Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů

Karolína Duchoňová

Membránové extenze organel rostlinných buněk

Membrane extensions of plant cell organelles

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Kateřina Schwarzerová, Ph.D.

Praha, 2025

Poděkování

Ráda bych poděkovala RNDr. Kateřině Schwarzerové, PhD. za vedení práce, odborné rady, pomoc, a milý a vstřícný přístup. Dále děkuji rodině, přátelům a příteli za trpělivost a podporu při psaní práce. V neposlední řadě děkuji svému playlistu starého československého popu, který mi dělal společnost při probdělých nocích.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 30.4.2025

Karolína Duchoňová

Abstrakt

Membránové extenze organel jsou tubulární výběžky vystupující z hlavního těla organely. Jsou známé desítky let, ale až s vývojem mikroskopie bylo umožněno je důkladně zkoumat. V rostlinných buňkách byly zatím objeveny u tří organel – plastidů, mitochondrií a peroxisomů. O plastidových extenzích (stromulech) toho bylo zatím zjištěno nejvíce, byly objeveny první. O dalších dvou, matrixulů u mitochondrií a peroxulů u peroxisomů, toho bylo zjištěno méně, ale výzkum všech typů extenzí stále probíhá a postupně se dostává do většího povědomí. Cílem této práce bylo provést rešerši publikovaných článků o membránových extenzích organel rostlinných buněk a sepsat poznatky, které o nich byly do této doby publikovány. První část práce se věnuje popisu membrán a membránových organel jako takových, další tři části jsou každá zaměřena na jeden typ extenzí, jeho vznik, význam pro rostlinu a důležité proteiny, které ovlivňují jednu z těchto sfér.

Klíčová slova: membrána. membránové extenze, organely, peroxisomy, mitochondrie, plastidy, peroxuly, matrixuly, stromuly, rostlinná buňka

Abstract

Membrane extensions of organelles are tubular protrusions emerging from the main body of an organelle. They have been known for decades, but only with advances in microscopy has it become possible to study them in detail. In plant cells, they have so far been discovered in three types of organelles – plastids, mitochondria, and peroxisomes. Among these, the plastid extensions (stromules) are the most extensively studied, as they were discovered first. The other two types, matrixules in mitochondria and peroxules in peroxisomes, are less understood, but research into all types of extensions is ongoing and gradually attracting more scientific attention. The aim of this thesis was to conduct a literature review of published articles on membrane extensions of organelles in plant cells and to summarize the findings available to date. The first part of the thesis focuses on describing membranes and membrane-bound organelles in general, while the following three sections each address one type of extension, its formation, its significance for the plant, and important proteins involved in regulating one of these aspects.

Key words: membrane, membrane extensions, organelles, peroxisomes, mitochondria, plastids, peroxules, matrixules, stromules, plant cell

Obsah

1. Úvod ... 1
2. Membrány a membránové organely ... 1
2.1. Membrány ... 2
2.2. Membránové organely rostlinných buněk ... 3
3. Membránové extenze organel rostlinných buněk ... 7
3.1. Tvary organel a jejich rozdíly oproti membránovým extenzím ... 7
4. Stromuly ... 9
4.1. Vznik stromulů ... 9
4.1.1. Stromuly jako důsledek stresu ... 9
4.1.2. Tvorba stromulů závislá na cytoskeletu ... 10
4.1.3. Vznik stromulů v závislosti na ER ... 11
4.1.4. Vliv sacharidů na vznik stromulů ... 11
4.1.5. Vliv vnitřního uspořádání buňky na vznik stromulů ... 12
4.1.6. Vznik stromulů změnou redoxního potenciálu plastidu ... 12
4.1.7. Vznik stromulů jako důsledek protein crowdingu ... 13
4.2. Význam stromulů ... 13
4.2.1. Role stromulů při stresu a jejich interakce s jádrem ... 13
4.2.2. Role stromulů v plastidové komunikaci ... 14
4.2.3. Vliv stromulů na dělení plastidů ... 14
4.2.4. Role stromulů v plastidové interkonverzi ... 15
4.2.5. Další role stromulů v rostlinné buňce ... 15
4.3. Proteiny spojené se stromuly ... 16
5. Matrixuly ... 17
5.1. Vznik matrixulů ... 18
5.2. Význam matrixulů ... 19
6. Peroxuly ... 19
6.1. Vznik peroxulů ... 19
6.2. Význam peroxulů ... 20
7. Závěr ... 22
Seznam použité literatury ... 23

Seznam zkratek

µm	mikrometr	micrometer
acyl-CoA	acylkoenzym A	Acyl coenzyme A
ADP	adenosindifosfát	Adenosine diphosphate
ARC3/6		Accumulation and Replication of Chloroplasts 3/6
ATP	adenosintrifosfát	adenosine triphosphate
DBMIB		2,5-dibromo-3-methyl-6-isopropylbenzoquinone
DCMU		3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea
DGDG	digalaktosyldiacylglycerol	digalactosyldiacylglycerol
DNA	deoxyribonukleová kyselina	deoxyribonucleic acid
DRP3A/B		dynamin-Related Protein 3A/3B
ELM1		Elongated mitochondria 1
ER	endoplazmatické retikulum	Endoplasmic reticulum
ETI	efektorem vyvolaná imunita	Effector-triggered immunity
FADH2	riboflavinadenosindifosfát	Flavin adenine dinucleotide (reduced)
GA	Golgiho aparát	Golgi apparatus
GAP	glyceraldehyde-3-phosphate	Glyceraldehyde-3-phosphate
GFP	zelený fluorescenční protein	Green fluorescent protein
GTP	guanosintrifosfát	Guanosine triphosphate
CHUP1	Chloroplast unusual positioning 1	Chloroplast unusual positioning 1
IAA	kyselina indol-3-octová	Indole-3-acetic acid
JA	kyselina jasmínová	Jasmonic acid
kDa	kilodalton	kilodalton

KIS1	Kinase-Induced Signaling protein 1	Kinase-Induced Signaling protein 1
LACS9	Long-chain acyl-CoA synthetase 9	Long-chain acyl-CoA synthetase 9
LD	tuková kapénka	lipid droplet
MCS	Membránoví kontaktní místa	membrane contact sites
MGDG	monogalaktosyldiacylglycerol	monogalactosyldiacylglycerol
MK	mastné kyseliny	fatty acids
MVBs	multivesikulární tělíska	multivesicular bodies
NADH	nikotinamidadenindinukleotid	nicotinamide adenine dinucleotide (reduced)
NADP	nikotinamidadenindinukleotidfosfát	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát (redukovaná forma)	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced)
NLR		Nucleotide-binding Leucine-rich Repeat
NRIP1		N receptor-interacting protein 1
PAMPs		Pathogen-Associated Molecular Patterns
PARC6		PARalog of ARC6
PCD	programovaní buněčná smrt	programmed cell death
PNC	perinukleární shlukování	perinuclear clustering
PQ	plastochinon	plastoquinone
PSI	Fotosystém I	Photosystem I
PSII	Fotosystém II	Photosystem II
PTI	Patogenem vyvolaná imunita	Pathogen-triggered immunity
RBOH		Respiratory Burst Oxidase Homologs
RCB		RuBisCO containing bodies

RNA	ribonukleová kyselina	ribonucleic acid
RNS	reactive nitrogen species	reactive nitrogen species
ROS	reactive oxygen species	reactive oxygen species
rRNA	ribosomální RNA	ribosomal RNA
RRS		Resistance-related signaling
RSS	reactive sulfur species	reactive sulfur species
RuBisCO	Ribulóza-1,5-bisfosfátkarboxyláza/oxygenáza	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase
RuBP	Ribulóza-1,5-bisfosfát	Ribulose-1,5-bisphosphate
SA	kyselina salicylová	salicylic acid
SDP1		Sugar-Dependent 1
SEP	senzorocký epidermální plastid	Sensory epidermal plastid
TGA		Triacylglycerol
TGN		Trans-Golgi Network
TOC		Translocon at the Outer Chloroplast membrane
tRNA	transferová RNA	transfer RNA
UV	ultrafialové	ultraviolet
WT		Wild type

1. Úvod

Membránové extenze organel jsou dynamické tubulární extenze vycházející z hlavní organely (J. C. Gray et al., 2001) a jsou pozorovány již desítky let, schopnost jejich vizualizace se ale zásadně zlepšila s rozvojem mikroskopie a dalších molekulárně-biologických metod. Mnoho poznatků o jejich vzniku i fungování je stále nepotvrzených, nebo čistě hypotetických. Prvními organelami, u kterých byly pozorovány, jsou plastidy. Extenze, které dostaly název stromuly, jsou výběžky obou plastidových membrán obepínající jejich stroma (J. C. Gray et al., 2001). Od 90. let 20. století dochází k jejich poměrně extenzívnímu zkoumání. Bylo objeveno několik způsobů jejich vzniku, od reakcí na vnější a vnitřní vlivy, až po čistě mechanickou cestu. Zapojují se do buněčné imunity, signalizace, senescence, i do buněčného dělení (Kwok & Hanson, 2003).

Extenze byly pozorovány i u mitochondrií a peroxisomů. Byly pojmenovány matrixuly, respektive peroxuly, na základě jejich morfologické podoby s původně objevenými stromuly. I ony se staly předmětem výzkumu, není však tak rozsáhlý jako u stromulů a je o nich značně menší množství informací. Navzdory tomu existují informace o mechanismech jejich vzniku, i o jejich zapojení do buněčných procesů. Některé z jejich schopností (např. schopnost přenosu signálních molekul) se shodují se stromuly, mají ale i svá specifika – například regulace kyslíkových radikálů tvořících se v jiných organelách během stresových reakcí (Mathur et al., 2012).

Tato bakalářská práce je zaměřena na rešerši dosud publikovaných článků o všech třech typech membránových extenzí a jejich ucelenému a komplexnímu popisu ze získaných informací.

2. Membrány a membránové organely

Membránové organely jsou hlavními komponenty eukaryotických buněk. Jejich role je nepostradatelná, zajišťují velké množství buněčných procesů, bez kterých by buňka nepřežila. Každá z nich má funkci jasně definovanou a odlišnou od jiných organel, může se lehce měnit i funkce tentýž organely skrze organismus v rozdílných typech buněk. Mění se i typy organel v rozdílných eukaryotech – v rostlinách najdeme oproti živočichům několik jiných organel, které plní specifickou funkci. Jedná se například o plastidy, které plní širokou škálu funkcí podle svého typu – v chloroplastech probíhá fotosyntéza, v amyloplastech se tvoří škrobová zrna apod.; nebo o vakuolu, která slouží, mimo jiné, jako místo regulace osmotických dějů, nebo

iontové rovnováhy. Stejně tak mají své odlišnosti např. i protista nebo houby. Společným znakem membránových organel je, jak již název napovídá, jejich obalení membránami, které jejich obsah oddělují od okolní cytoplazmy. Není to zcela přesná definice, organely se mezi sebou liší vznikem, obaly, nebo genetickou informací, pro potřeby této práce je však toto základní vymezení dostačující. I buňka jako taková je ohraničena plazmatickou membránu, která udržuje její tvar a stabilní vnitřní prostředí cytosolu.

2.1. Membrány

Membrány jsou tvořeny lipidovou dvouvrstvou propojenou zejména nekovalentními vazbami, do které jsou po celém povrchu zabudovány proteiny zajišťující mezibuněčnou komunikaci a transport. Lipidy jsou molekuly amfipatické, což znamená, že se skládají z hydrofobní a hydrofilní části. Hydrofobní je tzv. „ocásek“ tvořený nepolárními mastnými kyselinami, hydrofilní „hlavička“ je tvořena polárními skupinami (např. sacharidy, fosfátovými nebo alkoholovými skupinami) (Alberts et al., 2002). Základní tři třídy lipidů, které se vyskytují v živočišných i rostlinných buňkách jsou stejné – jedná se o glykolipidy, sfingolipidy a steroly. Jejich rozložení je u obou skupin rozdílné, stejně tak i některé jejich funkce (Creative Proteomics, 2025; Reszczyńska & Hanaka, 2020).

