

JASMONÁTY, ICH BIOSYNTÉZA, METABOLIZMUS A SIGNÁLNA DRÁHA V RASTLINNÝCH ORGANIZMOCH

MICHAELA MERGOVÁ^a, ANDREA BALAŽOVÁ^b, MAREK OBLOŽINSKÝ^b, IVANA HOLKOVÁ^b, PAVEL MUČAJI^a a SILVIA BITTNER FIALOVÁ^a

^a Katedra farmakognózie a botaniky, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava,

^b Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Kalinčiakova 8, 832 32 Bratislava, Slovensko

mergoval@uniba.sk, balazova@fpharm.uniba.sk, oblozinsky@fpharm.uniba.sk, holkova@fpharm.uniba.sk, silvia.bittner.fialova@uniba.sk, mucaji@fpharm.uniba.sk,

Došlo 30.9.22, prijaté 21.10.22.

Jasmonáty, deriváty kyseliny jasmónovej, sú od lipidov odvodené oxylipíny s cyklopentanónovým skeletom vznikajúce lipoxygenázami sprostredkovanou dioxygenáciou. Biosyntéza kyseliny jasmónovej je katalyzovaná skupinou rôznych enzýmov, od lipoxygenázy, allénoxidasyntázy, allénoxidcyklázy a OPDA reduktázy po enzýmy troch kôl β -oxidácie. Z výslednej kyseliny jasmónovej vzniká niekoľko metabolitov, jasmonátov, z nich niektoré vykazujú aktivitu na jasmonátovom receptore, čím spúšťajú jasmonátovú signálnu dráhu. Produkty génovej expresie vychádzajúce z tejto signálnej dráhy sú významné v procesoch rastu, vývoja, rozmnožovania, starnutia rastlín, aj v obrane a adaptácii na rozličné nepriaznivé environmentálne podmienky.

Kľúčové slová: kyselina jasmónová, jasmonáty, jasmonátová signálna dráha

Obsah

1. Úvod
2. Charakteristika jasmonátov
3. Biosyntéza jasmonátov
4. Metabolické cesty kyseliny jasmónovej
5. Signálna dráha jasmonátov
6. Význam jasmonátovej signálnej dráhy pri vývoji a obrane rastlín
7. Záver

1. Úvod

Jasmonáty – deriváty kyseliny jasmónovej, sú po chemickej stránke cyklopentanóny vznikajúce z nenasýtených alifatických kyselín, čím sa radia medzi rozsiahlu skupinu oxylipínov. Termín oxylipíny označuje rozmanitú skupinu molekúl obohatených o kyslík, ktoré v rastlinách vznikajú z rôznych nenasýtených mastných kyselín procesom chemickej autooxidácie, no častejšie za enzymovej katalýzy aspoň jednej mono- alebo dioxygenázy. V živočíšnej ríši sú k rastlinným oxylipínom prirovnávané podobným mechanizmom vznikajúce eikozanoidy, kde hlavným lipidovým prekursorom je kyselina arachidónová, s mnohými dôležitými fyziologickými funkciami (najmä pro- a protizápalová aktivita)¹. Rastliny, na rozdiel od živočíchov, nie sú schopné reagovať zmenou vlastnej polohy na meniace sa podmienky prostredia, preto si vyvinuli sieť náhradných mechanizmov s množstvom signál-

nych molekúl, ktoré spoločne komplexne reagujú na zmeny a zvyšujú tak prispôbivosť a šancu rastlín na prežitie. Takýmito signálnymi molekulami sú práve jasmonáty zúčastňujúce sa rozoznávania a modulácie adekvátnych reakcií na stresové faktory vo vnútornom aj vonkajšom prostredí. Jasmonáty, ubikvitárne vo vyšších rastlinách, patria medzi najviac analyzovaných a skúmaných skupinu rastlinných oxylipínov. Fungujú aj ako fytohormóny, teda regulujú a zasahujú do procesov rastu, vývoja, rozmnožovania, ale aj smrti rastlín².

