

SIGNÁLNÍ DRÁHY OXIDU DUSNATÉHO V ROSTLINÁCH

JANA PITERKOVÁ, LENKA LUHOVÁ
a MAREK PETŘIVALSKÝ

*Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity
Palackého, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc
marek.petrivalsky@upol.cz*

Došlo 30.10.07, přijato 31.1.08.

Klíčová slova: oxid dusnatý, reaktivní formy dusíku, syntéza oxidu dusnatého, nitrátreduktasa, rostlinné hormony

Obsah

1. Úvod
2. Enzymová syntéza NO v rostlinách
3. Neenzymové dráhy syntézy NO v rostlinách
4. Reaktivita a detekce NO v rostlinných buňkách
5. Signální dráhy NO v rostlinách závislé na cGMP a cADPR
6. Signální dráhy NO v rostlinách nezávislé na cGMP
7. Vztah signálních drah NO a rostlinných hormonů
8. Závěr

1. Úvod

Oxid dusnatý (NO) je velmi rozšířeným vnitrobuněčným a mezibuněčným poslem se širokým spektrem regulačních funkcí mnoha fyziologických i patologických procesů v různých typech organismů. Poprvé byl popsán u savců, u kterých se účastní procesů vasorelaxace, neurotransmise, cytotoxicity, regulace imunitního systému a celé řady dalších buněčných a tkáňových pochodů¹. Poznatky o funkci NO v rostlinných systémech byly donedávna ve srovnání s živočišnými systémy velmi omezené, přestože emise NO u rostlin byla poprvé zaznamenána již v roce 1979 (cit.²). Po zveřejnění několika průlomových publikací o úloze NO v signálních drahách a obranném mechanismu rostlin při infekci^{3,4} se studium metabolismu NO v rostlinách stalo středem pozornosti. Výsledky výzkumu publikované v posledních letech potvrzují úlohu NO jako důležité signální molekuly podílející se na regulaci řady rostlinných fyziologických procesů i obranných reakcí ve stresových podmínkách (tab. I). NO se účastní procesů klíčení, růstu, kvetení, pohybu průduchů, zrání, senescence a programované buněčné smrti^{5,6}. Ve stresových podmínkách se podílí na rostlinné odpovědi a mechanismech odolnosti na různé formy biotického a abiotického stresu⁷.

2. Enzymová syntéza NO v rostlinách

V savčích buňkách je NO produkován zejména pětielektronovou oxidací guanidinového dusíku L-argininu enzymy nazývanými NO synthasy (NOS, EC 1.14.13.39). Produkty této reakce jsou L-citrulin a NO. NO synthasy jsou hemoproteiny příbuzné rodině cytochromů P450. Tyto enzymy byly původně charakterizovány jako homodimery, ale protože je pro enzymovou aktivitu potřebná navíc vazba dvou monomerů kalmodulinu mezi malou a velkou podjednotku NOS, je funkční holoenzym ve skutečnosti heterotetramer⁸. Kromě kalmodulinu je pro katalytický mechanismus NOS nutná současná účast dalších 4 kofaktorů, zahrnujících hem, FAD, FMN a tetrahydrobiopterin. V živočišných buňkách byly popsány tři isoformy NOS: konstitutivní formy endoteliální NOS a neuronální NOS, a indukovaná forma iNOS. Podle nejnovějších poznatků mohou být formy NOS v různé míře současně exprimovány v jednom typu buněk různých tkání v závislosti na stavu vývoje buňky či vnějších podmínkách⁹.

V posledním desetiletí hledalo mnoho rostlinných biologů analogický enzym produkující NO reakčním mechanismem obdobným NO synthasám savčích buněk. Výsledkem je rostoucí počet publikací naznačujících přítomnost NOS aktivity v rostlinách, ale existence tohoto enzymu nebyla doposud přesvědčivě experimentálně prokázána. Proto navzdory znalosti řady procesů kontrolovaných nebo indukovaných vlivem NO u rostlin zůstávají přesné molekulární mechanismy syntézy tohoto radikálu u různých rostlin za různých podmínek stále předmětem intenzivní diskuse. V současnosti bylo popsáno celkem šest enzymů, které mohou katalyzovat syntézu NO v rostlinných buňkách¹⁰ (tab. II). Ke vzniku NO v rostlinách může vést také řada dalších neenzymových reakcí vycházejících z anorganických sloučenin dusíku (obr. 1).

