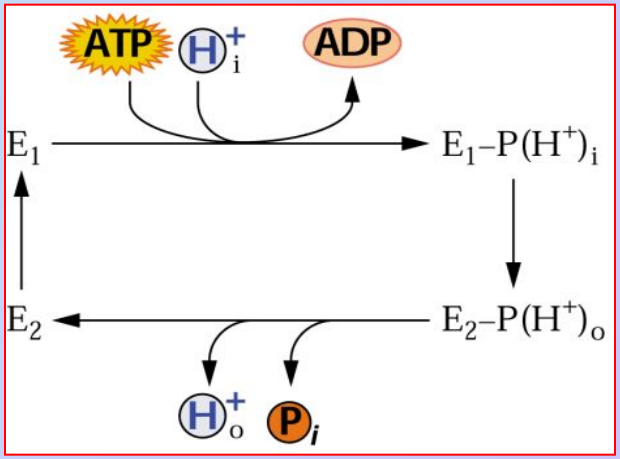


Домен связывания Mg-АТФ

Один полипептид
100 – 106 кДа

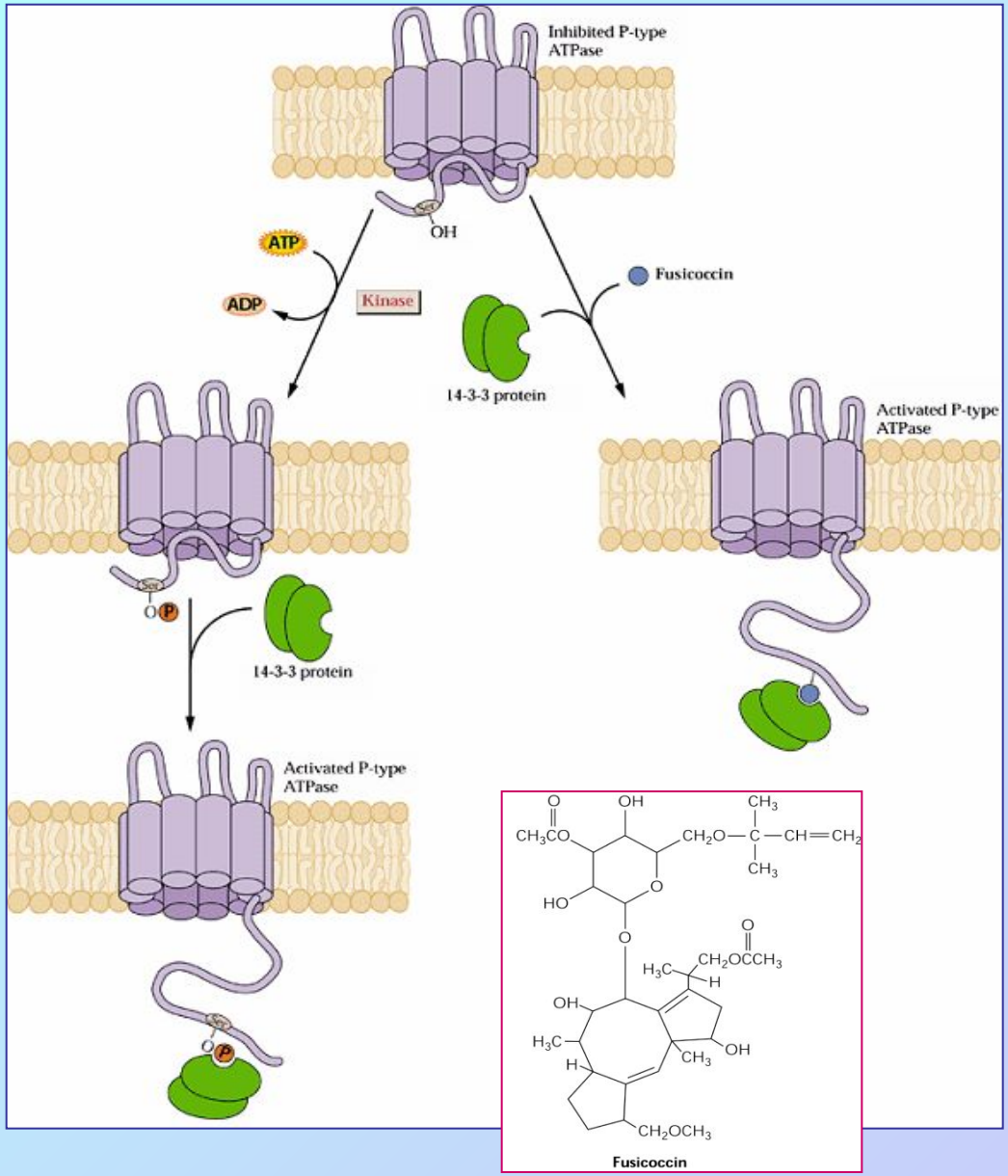
E1 связывает H (in)

E2 освобождает H (out)



Стехиометрия переноса:
1 АТФ : 1 H^+

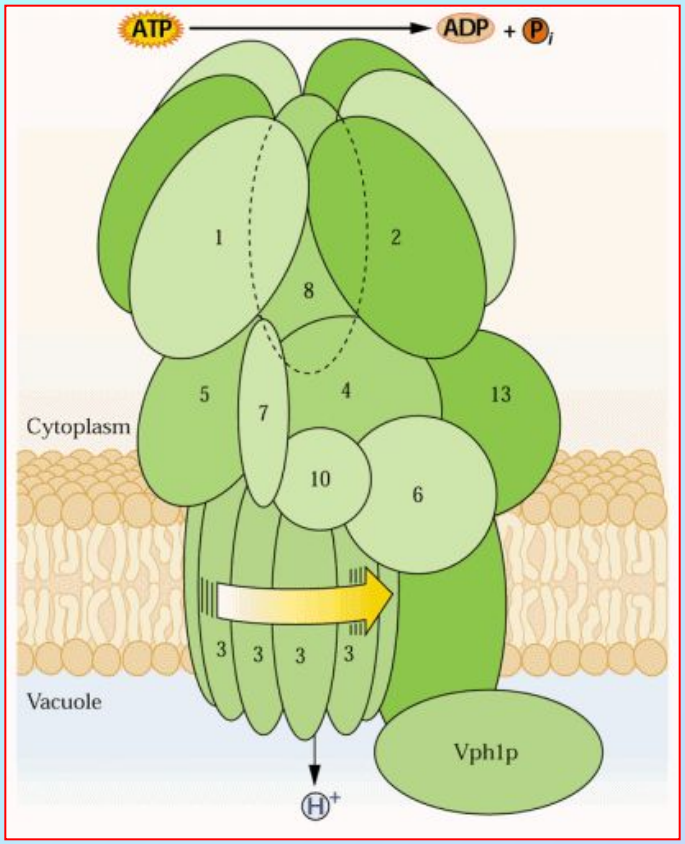
Свойства и регулирование активности АТФ-зы р-типа

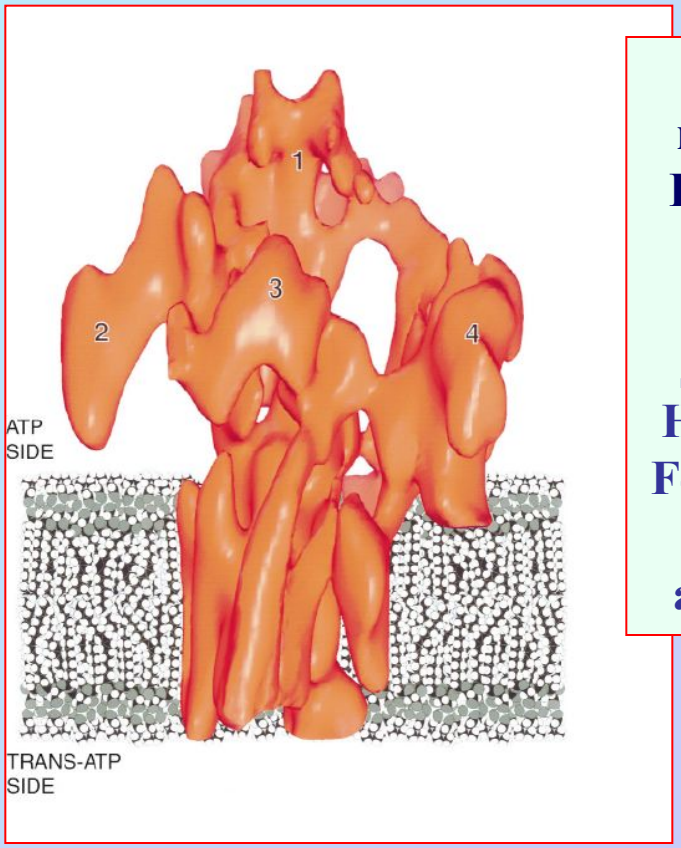


Существует более десятка изоферментов АТФ-зы р-типа

- **Один большой полипептид 100 - 106 кДа**
- **Регулируется по принципу «фосфорилирование/дефосфорилирование» по серину протенкиназами**
- **Образует промежуточный фосфорилированный интермедиат (по аспартиловому концу фермента)**
- **Ингибируется ванадатом (блокирует фосфорилирование по аспартиловому концу фермента)**
- **Ингибируется DES, DCCD, сульфгидрильными реагентами**
- **Сходна с АТФазами животных клеток: Na,K-АТФаза; H,K-АТФаза; Ca-АТФаза)**
- **Зависит от градиента ΔμH+**
- **K+-зависимая**

H-АТФаза тонопласта (V – типа)



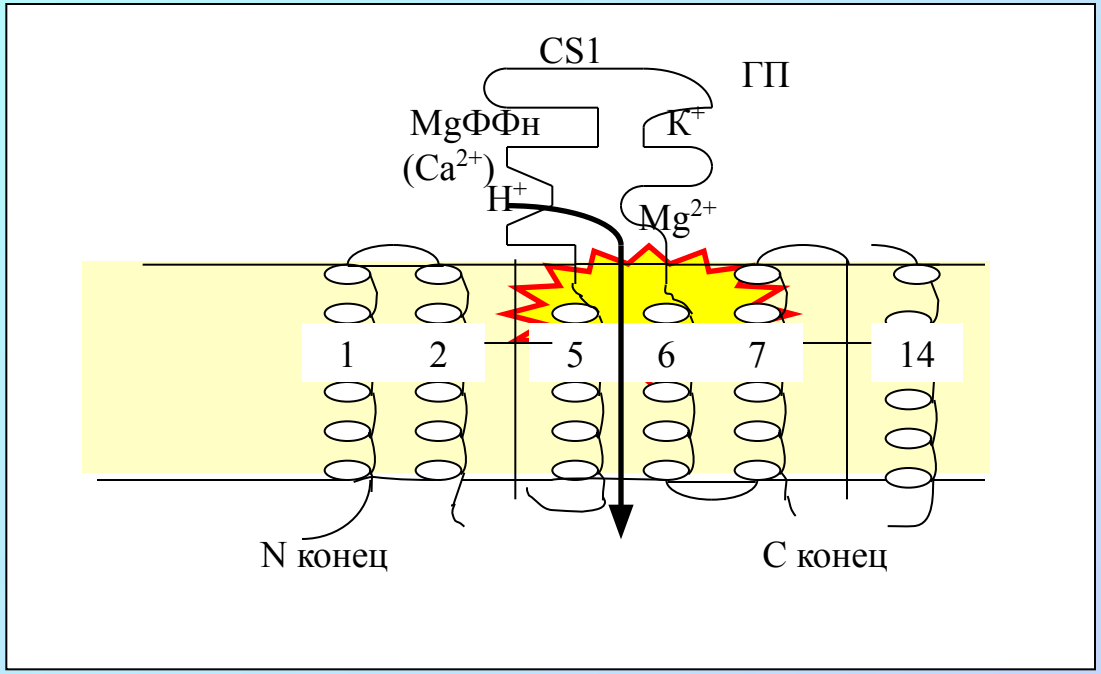


Весьма похожа на H^+-АТФ-зу архей…

Для нее и H^+-АТФ-зы F--типа есть Na^+ – аналоги…

- **3 каталитических центра связывания АТФ, 6-9 субъединиц, связывающих H^+**
- **Многомерная структура 70 кДа, 60 кДа, 16 кДа (7-10 субъединиц)**
- **Анионзависимая (нитрат ингибирует, хлорид стимулирует)**
- **Нечувствительна к ванадату, азиду, олигомицину**
- **Зависит от градиента ΔμH+**

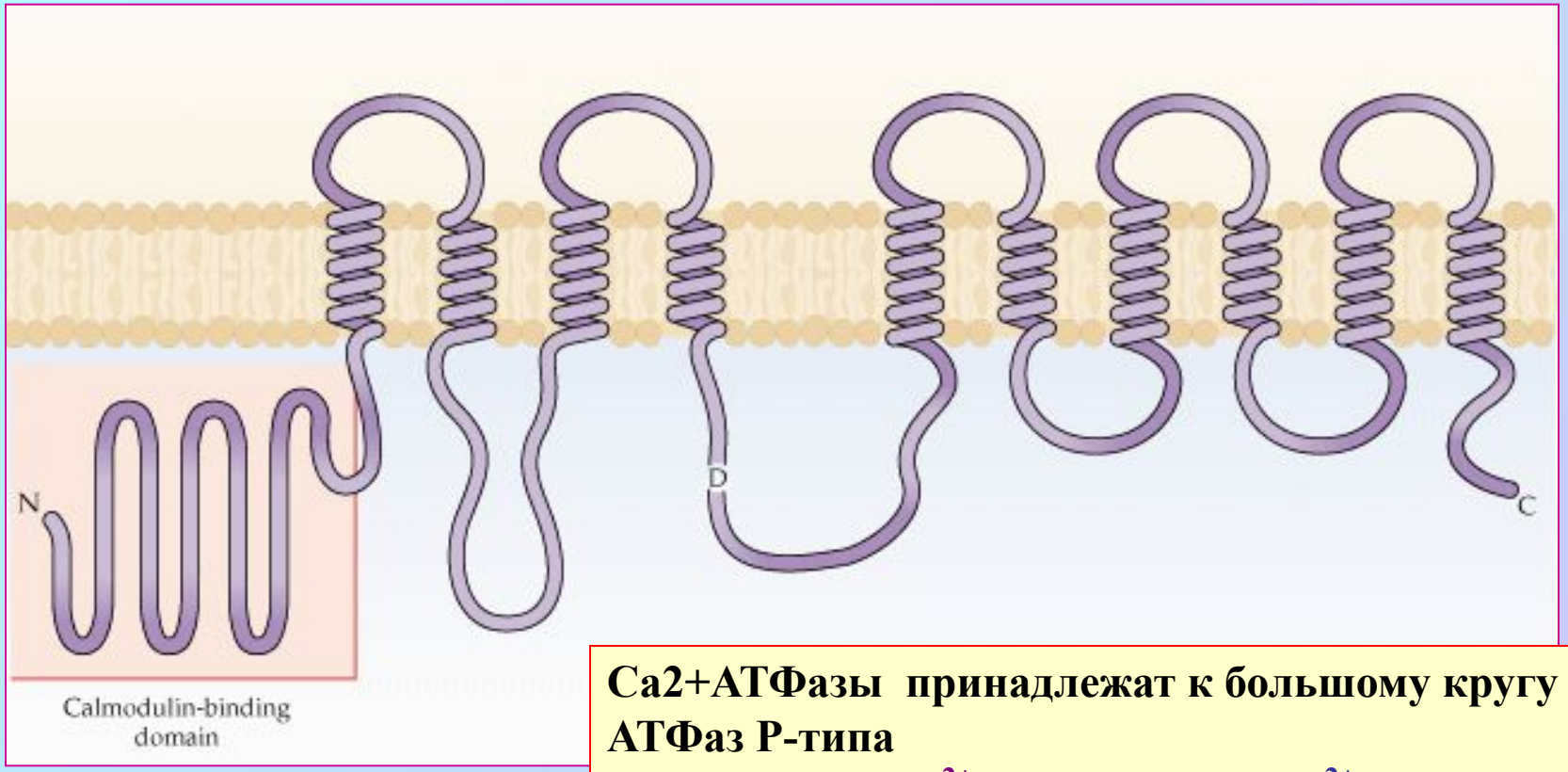
H^+-пирофосфатаза (дифосфатаза) тонопласта