Valná většina membránových lipidů se skládá z již zmíněných mastných kyselin a polární skupiny, liší se však dalšími molekulami a variantami dříve zmíněných základních složek. Jedna z nejzásadnějších změn je typ sacharidové složky glyko- a sfingolipidů. Glycerol vyskytující se u glykolipidů je u sfingolipidů vyměněn za sfingosin. Rozdíly jsou patrné nejen mezi jednotlivými třídami lipidů, ale i mezi organismy, ve kterých se vyskytují (Creative Proteomics, 2025).

Rostlinné lipidy se obecně vyznačují větším podílem nenasycených mastných kyselin, včetně esenciálních omega-3 a omega-6, což vede k větší fluiditě a flexibilitě membrán. Nachází se v nich fytosteroly (např. sitosterol, campesterol; celkem jich je kolem 250), které kromě toho, že ovlivňují membrány, hrají roli v rostlinné imunitě. Hlavním glykolipidem u rostlin je triacylglycerol (TAG), který slouží jako hlavní úložiště energie, významné zejména u klíčení. Vyskytují se u nich i fosfolipidy obsahující fosfátovou skupinu a jejich hydrofilní skupina se skrze jednotlivé sfingolipidy mění. Velmi důležité jsou galaktolipidy (zejména MGDG a DGDG), vyskytující se v thylakoidních membránách chloroplastů, kde pomáhají správnému fungování fotosyntetického aparátu. Lipidy pravděpodobně přispívají i k formaci

stromulů, membránových extenzí plastidů, které jsou jedním z hlavních témat této práce (Creative Proteomics, 2025; Reszczyńska & Hanaka, 2020).

Naopak živočišné lipidy mají větší podíl nasycených MK, které jejich membránu dělají pevnější. Hlavním živočišným sterolem je cholesterol, opět ovlivňující fluiditu membrán, ale zároveň sloužící jako prekursor pro vitamin D, steroidní hormony (testosteron, estrogen, kortizol) atd. V živočišných buňkách se vyskytují ve velké míře glykosfosfolipidy obsahující fosfátovou skupinu, ovlivňující mimo jiné i buněčnou signalizaci a vezikulární transport. Sfingolipidy figurují zejména v buňkách nervového systému (Creative Proteomics, 2025).

2.2. Membránové organely rostlinných buněk

Membránové organely jsou doménou eukaryotických buněk. Většina jich je společná všem těmto eukaryotům, ale některé skupiny mají své specializované organely, které se u ostatních nevyskytují. Jelikož je tato práce zaměřena na rostlinné buňky, budou tímto směrem mířeny tato i další kapitoly.

Základní buněčnou organelou je jádro obsahující genetickou informaci ve formě chromozomů, které zároveň slouží jako kontrolní centrum buňky. Probíhá v něm většina zpracování genetické informace (replikace a transkripce DNA, úprava RNA). Jaderný obal je prostoupen jadernými póry, které řídí transport molekul mezi jádrem a cytoplasmou a tvořen dvěma membránami – vnější a vnitřní, přičemž vnější membrána je propojena s membránou endoplazmatického retikula (ER) (Cooper, 2000c).

Endoplazmatické retikulum je síť cisteren a tubulů prostupující celou buňkou. Kromě cisteren a tubulů se ještě na hladké a drsné ER, které se liší přítomností ribozomů na membráně drsného ER. Jeho hlavní úlohou je syntéza proteinů na ribozomech, udržování zásobních poolů Ca^{2+}, nebo účast v metabolismu proteinů, lipidů atd. Hraje zásadní roli v sekrečních drahách, kdy ve spolupráci s Golgiho aparátem (GA) řídí transport molekul mezi jednotlivými buněčnými kompartmenty (Cooper, 2000b).

Golgiho aparát je organela složená z několika zploštělých cisteren. V buňkách se vyskytuje v různých počtech, od několika organel v živočišných po několik stovek v rostlinných buňkách. GA má polární strukturu, kdy na cis-straně interaguje s ER (transport molekul z ER do GA) a na trans-straně dochází k oddělování váčků. Mezi těmito póly se nachází mediální cisterny, ve kterých dochází k syntéze polysacharidů a modifikaci a transportu proteinů a lipidů (Hauri & Schweizer, 1992; Hua & Graham, 2013).

Membránovou organelou, která, mimo jiné, funguje v přímé návaznosti na GA a zapojuje se do sekrečních drah, je endosom. Endosomy jsou dynamické organely, jejichž primární funkcí je transport, třídění a recyklace molekul. Transport molekul probíhá mezi GA a plazmatickou membránou či vakuolou. (Otegui & Reyes, 2010). V eukaryotických buňkách obecně je jich několik typů, na které se rozlišují podle své základní funkce: časný, recyklující, střední a pozdní. Všechny tyto typy jsou zároveň stádii maturace – časný a recyklující endosom postupem času přejde do středního a pozdního endosomu (Munksgaard et al., 2008). V rostlinných buňkách se rozdělení endosomů od ostatních eukaryot liší. Funkce časného endosomu je přesunuta do TGN (trans-golgi network, poslední cisterny GA na jeho trans straně), kde dochází k primárnímu třídění molekul putujících z GA. Dále jsou již roztříděné molekuly transportovány do středního a pozdního endosomu, které jsou souhrnně nazývány MVBs (multi-vesicular bodies) a transportují náklad na místo jeho určení (Contento & Bassham, b.r.; González Solís et al., 2022; Otegui & Reyes, 2010). Endosomy hrají významnou roli v endocytóze – pohlcení vnějšího obsahu buňkou, včetně vlastní plazmatické membrány. Transportují syntetizované lipidy a proteiny z ER-GA do membrán (např. plazmatické membrány nebo tonoplast), nebo je naopak přes MVBs recyklují zpět do TGN. Endosomy se podílejí i na buněčné signalizaci, nebo na degradaci proteinů, které transportují do vakuoly, kde dochází k jejich hydrolýze (Contento & Bassham, b.r.; Otegui & Reyes, 2010).

Specializovanou organelou rostlin, která se, kromě nich, vyskytuje i u hub a prvoků, je vakuola. Je obalena jednou membránou (tonoplast), která umožňuje vakuole se během života několikanásobně zvětšit. Centrální vakuola buňky může zaujímat až 95 % jejího objemu (British Society for Cell Biology, 2025). Vakuolárních funkcí je mnoho. Díky tomu, že prakticky veškerý její obsah je tvořený vodou, hraje důležitou roli v osmotických dějích a udržování turgoru buňky. Zároveň reguluje cytosolické pH a pomáhá udržet iontovou homeostázi (Andreev, 2001). Vakuoly slouží jako úložiště jednak pro odpadní látky, ale i pro ty potřebné (např. proteiny a lipidy). Vzhledem k absenci lysozomů v rostlinných buňkách jejich funkci zastupují právě vakuoly, které jsou schopné degradovat složité produkty na jednodušší díky svému kyselému pH (5,0) (British Society for Cell Biology, 2025).

Organelami, u kterých bylo jako u prvních dokázáno, že tvoří membránové extenze, a zároveň je tento fenomén nejvíce prozkoumán, jsou plastidy. Jsou obaleny dvěma membránami a u vyšších rostlin jich existuje několik typů, které se liší podle funkce i struktury, všechny ale pocházejí z proplastidu, malé nediferencované organely (Cooper, 2000a). Zásobním typem jsou leukoplasty, nepigmentované plastidy v nefotosyntetizujících pletivech ukládající energetické

molekuly. Jejich subtypy tvoří amyloplasty (zásobárna škrobu) a elaioplasty (zásobárna lipidů). Plastidy obsahující pigmentové molekuly jsou chromoplasty, obsahující zejména karotenoidy, které dávají některým rostlinám charakteristické zbarvení různých orgánů, a chloroplasty, které jsou zásadní při rostlinném energetickém metabolismu (Cooper, 2000a; Ján Hudák, 2010). Chloroplasty jsou v určitých aspektech podobné mitochondriím – nejen z pohledu obalových membrán, ale obě organely také vznikly endosymbiózou. U chloroplastů došlo v evoluci k pohlcení fotosyntetické heterotrofní bakterie eukaryotickou buňkou. Hlavním procesem, ke kterému v chloroplastech dochází, a který probíhá zejména v zelených listech, je fotosyntéza. Dochází k ní na thylakoidních membránách, které jsou specializovanou membránou chloroplastů. Jsou tvořeny zploštělými disky, které se při vzájemném seskupení nazývají grana, naopak prostor uvnitř thylakoidních membrán je lumen (Cooper, 2000b). Při fotosyntéze dochází k přeměně sluneční energie na chemickou. Je rozdělena na 2 fáze – světelnou a temnostní. Při světelné fázi dochází k zachycení fotonu na PSII (fotosystém II – proteinový komplex, součást elektrotransportního řetězce) obsahujícím chlorofyl (fotosyntetický pigment zachycující světelné záření (Jin et al., 2011)) (Johnson, 2016), kde oxiduje H_2O na O_2. Elektrony získané touto reakcí jsou přes plastochinol (plastochinon (PQ) + H_2) přeneseny na cytochrom b6f, další z proteinových komplexů fotosyntetického řetězce a plastochinol je oxidován zpět na plastochinon. Elektrony dále putují přes plastocyanin (nacházející se v lumen) až na PSI, kde dochází k redukci ferredoxinu (další elektronový přenašeč), který je využit ferredoxin-$NADP^+$ reduktázou k tvorbě NADPH. Elektronový přenos vede k tvorbě protonového gradientu na thylakoidních membránách. Je využit k syntéze ATP pomocí ATP-syntázy, která probíhá obdobně jako u mitochondrií. K temnostní fázi fotosyntézy dochází ve stroma chloroplastů, kde běží Calvin-Bensonův cyklus (Johnson, 2016). V něm dochází k využití ATP a NADPH, které byly vytvořeny při světelné fázi, a CO_2, enzymu RuBisCO a RuBP. Má tři základní fáze – fixaci, redukci a regeneraci. V první fázi dochází pomocí RuBisCO k fixaci uhlíku z CO_2 do 6C sacharidu, který je následně přeměněn na dva 3C sacharidy – 3-fosfoglycerát. Ty jsou pomocí ATP přeměněny na 2 1,3-bisfosfoglyceráty a pomocí NADPH redukovány na dva glyceraldehyd-3-fosfáty (GAP, opět 3C sacharid). Zároveň dojde k regeneraci přenašečů do původních forem přenašečů (ADP a $NADP^+$). Ze dvou získaných molekul GAP jedna přispívá k tvorbě glukózy, druhá se vrací do Calvinova cyklu jako RuBP (Fowler et al., 2013; Johnson, 2016).

Zvláštním případem chloroplastů jsou etioplasty. Jedná se o stupeň vývoje mezi protoplastem a chloroplastem, se kterým se lze setkat u rostlin, které nemají přístup ke světlu.

Došlo k utvoření thylakoidních membrán, které ale zatím neobsahují chlorofyl. Toto značí, že chloroplasty ke své diferenciaci potřebují nejen specifické geny, ale hraje u nich roli i environmentální složka. Pokud jsou rostliny s etioplasty přesunuty na místo s dostatečným zářením, dochází k dokončení jejich diferenciace na plnohodnotné chloroplasty s chlorofylem (Cooper, 2000a; Ján Hudák, 2010). Chloroplasty prochází specifickou přeměnou i při senescenci listů. Dochází u nich k rozpadu thylakoidní membrán i grana a vzniká tzv. gerontoplast, poslední „životní stádium“ chloroplastu. Nejsou již schopny fotosyntézy, jejich proteiny jsou postupně degradovány a získané aminokyseliny jsou využity v jiných organelách (Hoober, 2007).