Prvním jednoznačně identifikovaným enzymovým zdrojem NO v rostlinách byla nitrátreduktasa¹¹ (NR, EC 1.7.1.1.). NR je homodimerní protein s molekulovou hmotností mezi 200 a 250 kDa v závislosti na rostlinném zdroji, přičemž každý monomer obsahuje tři prostetické skupiny: FAD, hem a molybdenový kofaktor. Aktivita NR je posttranslačně regulována reverzibilní fosforylací. Hlavní rolí NR v rostlinách je katalýza NAD(P)H-dependentní dvouelektronové redukce dusičnanu na dusitan. Experimentálně bylo potvrzeno, že za určitých podmínek může docházet k jedoelektronové redukci dusitanu na NO, případně NR může produkovat souběžně s NO také reaktivní nitrační činidlo peroxodusitan¹².

V peroxisomech hrachu byla popsána specifická forma enzymu podobného živočišným NO synthasám¹³. Peroxisomální enzym produkující NO vykazoval podobnou substrátovou a inhibiční specifitu a reagoval s protilátkami připravenými proti indukovatelné formě iNOS. Zatím však

Tabulka I

Souhrn funkcí NO ve fyziologických a patofyziologických procesech u rostlin

Funkce		Lit.
Fyziologické pochody	růst a vývoj	44,56
	klíčení	5,6
	vývoj kořenového systému	22
	pohyb svěřacích buněk průduchů	42,52
	senescence a programovaná buněčná smrt	54
	lignifikace buněčné stěny	53
	metabolismus buněčných organel	13,26
Funkce v buněčných organelách		
Chloroplasty	biosyntéza chlorofylu, fotofosforylace	28
Mitochondrie	regulace cytochrom <i>c</i> oxidasy	32
Peroxisomy	regulace katalasy a askorbátperoxidasy	58
Cytosol	regulace akonitasy	49
Biotický stres	programovaná buněčná smrt	45
	hypersenzitivní reakce	3,4,36,43
	systémová odezva	48
Abiotický stres	poranění	57
	salinita	41
	vysoká teplota	41
	sucho	41
	těžké kovy	34,51

nebyla dále objasněna přesná identita příslušného proteinu či genu a peroxisomální NOS aktivita nebyla potvrzena na žádném jiném pracovišti.

V roce 2003 byla v tabáku popsána indukovatelná forma NO synthasy, jejíž aktivita se výrazně zvyšovala po napadení rostlin virem tabákové mozaiky¹⁴. Stejná skupina popsala podobný enzym i u rajčete v souvislosti s odolností na bakteriální patogen¹⁵, posléze se však tyto výsledky nepodařilo potvrdit a zmíněné publikace byly autory odvolány¹⁶. Stejný osud stihl i nadějný kandidát na konstitutivní formu rostlinné NO synthasy popsané v roce 2003 v *Arabidopsis thaliana*¹⁷. U objeveného proteinu AtNOS1 byla popsána lokalizace v mitochondriích a úloha v obraně rostlinných buněk proti oxidativnímu poškození¹⁸. V navazujících experimentech na spolupracujících pracovištích však bylo zpochybněno, že protein AtNOS1 má NO-synthasovou aktivitu^{19,20} a byl proto přejmenován na

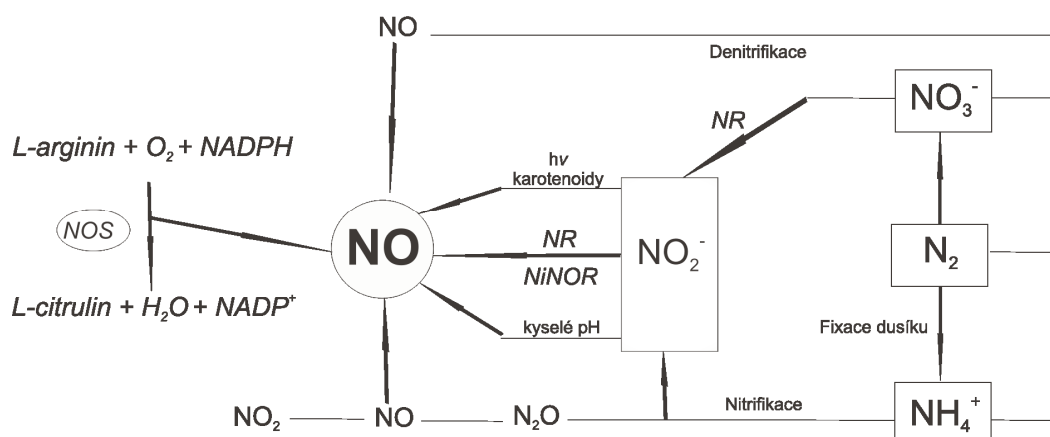
AtNOA1 („nitric-oxide associated“)²¹. Vztah AtNOA1 k biosyntéze a signální roli NO v rostlinách je předmětem aktuálního výzkumu s využitím mutantů *atnoa1* u *A. thaliana*.