2. Charakteristika jasmonátov

Prvým izolovaným jasmonátom, ktorý spustil kaskádu ďalšieho výskumu, bol jasmón zo silice rastliny *Jasminum grandiflorum* L. (jazmín veľkokvetý) z čeľade Oleaceae. Neskôr bol z tejto silice izolovaný, za vôňu zodpovedný, metyljasmonát, jeden z doteraz najviac preskúmaných derivátov kyseliny jasmónovej (JK). Tá bola vo svojej čistej forme prvýkrát izolovaná oveľa neskôr z huby *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. (rastlinný patogén). Až následne došlo k objasneniu jej chemickej štruktúry a mechanizmu biosyntézy, na základe ktorých sa zaradili jasmonáty k oxylipínom, teda kyslíkovým derivátom nenasýtených mastných kyselín³. Charakteristickým špecifikom v chemickej štruktúre JK je cyklopentanónový skelet (s oxo-skupinou v polohe 3). Cyklický skelet obsahuje aj pentenylový reťazec, pričom pre vznik mnohých derivátov je dôležitá najmä karboxylová skupina

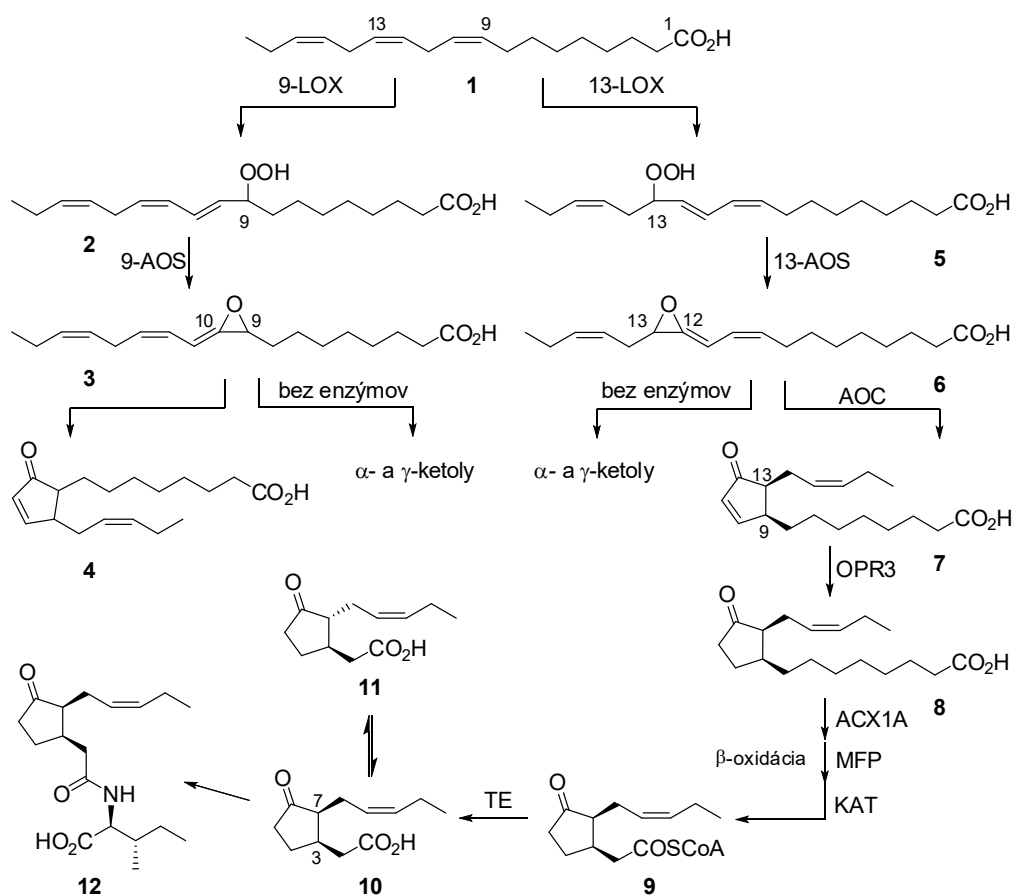
JK. Reakciami práve s karboxylovou skupinou vznikajú deriváty ako metyljasmonát či izoleucín-jasmonát⁴.