Životně důležitou organelou, která je společná všem eukaryotům, je mitochondrie. Je obalena dvěma membránami a má zachovaný vlastní genom, což z ní činí semiautonomní organelu. K jejich vzniku došlo pomocí endosymbiózy, konkrétní proces je však stále předmětem debat. Nejpravděpodobněji došlo k pohlcení alfa-proteobakterie buňkou archeonu po vzájemném symbiotickém soužití (M. W. Gray, 2017). Vlivem této události došlo také k redukci mitochondriálního genomu a přesunu většiny genů do buněčného jádra. Ty, které zůstaly v mitochondriálním genomu, nyní kódují pouze geny pro rRNA, tRNA a některé proteiny potřebné pro následující cykly (Nature Education, 2014). V mitochondriální matrix probíhá citrátový cyklus (Krebsův cyklus), kam vstupuje kyselina citronová a pomocí oxidace acetylu (z acetyl-CoA) dochází k tvorbě NADH a $FADH_2$. Tyto molekuly následně slouží jako donory vodíku pro dýchací řetězec, který probíhá na vnitřní mitochondriální membráně. V mezimembránovém prostoru, kam se vodíky dostávají elektrotransportním řetězcem, který s Krebsovým cyklem běží paralelně, se tvoří H^+ gradient. Vodíky se po koncentračním spádu vrací zpět do matrix skrze ATP-syntázu, kterou svým průtokem „roztáčí“ za vzniku ATP, hlavní energetické molekuly (Abdel-Salam et al., 2018). Celý tento proces se nazývá oxidativní fosforylace (OXPHOS) a rostlinných buňkách se podílí na respiraci. Mitochondrie jsou velmi dynamické organely, které mohou zaujímat různé tvary, od kulovitých až po zcela tubulární, mohou do sebe také fúzovat a následně se oddělovat. Výzkum jejich dynamiky vedl i k objevu tubulárních membránových extenzí vznikajících pouze za určitých podmínek – matrixulů (Logan, 2006). Matrixuly jsou jedním z hlavních témat této práce, bude jim tedy následně věnována její podstatná část.

Důležitými organelami jsou peroxisomy, dynamické sférické organely, které se podílejí na řadě metabolických, obranných a morfologických procesech. V rostlinách se jejich primární funkce liší podle toho, v jakém typu buněk a kde na rostlině se vyskytují (Reumann & Weber,

2006). Jednou z jejich funkcí je β-oxidace mastných kyselin, která, na rozdíl od živočišných buněk, probíhá pouze v peroxisomech. Je nejvýznamnější zejména při klíčení, kdy dochází k transportu TAG z oil bodies do peroxisomů, jeho β-oxidaci a využití jako zdroje energie. Tento konkrétní děj se nazývá glyoxylátový cyklus probíhá ve specializovaném typu peroxisomů – v glyoxysomech. Stejný systém je rostlinou využíván i při senescenci nebo stresových podmínkách, kdy je složité získat energii jinými způsoby (např. fotosynteticky) (Hu et al., 2012). V peroxisomech dochází k syntéze dvou fytohormonů, kyseliny jasmínové (JA) a auxinu v jeho IAA formě. Hrají roli i ve fotorespiraci, na které se podílejí peroxisomy vyskytující se v buňkách listů, ve kterých dochází k oxidaci glykolátu na glyoxylát s H_2O_2 jako meziproduktem. Ten je sice toxický, je ale ihned opět rozštěpen katalázou na kyslík a vodík (Reumann & Weber, 2006), což poukazuje na významnou roli peroxisomů v degradaci reaktivních forem kyslíku (ROS). Dochází zde k degradaci i reaktivních forem jiných prvků – dusíku a síry. I zde bylo objeveno, že jsou peroxisomy schopné tvořit membránové extenze, kterým bude také věnována značná část práce.

3. Membránové extenze organel rostlinných buněk

Buněčné membránové organely jsou velmi dynamické struktury. I přes to, že každá z nich disponuje základním tvarem, ve kterém se vyskytuje při standardních podmínkách, při jejich změně (např. reakce na stresové podněty, buněčné dělení) se tvar může měnit. Často dochází k přechodu z kulovitého tvaru do tubulárního a naopak, nebo k fúzi a opětovnému rozdělení dvou či více původně jednotlivých organel. Bylo zjištěno, že jsou některé organely schopny tvořit membránové extenze – tubulární výběžky membrán, které obsahují lumen (Itoh, 2023; Perico & Sparkes, 2018). Jedná se zejména o plastidy, peroxisomy a mitochondrie, kde jsou v posledních letech významně zkoumány. Některé další organely (např. jádro, nebo vakuoly), jsou extenzí pravděpodobně také schopny, není o nich ale mnoho informací. (Mathur et al., 2012).

3.1. Tvary organel a jejich rozdíly oproti membránovým extenzím

Membránové extenze i některé organely mají tubulární povahu, dochází proto občas k záměně pojmů „extenze“ a „tubulární organela“. Tubulární tvar je pro některé organely přirozený (ER, GA), jiné se v něm vyskytují při nestandardních podmínkách. Membránové extenze nejsou ani u jedné ze tří organel plně prozkoumané (nejrozsáhleji byly zatím zkoumány u plastidů), nejrozšířenější hypotézou ale je, že se přirozeně nevyskytují a k jejich indukci dochází například při stresových reakcích rostlin. Od tubulárních organel se liší například i svou

tloušťkou – extenze jsou velmi úzké, mají desetiny až jednotky mikrometrů; nebo dvou dynamickou povahou – mohou vznikat i zanikat v rámci vteřin (Mathur, 2021; Mathur et al., 2012).

U tvaru plastidů hraje zásadní roli jejich vnitřní uspořádání. Pokud u chloroplastů již došlo k sestavení vnitřního systému thylakoidů, jsou ve většině případů kulovité, pokud ale thylakoidy nemají, nebo nejsou plně vyvinuté, schází jim dostatečná vnitřní opora a jsou protáhlé až tubulární. (Mathur, 2021; Mathur et al., 2012). Tubulární plastidy jsou schopny se prodlužovat, zkracovat, nebo rozvětvovat, je tedy možné je se stromuly zaměnit. V elongovaných tubulárních plastidech může po jejich délce docházet k rozšiřování určitých úseků, které vizuálně působí jako plastidová těla a jsou vzájemně propojena stromuly. Tato domněnka byla vyvrácena použitím časosběrné mikroskopie (M. Schattat et al., 2011), kterou bylo dokázáno, že dochází ke změnám tvaru zvětšených úseků, nikoli jejich „propojení“, což vylučuje, že by se jednalo o stromuly. Stromuly, velmi dynamické tubulární výběžky obou obalových membrán včetně stroma o vcelku jasně definované tloušťce (Mathur et al., 2012), jsou indikovány např. ROS, hormony nebo patogeny (Hanson & Hines, 2018).

Peroxisomy jsou v interfázových buňkách malé kulovité organely, jejichž tvar se mění v okamžik, kdy dochází k jejich fúzi, nebo oddělování. I u této organely, jak již bylo řečeno, dochází k produkci úzkých tubulárních extenzí, peroxulů. Jsou podobné povahy, jako u plastidů, a i u nich je možné je snadno zaměnit za elongovaný peroxisom. Hlavní rozlišovacím znakem je doba jejich existence, peroxuly se prodlužují a opět zkracují ve velmi krátkých intervalech závislých na působení stresových vlivů. Pokud na buňku působí dlouhodoběji, dojde k tvorbě elongovaných organel. Zároveň, stejně jako u stromulů, lze u některých peroxulů pozorovat jejich kulovité zakončení. Původně bylo předpokládáno, že se z tohoto zakončení oddělují nové peroxisomy, bylo ale zjištěno, že se kontraktuje zpět spolu s peroxulem (Mathur et al., 2012).

Mitochondrie jsou ze všech tří organel nejvíce dynamické a jejich tvar je nejméně stálý. Byť se nejčastěji uvádí jako oválné či „fazolovité“ (Mathur et al., 2012), velmi často fúzují, nebo se opět rozdělují, což jejich morfologii neustále mění (Bereiter-Hahn, 1990). Při fúzi vznikají elongované mitochondrie, které jsou schopné se dále natahovat. Stejně jako u přechozích organel, i zde dochází k tvorbě extenzí, opět zejména při stresových podmínkách. Mitochondriální extenze se nazývají matrixuly.

4. Stromuly

Jak již bylo zmíněno výše, stromuly jsou tubulární výběžky obklopené dvěma membránami, které se vyskytují u všech typů plastidů v rostlinné buňce, ale jejich výskyt je častější u nefotosyntetických plastidů. Byly objeveny ve 2. polovině 19. století, znovuobjeveny v roce 1962 Samuelem Wildmanem a jeho týmem, a pojmenovány až v roce 2000 Köhlerem a Hansonem (Kwok & Hanson, 2004). Jejich průměr se ve wild type rostlinách pohybuje mezi 0,3 – 0,8 μm, délka od několika jednotek až po vyšší desítky μm (Itoh, 2023). Jsou velmi dynamické, ve velmi krátkém čase se formují i retraktují, často se větví a tím zvětšují jak oblast interakce plastidu (oblast cytoplazmy, ve které je organela schopná reagovat s jinými), tak i plastidovou přístupnost (viditelnost plastidu pro ostatní organely) (Erickson et al., 2024). Jsou nejvíce spojovány s rostlinnou imunitou a reakcemi na biotický i abiotický stres, ale v postupně jsou objevovány i další okolnosti a podmínky, ve kterých stromuly vznikají a operují.

4.1. Vznik stromulů

Vznik stromulů není v tuto chvíli ještě zcela vysvětlen, je ale intenzivně zkoumán a existuje několik hypotéz. Obecně se týkají jak vzniku ovlivněného vnějšími silami (působící na plastidy z okolí), tak i těmi vnitřními (působící uvnitř plastidů), ale žádná z nich zatím není stoprocentně potvrzená. Mnoho z nich je spojeno i s rolí stromulů v buňce a nejedná se pouze o čistě mechanicky zaměřené teorie. Záleží i na diurnálních rytmech – více stromulů vzniká přes den při kumulaci ROS v chloroplastech během fotosyntézy.

4.1.1. Stromuly jako důsledek stresu

Nejčastěji je jako vnější vliv ovlivňující vznik stromulů zmiňován stres a následná imunitní reakce rostliny (Caplan et al., 2015). Biotickým původcem rostlinného stresu jsou virové a bakteriální infekce, případně mechanické napadení rostliny patogeny. Tyto stresory spouští u rostlin patogenem vyvolanou imunitu (PTI) a efektorem vyvolanou imunitu (ETI) (Yuan et al., 2021). PTI je analogií živočišné vrozené imunity – tvoří první linii obrany. Je spuštěna zachycením PAMPs (s patogenem asociované molekulární vzory – flagellin, peptidoglykan, lipopolysacharidy atd.) na RRS receptory (pattern recognition receptors). Po aktivaci receptoru dojde rychle ke spuštění signálních kaskád pomocí nadprodukce plastidových molekul ROS, SA, H_2O_2 (Yang et al., 2021; Yuan et al., 2021), nebo vápenatých iontů a dalších druhých poslů (Nedo et al., 2024; Yang et al., 2021; Yuan et al., 2021). Tento jev potvrzuje svými pokusy s jejich (SA a H_2O_2) externí aplikací Caplan et al. ve svém článku z roku 2015, kde naopak vyvrátil vliv na tvorbu stromulů u NO a superoxidu. Trvání

nadprodukce těchto molekul je sice rychlá, ale krátkodobá. ETI je oproti PTI silnější, déle trvající a často eskaluje až v buněčnou smrt. Spouští se jako reakce signalizaci PTI (Yuan et al., 2021), jeho signálem je například molekula p50 při virové infekci, která aktivuje NLR receptor indukující PCD. (Caplan et al., 2015). Při obou těchto imunitních odpovědích dochází, jak již bylo zmíněno, k nadprodukci ROS, SA nebo H_2O_2 v plastidech. Díky jejich overexpresi dochází k produkci stromulů za pomoci cytoskeletu a proteinu KIS1 (Jung et al., 2024), které řídí jejich prodlužování a směřování k jádru. Stromuly následně slouží pro transport těchto signálů do jádra, kde dojde k expresi genů pro obranné molekuly nebo pro zpuštění PCD (Caplan et al., 2015; Jung et al., 2024).