Nitrit:NO reduktasa je dalším specifickým rostlinným enzymem podílejícím se na syntéze NO. Tento enzym byl doposud popsán pouze v plasmatické membráně kořenových buněk tabáku společně s kořenově-specifickou formou nitrátreduktasy. Nitrit:NO reduktasa katalyzuje redukci dusitanu na NO, přičemž příslušný donor elektronů *in vivo* zatím nebyl identifikován. Předpokládá se, že NO hraje důležitou roli jako signální molekula během vývoje kořenového systému a rozvoje symbiotických interakcí s půdními bakteriemi na povrchu kořenů²². Kromě zmíněných enzymů byly u rostlin popsány další potenciální enzymatické zdroje produkce NO, ale jejich fyziologický význam je zatím velmi nejasný. Křenová peroxidasa kata-

Tabulka II

Enzymové zdroje NO v rostlinných buňkách

Zdroj	Substrát	Kofaktor(y)	Lit.
Enzym podobný NOS	L-arginin	NADPH, FAD, FMN, tetrahydrobiopterin	3, 4, 13
Nitrátreduktasa	NO ₃ ⁻ (NO ₂ ⁻)	NADH	11
Nitrit:NO reduktasa	NO ₂ ⁻	NADH	22
Xanthinoxidasa	Hydroxymočovina		25
Křenová peroxidasa	N-hydroxyarginin	NADH	23
Cytochrom P450	NO ₂ ⁻	Cytochrom <i>c</i>	24



Obr. 1. **Zdroje NO v rostlinách;** NO je produkován činností nitrátoreduktasy (NR), nitrit:NO reduktasy (NiNOR) a NO synthasy (NOS). Dalšími generátory NO jsou neenzymové reakce NO_2^- : redukce za kyselého pH a světlem poháněná redukce v přítomnosti karotenoidů. NO může vznikat také jako vedlejší produkt denitrifikace, nitrátové asimilace, nebo respirace

lyzuje tvorbu NO *in vitro* za účasti peroxidu vodíku z *N*-hydroxyargininu nebo hydroxymočoviny²³. Další hemo-proteiny vyskytující se v rostlinných buňkách jako cytochromy P450, hemoglobiny a katalasa jsou schopny *in vitro* produkovat NO a další oxidy dusíku katalýzou oxidace *N*-hydroxyargininu kumylhydroperoxidem²⁴.

V živočišných buňkách byla také prokázána tvorba NO účinkem xanthinoxidasy obsahující molybden (XOD, cit.²⁵). XOD existuje ve dvou vzájemně proměnných formách: xanthinoxidasa (produkující superoxid, forma O; EC 1.1.3.22) a xanthindehydrogenasa (forma D; EC 1.1.1.204). XOD aktivita byla nalezena v peroxisomech listů hrachu, které jsou pravděpodobně jedním z míst aktivní tvorby NO v rostlinných buňkách^{13,26}.

3. Neenzymové dráhy syntézy NO v rostlinách

K syntéze NO v rostlinách mohou za určitých podmínek významně přispívat také neenzymové procesy. Nízké pH v apoplastu podporuje neenzymovou redukci dusitanu, kdy dusitan dismutuje na NO a dusičnan²⁷. Dusitan může být také chemicky redukován kyselinou askorbovou při fyziologických hodnotách pH na NO a kyselinu dehydroaskorbovou²⁸. Další neenzymový mechanismus navržený pro tvorbu NO v membránách chloroplastů je světlem zprostředkovaná přeměna NO_2^- na NO katalyzovaná karotenoidy²⁹.

4. Reaktivita a detekce NO v rostlinných buňkách

NO je velmi reaktivní volný radikál, jehož poločas života v biologických tkáních se pohybuje řádově

v sekundách³⁰. Konkrétní reaktivita NO v buňkách je značně ovlivněna množstvím a vzájemnou lokalizací vznikajícího NO a potenciálních reaktantů. Typickou reakcí NO v aerobním prostředí je relativně pomalá oxidace molekulárním kyslíkem na NO_2 , tato reakce je však kvantitativně méně významná v buněčných kompartmentech s nízkou koncentrací kyslíku. NO velmi rychle reaguje s jinými radikály zejména ze skupiny reaktivních forem kyslíku. Z biologického hlediska je nejvýznamnější reakce se superoxidovým anionradikálem za vzniku peroxodusitanu. Peroxodusitan jako silné nitráční činidlo dále reaguje s proteiny, lipidy a DNA za vzniku příslušných nitroso- a nitroderivátů³¹.