Стехиометрия переноса:
1 пирофосфат : 1 H^+

- **64 – 67 кДа**
- **катионзависимая (стимулируется K^+, ингибируется Na^+, Ca^{2+})**
- **высокоспецифична к пирофосфату**
- **зависит от концентрации магния**
- **зависит от градиента $\Delta\mu H+$**
- **ингибируется сульфгидрильными реагентами**

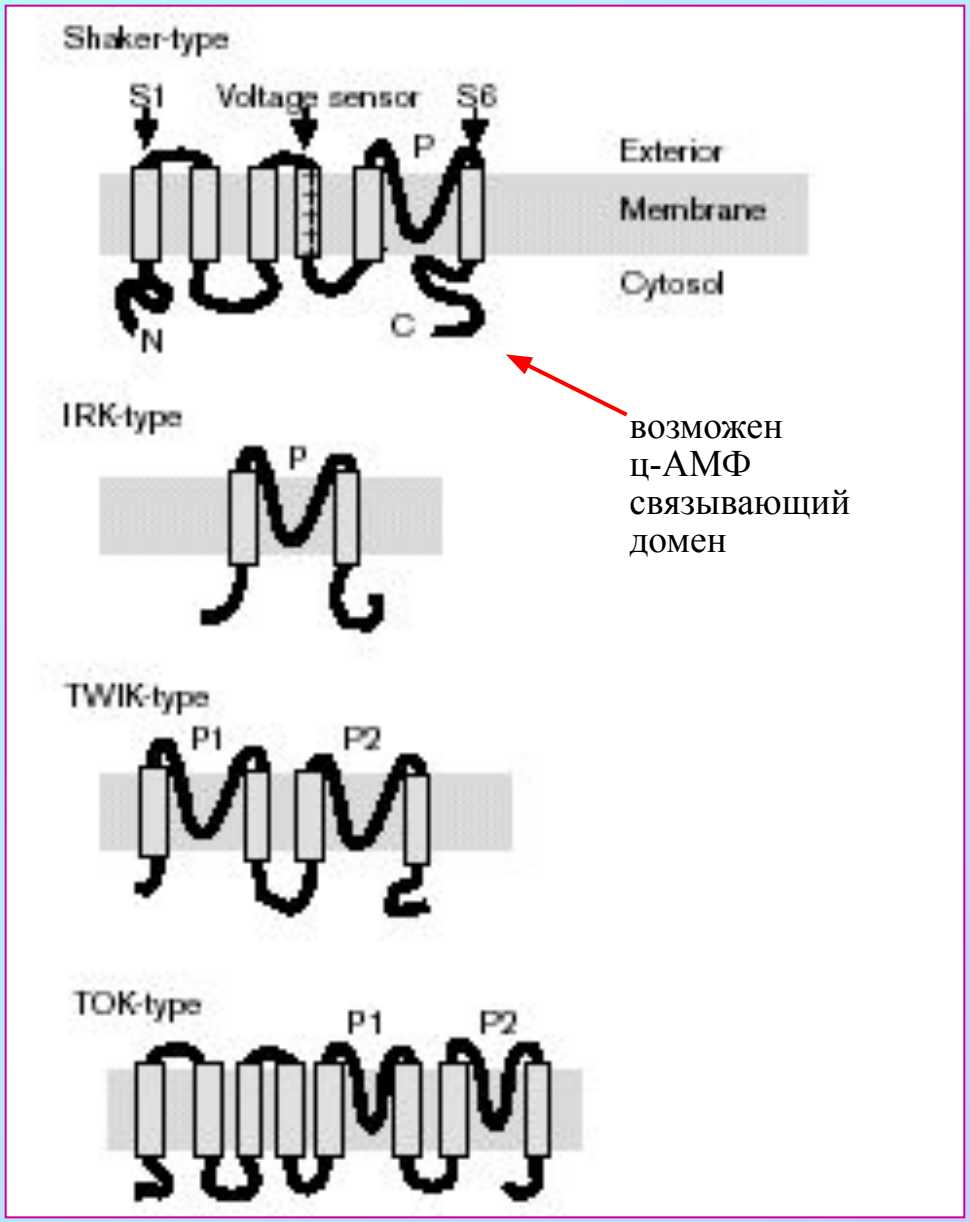
Ca^{2+}-АТФ-за – еще один «насос» плазмалеммы и тонопласта, но совсем с другими функциями



Ca2+АТФазы принадлежат к большому кругу АТФаз Р-типа
Существуют Ca^{2+}АТФазы ПМ, Ca^{2+}АТФазы ЭР

У растений в отличие от животных Ca^{2+}АТФазы ПМ типа локализованы не только на плазмалемме, но и на эндомембранах

Транспорт катионов. Типы калиевых каналов растительной клетки.



возможен ц-АМФ связывающий домен

В геноме арабидопсиса обнаружили 56 генов катионных каналов

K^+ каналы *Shaker*-типа:

9 белков.

АКТ 1 (кортекс корня)

КАТ 1 (перицикл, ксилема)

IRK - Inwardly-Rectifying K^+

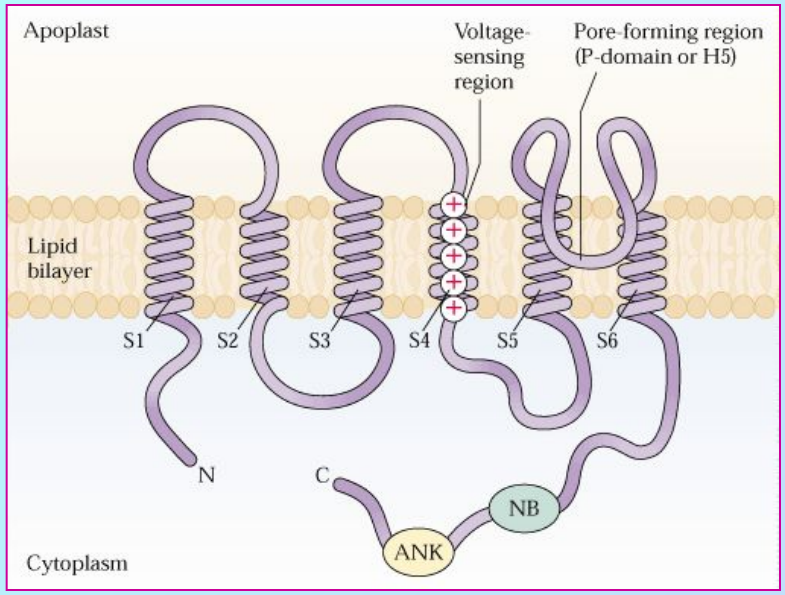
1 белок

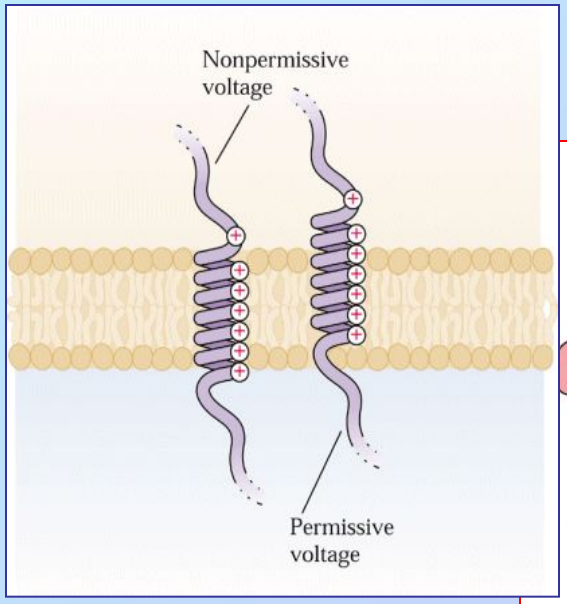
TWIK или TPC (Tandem of P-domains in a Weak Inward-rectifying K^+ или Two Pore domain Channel)

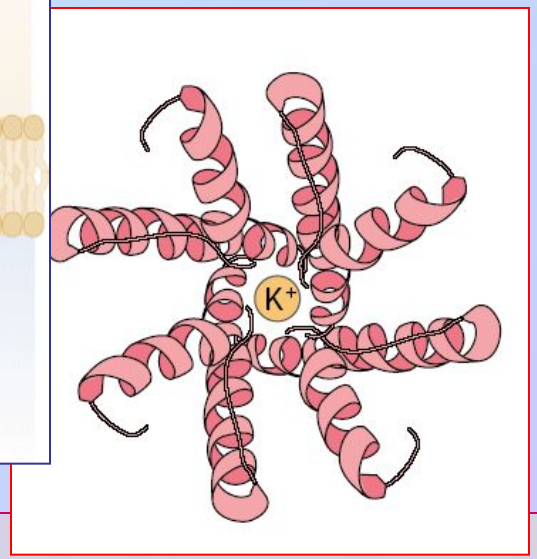
5 белков, из них один - Ca^{2+}активируемый. Находится в тонопласте.

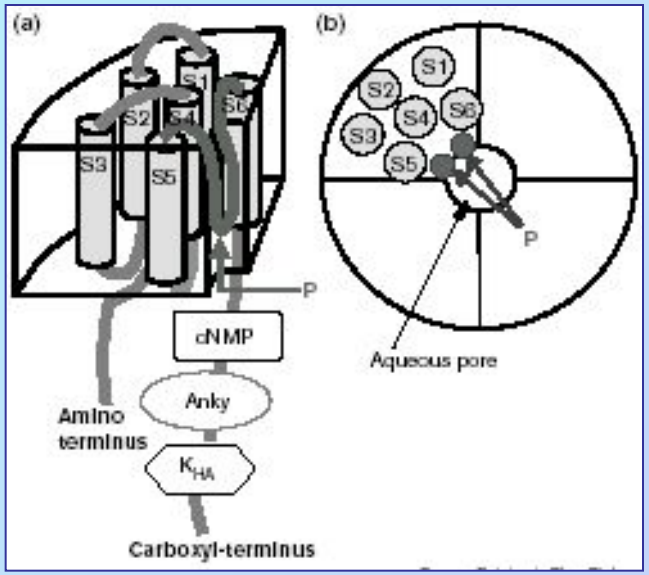
TOK - Two-pore Outwardly rectifying K^+

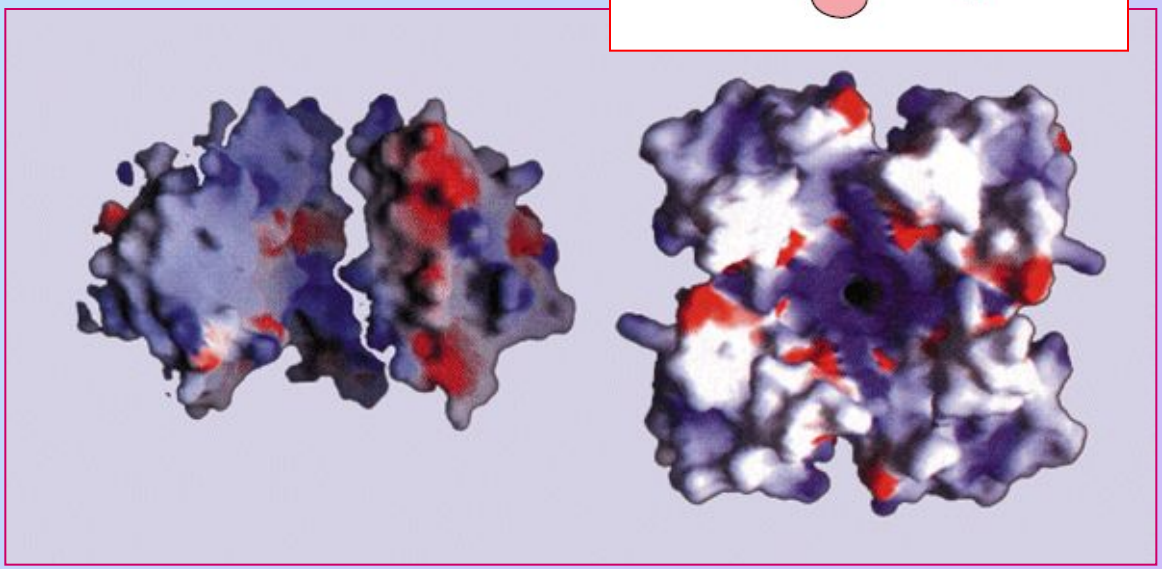
Калиевые каналы *Shaker*-типа могут регулируются мембранным потенциалом или циклическими нуклеотидами, работают в виде тетрамеров