3. Biosyntéza jasmonátov

Jasmonáty sa v rastlinách tvoria za fyziologických podmienok, no najmä ako reakcia na rôzne druhy biotického a abiotického stresu. Proces biosyntézy prebieha pri oboch typoch stresu rovnako. Biosyntéza začína v chloroplastoch nevyhnutným uvoľnením nenasýtených mastných kyselín z fosfolipidov membrán. Východiskovou je kyselina α -linolénová s tromi dvojitými väzbami, no v malej miere sú niektoré prekursor jasmonátov tvorené aj z kyseliny linolovej s dvoma dvojitými väzbami a kyseliny hexadekatriénovej^{5,6}. Hydrolyzou dvomi špeciickými lipidovými hydrolázami, fosfolipázou A_1 (hydrolyza v pozícii *sn1*) a A_2 (hydrolyza v pozícii *sn2*), sa

tieto kyseliny uvoľnia a podliehajú enzýmovej oxidácii lipoxygenázami a ďalšími vetvami lipoxygenázovej, resp. oktadekánovej cesty^{7,8}. Práve jasmonáty sú produktom jednej zo siedmich vetiev tejto biosyntetickej cesty⁹. Obrázok 1 zobrazuje vznik kyseliny jasmónovej zo substrátu kyseliny α -linolénovej.

Spoločným menovateľom lipoxygenázovej biosyntetickej cesty sú rastlinné lipoxygenázy (LOX, linoleát:O₂ oxidoreduktázy, EC 1.13.11.12), ktorými začína proces oxidácie mastných kyselín. Vo svojej štruktúre obsahujú pre katalytickú aktivitu nevyhnutné nehémové železo. Vo všeobecnosti katalyzujú polohovo a priestorovo špecifickú dioxygenáciu, teda adíciu molekulového kyslíka na nenasýtené mastné kyseliny. Podmienkou pre dioxygenáciu je prítomnosť *cis,cis*-1,4-pentadiénovej štruktúry nenasýtenej mastnej kyseliny, z ktorej vzniknú príslušne hydroperoxydy¹⁰. Po vstupe kyseliny α -linolénovej do aktívneho miesta lipoxygenázy dochádza k selektívnemu odštiepeniu



Obr. 1. Biosyntéza kyseliny jasmónovej (spracované podľa⁸). Dioxygenácia kyseliny α -linolénovej enzýmami 9-lipoxygenáza (9-LOX) a 13-lipoxygenáza (13-LOX). 9-AOS – 9-allénoxidsyntáza, 13-AOS – 13-allénoxidsyntáza, AOC – allénoxidcykláza, OPR3 – OPDA reduktáza 3, ACX1A – acyl-CoA oxidáza, MFP – multifunkčný proteín, KAT – ketoacyl-CoA tioláza, TE – thioesteráza, 1 – kyselina α -linolénová, 2 – 9-hydroperoxyoktadekatriénová kyselina, 3 – 9, 10-epoxyoktadekatriénová kyselina, 4 – 10-oxofytodiénová kyselina, 5 – 13-hydroperoxyoktadekatriénová kyselina, 6 – 12,13-epoxyoktadekatriénová kyselina, 7 – *cis*-(+)-OPDA – *cis*-(+)-oxofytodiénová kyselina, 8 – 3-oxo-2(2[Z]-pentenyl)-cyclopentán-1-oktánová kyselina, 9 – jasmonoyl-koenzým A, 10 – kyselina (+)-7-*izo*-jasmónová, 11 – kyselina (-)-jasmónová, 12 – (+)-7-*izo*-jasmonoyl-izoleucín