Další významnou reakcí NO, podobně jako u živočišných buněk, je tvorba nitrosylových komplexů s atomy kovů. Biologicky významnou interakcí je vazba NO na atom Fe^{2+} hemových kofaktorů enzymů, kde nejdůležitějším příkladem je regulace aktivity guanylátykasy podrobněji zmíněná v následující kapitole. Podobně se NO může vázat např. na atomy železa v aktivním místě cytochrom c oxidasy a v komplexech nehemového železa Fe-S proteinů dýchacího řetězce mitochondriálních membrán³².

Hydrofobní povaha a malé rozměry molekuly NO usnadňují její pohyb a případné lokální zvýšení koncentrace v prostředí buněčných membrán, což následně podporuje reaktivitu NO s lipofilními látkami, jako jsou radikálové meziprodukty peroxidace membránových lipidů³³. Podobně jako v živočišných buňkách byl také v rostlinných membránách popsán při různých stresových podmínkách antioxidantní a ochranný vliv NO snižující rozsah lipidní peroxidace³⁴. V rostlinách se vyskytuje řada dalších látek s vysokou reaktivitou vzhledem k NO, ty se však většinou za normálních podmínek nachází v jiném buněčném oddílu (např. fenolické látky ve vakuolách) a k jejich kontaktu

s NO dochází až při působení určitého stresového podnětu.

Vzhledem k vysoké reaktivitě je experimentální detekce a kvantifikace NO *in vivo* obtížná. Metody používané u rostlin pocházejí ze studií prováděných v živočišných systémech pouze s adaptací na podmínky rostlinných pletiv. Monitorování NO u rostlin zahrnuje metody jako chemiluminiscence, EPR spektroskopie, elektrochemické sensory, kolorimetrie a fluorimetrie (přehledně shrnuto v cit.³⁵). Pro histochemickou lokalizaci produkce NO fluorescenční nebo konfokální mikroskopii se používají nejčastěji deriváty 4,5-diaminofluoresceinu, specifické fluorescenční sondy pro NO a jeho reaktivní metabolity³⁶, i když jejich specifita a vhodnost pro sledování NO v rostlinných buňkách vzhledem k přítomnosti interferujících látek byla nedávno zpochybněna³⁷.

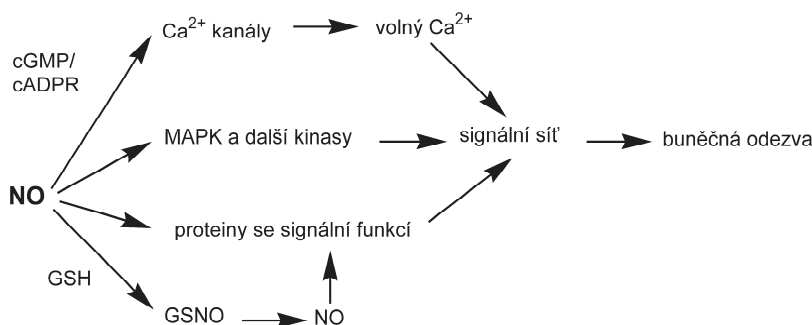
4. Oxid dusnatý jako signální molekula v rostlinách

Přes narůstající počet publikovaných poznatků je naše pochopení signálních funkcí NO u rostlin teprve v počátcích. Podařilo se již identifikovat některé složky přenosových kaskád zprostředkovaných NO, které jsou známé u živočichů (obr. 2). Signální reakce NO v rostlinách zahrnují syntézu sekundárních přenašečů, jako jsou cyklický guanosinmonofosfát (cGMP) a cyklická adenosindifosfát ribosa (cADPR), které vedou ke změnám hladiny cytosolického vápníku. Signální funkce NO jsou také zprostředkovány kovalentními modifikacemi proteinů jako nitrosylace cysteinů a nitrace tyrosinů a fosforylace prostřednictvím MAP kinas. NO specificky ovlivňuje expresi četných genů kódujících proteiny se vztahem k obranným reakcím, metabolismu, buněčné detoxifikaci, transportu, homeostázi železa, signalizaci, kvetení a biosyntéze ligninu³⁸.