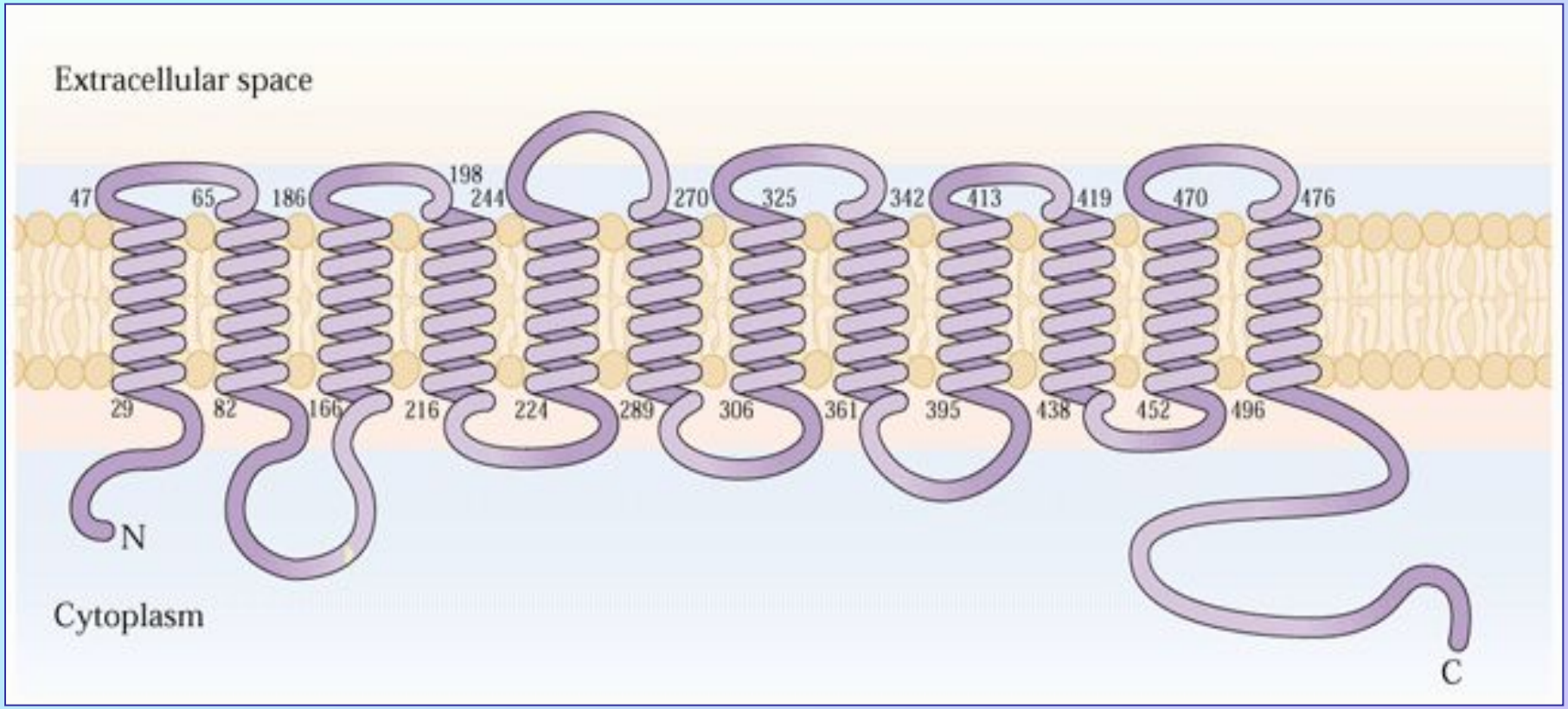




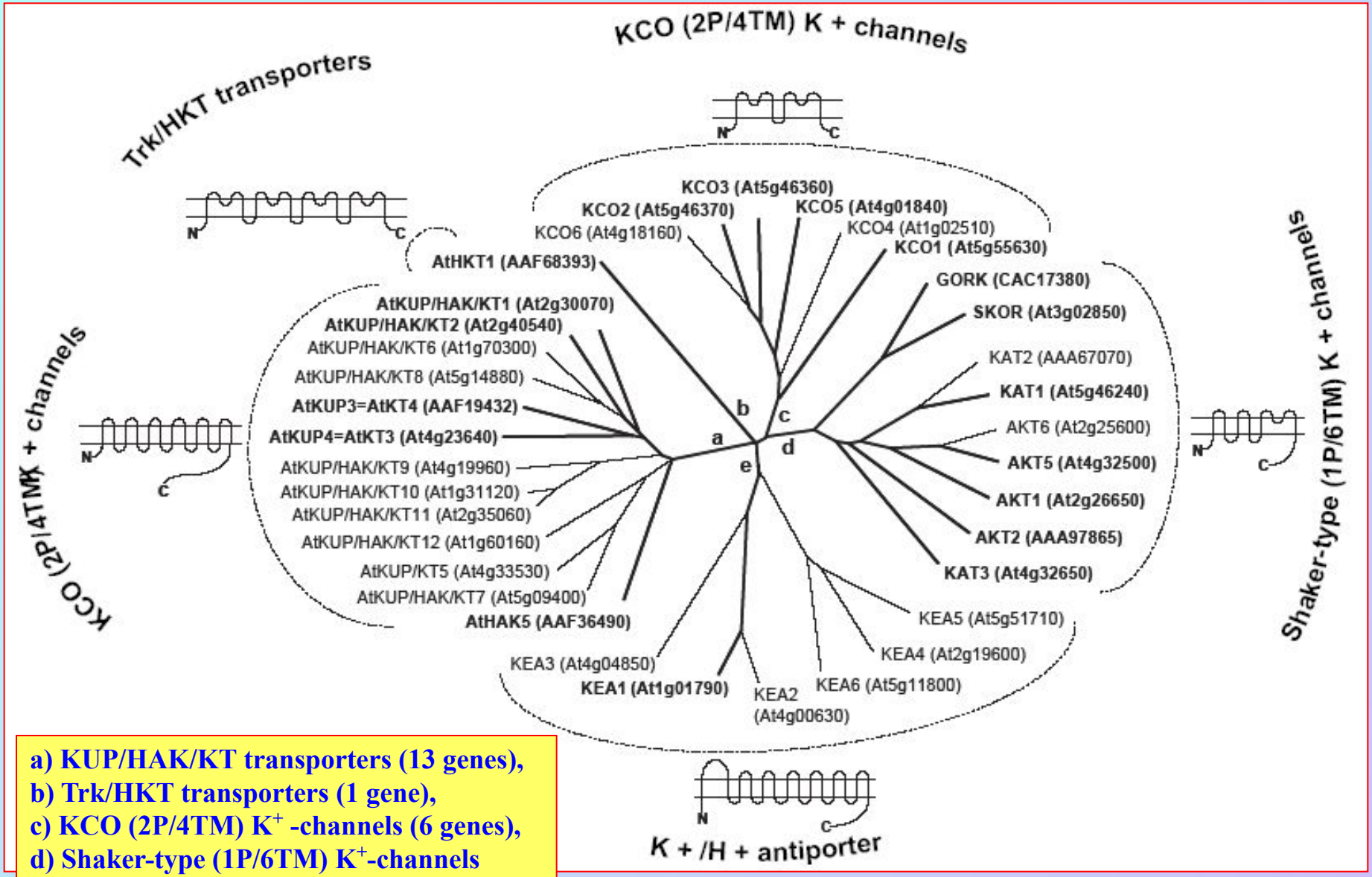




Транспорт калия через мембраны идет не только через каналы, но и через переносчики (транспортеры). Схема AtKUP1

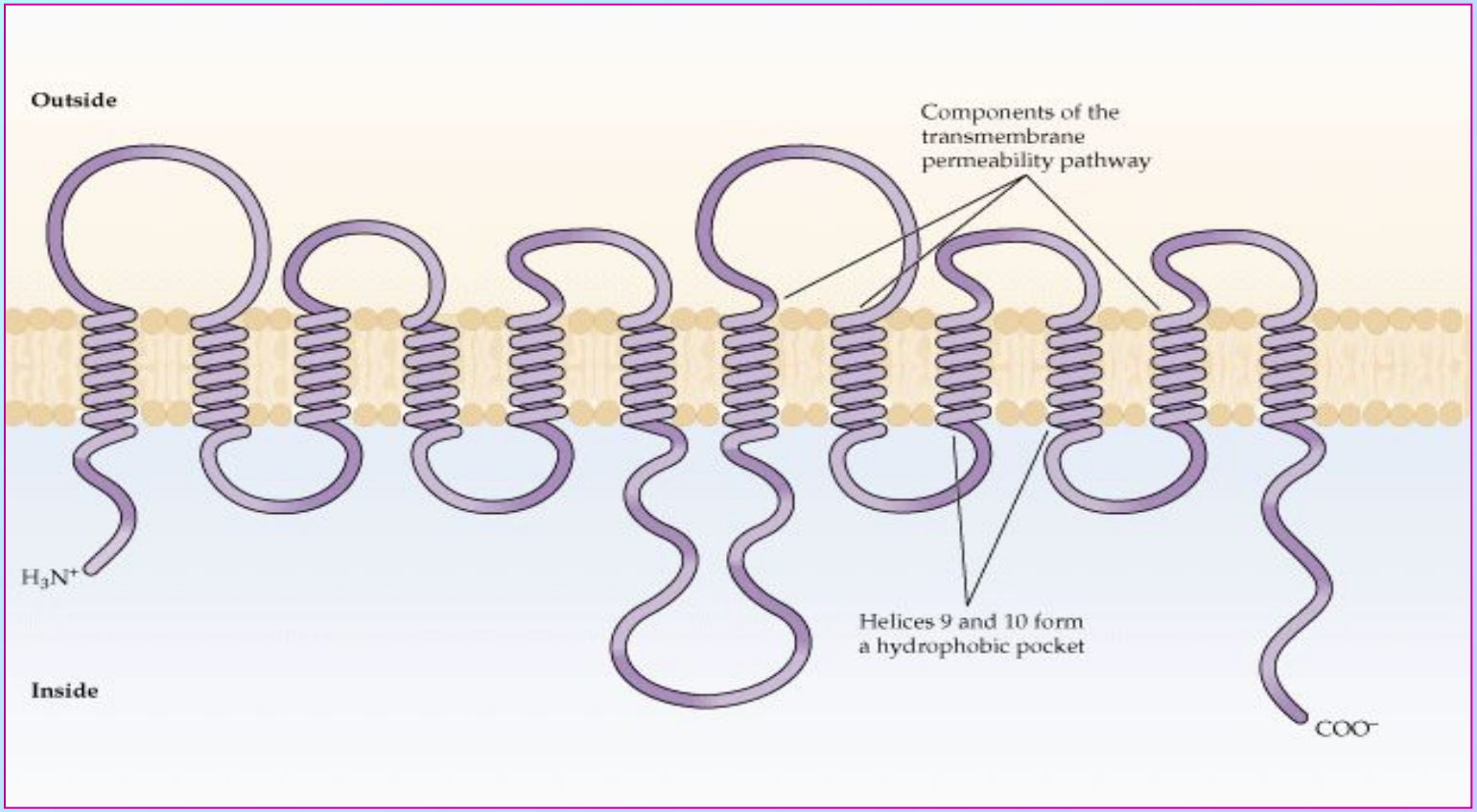


«Дерево» всех K^+-транспортеров *A. thaliana* с 5 основными «веточками»



a) KUP/HAK/KT transporters (13 genes),
b) Trk/HKT transporters (1 gene),
c) KCO (2P/4TM) K^+ -channels (6 genes),
d) Shaker-type (1P/6TM) K^+-channels (9 genes),
e) K^+ /H^+ antiporter homologues (6 genes).

Общая схема транспортеров MFS (Major Facilitator Super family)



В геноме арабидопсиса найдено около 600 мембранных транспортеров (у дрожжей и *E.coli* – около 300). Из них:

транспортеры нитратов – 8 генов, фосфатов – 9 + 1 + 7 генов

Анионные транспортеры отличаются по величине сродства к субстрату

Фосфатные транспортеры

Высокого сродства (PT2) ($К_м$ = 3 – 7 мкмолей)

Низкого сродства (PT1) ($К_м$ = 50 – 330 мкмолей);

Сульфатные транспортеры

Высокого сродства Sultr1 или ST1 (K_m порядка 10 мкмолей)

Низкого сродства Sultr2 или ST2 (K_m порядка 100 мкмолей)

Нитратные транспортеры

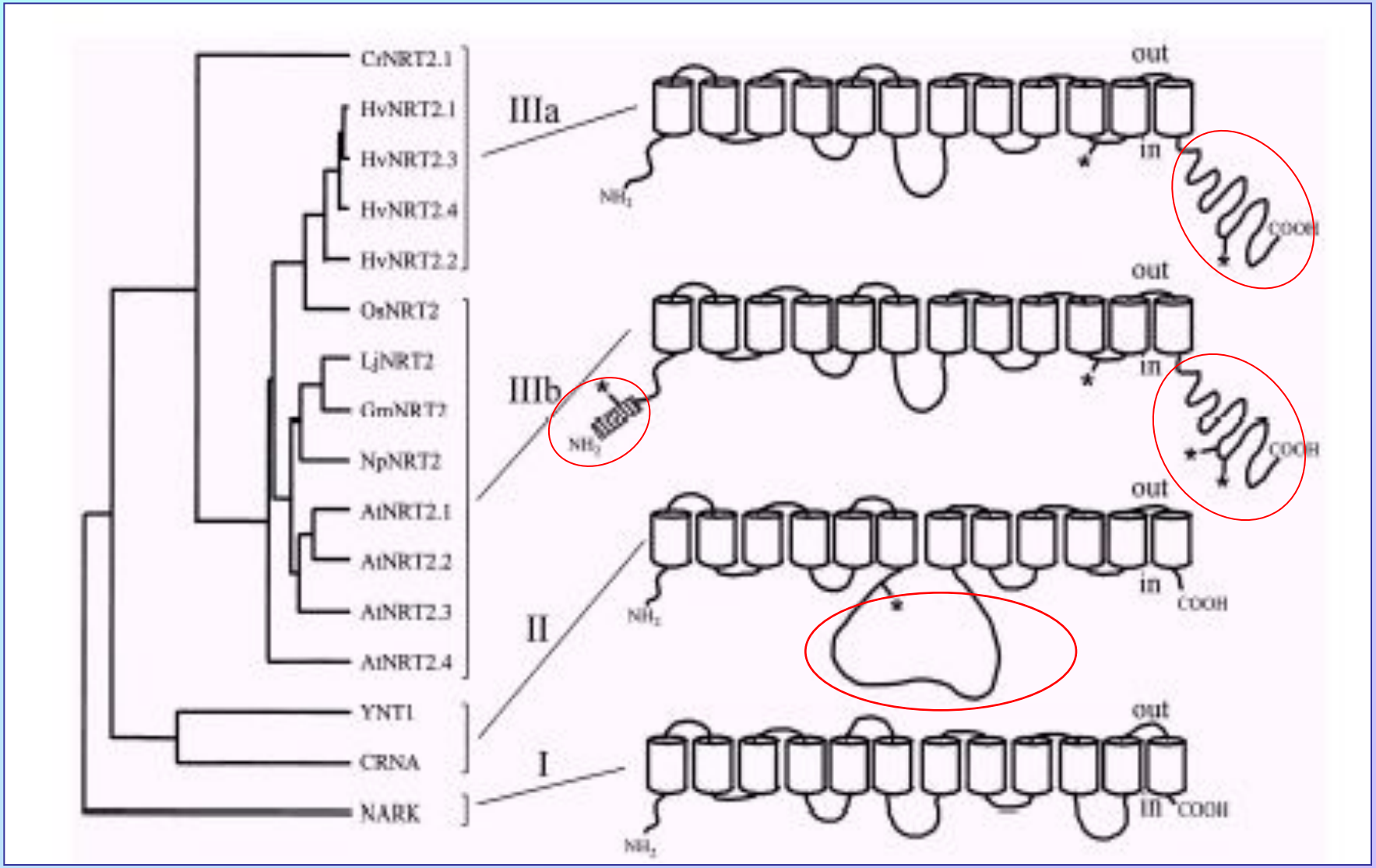
NRT2 переносчики NO_3^- высокого сродства K_m от 10 до 100 μM. .