4.1.2. Tvorba stromulů závislá na cytoskeletu

Dalším důležitým vnějším efektorem je cytoskelet, po kterém se stromuly pohybují – základní růst probíhá po aktinových mikrofilamentech (J. C. Gray et al., 2001), mikrotubuly slouží jako kotevní body, například pro změnu směru jejich růstu (Kumar et al., 2018). Jejich pohyb po aktinu je zprostředkován myozinovými motory, konkrétně myozinem XI, který je speciální pro vyšší rostliny a některé řasy. Tento protein má variabilní C-koncovou doménu, což mu dovoluje vysokou specifitu k různým nákladům (La Claire, 1991). Jejich napojení na cytoskelet bylo dokázáno dvěma způsoby. Nejdříve byl využit GFP-talin (talin je protein, který se váže na aktinová mikrofilamenta) a pod mikroskopem bylo sledováno, jak se stromuly pohybují po fluoreskujících vláknech (Kwok & Hanson, 2004). Druhým způsobem byla inhibice aktinu použitím cytochalasinu D (váže se na + konec vlákna a zabraňuje další polymeraci) a latrunkulinu B (váže se na G-aktin a zabraňuje jeho polymerizaci na F-aktin) (Wakatsuki et al., 2001). Po použití obou těchto látek byla vypozorována inhibice nejen aktinu, ale i tvorby stromulů, což dokazuje jejich částečnou závislost právě na aktinu. Naopak aplikace inhibitorů mikrotubulů, oryzalinu a amiproposmethylu, tvoru stromulů nijak neovlivnila. Stejným způsobem dojde k omezení tvorby stromulů i při inhibici myozinové ATPázy zodpovědné za jejich pohyb po cytoskeletu (J. C. Gray et al., 2001).

K čistě mechanické tvorbě stromulů dojde v případě, kdy je plastid spojen s cytoskeletem, nebo jiným objektem v buňce, a následně jsou od sebe tyto dvě struktury oddáleny (roli v pohybu molekul od sebe hrají myozinové motory a napojení na cytoskelet), ale na určitém místě jejich spojení přetrvá. V tomto okamžiku dochází k extenzi plastidové membrány, která má tubulární tvar. Dalším takovým způsobem, který však není na cytoskeletu závislý, je nerovnoměrný tlak na plastidovou membránu – na jakémkoliv místě, i tam, kde již je začínající stromul; který vyústí v její tubulární prodloužení (Hanson & Hines, 2018).

4.1.3. Vznik stromulů v závislosti na ER

Schattat et al. ve svých článcích z roku 2011 popisuje vliv ER (konkrétně kortikálního) na prodlužování stromulů. Uvádí, že pozorovali velmi úzké spojení stromulů s cisternami endoplazmatického retikula. Stromuly jsou s ER sítí propojeny MCS (membrane contact sites – membránová kontaktní místa), která mohou sloužit k ukotvení stromulů v retikulu a snazšímu natahování, výměně metabolitů, nebo synchronizaci jejich dynamiky (M. Schattat et al., 2011). Výrazným prvkem napomáhajícím vzniku stromulů závislém na ER je tzv. „mobile jacket“, rozvolněné obalové membrány plastidu, které dovolují prodloužení stromulu bez nutnosti syntézy nové membrány (Hanson & Sattarzadeh, 2008; M. Schattat et al., 2011). Pravděpodobně v jejich kooperaci hraje roli i jejich společná afinita k cytoskeletu (Kwok & Hanson, 2003). Stejně, jako tvoří ER „klec“ kolem stromulů (obklopuje stromuly svou sítí cisteren) (M. Schattat et al., 2011), tak stromuly obklopují podobným způsobem i aktinová mikrofilamenta (Kandasamy & Meagher, 1999). I větvení stromulů je velmi podobné větvení ER – jejich trojúhelníkové oblasti (místa, kde dochází k rozvětvení) mají analogický vzhled, jako stejný typ větvení ER. U stromulů, které naopak nebyly v kontaktu s ER, byla pozorována prudká zkracování (M. Schattat et al., 2011).

4.1.4. Vliv sacharidů na vznik stromulů

Ve stejném roce publikoval Schattat ve spolupráci s Klösgenem další článek, kde zkoumají vliv sacharidů na stromulovou indukci. K tomuto výzkumu je dovedlo pozorování, že se stromuly tvoří podobnou měrou v zásobních pletivech i v heterotrofních buněčných kulturách (buňky nezískávají energii fotosynteticky, ale jsou vyživovány médiem, jehož součástí jsou například právě sacharidy), což by mohlo na vliv sacharidů, jakožto osmoticky aktivních látek, poukazovat. Vakuovou infiltrací (metoda, při které je část rostliny namočena v určitém roztoku, umístěna do nádoby/stříkačky, kde dojde k tvorbě vakua, při kterém je z pletiva vytlačen veškerý vzduch, a při opětovném ustanovení normálního tlaku se do mezibuněčných prostor (apoplastu) místo vzduchu nasaje roztok (Mao et al., 2024)) bylo do rostliny *Arabidopsis thaliana* jednotlivě vpraveno několik druhů sacharidů – sacharóza, glukóza, mannitol a sorbitol. Po aplikaci sacharózy a glukózy skutečně došlo v k produkci stromulů, ale u sorbitolu a mannitolu nikoliv, naopak sorbitol lehce vznik stromulů inhiboval. Tyto výsledky ukazují, že stromuly nejsou indukovány na základě osmotických změn způsobenými sacharidy, protože v tom případě by se jejich tvorba zvýšila po aplikaci všech použitých cukrů. Sacharóza a glukóza jsou tedy pravděpodobně součástí signální dráhy, jejíž produkty stromuly indukují (M. H. Schattat & Klösgen, 2011).

4.1.5. Vliv vnitřního uspořádání buňky na vznik stromulů

Tvorba stromulů může být ovlivněná i uspořádáním cytoplazmy a ostatních organel v buňkách. V mnoha typech rostlinných buněk (parenchymatické, mezofylové, buňky zásobních orgánu apod.) se vyskytuje velká centrální vakuola, která vyplňuje většinu jejího objemu. Cytoplazma tvoří pouze tenké provazce, nebo kortikální kvazi-2D prostor (ne zcela 2D prostor, ale ani čistě 3D), ve kterém jsou obsaženy ostatní buněčné organely (Erickson et al., 2024; Hanson & Hines, 2018). Plastidy v tomto omezeném prostoru tvoří stromuly, aby maximalizovaly objem cytoplazmy, se kterým mohou komunikovat, a také aby usnadnily svou přístupnost pro ostatní organely a usnadnily vzájemnou komunikaci (Caplan et al., 2015; Erickson et al., 2024; Hanson & Hines, 2018). Největšího pokrytí cytoplazmy dosáhnou, pokud se větví pod úhlem 120° (Erickson et al., 2024; M. Schattat et al., 2011). Důležité jsou v tomto prostoru i pro komunikaci s jádrem. Kdyby se k němu (např. při obranné reakci) přesouvaly celé chloroplasty, výrazně by se snížila jejich schopnost interagovat s cytoplazmou. Díky stromulům nemusí měnit své místo (výhodné i v komunikaci s jinými organelami), ale není ani omezena retrográdní signalizace do jádra, která je zabezpečena právě tubulárními extenzemi. Spolu s těmito objevy bylo zjištěno i to, že lze tvorbu stromulů popsat Poissonovým rozdělením (Erickson et al., 2024; Hanson & Hines, 2018) – vznikají nenáhodně a nezávisle na sobě, ale mají celkovou průměrnou četnost. Frekvence jejich vzniku závisí i na hustotě plastidů v určité buňce – například v mezofylových buňkách je hustota vysoká, stromulů se tedy tvoří méně, protože pro komunikaci nejsou příliš důležité (Erickson et al., 2024).

4.1.6. Vznik stromulů změnou redoxního potenciálu plastidu

Tvorba stromulů je významně ovlivněna redoxním potenciálem plastidu – při jeho změnách může docházet k jejímu zvýšení. Nejvýznamnějšími změnami jsou redoxní signály řízené světlem. Bylo to dokázáno aplikací DCMU (3-(3,4-dichlorfenyl)-1,1-dimethylurea) a DBMIB (2,5-dibromo-3-methyl-6-isopropylbenzoquinon), které slouží jako inhibitory fotosyntézy. Při zablokování fotosyntézy DCMU mezi PSII a PQ došlo k hromadění ROS (např. singletonový kyslík) a při blokaci DBMIB mezi PQ a b6f začal vznikat superoxid. Výskyt vysokých koncentrací těchto molekul vyvolalo stresovou reakci, která vedla k tvorbě stromulů. Tento vliv redoxního potenciálu lze pozorovat při diurnálních cyklech. Během dne se v průběhu aktivní fotosyntézy v buňce tvoří ROS jako její vedlejší produkt a dochází k indukci stromulů. V noci fotosyntéza neběží, nedochází k produkci ROS a tvorba stromulů je slabší (Brunkard et al., 2015).

4.1.7. Vznik stromulů jako důsledek protein crowdingu

Vnitřní faktory ovlivňující vznik stromulů jsou proteiny, zejména ty membránové. Za jejich extenze může být zodpovědný protein crowding (Hanson & Hines, 2018). Protein crowding je nadměrné shlukování proteinů v jedné části membrány, které většinou vede k jejím morfologickým změnám (Guigas & Weiss, 2016), v tomto případě právě ke vzniku stromulů.

4.2. Význam stromulů

Stromuly mají v buňce množství různých rolí a je pravděpodobné, že ještě nejsou objeveny všechny z nich. Velmi úzce interagují s ostatními organelami, zejména jako přenašeči signálu a molekul.

4.2.1. Role stromulů při stresu a jejich interakce s jádrem

Jak již bylo zmíněno v kapitole o tvorbě stromulů, jsou důležitým článkem v rostlinné imunitě. Jejich úkolem je především dopravit signální molekuly – ROS, H_2O_2, NRIP1 apod. z chloroplastu do jádra, kde vyvolají transkripci obranných genů (Caplan et al., 2015). Tato imunitní reakce bývá často spojena s PNC (perinuclear clustering – shlukování chloroplastů kolem jádra), které zrychlí a zpřesní retrográdní transport (transport molekul nikoliv z jádra do organel, ale z organel do jádra) (Caplan et al., 2015; Nedo et al., 2024). Chloroplasty se kolem jádra shlukují do „daisy-like patternu“ (seskupení podobné kopretině), které pomáhá synchronizovanému přenosu signálu (Mullineaux et al., 2020). PNC a stromuly se často vyskytují současně, ale není to podmínkou – k efektivnímu PNC není třeba indukci stromulů a k indukci stromulů není potřeba PNC. Stromuly s jádrem nejsou nikdy přímo spojeny, vždy je odděluje aspoň malé množství cytoplazmy (Jung et al., 2024). Přenos probíhá buď aktivním transportem za spotřeby ATP, nebo difuzí přes jaderné póry nebo aquaporiny (Itoh, 2023), která je podpořená velmi zpomaleným prouděním cytoplazmy (cytoplasmic streaming) mezi stromulem a jádrem, nedochází tam proto téměř k žádnému rozptylu molekul do okolí (Jung et al., 2024; Kwok & Hanson, 2004). V radiu 8 μm od jádra se tvoří 10x více stromulů, než ve vzdálenějších částech buňky – tzv. stromule promoting zone. Většina stromulů v tomto prostoru směřuje k jádru, nejsou tam ale o moc stabilnější (Jung et al., 2024). Shlukování chloroplastů kolem jádra pravděpodobně podporuje i ER, které kolem obou typů organel tvoří dříve zmíněné „klece“ závislé na aktinu, čímž je k sobě aktivně přibližuje a udržuje je ve vzájemné blízkosti (Mathur et al., 2012; M. Schattat et al., 2011).