5. Signální dráhy NO v rostlinách závislé na cGMP

V živočišných buňkách je jedním z hlavních mechanismů vnitrobuněčné reakce na NO zvýšení hladiny druhého posla cGMP. NO se váže na hemovou prostetickou skupinu enzymu guanylátcyklasy a následná konformační změna struktury zvyšuje aktivitu guanylátcyklasy o několik řádů. Zvýšená hladina cGMP reguluje aktivity cGMP-dependentních proteinkinás, cGMP-dependentních iontových kanálů a fosfodiesteras. Signální kaskáda zprostředkovaná NO/cGMP hraje centrální roli v regulaci řady fyziologických i patologických procesů. Také u rostlin byla prokázána signální funkce cGMP v řadě procesů, přestože existence rostlinné guanylátcyklasy nebyla dosud jednoznačně potvrzena. Je známa účast cGMP např. v regulaci iontových kanálů nebo indukci genů syntetizujících obranné látky v rostlinách³⁹.

U živočichů aktivuje cyklická ADP-ribosa (cADPR) ryanodinový receptor na membráně endoplasmatického retikula, což vede k mobilizaci iontů Ca^{2+} uložených v retikulu a následnému zvýšení koncentrace volných iontů Ca^{2+} v cytosolu. U rostlin byl popsán také obdobný účinek cADPR na uvolnění Ca^{2+} z vakuoly do cytosolu⁴⁰. V klíčové studii na rostlinách tabáku infikovaných virem tabákové mozaiky prokázali Durner a spol., že aktivace obranných genů je vyvolána zvýšenou syntézou NO v rostlinné buňce a tento mechanismus je zprostředkován cADPR-závislým zvýšením koncentrace cytoplasmatického vápníku⁴. V buňkách tabáku má NO vliv na zvýšení cytosolického volného Ca^{2+} indukovaného hyperosmotickým stresem a mikrobiálním elicitorem kryptogeinem⁴¹. Podobně podporují výsledky experimentálních studií hypotézu o roli cytosolického Ca^{2+} ve zprostředkování účinků NO vedoucích k uzavření stomat⁴². Exogenní aplikace NO nebo zvýšení intracelulární produkce NO po kontaktu s mikrobiálním elicitorem vede ke zvýšení intracelulárního Ca^{2+} v buňkách *Vicia faba* a buňkách tabáku⁴³. Tyto vý-



Obr. 2. Schématické znázornění signálních drah NO v rostlinných buňkách; primární cíle NO zahrnují mitogenem aktivované proteinkinasy (MAPK) a Ca^{2+} kanály regulované prostřednictvím změn hladin cGMP a cADPR. NO moduluje aktivitu proteinů nitrosylací thiolových skupin. Stabilní metabolit *S*-nitrosoglutathion (GSNO) může sloužit jako přenašeč signálu NO pro jeho uvolnění a interakce ve vzdálených cílech

sledky potvrzují funkci NO jako intracelulární sloučeniny mobilizující Ca^{2+} v rostlinných buňkách. Obdobné procesy byly popsány i u živočichů. Řada studií prokazuje, že primárními cíli NO jsou kanály propouštějící Ca^{2+} , včetně napětím ovládaných Ca^{2+} kanálů v plasmatické membráně, Ca^{2+} kanálů synchronizovaných cyklickým nukleotidem, a inositoltrifosfátový a ryanodinové receptory. NO moduluje jejich aktivity přímo nitrosylací nebo nepřímo přes signální dráhy zahrnující cGMP anebo cADPR. cADPR syntetizovaný z $\beta\text{-NAD}^+$ v reakci katalyzované ADP-ribosylyklasou je rozšířeným aktivátorem ryanodinového receptoru⁴⁴. Antagonisté cADPR, inhibitory ryanodinového receptoru a inhibitory cGMP syntézy potlačují u rostlin nárůst koncentrace cytosolického Ca^{2+} vyvolaný NO (cit.⁴³). Přestože z aktuálních poznatků jasně vyplývá významná úloha signální dráhy NO/cGMP v rostlinách⁴⁵, zůstávají vlastnosti enzymů generujících cGMP a cADPR a příslušných Ca^{2+} kanálů modulovaných zvýšenou koncentrací NO neznámé. Mechanismus syntézy cGMP v rostlinách nebyl dosud objasněn. V genomu *A. thaliana* byl identifikován pouze jediný strukturně příbuzný gen AtGC1, exprimovaný protein s guanylatcyklasovou aktivitou však postrádá vazebné místo pro hem a nebylo u něj pozorováno zvýšení aktivity účinkem NO typické pro rozpustné guanylatcyklasy u živočichů⁴⁶. Nedávno byla popsána guanylatcyklasová aktivita i u strukturně odlišného membránového proteinu AtBRI1, receptoru pro brassinosteroidy⁴⁷.