vodíka z atómu uhlíka v polohe C11, na základe vytvoreného radikálu mastnej kyseliny dochádza k inzercii molekule kyslíka do polôh (+2) alebo (–2), čím vznikne buď kyselina 13-hydroperoxyoktadekatriénová alebo kyselina 9-hydroperoxyoktadekatriénová. Rovnakej reakcii môže podliehať aj kyselina linolová za vzniku kyseliny 13-hydroperoxyoktadekadiénovej a 9-hydroperoxyoktadekadiénovej. Na základe polohy inzercie kyslíka sú rastlinné lipoxygenázy delené na 9-LOX a 13-LOX (cit.^{11,12}). Do biosyntézy jasmonátov sa zapája práve 13-LOX a z nej vznikajúca 13-hydroperoxyoktadekatriénová, prípadne 13-hydroperoxyoktadekadiénová kyselina¹³.

Biosyntéza pokračuje dehydratáciou 13-hydroperoxyoktadekatriénovej kyseliny pomocou atypického enzýmu cytochrómu P450 zo skupiny CYP74A, allénoxidsyntázy (AOS, EC 4.2.1.92), ktorý pre svoju aktivitu nepotrebuje molekulárny kyslík či NADPH-závislú cytochróm P450 reduktázu ako kofaktor, ale ako zdroj kyslíka používa priamo hydroperoxid¹⁴. V rode *Arabidopsis* (L.) Heynh., teda arábkovka, z čeľade Brassicaceae, ktorý je modelovým druhom pre skúmanie tvorby jasmonátov, je enzým AOS kódovaný len jediným génom, zatiaľ čo v iných vyšších rastlinách aj prokaryotoch ho kóduje viacero génov. Táto skutočnosť môže naznačovať, že AOS je regulačným enzýmom tvorby jasmonátov¹⁵. AOS sa vyznačuje substrátovou špecifitou, katalyzuje dehydratáciu, buď produktu vznikajúceho pomocou 9-LOX, alebo produktu vznikajúceho 13-LOX. Imunofluorescenciou však bola dokázaná väzba AOS a 13-LOX na membránu chloroplastov, pričom 9-LOX je špecifická pre cytozol, s vysokou pravdepodobnosťou preto AOS v chloroplastoch katalyzuje premenu len 13-HPOT (cit.¹⁶).

Vzniknutý vysoko nestabilný produkt 12,13(*S*)-epoxy-[9(*Z*),11(*E*),15(*Z*)]-oktadekatriénová kyselina sa vo vodnom prostredí prirodzene a jednoducho hydrolyzuje na α -ketoly a γ -ketoly, prípadne neenzýmová premena vedie k racemickej zmesi dvoch enantiomérov 12-oxofytodiénovej kyseliny¹⁷. Avšak pre biosyntézu jasmonátov je nevyhnutný opticky čistý produkt, kyselina 12-oxo-10,15(*Z*)-fytodiénová, skrátene *cis*-(+)-OPDA, ktorá vzniká výlučne pôsobením enzýmu allénoxidcykláza (AOC)⁴. AOC býva kódovaná viacerými génmi, napr. v druhu *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (arábkovka Thalova) sú to konkrétne štyri gény¹⁸. To, že sú medzi produkty vznikajúce aktivitou AOS nestabilné, spolu s vysokou optickou čistotou *cis*-(+)-OPDA nevyhnutnej pre správnu konfiguráciu cyklopentanónového skeletu jasmonátov, naznačuje silnú väzbu medzi reakciami katalyzovanými týmito dvoma enzýmami¹⁹.