NRT1 переносчики с двойственными свойствами (с высокими и низкими K_m) или переносчики низкого сродства.

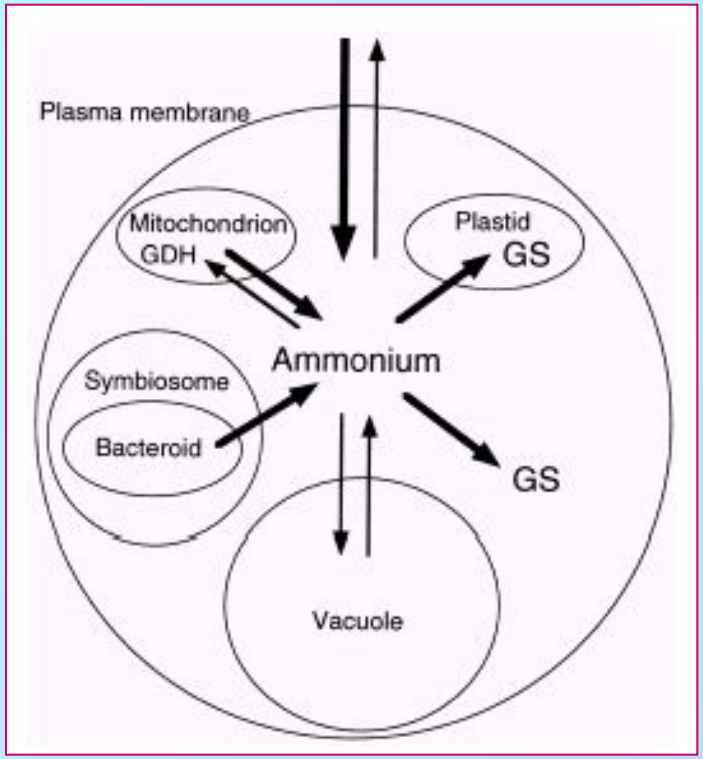
Клонированные NO_3^-/ NO_2^- транспортеры NNP (nitrate –nitrite porters) и PTR (peptide transporter)

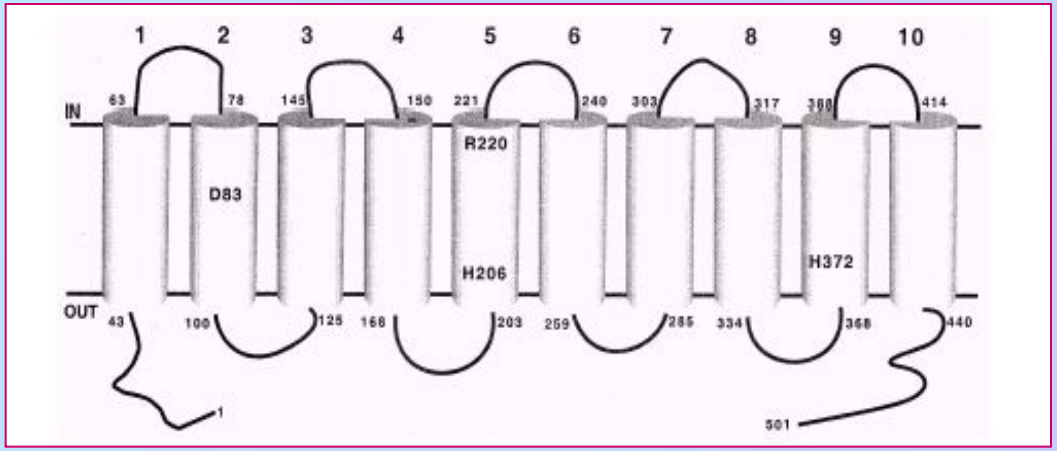
Gene	Alternative name	Species	Accession no.	NO_3^- inducible	Transport activity	Ref.
1. NNP Family						
AtNRT2.1	*ACH1*	*A. thaliana*	Z97058	Yes	NO_3^- transporter (high affinity)	[16,17]
AtNRT2.2	*ACH2*	*A. thaliana*	AF019749	Yes	?	[16,17]
AtNRT2.3		*A. thaliana*	AB015472	?	?	–
AtNRT2.4		*A. thaliana*	AB015472	?	?	–
NpNRT2		*N. plumbaginifolia*	Y08210	Yes	?	[18,19]
GmNRT2		*G. max*	AF047718	Yes	?	[20]
HvNRT2.1	*BCH1*	*H. vulgare*	U34198	Yes	?	[21]
HvNRT2.2	*BCH2*	*H. vulgare*	U34290	Yes	?	[21]
HvNRT2.3	*BCH3*	*H. vulgare*	AF091115	?	?	–
HvNRT2.4	*BCH4*	*H. vulgare*	AF091116	?	?	–
LjNRT2[a]		*Lotus japonicus*	–	Yes	?	–
OsNRT2		*O. sativa*	AB008519	?	?	–
CrNRT2.1	*Nar3*	*C. reinhardtii*	Z25438	Yes	NO_3^-/NO_2^- transporter (high affinity)	[22–24]
CrNRT2.2	*Nar4*	*C. reinhardtii*	Z25439	Yes	NO_3^--specific transporter (high affinity)	[22–24]
CrNRT2.3		*C. reinhardtii*	AJ223296	Yes	NO_2^--specific transporter (high affinity)	[23,24]
cmA		*A. nidulans*	U34382	Yes	NO_3^-/NO_2^- transporter (high affinity)	[25]
YNT1		*H. polymorpha*	Z69783	Yes	NO_3^- transporter (high affinity)	[26]
NarK		*E. coli*	X15996	Yes	NO_2^- extrusion system	[27,28]
II. PTR Family						
AtNRT1.1	*CHL1*	*A. thaliana*	L10357	Yes	NO_3^-/ClO_3^- transporter (low affinity)	[29–31]
AtNRT1.2	*NTL1*	*A. thaliana*	AF073361	?	NO_3^- transporter (low affinity)	[30,32]
AtNTP2		*A. thaliana*	AJ011604	?	?	[33]
AtNTP3		*A. thaliana*	AJ131464		?	[33]
BnNRT1.2	*RCH2*	*B. napus*	U17987	Yes	NO_3^- and his transporter (low affinity)	[34,35]
CsNiTR1		*C. sativus*	Z69370	?	chloroplast NO_2^- transporter?	–
LeNRT1.1	*NIT1*	*L. esculentum*	X92853	No	?	[36]
LeNRT1.2	*NIT2*	*L. esculentum*	X92852	Yes	?	[36]

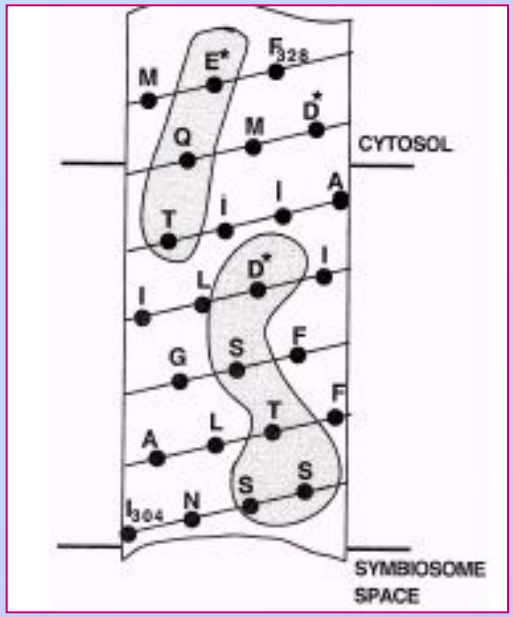
Три типа NO_3^-/ NO_2^- транспортеров NNP-семейства



Аммонийные транспортеры







AtMT1. Унипортер, K_m = 65мкМ.
AtMT2
SAT1 – для транспорта из бактероидов

Схема строения сульфатных и фосфатных транспортеров

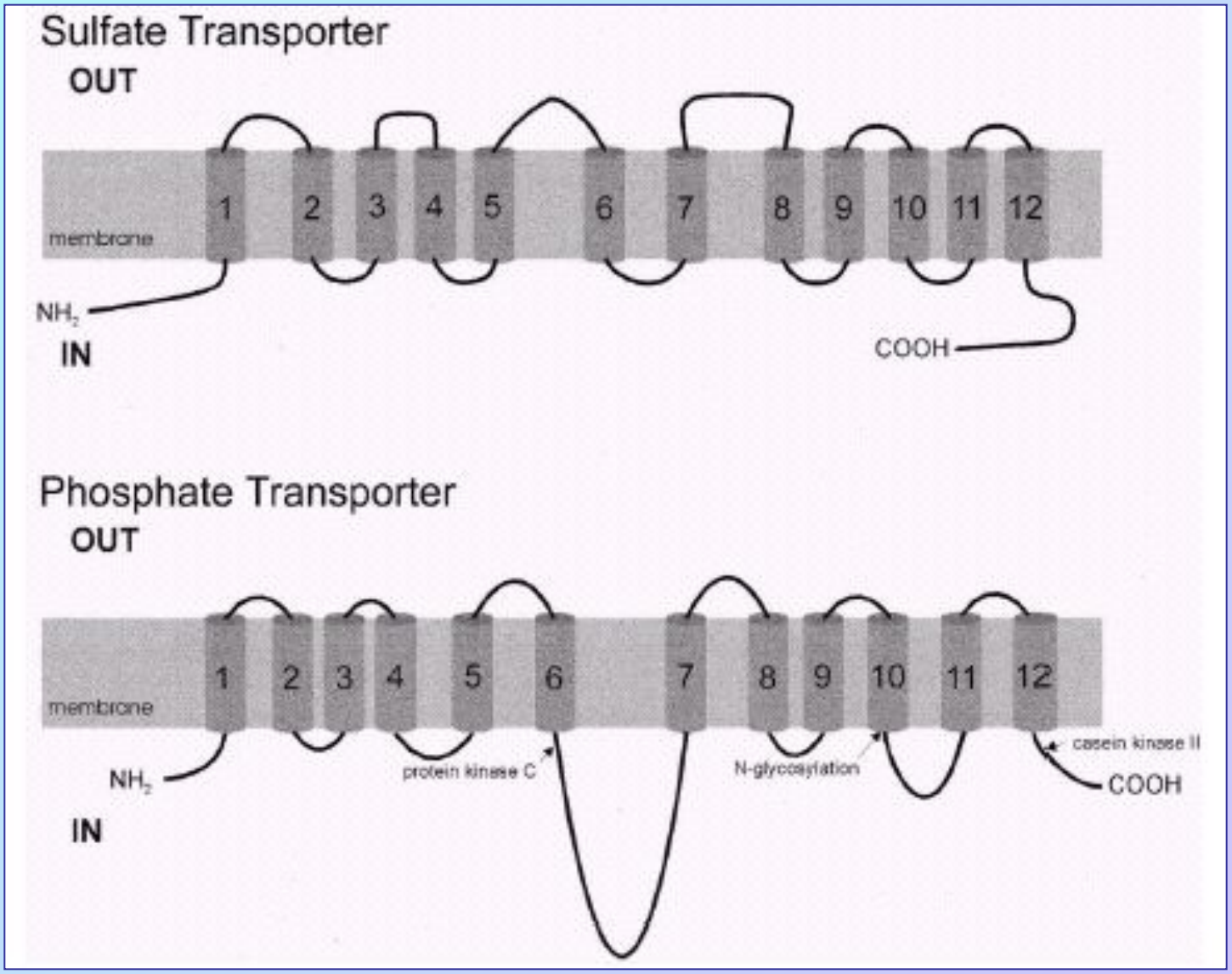
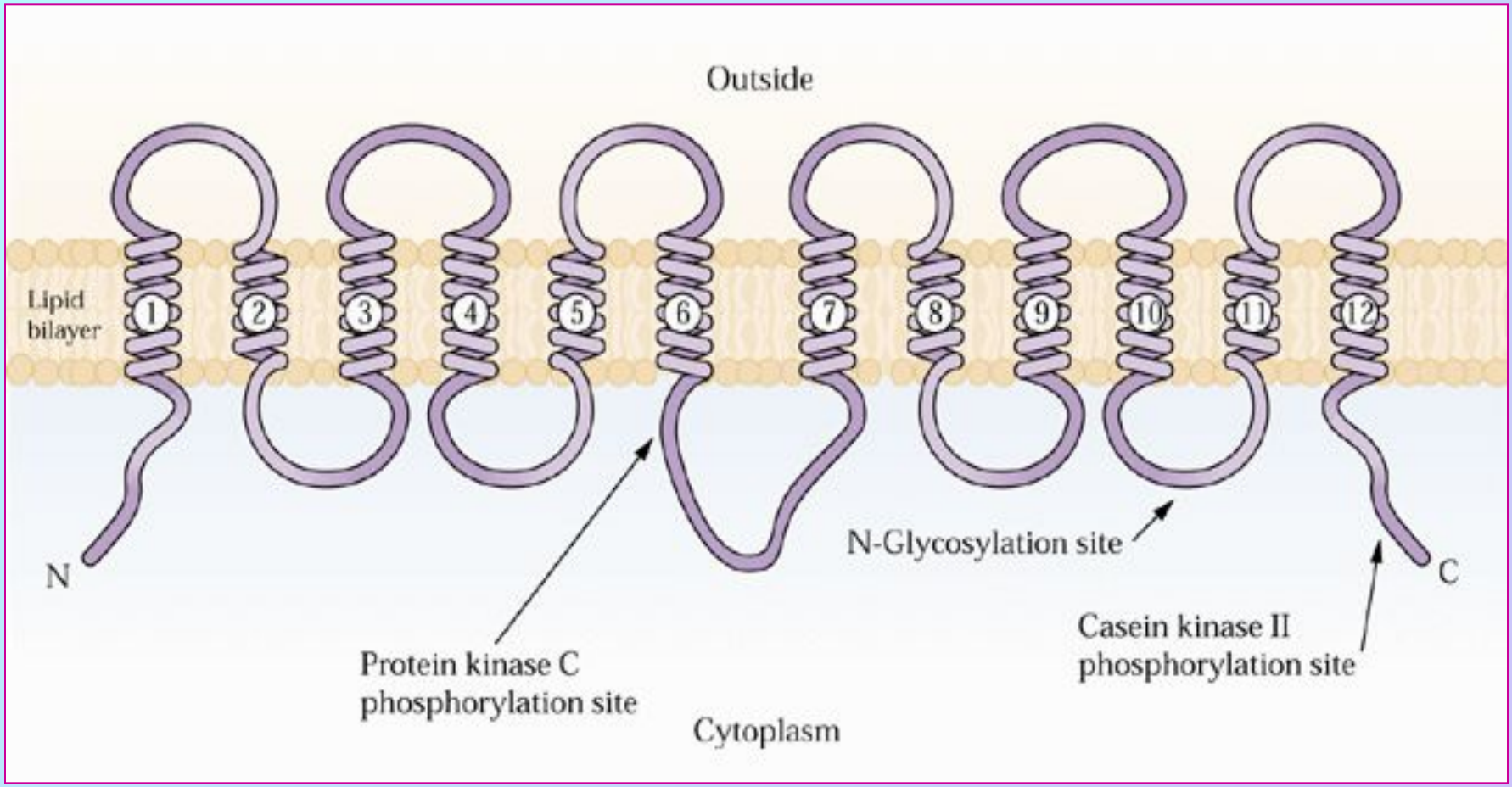