4.2.2. Role stromulů v plastidové komunikaci

Důležitou rolí stromulů je zvětšování interakčního regionu plastidů, viditelnost plastidů pro organely a jejich komunikace nejen s ostatními organelami, ale i s dalšími plastidy. Zvětšování interakčních regionů již bylo popsáno v předchozích kapitolách (např. 4.1.5.). Stromuly fyzicky propojující plastidy mezi sebou slouží jako dočasné transportní kanály pro různé molekuly. Transport je zprostředkován buď volnou difuzí, nebo aktivně pomocí ATP. Nedochází k nim pravidelně, ani příliš často, nevyskytují se nutně ve všech buňkách. Byl pozorován přenos až 550 kDa velkých proteinových komplexů a dalších signálních molekul, nikdy však skrze stromuly nebyly transportovány thylakoidy, DNA ani ribozomy (Itoh, 2023), což vyvrací původní teorii, že jsou plastidy propojenou sítí (Hanson & Hines, 2018). Transport byl dokázán použitím volných molekul GFP (green fluorescent protein – protein fluoreskující zeleně, často používaný při značení molekul) rozptýlených v plastidech propojených stromuly. V jednom z plastidů byla zničena fluorescence pomocí photobleachingu (cílená změna molekuly barviva, která jí znemožní fluorescenci) a autoři sledovali, bude-li fluorescence obnovena (J. C. Gray et al., 2001; Hanson & Sattarzadeh, 2008; Köhler et al., 1997). K tomu opravdu došlo a zároveň poklesla v plastidu druhém, což potvrzuje, že plastidy mohou být stromuly opravdu propojeny. Následně bylo toto tvrzení podpořeno dalším pokusem, kdy byl photobleaching několikrát opakován a bylo možné sledovat postupné celkové vymizení GFP. Stejným způsobem byl zkoumán přenos větších proteinů pomocí SSU-GFP (malá podjednotka RuBisCO) a AAT-GFP (aspartátaminotransferáza). I jejich transport byl detekován (Hanson & Sattarzadeh, 2008).

4.2.3. Vliv stromulů na dělení plastidů

Zvláštní funkcí stromulů je i jejich schopnost zapojovat se do plastidového dělení, které je využíváno například u dělení amyloplastů. Tento výzkum publikoval ve svém článku z roku 2024 Fujiwara et al., který zkoumal dělení amyloplastů v integumentu (vnějším obalu) vajíček u *Arabidopsis thaliana*. Dělení plastidů probíhá pomocí FtsZ prstence (Fujiwara et al., 2024) – protein prokaryotického původu, který polymeruje a tím zajišťuje dělení plastidů (Swid et al., 2018). Amyloplasty se ve WT rostlinách mohou dělit třemi způsoby – binárním dělením (jeden FtsZ prstenec), vícenásobným dělením (několik FtsZ prstenců), nebo právě pomocí stromulů (FtsZ prstenec se tvoří na stromulovém výběžku). MinE je stromální plastidový protein. V minE mutantech, je narušena tvorba a umístění FtsZ prstence, proto dochází k nerovnoměrnému a omezenému dělení amyloplastů – v těchto rostlinách jich je méně a jsou velké a asymetrické s výrazně zvýšenou tvorbou stromulů, které jsou velmi stabilní a ve kterých

jsou FtsZ proteiny detekovány v daleko vyšší míře než ve WT rostlinách. Důsledek této nadměrné tvorby amyloplastů je tzv. stromule-mediated fission – dělení plastidů skrze stromuly. Lze pozorovat i velmi malé amyloplasty, které pravděpodobně vznikly oddělením od stromulů. V těchto mutantech se FtsZ stále omezeně syntetizuje, u trojitých KO mutantů se netvoří žádný, amyloplasty jsou obrovské a tvoří velmi dlouhé stromuly. V jednoduchých minE mutantech dochází velmi často k sestavení dělícího aparátu (FtsZ prstenec) právě na stromulech, které díky tomu, že jsou velmi úzké, poskytují ideální místo pro tvorbu prstence za využití co nejmenšího množství energie i materiálu. Není proto tak omezující snížená produkce genů, které protein kódují. Ve většině stromulů, které byly v minE rostlinách pozorovány, se na rozdíl od valné většiny WT rostlin vyskytovala škrobová zrna i plastidová DNA (Fujiwara et al., 2024).

4.2.4. Role stromulů v plastidové interkonverzi

Plastidy jsou velmi variabilní organely, které se mohou během života buňky přeměňovat v různé typy. Ke změnám dochází při mnoha příležitostech a stojí za nimi různé vlivy, jedná se například o změnu pigmentu, vnitřního uspořádání i celé funkce (Altamura et al., 2024a). I v tomto procesu hrají roli stromuly, které jsou schopné tzv. tip-sheddingu – na jejich konci se vytvoří budoucí vesikuly, které se časem oddělí a přepravují svůj obsah na jiná místa. K oddělování váčků dochází například při dozrávání rajčat nebo žloutnutí listů (Forth & Pyke, 2006). Chloroplasty se při tomto procesu mění na chromoplasty a je třeba recyklovat jejich fotosyntetický aparát. Thylakoidy jsou transportovány do stromulu, kde dojde k oddělení váčku, který je odnáší do vakuoly, kde dojde k jejich přeměně na energii a jednodušší látky, které rostlina využije na jiných místech (Altamura et al., 2024b). Stromulové váčky přenášejí i toxické látky do míst, kde jsou později rozloženy (opět vakuoly a peroxisomy) a jsou schopné tvořit i RuBisCO containing bodies (RCBs). RCBs jsou specializované váčky obsahující enzym RuBisCO, které se tvoří při přechodu rostliny do senescence, kdy je potřeba recyklovat tento protein a získat z něj dusík a potřebnou energii. Všechny tyto děje jsou součástí makroautofágie – procesu, kdy jsou nepotřebné molekuly a komplexy v buňce degradovány na jednodušší, aby byla udržena potřebná homeostáze. V případě chloroplastů se nazývá chlorofágie (Altamura et al., 2024b). Stromuly zároveň opět slouží i ke zvětšení povrchu plastidu pro interakci s okolím a k meziorganelové signalizaci (Erickson et al., 2017).

4.2.5. Další role stromulů v rostlinné buňce

Další důležitou rolí stromulů je zprostředkování interakce mezi plastidy a dalšími buněčnými objekty. Hrají roli v komunikaci s mitochondriemi a peroxisomy. Je pravděpodobné, že s oběma těmito organelami spolupracují na vzájemné výměně metabolitů a

dalších látek (Gunning, 2005; Kwok & Hanson, 2004). Tato interakce je podpořena tím, že jsou všechny tři organely závislé na pohybu podél cytoskeletu a díky tomu i podél ER tubulů. Všechny organely se společně shlukují kolem jádra, kde vzájemně spolupracují na retrográdní signalizaci (J. C. Gray et al., 2001; Kwok & Hanson, 2004). Stromuly pravděpodobně komunikují i s plazmatickou membránou, kde se podílejí na mezibuněčné signalizaci (Hanson & Hines, 2018).

Stromuly se retrográdní signalizací podílí na urychlení senescence listů, jejich extenze a PNC pomáhají efektivnějšímu přenosu senescenčních signálů do jádra. Hojně se vyskytují v senzorických epidermálních plastidech (SEPs), které obsahují malé množství chlorofylu a podílí se na signalizaci během stresové imunitní reakce. Hrají percepční roli i když dojde k inhibici fotosyntézy(Altamura et al., 2024a).

4.3. Proteiny spojené se stromuly

Proteinem, který výrazně ovlivňuje jak stromuly, tak chloroplasty jako takové, je CHUP1 (chloroplast unusual positioning protein 1). Jeho hlavním úkolem je udržování chloroplastů v určitém prostorovém vzorci tak, aby maximalizoval jejich schopnost fotosyntetizovat (Nedo et al., 2024). Tohoto cíle dosahuje napojováním vnější membrány chloroplastu, ve které se nachází, na aktinový cytoskelet (Oikawa et al., 2008), po kterém se chloroplasty buď pohybují, nebo jsou naopak zakotveny na místě. Velmi podobný mechanismus pohybu mají i stromuly, které se také pohybují po cytoskeletu, jak po mikrotubulech, tak po aktinových mikrofilamentech. (Nedo et al., 2024)

Vliv CHUP1 na stromuly byl v poslední době významně popsán experimentem s mutanty v jeho genu (rostliny s knockoutovaným proteinem), které publikoval v roce 2024 Nedo et al. V těchto rostlinách kvůli absenci CHUP1 proteinu nedochází ke správnému napojování chloroplastů na aktinový cytoskelet, není proto nijak zásadně kontrolován jejich pohyb, ani tvorba stromulů. Kvůli nadprodukci ROS dochází k silnější imunitní odpovědi při PTI i ETI a k výraznější hypersenzitivní reakci (vede k programované buněčné smrti). Dochází k daleko intenzivnější tvorbě stromulů, které dosahují větší maximální délky. Stromuly posilují interorganelární komunikaci a přenos prodefenzivních signálů, což z nich činí zásadní bod rostlinné imunity (Nedo et al., 2024).

Dalším proteinem ovlivňujícím tvorbu stromulů je LACS9 (Long Chain Acyl-CoA Synthetase 9). Tento protein se nachází ve vnější obalové membráně chloroplastu, kde katalyzuje ATP-dependentní přeměnu volných MK na acyl-CoA (Xu et al., 2019). Při jeho

overexpresi dochází k nahromadění MK v membráně a změně jejího složení – nastává zvýšení membránového napětí a indukuje se tvorba stromulů (Breuers et al., 2012; Schnurr et al., 2002). Podobně na tvorbu stromulů působí i protein TOC64-III, který se také nachází ve vnější obalové membráně. Jedná se o izoformu TOC64 (Translocon at the Outer membrane of Chloroplasts 64 kDa) a podílí se v rámci komplexu TOC translokonů na translokaci jaderně kódovaných proteinů z cytoplazmy do chloroplastu (Richardson & Schnell, 2019). I on, jakožto integrální protein (zabudovaný do membrány) mění lipidové složení ve svém okolí a změnu napětí ústící v tvorbu stromulů (Breuers et al., 2012).

Stromuly přímo ovlivňují i proteiny asociované s cytoskeletem. Jsou to například KIS1 a KIS2 (kinesin-like proteins in stromule regulation), které se podílejí na jejich prodlužování, dynamice a udržují je v kontaktu s cytoskeletem přes calponin-homologní domény. Mutace v těchto proteinech inhibovala nejen tvorbu stromulů, ale i ETI (Jung et al., 2024). S aktinem spojuje stromuly i myozin XI, ten je však již podrobněji rozebraný v kapitole 4.1.2.

Ve tvorbě stromulů v chloroplastech hrají roli i proteiny ovlivňující jejich dělení. Nejdůležitějším je protein FtsZ, který svou polymerizací tvoří prstenec při dělení plastidů, ten je ale již popsán v kapitole 4.2.3. Dalšími jsou zejména ARC3, ARC6 (Accumulation and Replication of Chloroplasts 3/6) a PARC6 (PARalog of ARC6). ARC3 působí při tvorbě dělícího prstence. Pokud v něm dojde k mutaci, nedělí se chloroplasty správně, jsou velké a dlouhé. Toto zvětšení jejich povrchu vede k častějšímu výskytu stromulů. ARC6 naopak ovlivňuje rozpad prstence a při jeho mutaci vznikají protáhlé plastidy, které mají dále problémy s dělením. Stromuly se u nich nadměrně tvoří jako reakce na změněnou morfologii (Du et al., 2024). PARC6 ukotvuje na vnitřní membráně chloroplastu dělící aparát chloroplastu. Rostliny s mutací v tomto proteinu jsou velké a abnormálně tvarované. Stromuly zde indukuje pravděpodobně zvětšené membránové napětí (Ishikawa et al., 2020).