6. Signální dráhy NO v rostlinách nezávislé na cGMP

Další významnou signální dráhou NO v rostlinných buňkách je aktivace kaskády proteinkinas aktivovaných mitogenem (MAPK). Aktivace MAPK vede k reverzibilní fosforylaci enzymů regulujících jejich aktivitu. Externí aplikace NO stimuluje MAPK aktivity v listech tabáku a *A. thaliana*⁴⁸. Je také známo, že stejné MAPK mohou být v tabáku aktivovány také dalšími chemickými signály jako kyselina salicylová nebo peroxid vodíku. Aktivace MAPK kaskády v rostlinách tak pravděpodobně představuje společný bod signálních drah aktivovaných v reakci na různé typy stresu.

NO může také nitrosylovat thiolové skupiny cysteinů a tak reverzibilně regulovat strukturu proteinů a enzymovou aktivitu. Typickým příkladem je inhibice aktivity akonitasy nitrosylací popsaná v buňkách tabáku⁴⁹. Dle současných poznatků je nitrosylace cysteinů považována za jednu z nejvýznamnějších posttranslačních modifikací proteinů v rostlinných buňkách, která navíc hraje stěžejní úlohu v obranných reakcích rostlin při napadení patogeny⁵⁰. NO reaguje s glutathionem za tvorby relativně stabilního S-nitrosoglutathionu, který může sloužit jako transportní donor NO v jiných částech buňky nebo rostliny⁵¹.

7. Vztah signálních drah NO a rostlinných hormonů

Současné znalosti o úloze a funkci NO v rostlinách prokazují vzájemnou propojenost signálních drah NO s drahami různých rostlinných hormonů a růstových regulátorů. Často se také ukazuje, že NO společně s dalšími reaktivními formami dusíku a kyslíku zprostředkovává buněčné účinky hormonů na molekulární úrovni. Např. NO produkovaný enzymem nitrátreduktasou zprostředkovává uzavření stomat vyvolané aplikací kyseliny abscisové⁵². Podstatou tohoto jevu je regulace iontových kanálů svěracích buněk vlivem NO prostřednictvím změn intracelulární koncentrace vápníku⁴². Podobně auxinový hormon kyselina indolactová indukuje syntézu NO v kořenech okurky⁵³. Naopak interakce mezi NO a ethylenem při dozrávání a senescenci rostlinných pletiv naznačuje antagonistickou činnost obou plynů během těchto období rostlinného vývoje⁵⁴.

Cytokiny indukují syntézu NO v různých rostlinách a NO může zprostředkovávat proces programované buněčné smrti indukované aplikací cytokininů⁵⁵. Podobně polyaminy v růstovém médiu indukují zvýšenou syntézu NO v semenáčcích *A. thaliana*⁵⁶. NO také moduluje syntézu kyseliny salicylové, kyseliny jasmonové a ethylenu během rostlinné odpovědi na vnější stresové faktory⁵⁷.

8. Závěr

Aktuální publikované poznatky potvrzují významnou signální funkci NO v rostlinných buňkách, přestože přesný mechanismus a lokalizace syntézy NO nebyly vždy jednoznačně popsány. V současnosti je velká pozornost věnována studiu vzájemného vztahu a propojení signálních drah NO a dalších reaktivních forem dusíku a rostlinných hormonů a regulátorů. Řada zásadních výsledků je získávána s využitím dostupných mutantů *A. thaliana*, ve kterých byla ovlivněna exprese enzymů podílejících se na syntéze nebo metabolismu NO. V popředí zájmu stojí také úloha NO a jeho stabilnějších metabolitů v obranných a adaptačních mechanismech rostlin v reakci na vnější stresové podněty.

Tato práce byla podpořena výzkumným záměrem MSM 6198959215.

Seznam zkratk

cADPR	cyklická adenosindifosfát ribosa
cGMP	cyklický guanosin-3',5'-monofosfát
FAD	flavinadenindinukleotid
FMN	flavinmononukleotid
MAPK	proteinkinasy aktivované mitogenem

NO	oxid dusnatý
NOS	synthasa oxidu dusnatého
NR	nitrátreduktasa
XOD	xanthinoxidasa