Схема строения и регулирования высокоафинного фосфатного транспортера



Гены фосфатных транспортеров арабидопсиса

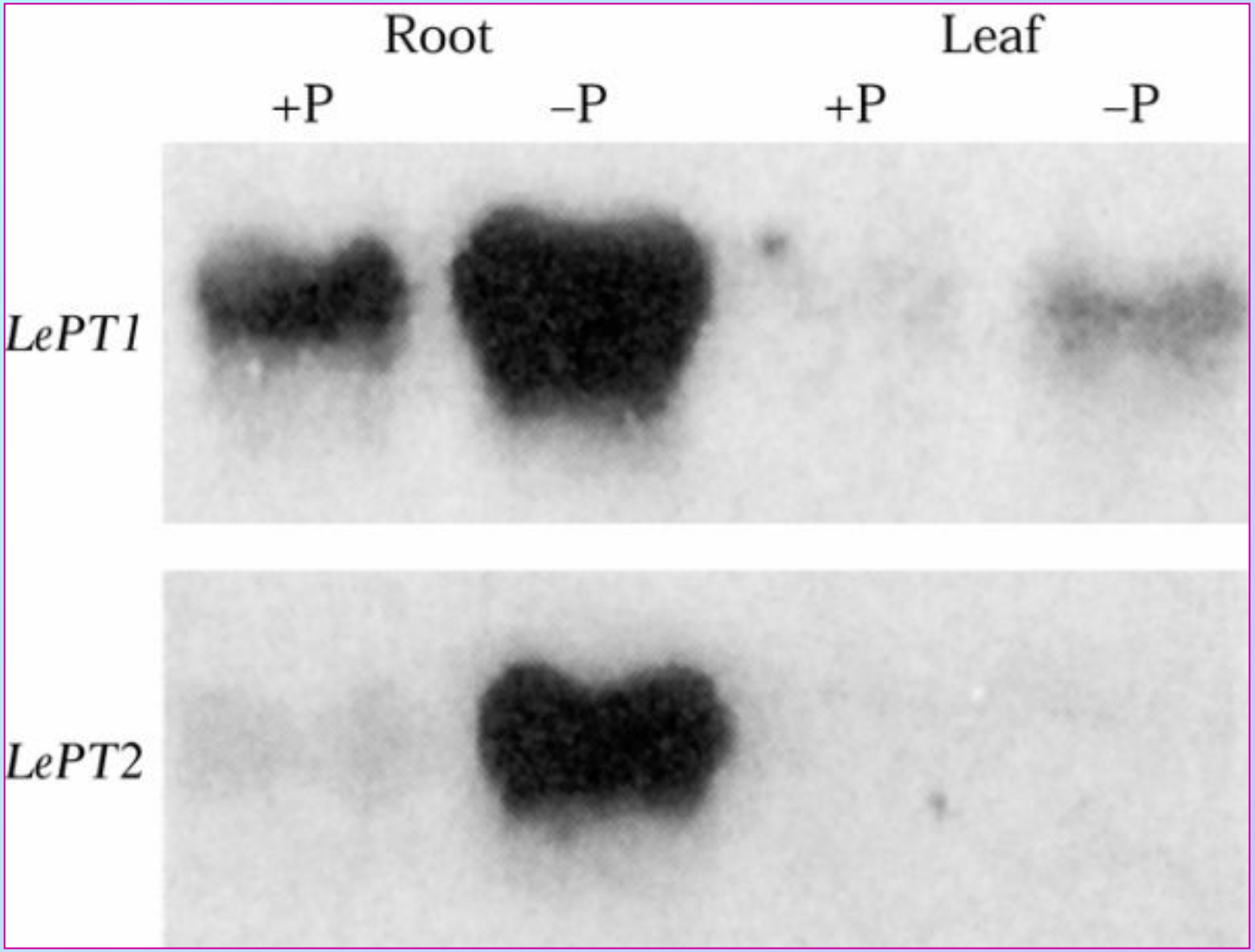
Название гена	Синонимы	Экспрессия, органы, ткани, (органеллы)
At;Pht1;1	PHT1, APT2, AtPT1	Корни, семядоли, проростки, бутоны, семена
At;Pht1;2	PHT2, APT1,	Корни
At;Pht1;3	PHT3, AtPT4	Корни, семядоли, листья
At;Pht1;4	PHT4, AtPT2	Корни, листья, культура клеток, цветки,
At;Pht1;5	PHT5	Листья, бутоны, цветки
At;Pht1;6	PHT6	Семядоли, пыльца
At;Pht1;7		Корни, цветки
At;Pht1;8		Корни
At;Pht1;9		Корни
At;Pht2;1	PHT2,1	Надземные органы
At;Pht3;1		(митохондрии)
At;Pht3;2		(митохондрии)
At;Pht3;3		(митохондрии)
At;TPT	TPT	(пластиды)
At;PPT	PPT	(пластиды)
At;GPT1	GPT1	(пластиды, нефотосинтезирующие)
At;GPT2	GPT2	(пластиды, нефотосинтезирующие)
At;XPT		ья, побеги, корни (пластиды)

TPT – Триозофосфат - Pi – Транспортер

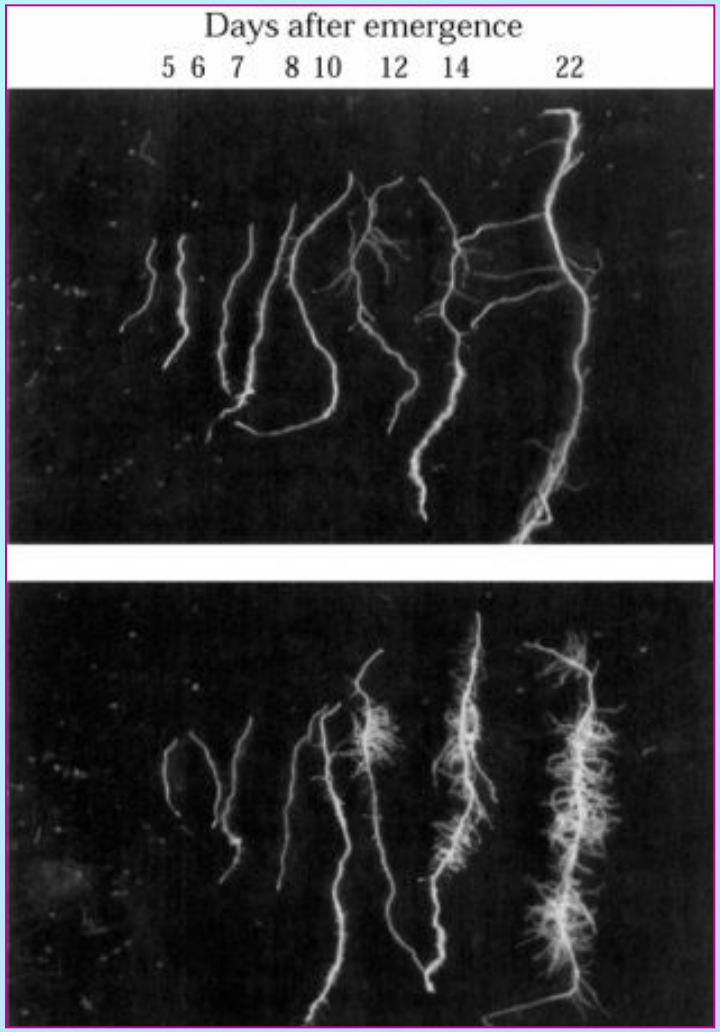
PPT – Фосфоенолпируват - Pi – Транспортер

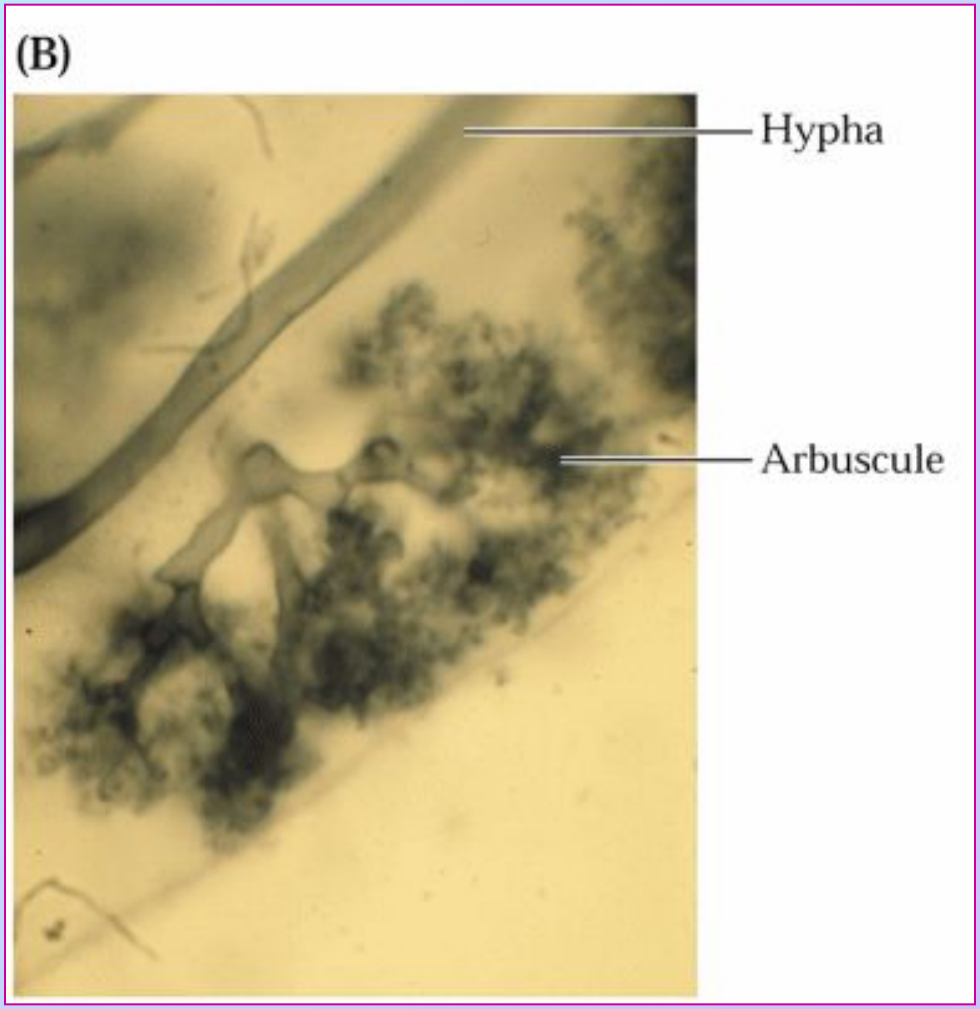
GPT – Глюкозо-6-фосфат - Pi – Транспортер

Нозерн-блот двух фосфатных транспортеров из корней и листьев помидоров.



Везикулярно-арбускулярная микориза необходима прежде всего для поглощения фосфатов