Paralelnou biosyntetickou cestou, kedy je substrátom kyselina hexadekatriénová s nižším počtom uhlíkov (pri nedostatku kyseliny α -linolénovej), vzniká účinkom 13-LOX, 13-AOS a 13-AOC tzv. dinor-12-oxofytodiénová kyselina⁶. Zaujímavosťou je zakomponovanie kyseliny 12-oxofytodiénovej a dinor-12-oxofytodiénovej do galaktolipidov membrán chloroplastov v niektorých druhoch čeľade Brassicaceae, napr. aj v *A. thaliana* (arábkovka). Tento špecifický druh lipidov, arabidopsidy, slúži pravdepodobne ako rezervoár kyseliny 12-oxofytodiénovej pre syntézu

jasmonátov v čase ich zvýšenej potreby (napr. pri poranení rastlinných pletív)⁷.

Všetky predchádzajúce kroky sa odohrávajú v membráne chloroplastu, avšak nasledujúce reakcie prebiehajú v peroxizóme endoplazmatického retikula, čo si vyžaduje transport substrátu *cis*-(+)-OPDA minimálne cez dve membrány. Transportný mechanizmus nie je úplne objasnený, predpokladá sa, že na základe hydrofóbného charakteru molekúl *cis*-(+)-OPDA tieto prechádzajú membránou chloroplastu v podobe príslušných esterov koenzýmu A (CoA) vznikajúcich činnosťou acyl-CoA syntetázy. Za ich prestup do peroxizómu endoplazmatického retikula je zodpovedný ATP-závislý proteínový transportér²⁰. V peroxizóme prebieha redukcia cyklopentanónového skeletu *cis*-(+)-OPDA na cyklopentanónový kruh, z *cis*-(+)-OPDA vzniká 3-oxo-2(2'[Z]-pentenyl)-cyklopentán-1-octánová kyselina redukciou dvojitej väzby medzi 10. a 11. uhlíkom. Reakcia je katalyzovaná enzýmom OPDA reduktáza (OPR, EC.1.3.1.4.) zo skupiny flavín-závislých oxidoreduktáz^{1,6}. V rôznych rastlinných druhoch bol doteraz identifikovaný rôzny počet jej izoenzýmov, v modelovej *A. thaliana* (arábkovka) šesť, osem v *Zea mays* L. (kukurica siata) z čeľade Poaceae, či minimálne tri v *Solanum tuberosum* L. (ľuľok zemiakový) z čeľade Solanaceae. Vykonaním viacerých experimentov s blokováním génov kódujúcich izoenzýmy sa zistilo, že na redukcii *cis*-(+)-OPDA sa v *A. thaliana* (arábkovka) podieľa práve izoenzým OPDA reduktáza 3, prípadne jeho analógy v ostatných druhoch^{21,22}. Finálnymi krokmi biosyntézy JK je skrátenie reťazca karboxylovej kyseliny tromi kolami β -oxidácie. Nevyhnutnou pre vstup do β -oxidácie je aktivácia karboxylovej kyseliny na prislúchajúci ester koenzýmu A, ktorá je katalyzovaná enzýmom OPC:CoA ligázal patriacim do širšej skupiny acyl-CoA syntetáz závislých od ATP (cit.⁷).

Každé z troch kôl β -oxidácie prebieha za vzájomnej spolupráce troch enzýmov: acyl-CoA oxidázy, tzv. multifunkčného proteínu a ketoacyl-CoA tiolázy. Acyl-CoA oxidáza katalyzuje konverziu acyl-CoA na *trans*-2-enoyl CoA, vedľajším produktom je peroxid vodíka premieňaný antioxidantnou katalázou na vodu. Multifunkčný proteín sprostredkuje viaceré reakcie, a to hydratáciu, dehydrogenáciu, epimerizáciu a izomerizáciu. Katalýzou ketoacyl-CoA tiolázy sa na konci uvoľňuje acetyl-CoA, finálnym produktom je jasmonoyl-CoA, ktorý vo forme koenzýmu neprechádza membránou peroxizómu. Tu sa zapája doteraz neznáma tioesteráza uvoľňujúca kyselinu (+)-7-izojasmonóvu, ktorá sa v rovnakom pomere mení na stabilnejšiu kyselinu (–)-jasmonóvu schopnú prechodu do cytozolu, kde prebieha jej metabolická premena na ďalšie deriváty, jasmonáty^{18,20}.