LITERATURA

- Ignarro L.: *J. Physiol. Pharmacol.* 53, 503 (2002).
- Klepper L.: *Atmosph. Environ.* 13, 537 (1979).
- Delledonne M., Xia Y., Dixon R. A., Lamb C.: *Nature* 394, 585 (1998).
- Durner J., Wendehenne D., Klessig D. F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 10328 (1998).
- Crawford N. M., Guo F. Q.: *Trends Plant Sci.* 10, 195 (2005).
- Neill S. J., Desikan R., Clarke A., Hurst R. D., Hancock J. T.: *J. Exp. Bot.* 53, 1237 (2002).
- Wendehenne D., Gould K., Lamotte O., Durner J., Vandelle E., Lecourieux D., Courtois C., Barnavon L., Bentejac M., Pugin A.: *BMC Plant Biol.* 5, S35 (2005).
- Knowles R. G., Moncada S.: *Biochem. J.* 298, 249 (1994).
- Kavya R., Saluja R., Singh S., Dikshit M.: *Nitric Oxide* 15, 280 (2006).
- Crawford N. M.: *J. Exp. Bot.* 57, 471 (2006).
- Yamasaki H., Sakihama Y., Takahashi S.: *Trends Plant Sci.* 4, 128 (1999).
- Yamasaki H., Sakihama Y.: *FEBS Lett.* 468, 89 (2000).
- Barroso J. B., Corpas F. J., Carreras A., Sandalio L. M., Valderrama R., Palma J. M., Lupianez J. A., del Río L. A.: *J. Biol. Chem.* 274, 36729 (1999).
- Chandok M. R., Ytterberg A. J., van Wijk K. J., Klessig D. F.: *Cell* 113, 469 (2003).
- Chandok M. R., Ekengren S. K., Martin G. B., Klessig D. F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 8239 (2004).
- Klessig D. F., Ytterberg A. J., van Wijk K. J.: *Cell* 119, 445 (2004).
- Guo F. Q., Okamoto M., Crawford N. M.: *Science* 302, 100 (2003).
- Guo F. Q., Crawford N. M.: *Plant Cell* 17, 3436 (2005).
- Zemojtel T., Frohlich A., Palmieri M. C., Kolanczyk M., Mikula I., Wyrwicz L. S., Wanker E. E., Mundlos S., Vingron M., Martasek P., Durner J.: *Trends Plant Sci.* 11, 524 (2006).
- Guo F. Q.: *Trends Plant Sci.* 11, 527 (2006).
- Crawford N. M., Galli M., Tischner R., Heimer Y. M., Okamoto M., Mack A.: *Trends Plant Sci.* 11, 526 (2006).
- Stohr C., Stremlau S.: *J. Exp. Bot.* 57, 463 (2006).
- Huang J., Kim-Shapiro D. B., King S. B.: *J. Med. Chem.* 47, 3495 (2004).
- Boucher J. L., Genet A., Vadon S., Delaforge M., Mansuy D.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 184, 1158 (1992).
- Zhang Z., Naughton D., Winyard P. G., Benjamin N., Blake D. R., Symons M. C.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 249, 767 (1998).
- Del Río L. A., Corpas F. J., Sandalio L. M., Palma J. M., Barroso J. B.: *IUBMB Life* 55, 71 (2003).
- Stohr C., Ullrich W. R.: *J. Exp. Bot.* 53, 2293 (2002).
- Yamasaki H.: *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 355, 1477 (2000).
- Cooney R. V., Harwood P. J., Custer L. J., Franke A. A.: *Environ. Health Perspect.* 102, 460 (1994).
- Thomas D. D., Liu Z. P., Kantrow S. P., Lancaster J. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 355 (2001).
- Szabo C., Ischiropoulos H., Radi R.: *Nature Rev. Drug Discovery* 6, 662 (2007).
- Brown G. C., Borutaite V.: *Free Radical Biol. Med.* JT 33, 1440 (2002).
- Rubbo H., Freeman B. A.: *Methods Enzymol.* 269, 385 (1996).
- Hsu Y., Kao C. H.: *Plant Growth Regul.* 42, 227 (2004).
- Taha Z. H.: *Talanta* 61, 3 (2003).
- Foissner I., Wendehenne D., Langebartels C., Durner J.: *Plant J.* 23, 817 (2000).
- Planchet E., Kaiser W. M.: *J. Exp. Bot.* 57, 3043 (2006).
- Parani M., Rudrabhatla S., Myers R., Weirich H., Smith B., Leaman D. W., Goldman S. L.: *Plant Biotech. J.* 2, 359 (2004).
- Walden R.: *Curr. Opin. Plant Biol.* 1, 419 (1998).
- Allen G. J., Muir S. R., Sanders D.: *Science* 268, 735 (1995).
- Gould K. S., Lamotte O., Klinguer A., Pugin A., Wendehenne D.: *Plant Cell Environ.* 26, 1851 (2003).
- García-Mata C., Gay R., Sokolowski S., Hills A., Lamattina L., Blatt M. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 11116 (2003).
- Lamotte O., Gould K., Lecourieux D., Sequeira-LeGrand A., Lebrun-García A., Durner J., Pugin A., Wendehenne D.: *Plant. Physiol.* 135, 516 (2004).
- Eu J. P., Xu L., Stamler J. S., Meissner G.: *Biochem. Pharmacol.* 57, 1079 (1999).
- Vandelle E., Poinssot B., Wendehenne D., Bentejac M., Alain P.: *Mol. Plant. Microbe Interact. MPMI* 19, 429 (2006).
- Ludidi N., Gehring C.: *J. Biol. Chem.* 278, 6490 (2003).
- Kwezi L., Meier S., Mungur L., Ruzvidzo O., Irving H., Gehring C.: *PLoS ONE* 2, 449 (2007).
- Capone R., Tiwari B. S., Levine A.: *Plant Physiol. Biochem.* 42, 425 (2004).
- Navarre D. A., Wendehenne D., Durner J., Noad R., Klessig D. F.: *Plant Physiol.* 122, 573 (2000).
- Lindermayr C., Saalbach G., Durner J.: *Plant Physiol.* 137, 921 (2005).
- Barroso J. B., Corpas F. J., Carreras A., Rodríguez-Serrano M., Esteban F. J., Fernández-Ocaña A., Chaki M., Romero-Puertas M. C., Valderrama R., Sandalio L. M., del Río L. A.: *J. Exp. Bot.* 57, 1785 (2006).