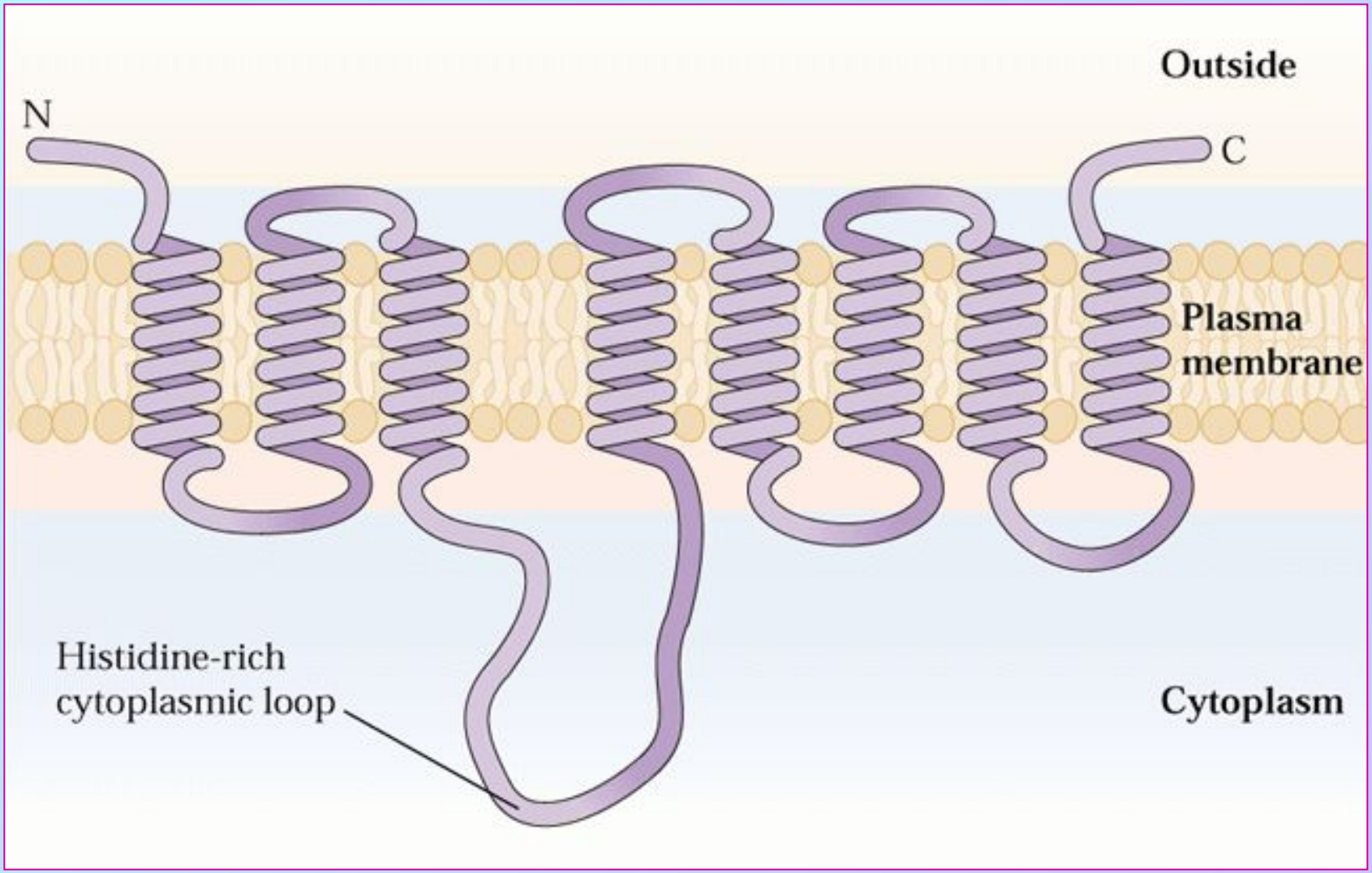




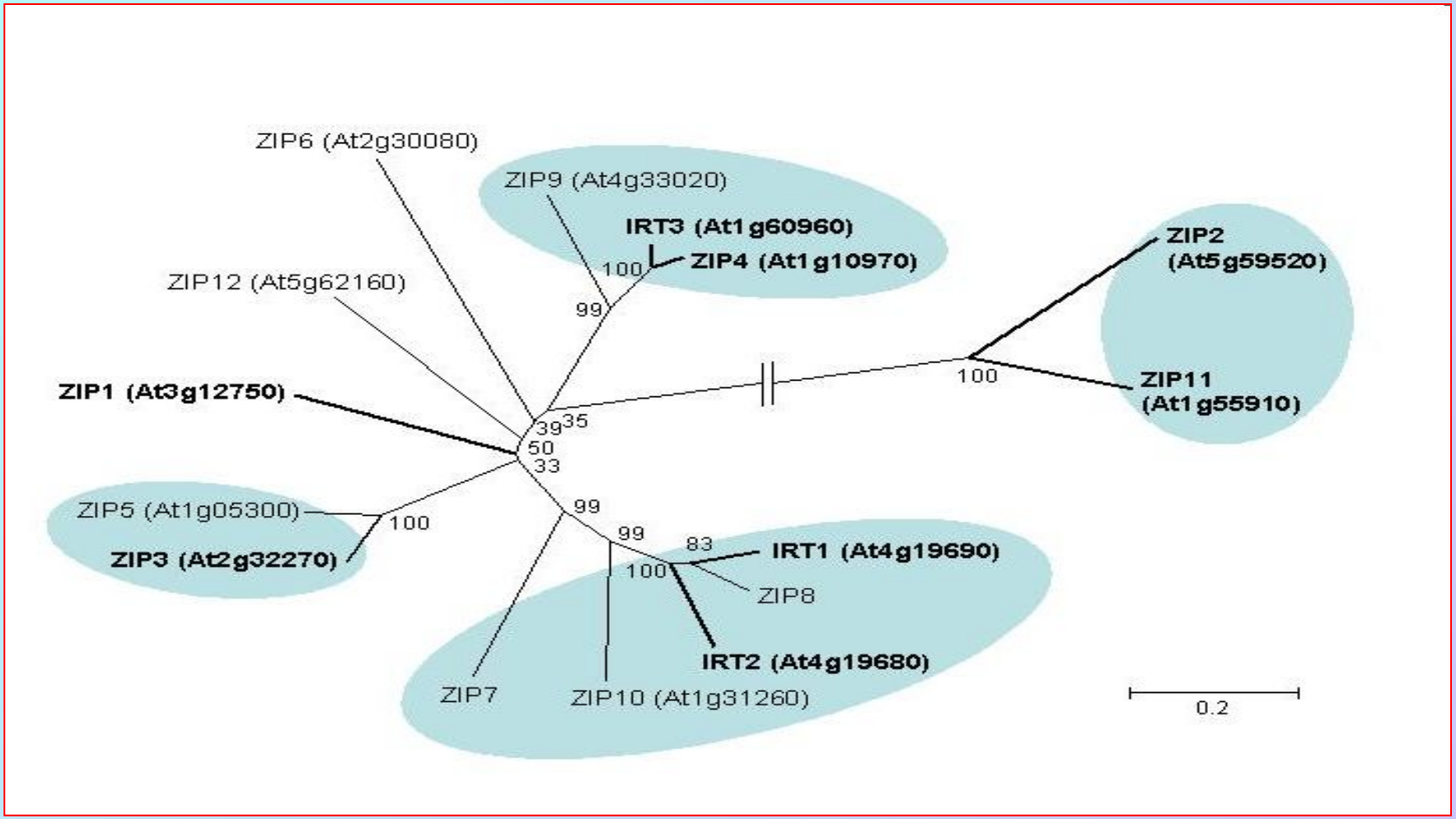
Катион/протон антипортеры, обнаруженные у *Arabidopsis*

Family	Gene Name	AGI Genome Codes	Residues	Topology	Substrate	Cellular Location
CaCA	CAX1	At2g38170	459	9–11 TM	Ca^{2+}/H^{+}	EM
	CAX2	At3g13320	439	7–11 TM	Cd 2+, Ca2+, Mn2+/H+	VM
	CAX3/HCX1	At3g51860	448	8–10 TM	–	?
	CAX7	At5g17860	570	9–15 TM	–	?
	MHX1	At2g47600	539	10 TM	Mg2+, Zn2+/H+	VM
CPA1	NHX1	At5g27150	538	12 TM	Na+/H+	VM
	SOS1/NHX7	At2g01980	1,162	12 TM	Na+/H+	VM
	NHX8	At1g14660	697	9 TM	–	PM?
CPA2	CHX6	At1g08140	1,536	24 TM	–	–
	CHX7	At2g28170	617	12 TM	–	–
	CHX17	At4g23700	820	10–13 TM	–	–
	CHX23	At1g05580	1,193	12 TM	–	–
	KEA1	At1g01790	618	10 TM	K+/H+	–
NhaD	NHD2	At1g49810	420	6–10 TM	–	–

Схема строения транспортеров ZIP-семейства



«Дерево» ZIP-транспортеров *A. tailana*



Семейство ZIP-транспортеров (Zinc and Iron regulated transporter Proteins) – транспортеры металлов, могут транспортировать различные катионы, включая Cd, Fe, Mn и Zn

ABC-транспортеры

Транспортные белки, которые используют энергию гидролиза АТФ для транспорта через мембраны самых разных химических агентов

Представлены у всех организмов.

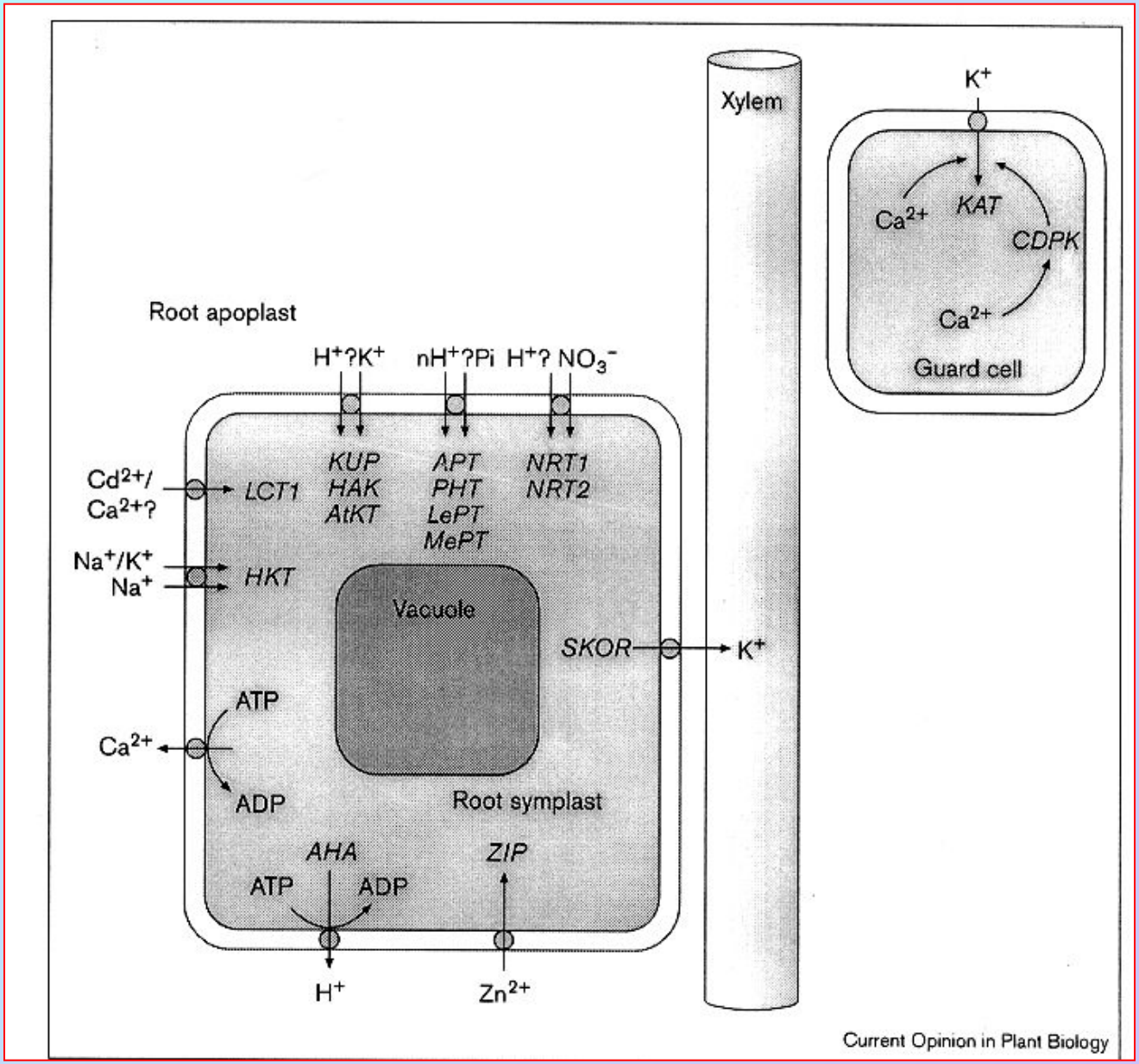
Очень многочисленное семейство:

Арабидопсис : 131 различных белков

3 основных мультисемейства:

- **pleiotropic drug resistance (PDR),**
- **multidrug resistance (MDR),**
- **multidrug resistance-associated protein (MRP)**