Celý proces tvorby JK a jej derivátov podlieha niekoľkým regulačným mechanizmom. V prvom rade je to dostatok substrátu, teda nenasýtených mastných kyselín uvoľnených z membrán na základe externých stimulov (napr. poranenia, napadnutia hmyzom), najmä α -linolénovej kyseliny, a jej vyššie spomenutých náhrad. Dôležitou je aj regulácia pozitívnu spätnou väzbou, kde JK

a medzi produkty biosyntézy spúšťajú kaskádu zvýšenej expície génov kódujúcich enzýmy biosyntézy. Tvorba JK je tiež podmienená pletivovou špecifitou, rôzne pletivá obsahujú rozličnú sadu izoenzymov biosyntézy JK, z ktorých sa mnohé na jej tvorbe nezúčastňujú¹³.

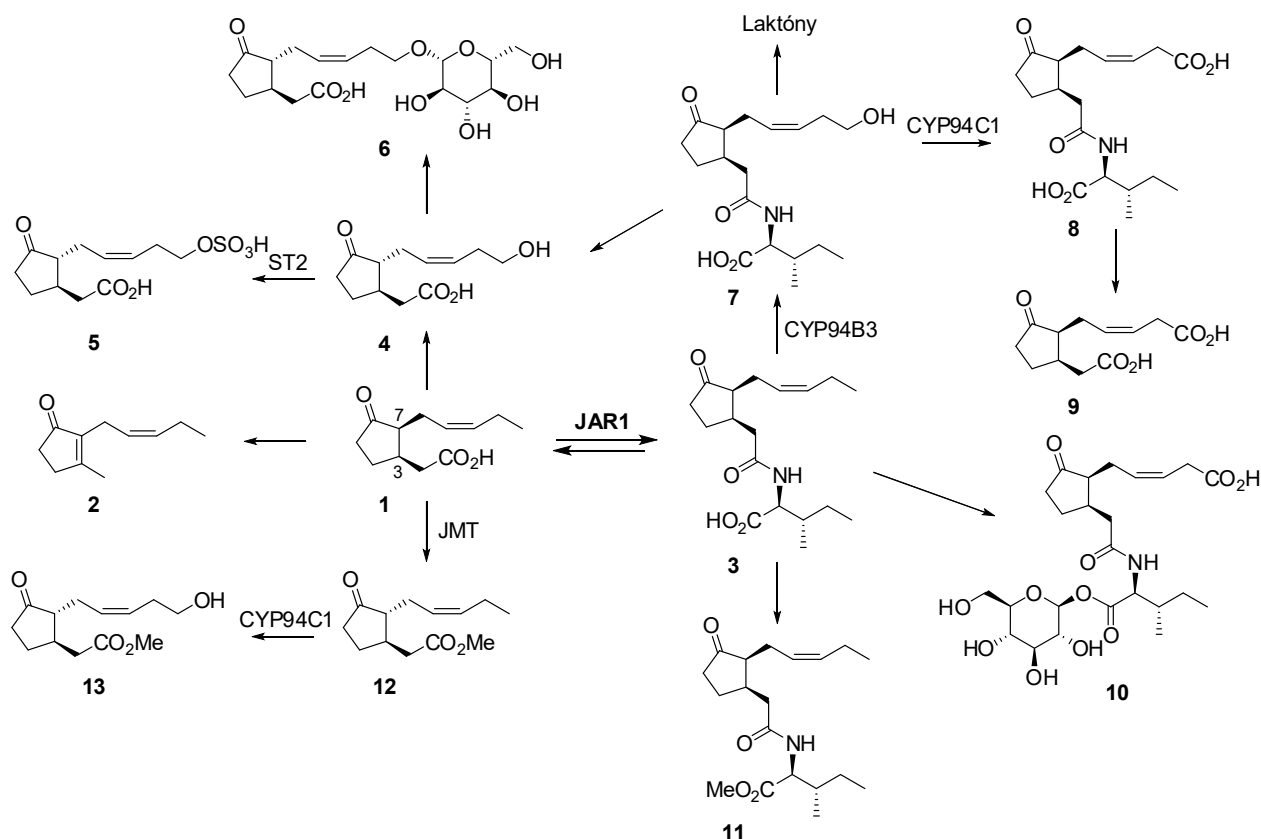
4. Metabolické cesty kyseliny jasmónovej