5. Matrixuly

Matrixuly jsou tenké, 2–5 μm dlouhé (Mathur, 2021), tubulární výběžky vnější i vnitřní mitochondriální membrány obsahující jejich matrix. Jedná se o velmi morfologicky podobné objekty plastidovým stromulům, objeveny však byly mnohem později a je o nich známo značně méně informací. Jejich definice a pojmenování „matrixuly“ se poprvé objevuje v roce 2007 v článku *Big issues for small organelles: Mitochondrial dynamics in plants.,* který publikoval Scott et al., který popsal právě jejich podobnost se stromuly (Köhler et al., 1997; Mathur et al., 2012). Podobná stromulům je nejen jejich morfologie, ale i jejich dynamické chování – rychlé

prodlužování a zkracování, i jejich předpokládaná role v signalizaci a stresové reakci. Předpokládá se i jejich vliv na mitochondriální fúzi.

5.1. Vznik matrixulů

Ani matrixuly nevznikají jednotným způsobem a hypotéz existuje více. První z nich popisuje vznik matrixulů jako následek nesprávného dělení mitochondrií. Na místa, kde se má mitochondrie rozdělit (Arimura, 2018), se váží proteiny DRP3A/B (Dynamin-Related Protein 3A/3B, analogy živočišného proteinu DRP1, v dělené mitochondrií mají prakticky stejnou funkci, u dělení peroxisomů se funkčně odlišují (I. Scott & Logan, 2011)), které polymerizují do spirál a za hydrolýzy GTP mitochondrii zaškrtí, čímž dojde k jejímu rozdělení na dvě dceřiné organely (Elgass et al., 2013). DRP3A/B jsou na mitochondriální povrch dopraveny pomocí proteinů FIS1A/B a jejich správné nasednutí na určené místo dělení zajišťuje protein ELM1 (Elongated Mitochondria 1) (Arimura et al., 2008). Určení konstrikčního místa (místa, kde se mitochondrie bude dělit) je závislé na cytoskeletu. Důkazem byly mutantní rostliny, ve kterých došlo k inhibici cytoskeletu a v důsledku toho i k častějšímu dělení mitochondrií (Sheahan et al., 2005).

Problém nastává, když dojde k mutaci v nějakém z výše zmíněných proteinů, která naruší správný průběh mitochondriálního dělení (Logan et al., 2004). Nejčastěji nastává mutace v DRP3A a DRP3B, kdy dochází k nedokonalému fungování dělícího prstence (Logan, 2010; I. Scott & Logan, 2011). Mitochondrie mají četná zúžení, ale nedochází k finálnímu rozdělení. Místo něj se pouze protahují a vznikají elongované matrixuly (Logan et al., 2004; Mathur, 2021).

Vznik matrixulů není závislý na defektech v dělícím aparátu mitochondrie –mohou vznikat i pouhým pohybem mitochondrií skrze úzké otvory v ER síti, kudy jsou schopné projít pouze po elongaci úzkých tubulárních matrixulů (Jaipargas et al., 2015). Zároveň vedle mitochondriálního dělení může ke vzniku matrixulů dojít i při mitochondriální fúzi – bylo pozorováno, že při fúzi mohou být dvě a více mitochondrií propojeny úzkými tubulárními výběžky, které by se díky jejich morfologii (obě obalové membrány i stroma) daly považovat za matrixuly (Mathur et al., 2012). V posledních letech byla prokázána indukce matrixulů jako reakce na stresové faktory a následnou nadprodukci ROS, mechanismus ale nebyl objasněn. Teorií je, že působení těchto vlivů na ER ústí v jeho ovlivňování mitochondrií (Giulietti et al., 2024; Mathur, 2021).

5.2. Význam matrixulů

Ani význam matrixulů není téměř prozkoumán a zmínky o něm jsou pouze v několik málo článcích z poslední doby. V minulé kapitole již byla zmíněna indukce matrixulů stresovými vlivy (stejné, jako u stromulů, jejich tvorba probíhá prakticky paralelně) (Colombatti et al., 2014), která vede ke zlepšení komunikace mitochondrií s ostatními organelami, zejména s jádrem a udržení homeostáze (Jung et al., 2024). V návaznosti na stres pomáhají matrixuly mitochondriím měnit jejich tvar a dynamiku díky svým propojením s ER (Mathur, 2021). Byla již zmíněna i jejich role v mitochondriálním dělení, kdy mohou buď vyústit v novou mitochondrii, nebo při fúzi, kde mohou dvě mitochondrie spojovat a zrychlit a zpřesnit přenos signálů a molekul mezi nimi (Jung et al., 2024).

6. Peroxuly

Peroxuly jsou tenké tubulární výběžky, které se tentokrát prodlužují z peroxisomů. Název „peroxuly“ získaly díky své podobnosti se stromuly a matrixuly, opět se jedná o analogickou strukturu (I. Scott & Logan, 2011). Jejich prodlužování a zkracování je asynchronní a extrémně dynamické – probíhá v rámci vteřin až minut po indukci tvorby. Pohyb peroxulů je spjat s ER, po kterém se pohybují a jehož dynamika určuje směr peroxulárního růstu. Jejich tvorba pravděpodobně nezávisí na genové expresi, ale spíše na stresových vlivech (Mathur, 2009).

6.1. Vznik peroxulů

Nejčastějším a nejvíce popisovaným způsobem vzniku peroxulů je jejich indukce ROS během oxidativního stresu. Peroxuly jsou ovlivněny hydroxylovými radikály ((•OH)), po jejichž expozici se začnou prodlužovat v rámci vteřin (Mathur, 2009; Sinclair et al., 2009). Na jiné ROS nereagují přímo, vždy musí projít reakcemi, které je přemění na (•OH) (Sinclair et al., 2009). Tímto způsobem funguje i jejich reakce na H_2O_2, který se v přítomnosti kovových iontů na hydroxylový radikál přemění a peroxuly na něj za těchto okolností nepřímo reagují. Tyto radikály jsou velmi reaktivní a způsobují změny na membráně – ať už mění její lokální elasticitu, nebo celkově narušují její strukturu (dochází k reorganizaci fosfolipidů, není potřeba syntéza nové membrány) (Mathur, 2009); a aktivují protein PEX11a. PEX11a se nachází v membráně peroxisomů a je nezbytný pro jejich dělení i fúzi (Orth et al., 2007). Všechny zmíněné procesy vyústí v prodlužování peroxulů (Sinclair et al., 2009). Peroxisomy jako takové odbourávají ROS, zvýšená tvorba peroxulů je součást obranného mechanismu buňky (Mathur,

2009). V době nízkých hladin ROS a slabého oxidativního poškození se peroxuly v místě se stoupající koncentrací radikálů začnou prodlužovat do délky 4–6 μm s průměrem tubulu kolem 0,4 μm (Mathur, 2009). Když hladiny radikálů stoupnou, začnou se prodlužovat celé peroxisomy, až dosáhnou tubulárního tvaru. Následuje dělení – to zvýší počet peroxisomů pro lepší odbourávání radikálů (Sinclair et al., 2009).

Peroxuly vznikají také po expozici UV záření nebo intenzivnímu záření ve viditelném spektru, při kterém také vzrůstají hladiny ROS (Jaipargas et al., 2016; Sinclair et al., 2009). Při reakci na tento konkrétní stimul stoupá množství interakcí mezi peroxuly a mitochondriemi za účelem signalizace a zmírnění stresového působení na buňku (Jaipargas et al., 2016). Peroxuly vznikají i jako reakce na NO (oxid dusný) a v jeho přítomnosti není jejich tvorba závislá na PEX11. Při postupném zvyšování koncentrace NO ale nedocházelo k úměrně časté formaci peroxulů, což poukazuje na určitý práh, po jehož překročení již nedochází k indukci extenzí (Terrón-Camero et al., 2020).

K prodlužování peroxulů dochází i při stresu způsobeném kadmiem, které působí na NADPH oxidázy. Tyto molekuly, též zvané RBOH (Respiratory Burst Oxidase Homologs), přenášejí elektrony z NADPH na molekulární kyslík. Tím tvoří superoxid, který dále konvertuje přes H_2O_2 až na hydroxylové radikály (Gupta et al., 2017). Ve zvýšených koncentracích CdCl2 bylo již po 15 minutách od první expozice pozorováno jejich častější prodlužování, největší koncentrace dosáhly kolem 30. minuty (Rodríguez-Serrano et al., 2016). V tomto případě nenavazovalo dělení peroxisomů. Byl zkoumán i vliv solného stresu, nebo napadení patogeny, ale v žádném z těchto případů k indukci peroxulů nedocházelo. (Frick & Strader, 2018). Při pokusu s kadmiem bylo zjištěno, že se pohyb peroxisomů při prodlužování zastaví. Po jeho dokončení se obnoví, a dokonce mírně zrychlí (Rodríguez-Serrano et al., 2016). Další těžký kov, který může působit jako induktor peroxulů je arsen, který hromadění ROS v buňce způsobí zablokováním dýchacího řetězce (Rodríguez-Serrano et al., 2016).

6.2. Význam peroxulů

Význam peroxulů není, stejně jako u matrixulů, ještě zcela prozkoumaný (Rodríguez-Serrano et al., 2016). Některé funkce peroxulů byly již krátce zmíněny v předchozí kapitole. Nejčastěji je uváděna jejich role v regulaci hladiny ROS v buňce a antioxidační obraně (Rodríguez-Serrano et al., 2016). Peroxuly zvětšují interakční region peroxisomů, kterým umožňují komunikovat s větším množstvím cytoplazmy, zároveň zvětšují i objem matrix peroxisomů (Sinclair et al., 2009). Zvětšený objem matrix zajišťuje více místa pro detoxikační

reakce (např. rozklad H_2O_2 na vodu a kyslík), čímž regulují buněčnou homeostázu . Protein PEX11a hraje důležitou roli v prodlužování peroxulů. Po aktivaci ROS zahajuje remodelaci peroxisomální membrány a její prodlužování – vzniká peroxul. Jeho přítomnost v tomto procesu byla dokázána na mutantních rostlinách, které PEX11a neobsahovaly (umlčení jeho genu RNA-interferencí) – při expozici kadmiu se peroxuly netvořily, naopak byla zjištěna slabší exprese antioxidačních genů. Na tomto proteinu bylo objeveno několik fosforylačních míst, což poukazuje na možnost de/aktivace proteinu nejen pomocí ROS, ale i přes jeho de/fosforylaci (Rodríguez-Serrano et al., 2016).

Společně s PEX11a působí jako pomocný protein PEX11e, který podporuje prodlužování membrán (Rodríguez-Serrano et al., 2016). Stejně jako u matrixulů, i zde na oddělení nových peroxisomů z peroxulů participují DRP3A a FISA/B, které se vážou na peroxuly a dokončují dělení (Jaipargas et al., 2016; I. Scott & Logan, 2011). Prodlužování peroxulů nemusí vždy skončit elongací peroxisomu a jeho rozdělením, část funguje stále jako dynamická extenze a po odeznění stresu se opět retraktují (Mathur et al., 2012).

Peroxuly slouží i jako komunikační kanály mezi peroxisomy a ostatními organelami (Rodríguez-Serrano et al., 2016), se kterými jsou spojené skrze MCSs. Jedná se zejména o chloroplasty a mitochondrie, ve kterých dochází k tvorbě ROS (Noctor & Foyer, 2016). S nimi mění určité ROS jakožto signální molekuly a řídí tím komplexní odpověď buňky na vnější vjemy (Rodríguez-Serrano et al., 2016), zároveň reguluje množství ROS, které vyprodukují. Signály mohou přenášet nejen k dalším organelám, ale i k receptorům (Sandalio et al., 2020).

Důležitou roli hrají peroxuly při klíčení. V membráně peroxisomů je uložena lipáza SDP1 (Sugar-Dependent 1) (Thazar-Poulot et al., 2015), která mění TAGs na mastné kyseliny a glycerol . Aby k tomuto štěpení mohlo dojít, musí být enzym dopraven na lipidové kapénky (LDs – lipid droplets), které v klíčících semenech představují zásobní zdroj energie. Z peroxisomů jsou na LDs dopraveny právě přes peroxuly, které se začnou tvořit jako reakce na zvýšené hladiny ROS, které při klíčení hojně vznikají v mitochondriích (Eastmond, 2006). Po lokalizaci SDP1 na jednovrstevnou membránu kapénky ji štěpí a přes řadu metabolických reakcí dojde až k syntéze ATP, které je ke klíčením využito. Tento proces dokazuje, že peroxuly by mohly být přenašeči i jiných proteinů (Esnay et al., 2020).