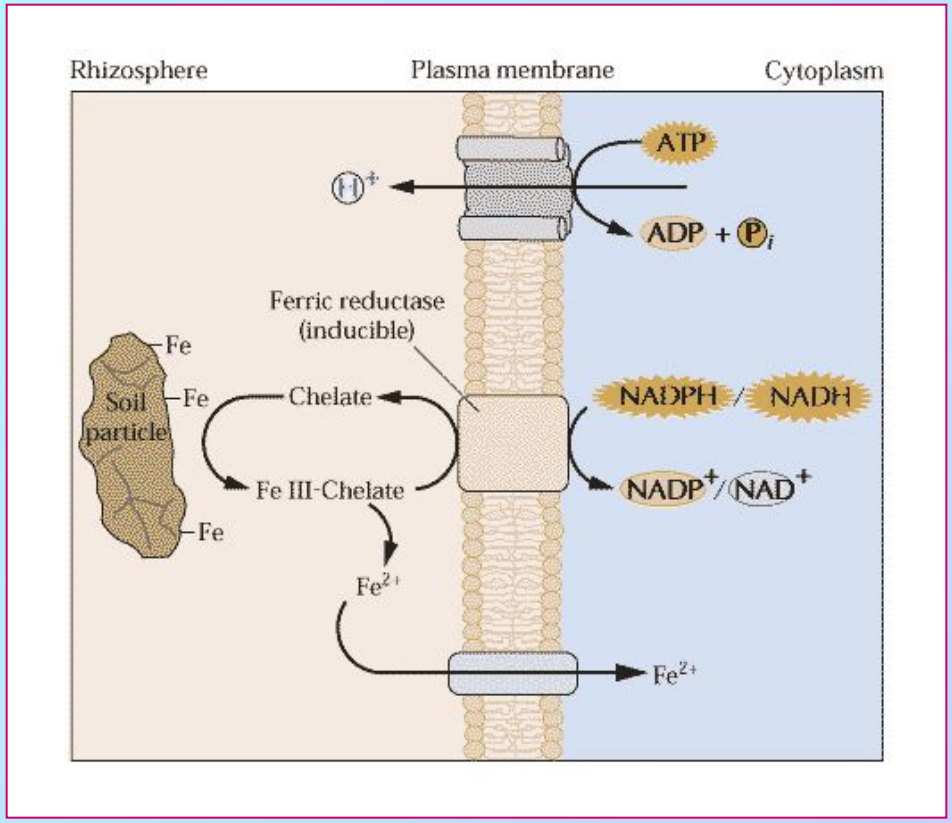
Схема транспортных систем клеток корня

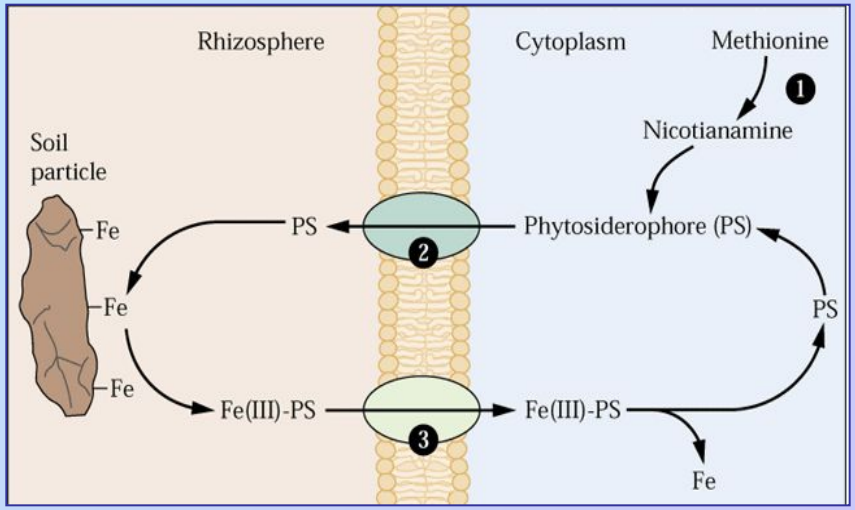


Две стратегии поглощения железа растениями

Стратегия I: двудольные, незлаковые однодольные, а также дрожжи

Стратегия II - злаки, а также грибы и бактерии

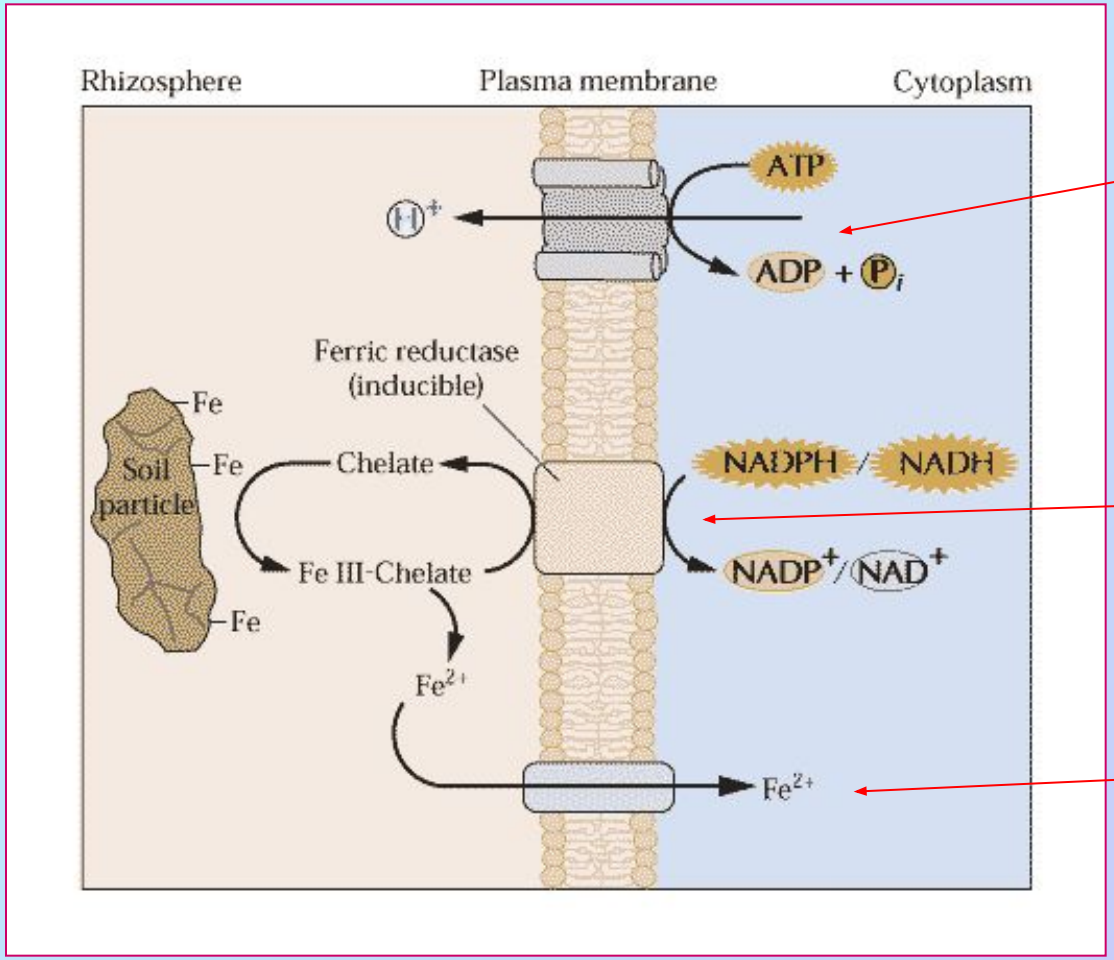




Стратегия I.

Морфологические отличия: **много боковых корней, специальные транспортные клетки**

Биохимические особенности: **активный выброс H^+, секреция фенольных и органических кислот, индуцибельная Fe(III) – редуктаза в плазмалемме**



Активация H-АТФазы плазмалеммы

Fe^{3+} восстанавливается, расположенной на ПМ **Fe^{3+} хелат-редуктазой** (FRO2 феррик редуктаза)

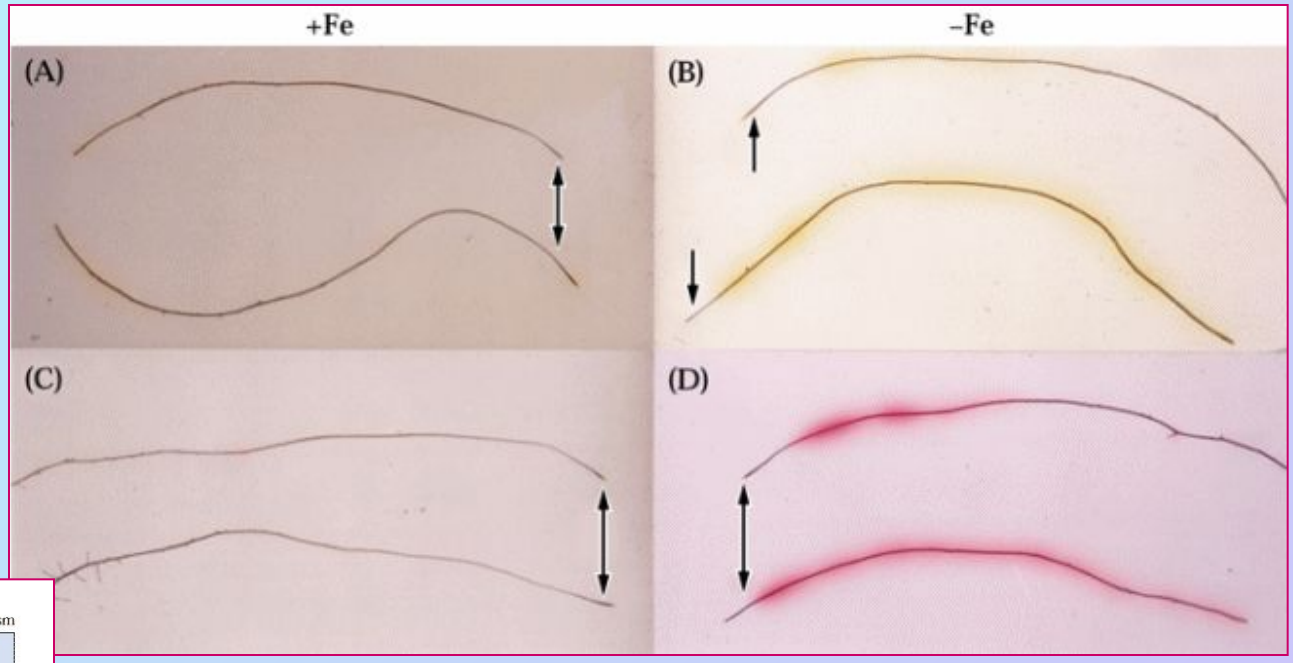
(Fe^{2+}) переносится через мембрану специфическим **Fe^{2+} транспортером – IRT1**

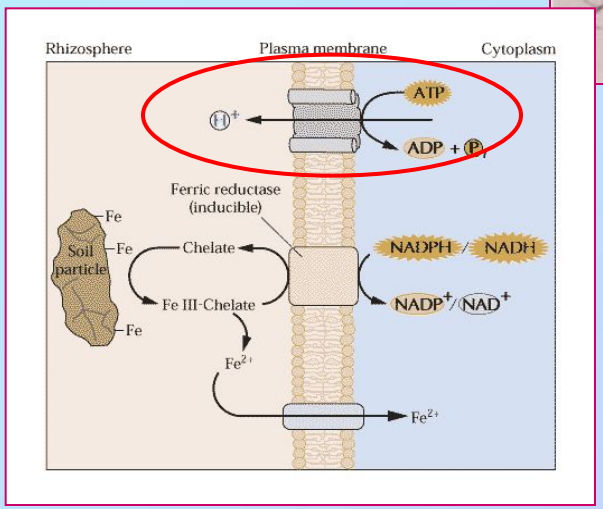
Восстановление Fe(III) и Cu(II) вдоль поверхности первичных боковых корней 14-дневных растений гороха.

Регистрация подкисления

Fe(III)

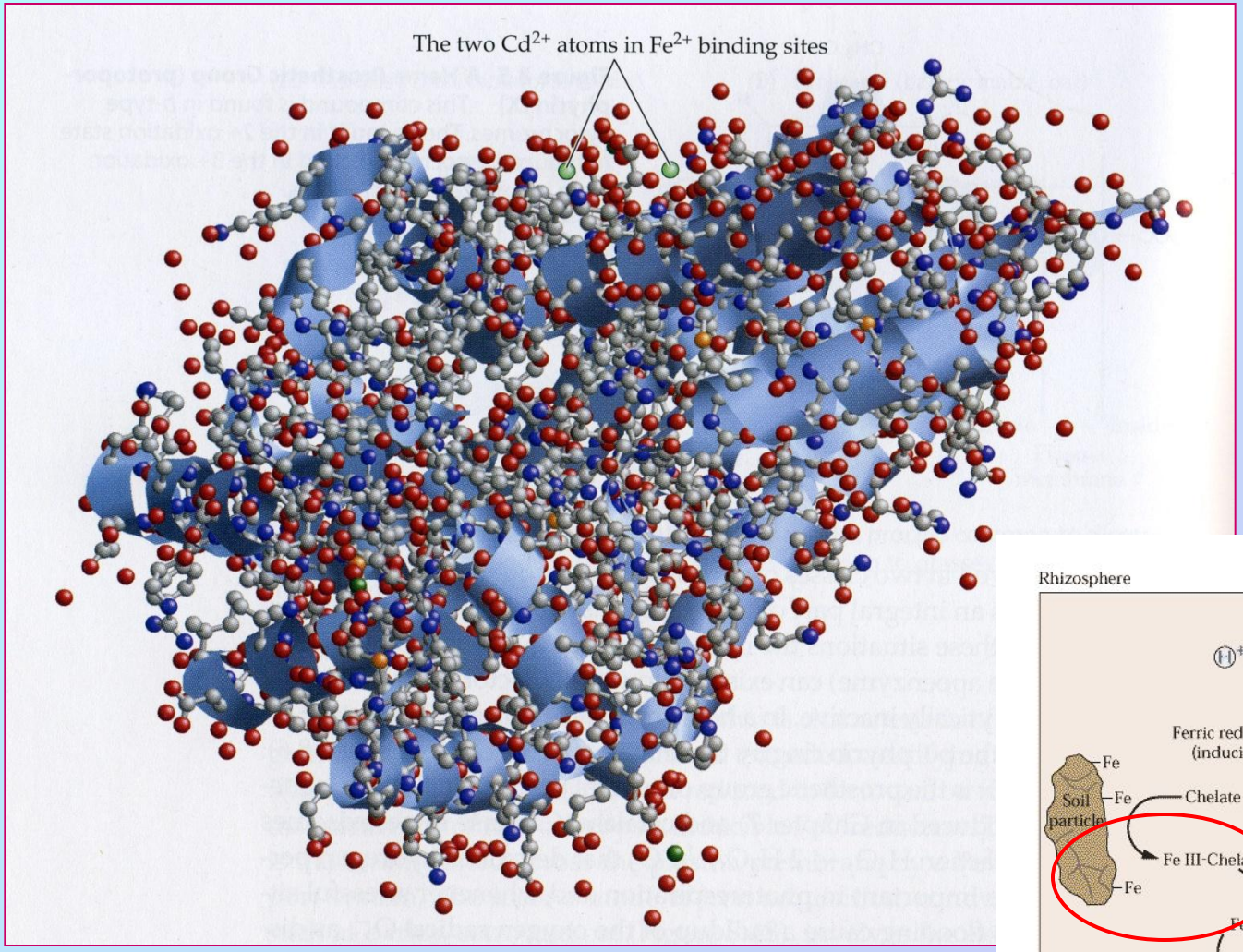
Cu(II)