52. Desikan R., Griffiths R., Hancock J., Neill S.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16314 (2002).
53. Pacoda D., Montefusco A., Piro G., Dalessandro G.: J. Plant. Physiol. 161, 1143 (2004).
54. Leshem Y. Y., Wills R., Veng-Va Ku V.: Plant Physiol. Biochem. 36, 825 (1998).
55. Tun N. N., Holk A., Scherer G. F.: FEBS Lett. 509, 174 (2001).
56. Tun N. N., Santa-Catarina C., Begum T., Silveira V., Handro W., Floh E. I., Scherer G. F.: Plant Cell Physiol. 47, 346 (2006).
57. Huang X., Stettmaier K., Michel C., Hutzler P., Mueller M. J., Durner J.: Planta 218, 938 (2004).
58. Clark D., Durner J., Navarre D. A., Klessig D. F.: Mol. Plant-Microbe Interact 13, 1380 (2000).

J. Piterková, M. Petřivalský, and L. Luhová
 (Department of Biochemistry, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc): **Signalling Pathways of Nitric Oxide in Plants**

Purpose of Review

Similarly to animals, nitrous oxide (NO) has emerged recently as a key signalling molecule in many physiological and pathological processes in plants. This review summarizes the current knowledge and understanding of the molecular mechanisms of NO synthesis and signalling in plant cells.

Findings

NO has been shown to participate in vital developmental processes in plants like germination, tissue differentiation, growth, flowering and senescence. NO functions as a signalling molecule in plant responses to abiotic and biotic external stimuli. NO can be produced by several different enzymatic and non-enzymatic reactions, depending on the plant cell type. Actually, the identity and role of plant homologues of animal NO synthases has not been clearly described, while nitrite-dependent NO production by nitrate reductase has been demonstrated in several plant species. High reactivity and mobility of NO in plant cell is the basis for its complex reactions and a wide array of plausible molecular targets. Intracellular downstream NO signalling includes cGMP- and cADP-ribose cascade leading to changes in the intracellular Ca^{2+} level. NO signalling can be mediated by microtubule-associated protein (MAP) kinases or effected by covalent protein modifications such as cysteine nitrosylation.

Conclusions

Despite considerable advances in plant NO research, our understanding of NO signalling pathways is still very limited. Current research is focused on the identification of tissue and subcellular specific NO synthesis and its fate as well as on the crosstalk of NO with signalling pathways of reactive oxygen species and plant hormones. The employment of *Arabidopsis thaliana* mutants with altered expression of enzymes involved in NO synthesis or metabolism will substantially contribute to the elucidation of the NO role in plant cell signalling.



VÝZVA

k podávání žádostí o podporu

česko-americké vědeckotechnické spolupráce

Uzávěrka přihlášek je 30. června 2008.

Kontakt:

AMVIS, o. p. s.
 Senovážné nám. 24
 116 47 Praha 1
 Bližší informace na www.amvis.cz
 e-mail: amvis@amvis.cz