Novou hypotézou, publikovanou v roce 2025, je možná retrográdní komunikace mezi peroxuly a jádrem za přenosu H_2O_2 na stejném principu, jako u stromulů (Molina-Moya et al., 2025).

7. Závěr

Z článků publikovaných o membránových extenzích organel je patrné, že se jedná o velmi důležité kompartmenty, bez kterých by správné fungování buněk nebylo možné. I když nejsou prozkoumány všechny způsoby jejich vzniku a fungování, je již známo velké množství mechanismů, ve kterých figurují (Mathur, 2021). Nejvýznamnější oblastí jejich působení je bezesporu buněčná imunita a reakce na stres, jejíž spuštění různými faktory indukuje tvorbu všech typů expanzí (Jung et al., 2024). Ty se podílí na udržování homeostázy, redukci oxidativního stresu, nebo intra i interorganelární signalizaci. Nesporný přínos mají i v dělení organel a regulaci genové exprese (Mathur, 2021; Rodríguez-Serrano et al., 2016). Stále se objevují nové hypotézy o jejich možných dalších funkcích, které by měl potvrdit nebo vyvrátit budoucí pokračující výzkum.

Seznam použité literatury

Abdel-Salam, O. M. E., Shaffie, N. M., Omara, E. A., & Yassen, N. N. (2018). Citric Acid an Antioxidant in Liver. *The Liver: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*, 183–198. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803951-9.00016-1

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). *Molecular Biology of the Cell. 4th edition.* (4. vyd.). Garland Science. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26871/

Altamura, M. M., Piacentini, D., Della Rovere, F., Fattorini, L., Valletta, A., & Falasca, G. (2024a). Plastid dynamism integrates development and environment. *Plant Physiology and Biochemistry*, *213*. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108813

Altamura, M. M., Piacentini, D., Della Rovere, F., Fattorini, L., Valletta, A., & Falasca, G. (2024b). Transition dynamics in plastid interconversion in land plants. In *Plant Biosystems*. Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.1080/11263504.2024.2375333

Andreev, I. M. (2001). Functions of the vacuole in higher plant cells. *Russian Journal of Plant Physiology*, *48*(5), 672–680. https://doi.org/10.1023/A:1016776523371/METRICS

Arimura, S. I. (2018). Fission and fusion of plant mitochondria, and genome maintenance. In *Plant Physiology* (Roč. 176, Číslo 1, s. 152–161). American Society of Plant Biologists. https://doi.org/10.1104/pp.17.01025

Arimura, S. I., Fujimoto, M., Doniwa, Y., Kadoya, N., Nakazono, M., Sakamoto, W., & Tsutsumi, N. (2008). Arabidopsis elongated mitochondria1 is required for localization of dynamin-related protein3A to mitochondrial fission sites. *Plant Cell*, *20*(6), 1555–1566. https://doi.org/10.1105/TPC.108.058578,

Bereiter-Hahn, J. (1990). Behavior of Mitochondria in the Living Cell. *International Review of Cytology*, *122*(C), 1–63. https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61205-X

Breuers, F. K. H., Bräutigam, A., Geimer, S., Welzel, U. Y., Stefano, G., Renna, L., Brandizzi, F., & Weber, A. P. M. (2012). Dynamic remodeling of the plastid envelope membranes - A tool for chloroplast envelope in vivo localizations. *Frontiers in Plant Science*, *3*(JAN). https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00007

British Society for Cell Biology. (2025). *Vacuole (plants) | British Society for Cell Biology*. https://bscb.org/learning-resources/softcell-e-learning/vacuole-plants/

Brunkard, J. O., Runkel, A. M., & Zambryski, P. C. (2015). Chloroplasts extend stromules independently and in response to internal redox signals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(32), 10044–10049. https://doi.org/10.1073/pnas.1511570112

Caplan, J. L., Kumar, A. S., Park, E., Padmanabhan, M. S., Hoban, K., Modla, S., Czymmek, K., & Dinesh-Kumar, S. P. (2015). Chloroplast Stromules Function during Innate

Immunity. *Developmental Cell*, *34*(1), 45–57. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.05.011

Colombatti, F., Gonzalez, D. H., & Welchen, E. (2014). Plant mitochondria under pathogen attack: A sigh of relief or a last breath? *Mitochondrion*, *19*(PB), 238–244. https://doi.org/10.1016/J.MITO.2014.03.006

Contento, A. L., & Bassham, D. C. (b.r.). Structure and function of endosomes in plant cells. *Journal of Cell Science*, *125*, 3511–3518. https://doi.org/10.1242/jcs.093559

Cooper, G. M. (2000a). *Chloroplasts and Other Plastids*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9905/

Cooper, G. M. (2000b). *The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition* (2. vyd.). Sinauer Associates. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9889/

Cooper, G. M. (2000c). *The Nuclear Envelope and Traffic between the Nucleus and Cytoplasm*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9927/

Creative Proteomics. (2025, březen 5). *Plant Lipids vs. Animal Lipids: Differences in Composition and Function - Creative Proteomics*. Https://Www.Creative-Proteomics.Com/Resource/Plant-Lipids-vs-Animal-Lipids-Differences.Htm. https://www.creative-proteomics.com/resource/plant-lipids-vs-animal-lipids-differences.htm

Du, W., Cao, L., Zhou, Y., Jackson, S., Naeem, M., Yang, Y., Glynn, J. M., Porter, K. J., He, Q., Xu, J., Liang, W., Osteryoung, K. W., & Chen, C. (2024). The J-Like Protein ARC6 Regulates Chloroplast FtsZ-Ring Assembly through Fine-tuning ARC3 Activity in Arabidopsis. *bioRxiv*, 2024.01.08.574726. https://doi.org/10.1101/2024.01.08.574726

Eastmond, P. J. (2006). Sugar-dependent1 encodes a patatin domain triacylglycerol lipase that initiates storage oil breakdown in germinating Arabidopsis seeds. *Plant Cell*, *18*(3), 665–675. https://doi.org/10.1105/TPC.105.040543,

Elgass, K., Pakay, J., Ryan, M. T., & Palmer, C. S. (2013). Recent advances into the understanding of mitochondrial fission. In *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research* (Roč. 1833, Číslo 1, s. 150–161). https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2012.05.002

Erickson, J. L., Kantek, M., & Schattat, M. H. (2017). Plastid-nucleus distance alters the behavior of stromules. *Frontiers in Plant Science*, *8*. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01135

Erickson, J. L., Prautsch, J., Reynvoet, F., Niemeyer, F., Hause, G., Johnston, I. G., & Schattat, M. H. (2024). Stromule Geometry Allows Optimal Spatial Regulation of Organelle Interactions in the Quasi-2D Cytoplasm. *Plant and Cell Physiology*, *65*(4), 618–630. https://doi.org/10.1093/pcp/pcad098

Esnay, N., Dyer, J. M., Mullen, R. T., & Chapman, K. D. (2020). Lipid Droplet–Peroxisome Connections in Plants. In *Contact* (Roč. 3). SAGE Publications Inc. https://doi.org/10.1177/2515256420908765

Forth, D., & Pyke, K. A. (2006). The suffulta mutation in tomato reveals a novel method of plastid replication during fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*, *57*(9), 1971–1979. https://doi.org/10.1093/JXB/ERJ144

Fowler, S., Roush, R., & Wise, J. (2013). Concepts of Biology. In *Concepts of Biology*. OpenStax. https://openstax.org/books/concepts-biology/pages/5-3-the-calvin-cycle

Frick, E. M., & Strader, L. C. (2018). They Can Handle the Stress: MPK17 and PMD1 act in a salt-specific pathway. *Plant signaling & behavior*, *13*(2), e1428518. https://doi.org/10.1080/15592324.2018.1428518

Fujiwara, M. T., Yoshioka, Y., Kazama, Y., Hirano, T., Niwa, Y., Moriyama, T., Sato, N., Abe, T., Yoshida, S., & Itoh, R. D. (2024). Principles of amyloplast replication in the ovule integuments of Arabidopsis thaliana. *Plant Physiology*, *196*(1), 137–152. https://doi.org/10.1093/plphys/kiae314

Giulietti, S., Bigini, V., & Savatin, D. V. (2024). ROS and RNS production, subcellular localization, and signaling triggered by immunogenic danger signals. In *Journal of Experimental Botany* (Roč. 75, Číslo 15, s. 4512–4534). Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/jxb/erad449

González Solís, A., Berryman, E., & Otegui, M. S. (2022). Plant endosomes as protein sorting hubs. *FEBS Letters*, *596*(17), 2288–2304. https://doi.org/10.1002/1873-3468.14425

Gray, J. C., Sullivan, J. A., Hibberd, J. M., & Hansen, M. R. (2001). Stromules: Mobile protrusions and interconnections between plastids. In *Plant Biology* (Roč. 3, Číslo 3, s. 223–233). https://doi.org/10.1055/s-2001-15204

Gray, M. W. (2017). *Lynn Margulis and the endosymbiont hypothesis: 50 years later*. *28*. https://doi.org/10.1091/mbc.E16-07-0509

Guigas, G., & Weiss, M. (2016). Effects of protein crowding on membrane systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, *1858*(10), 2441–2450. https://doi.org/10.1016/J.BBAMEM.2015.12.021

Gunning, B. E. S. (2005). Plastid stromules: Video microscopy of their outgrowth, retraction, tensioning, anchoring, branching, bridging, and tip-shedding. *Protoplasma*, *225*(1–2), 33–42. https://doi.org/10.1007/s00709-004-0073-3

Gupta, D. K., Pena, L. B., Romero-Puertas, M. C., Hernández, A., Inouhe, M., & Sandalio, L. M. (2017). NADPH oxidases differentially regulate ROS metabolism and nutrient uptake under cadmium toxicity. *Plant Cell and Environment*, *40*(4), 509–526. https://doi.org/10.1111/PCE.12711,

Hanson, M. R., & Hines, K. M. (2018). Stromules. *Physiology*, *176*(1), 128–137. https://doi.org/10.2307/26378400

Hanson, M. R., & Sattarzadeh, A. (2008). Dynamic morphology of plastids and stromules in angiosperm plants. In *Plant, Cell and Environment* (Roč. 31, Číslo 5, s. 646–657). https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01768.x

Hauri, H.-P., & Schweizer, A. (1992). The endpplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment. *Current Opinion in Cell Biology*, 600–608. https://doi.org/10.1016/0955-0674(92)90078-q

Hoober, J. K. (2007). *The Structure and Function of Plastids* (J. K. Hoober & R. R. Wise, Ed.; Roč. 23). Springer. https://ps.ueb.cas.cz/pdfs/phs/2007/01/18.pdf

Hu, J., Baker, A., Bartel, B., Linka, N., Mullen, R. T., Reumann, S., & Zolman, B. K. (2012). Plant Peroxisomes: Biogenesis and Function. *The Plant Cell*, *24*(6), 2279. https://doi.org/10.1105/TPC.112.096586

Hua, Z., & Graham, T. R. (2013). *The Golgi Apparatus*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6268/

Ishikawa, H., Yasuzawa, M., Koike, N., Sanjaya, A., Moriyama, S., Nishizawa, A., Matsuoka, K., Sasaki, S., Kazama, Y., Hayashi, Y., Abe, T., Fujiwara, M. T., & Itoh, R. D. (2020). Arabidopsis PARC6 Is Critical for Plastid Morphogenesis in Pavement, Trichome, and Guard Cells in Leaf Epidermis. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 486162. https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.01665/BIBTEX

Itoh, R. D. (2023). Tubular extensions of plant organelles and their implications on retrograde signaling. *Journal of Biological Research (Italy)*, *96*(2). https://doi.org/10.4081/jbr.2023.11724

Jaipargas, E. A., Barton, K. A., Mathur, N., & Mathur, J. (2015). Mitochondrial pleomorphy in plant cells is driven by contiguous ER dynamics. *Frontiers in Plant Science*, *6*(September). https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00783

*Jaipargas, E. A., Mathur, N., Daher, F. B., Wasteneys, G. O., & Mathur, J. (2016). High light intensity leads to increased peroxule-mitochondria interactions in plants. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *4*(FEB). https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00006

*Ján Hudák. (2010). Chloroplasty - zelené organely. *Živa*, 107. https://ziva.avcr.cz/2010-3/chloroplasty-zelene-organely.html

Jin, G., Prabhakaran, M. P., Liao, S., & Ramakrishna, S. (2011). Photosensitive materials and potential of photocurrent mediated tissue regeneration. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *102*(2), 93–101. https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOBIOL.2010.09.010

Johnson, M. P. (2016). Photosynthesis. *Essays in Biochemistry*, *60*(3), 255. https://doi.org/10.1042/EBC20160016

Jung, S., Woo, J., & Park, E. (2024). Talk to your neighbors in an emergency: Stromule-mediated chloroplast-nucleus communication in plant immunity. In *Current Opinion in Plant Biology* (Roč. 79). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2024.102529

Kandasamy, M. K., & Meagher, R. B. (1999). Actin-organelle interaction: Association with chloroplast in Arabidopsis leaf mesophyll cells. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, *44*(2), 110–118. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0169(199910)44:2<110::AID-CM3>3.0.CO;2-O

Köhler, R. H., Cao, J., Zipfel, W. H., Webb, W. W., & Hanson, M. R. (1997). *Exchange of Protein Molecules Through Connections Between Higher Plant Plastids*.