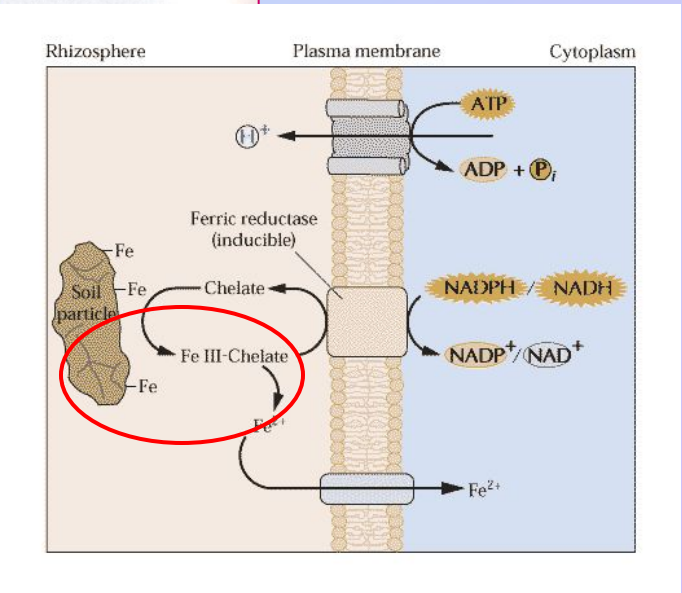




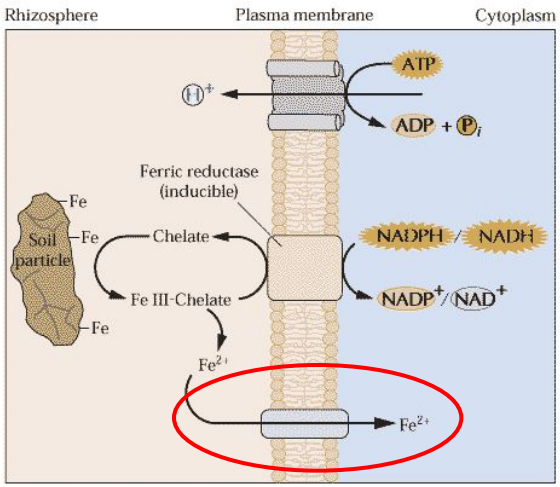
Усиление при дефиците железа

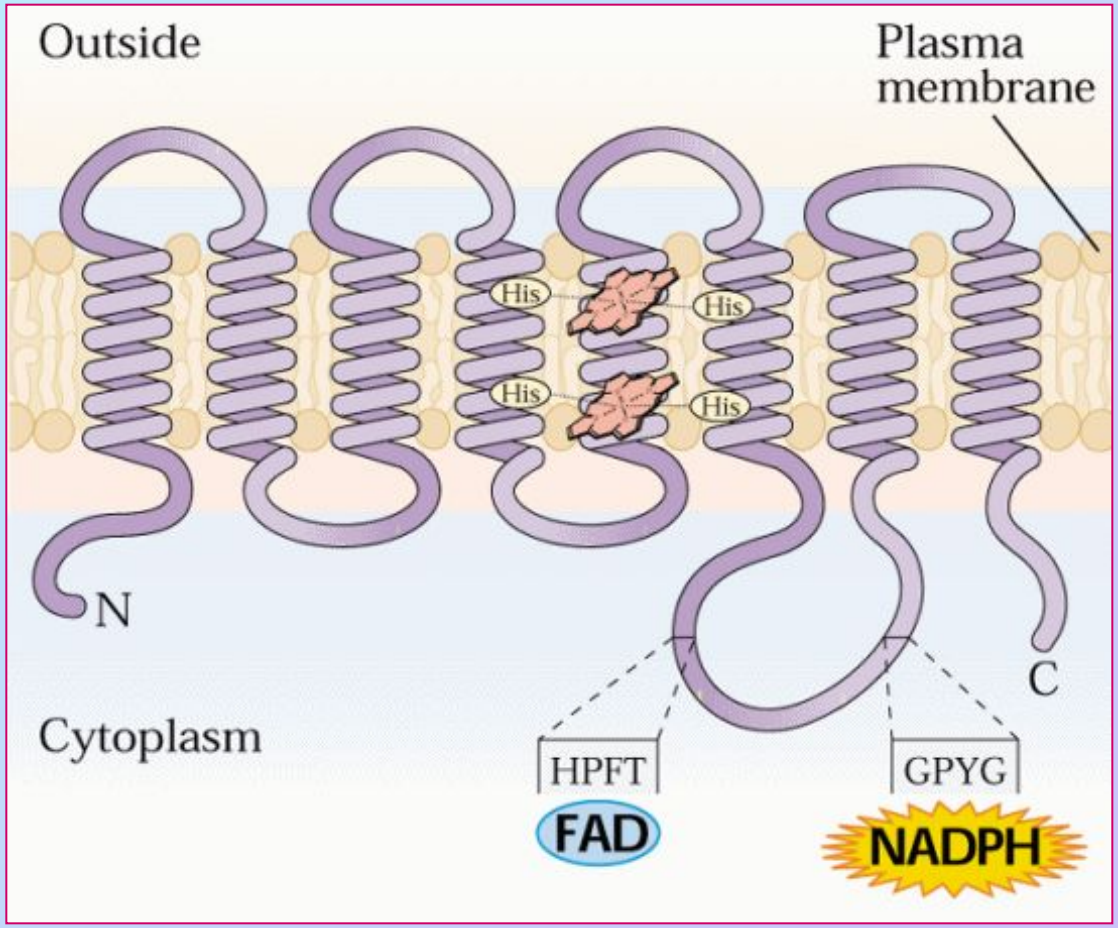
Феррохелатаза



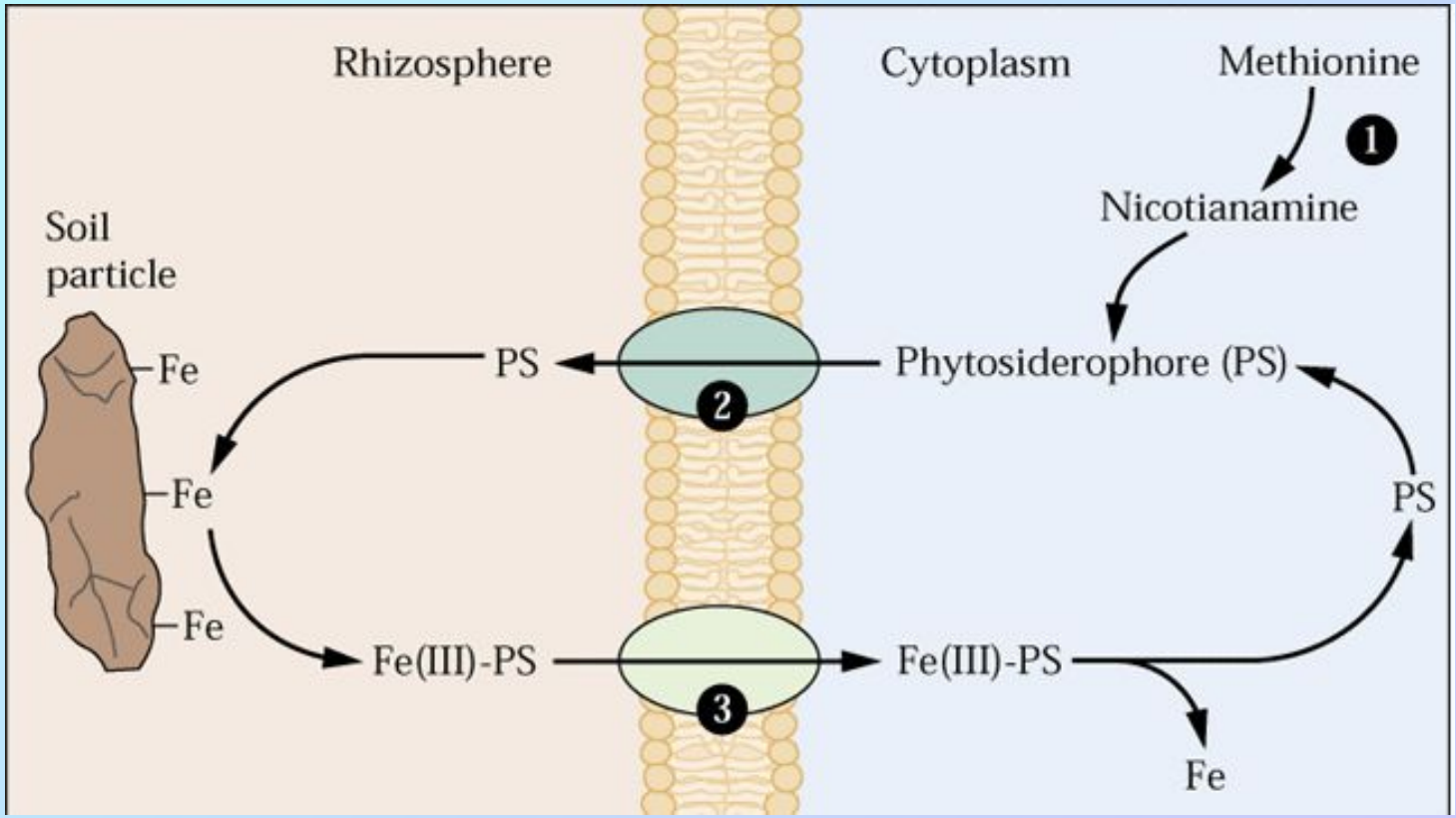


Предполагаемая структура белка FRO2 феррик редуктазы плазмалеммы арабидопсис



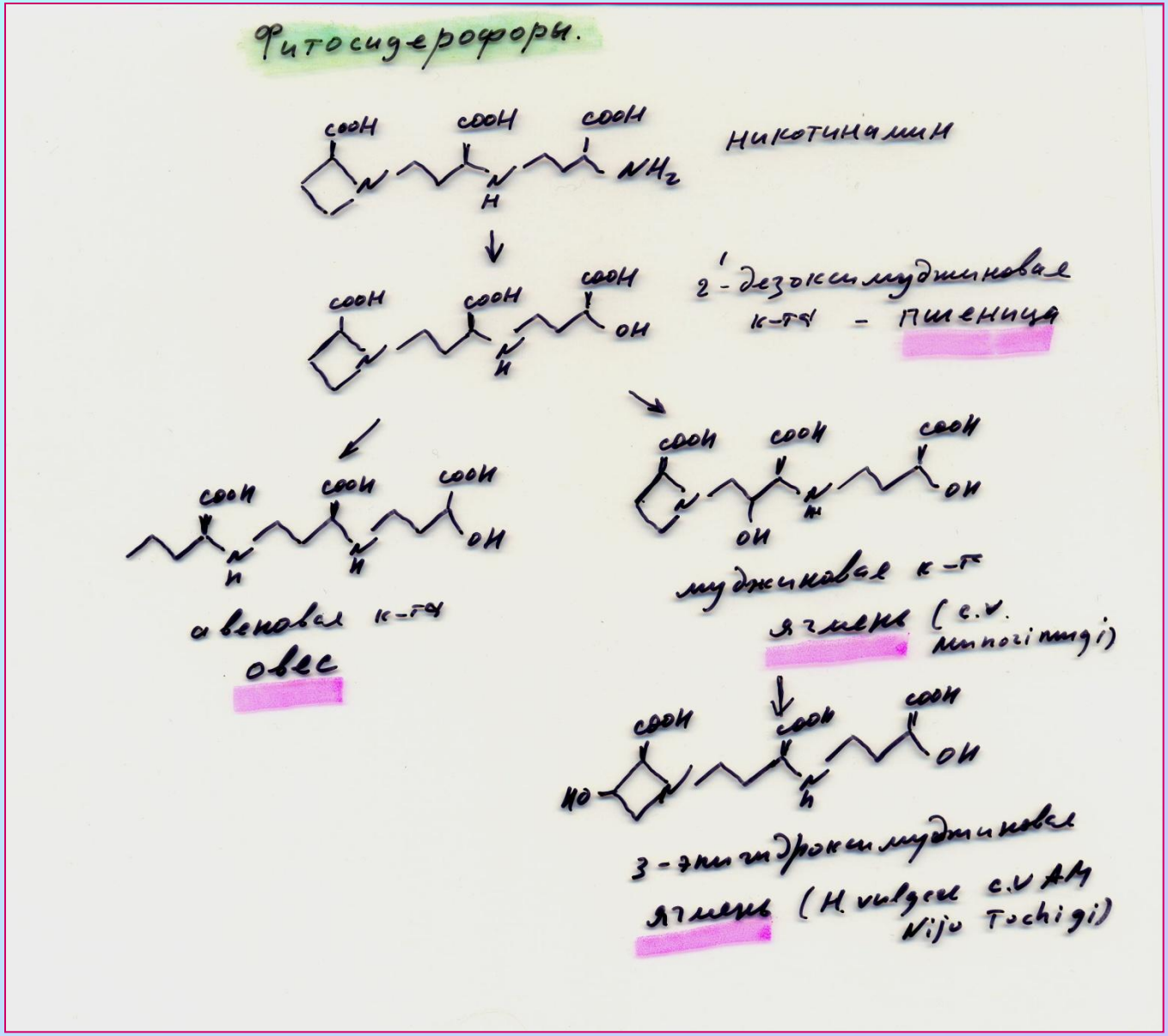
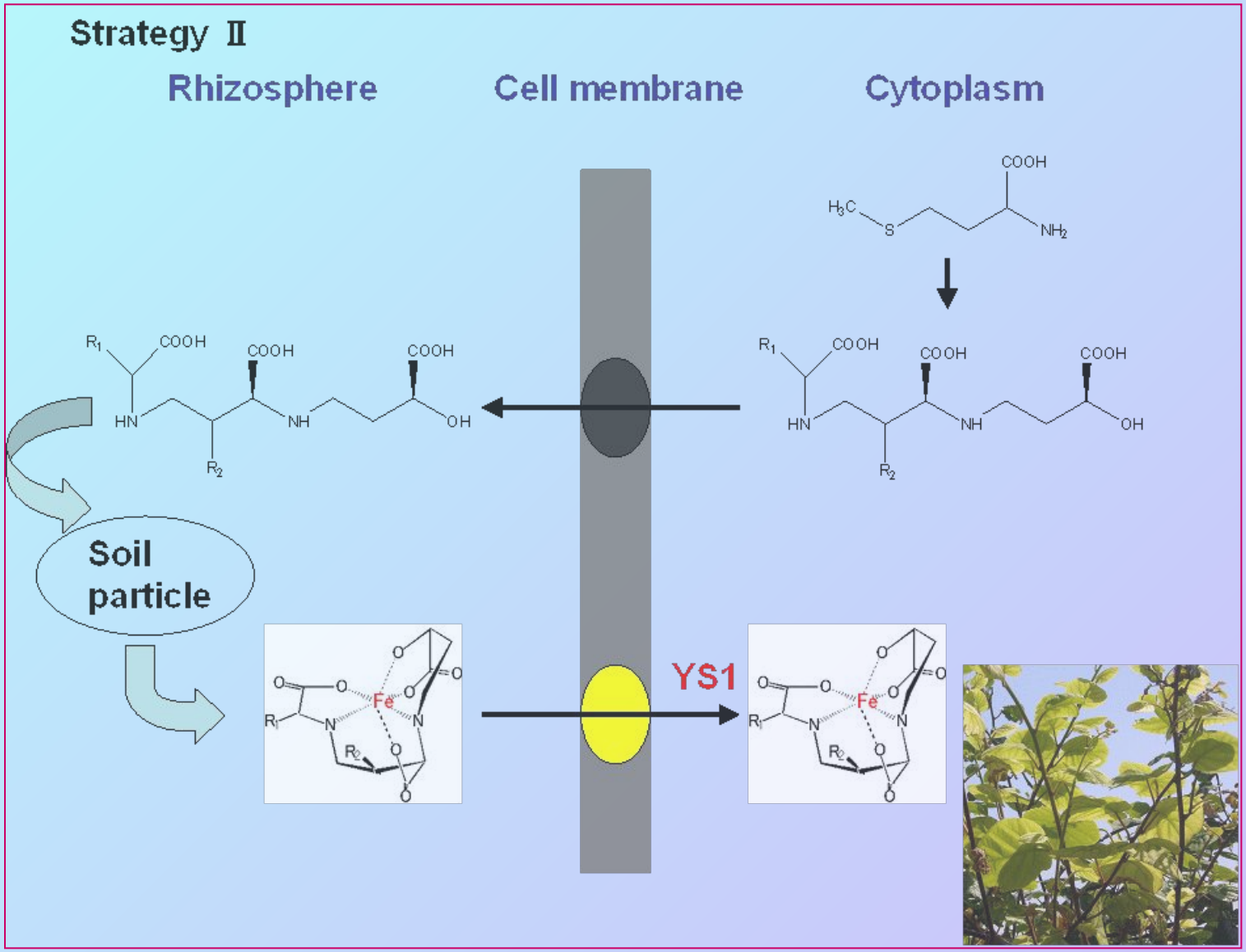


Стратегия II, обеспечивает поглощение Fe, за счет образования специальных хелатирующих соединений – фитосидерофоров.



Фитосидерофоры – низкомолекулярные соединения (часто - небелковые аминокислоты – никотинамин), синтезирующиеся из метионина и содержащие три карбоксила, за счет которых и хелатируют железо.

Структура фитосидерофоров



Работа фитосидерофоров