Kumar, A. S., Park, E., & Nedo, A. (2018). *Stromule extension along microtubules coordinated with actin-mediated anchoring guides perinuclear chloroplast movement during innate immunity*. https://doi.org/10.7554/eLife.23625.001

Kwok, E. Y., & Hanson, M. R. (2003). Microfilaments and microtubules control the morphology and movement of non-green plastids and stromules in Nicotiana tabacum. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, *35*(1), 16–26. https://doi.org/10.1046/J.1365-313X.2003.01777.X

Kwok, E. Y., & Hanson, M. R. (2004). Stromules and the dynamic nature of plastid morphology. *Journal of Microscopy*, *214*(2), 124–137. https://doi.org/10.1111/j.0022-2720.2004.01317.x

La Claire, J. W. 2nd. (1991). Immunolocalization of myosin in intact and wounded cells of the green alga Ernodesmis verticillata (Kützing) Borgesen. *Planta*.

Logan, D. C. (2006). Plant mitochondrial dynamics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, *1763*(5–6), 430–441. https://doi.org/10.1016/J.BBAMCR.2006.01.003

Logan, D. C. (2010). The dynamic plant chondriome. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *21*(6), 550–557. https://doi.org/10.1016/J.SEMCDB.2009.12.010

Logan, D. C., Scott, I., & Tobin, A. K. (2004). ADL2a, like ADL2b, is involved in the control of higher plant mitochondrial morphology. *Journal of Experimental Botany*, *55*(397), 783–785. https://doi.org/10.1093/jxb/erh073

Mao, X., Li, T., Qi, W., Miao, Z., Zhu, L., Zhang, C., Jin, H., Pan, H., & Wang, D. (2024). Advances in the study of plant-derived extracellular vesicles in the skeletal muscle system. In *Pharmacological Research* (Roč. 204). Academic Press. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2024.107202

Mathur, J. (2009). Rapid peroxisomal responses to ROS suggest an alternative mechanistic model for post-biogenesis peroxisomal life cycle in plants. *Plant Signaling and Behavior*, *4*(8), 787–789. https://doi.org/10.4161/psb.4.8.9232

*Mathur, J. (2021). Organelle extensions in plant cells. *Plant Physiology*, *185*, 593–607. https://doi.org/10.1093/plphys/kiaa055

Mathur, J., Mammone, A., & Barton, K. A. (2012). Organelle Extensions in Plant Cells. In *Journal of Integrative Plant Biology* (Roč. 54, Číslo 11, s. 851–867). https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2012.01175.x

Molina-Moya, E., Rodríguez-González, A., Peláez-Vico, M. A., Sandalio, L. M., & Romero-Puertas, M. C. (2025). Peroxisomal-dependent signalling and dynamics modulate plant stress responses: reactive oxygen and nitrogen species as key molecules. *Journal of Experimental Botany*. https://doi.org/10.1093/jxb/eraf072

Mullineaux, P. M., Exposito-Rodriguez, M., Laissue, P. P., Smirnoff, N., & Park, E. (2020). Spatial chloroplast-to-nucleus signalling involving plastid–nuclear complexes and stromules. In *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (Roč. 375, Číslo 1801). Royal Society Publishing. https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0405

Munksgaard, B., Otegui, M. S., & Spitzer, C. (2008). Endosomal Functions in Plants General Organization of the Endosomal System in Eukaryotes. *The Authors Journal compilation*. https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2008.00787.x

Nature Education. (2014). *Mitochondria, Cell Energy, ATP Synthase | Learn Science at Scitable*. https://www.nature.com/scitable/topicpage/mitochondria-14053590/

*Nedo, A. O., Liang, H., Sriram, J., Razzak, M. A., Lee, J. Y., Kambhamettu, C., Dinesh-Kumar, S. P., & Caplan, J. L. (2024). CHUP1 restricts chloroplast movement and effector-triggered immunity in epidermal cells. *New Phytologist*. https://doi.org/10.1111/nph.20147

Noctor, G., & Foyer, C. H. (2016). Intracellular redox compartmentation and ROS-related communication in regulation and signaling. *Plant Physiology*, *171*(3), 1581–1592. https://doi.org/10.1104/pp.16.00346

Oikawa, K., Yamasato, A., Kong, S. G., Kasahara, M., Nakai, M., Takahashi, F., Ogura, Y., Kagawa, T., & Wada, M. (2008). Chloroplast outer envelope protein Chup1 is essential for chloroplast anchorage to the plasma membrane and chloroplast movement. *Plant Physiology*, *148*(2), 829–842. https://doi.org/10.1104/pp.108.123075

Orth, T., Reumann, S., Zhang, X., Fan, J., Wenzel, D., Quan, S., & Hu, J. (2007). The PEROXIN11 Protein Family Controls Peroxisome Proliferation in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *19*(1), 333–350. https://doi.org/10.1105/TPC.106.045831

Otegui, M., & Reyes, F. C. (2010). Endosomes in Plants. *Nature Education*. https://www.nature.com/scitable/topicpage/endosomes-in-plants-14404958/

Perico, C., & Sparkes, I. (2018). Plant organelle dynamics: cytoskeletal control and membrane contact sites. In *New Phytologist* (Roč. 220, Číslo 2, s. 381–394). Blackwell Publishing Ltd. https://doi.org/10.1111/nph.15365

Reszczyńska, E., & Hanaka, A. (2020). Lipids Composition in Plant Membranes. In *Cell Biochemistry and Biophysics* (Roč. 78, Číslo 4, s. 401–414). Springer. https://doi.org/10.1007/s12013-020-00947-w

Reumann, S., & Weber, A. P. M. (2006). Plant peroxisomes respire in the light: Some gaps of the photorespiratory C2 cycle have become filled—Others remain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, *1763*(12), 1496–1510. https://doi.org/10.1016/J.BBAMCR.2006.09.008

Richardson, L. G. L., & Schnell, D. J. (2019). Origins, function, and regulation of the TOC–TIC general protein import machinery of plastids. *Journal of Experimental Botany*, *71*(4), 1226. https://doi.org/10.1093/JXB/ERZ517

*Rodríguez-Serrano, M., Romero-Puertas, M. C., Sanz-Fernández, M., Hu, J., & Sandalio, L. M. (2016). Peroxisomes extend peroxules in a fast response to stress via a reactive oxygen species-mediated induction of the peroxin PEX11a. *Plant Physiology*, *171*(3), 1665–1674. https://doi.org/10.1104/pp.16.00648

Sandalio, L. M., Peláez-Vico, M. A., & Romero-Puertas, M. C. (2020). Peroxisomal Metabolism and Dynamics at the Crossroads Between Stimulus Perception and Fast Cell Responses to the Environment. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *8*. https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00505

Scott, I., & Logan, D. C. (2011). Mitochondrial dynamics. *Plant Mitochondria*, 31–63. https://doi.org/10.1007/978-0-387-89781-3_2

Sheahan, M. B., McCurdy, D. W., & Rose, R. J. (2005). Mitochondria as a connected population: ensuring continuity of the mitochondrial genome during plant cell dedifferentiation through massive mitochondrial fusion. *The Plant Journal*, *44*(5), 744–755. https://doi.org/10.1111/J.1365-313X.2005.02561.X

Schattat, M., Barton, K., Baudisch, B., Klösgen, R. B., & Mathur, J. (2011). Plastid stromule branching coincides with contiguous endoplasmic reticulum dynamics. *Plant Physiology*, *155*(4), 1667–1677. https://doi.org/10.1104/pp.110.170480

Schattat, M. H., & Klösgen, R. B. (2011). Induction of stromule formation by extracellular sucrose and glucose in epidermal leaf tissue of Arabidopsis thaliana. *BMC Plant Biology*, *11*. https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-115

Schnurr, J. A., Shockey, J. M., De Boer, G. J., & Browse, J. A. (2002). Fatty acid export from the chloroplast. Molecular characterization of a major plastidial acyl-coenzyme A synthetase from Arabidopsis. *Plant Physiology*, *129*(4), 1700–1709. https://doi.org/10.1104/PP.003251,

Sinclair, A. M., Trobacher, C. P., Mathur, N., Greenwood, J. S., & Mathur, J. (2009). Peroxule extension over ER-defined paths constitutes a rapid subcellular response to hydroxyl stress. *Plant Journal*, *59*(2), 231–242. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03863.x

Swid, N., Nevo, R., Kiss, V., Kapon, R., Dagan, S., Snir, O., Adam, Z., Falconet, D., Reich, Z., & Charuvi, D. (2018). Differential impacts of FtsZ proteins on plastid division in the shoot apex of Arabidopsis. *Developmental Biology*, *441*(1), 83–94. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.06.010

Terrón-Camero, L. C., Rodríguez-Serrano, M., Sandalio, L. M., & Romero-Puertas, M. C. (2020). Nitric oxide is essential for cadmium-induced peroxule formation and peroxisome proliferation. *Plant Cell and Environment*, *43*(10), 2492–2507. https://doi.org/10.1111/pce.13855

Thazar-Poulot, N., Miquel, M., Fobis-Loisy, I., & Gaude, T. (2015). Peroxisome extensions deliver the Arabidopsis SDP1 lipase to oil bodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(13), 4158–4163. https://doi.org/10.1073/PNAS.1403322112/SUPPL_FILE/PNAS.1403322112.SM04.AVI

Wakatsuki, T., Schwab, B., Thompson, N. C., & Elson, E. L. (2001). Effects of cytochalasin D and latrunculin B on mechanical properties of cells. *Journal of Cell Science*, *114*(5), 1025–1036. https://doi.org/10.1242/jcs.114.5.1025

Xu, Y., Caldo, K. M. P., Holic, R., Mietkiewska, E., Ozga, J., Rizvi, S. M., Chen, G., & Weselake, R. J. (2019). Engineering Arabidopsis long-chain acyl-CoA synthetase 9 variants with enhanced enzyme activity. *Biochemical Journal*, *476*(1), 151–164. https://doi.org/10.1042/BCJ20180787,

Yang, F., Xiao, K., Pan, H., & Liu, J. (2021). Chloroplast: The Emerging Battlefield in Plant–Microbe Interactions. In *Frontiers in Plant Science* (Roč. 12). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.637853

Yuan, M., Ngou, B. P. M., Ding, P., & Xin, X. F. (2021). PTI-ETI crosstalk: an integrative view of plant immunity. In *Current Opinion in Plant Biology* (Roč. 62). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102030