JK, rovnako ako ostatné rastlinné molekuly, je viacerými metabolickými cestami premieňaná na aktívne, neaktívne či čiastočne aktívne metabolity (obr. 2)²³. Sledovaním osudu JK v rastlinných orgánoch bolo detegovaných šesť hlavných ciest jej metabolizmu:

Konjugácia

Po prvej izolácii metyljasmonátu a JK sa dlhý čas predpokladalo, že práve tieto jasmonáty sú aktívnymi molekulami v rastlinných fyziologických alebo stresových

reakciách. Neskôr sa objasnením štruktúry jasmonátového receptora a jasmonátovej signálnej dráhy prišlo na fakt, že pre správnu funkciu tejto signálnej dráhy je dôležitá tvorba jasmonoyl-L-izoleucínu konjugáciou JK s aminokyselinou L-izoleucínom²⁴. Konjugácia prebieha za účasti špecifického enzýmu jasmonoyl-L-izoleucínsyntetáza 1 (JAR1), z rozsiahlej skupiny adenylujúcich enzýmov. Najskôr sa vytvorí adenylovaný intermediát za uvoľnenia difosfátu, následne sa napojí aminokyselinový zvyšok a uvoľní AMP (adenozinmonofosfát). Vo výsledku vzniká najaktívnejší epimér (3*R*,7*S*)-jasmonoyl-izoleucín [(+)-7-*izo*-Ja-Ile]²⁵. Množstvo aktívneho (+)-7-*izo*-Ja-Ile hrá dôležitú úlohu vo všetkých procesoch závislých od JK a jeho hladina je udržiavaná okrem JAR1 aj ďalšími reakciami: hydroxyláciou, karboxyláciou a hydrolyzou konjugátov²⁵. Okrem konjugátu s L-izoleucínom boli nedávno identifikované konjugáty aj s inými aminokyselinami s nižšou biologickou aktivitou, (+)-7-*izo*-Ja-alanín, (+)-7-*izo*-Ja-valín, (+)-7-*izo*-Ja-leucín a (+)-7-*izo*-Ja-metionín²⁴.



Obr. 2. **Metabolizmus kyseliny jasmónovej** (spracované podľa⁷). CYP94B3, CYP94C1 – členovia podrodiny cytochrómu P450, JAR1 – jasmonoyl-izoleucínsyntetáza 1, JMT – jasmonátmetyltransferáza, ST2 – hydroxyjasmonát-sulfottransferáza, 1 – kyselina (+)-7-*izo*-jasmónová, 2 – *cis*-jasmón, 3 – (+)-7-*izo*-jasmonoyl-izoleucín, 4 – 12-hydroxyjasmonová kyselina, 5 – sulfoderivát kyseliny jasmónovej, 6 – glukozid kyseliny jasmónovej, 7 – 12-hydroxyjasmonoyl-izoleucín, 8 – 12-karboxyjasmonoyl-izoleucín, 9 – 12-karboxyjasmonová kyselina, 10 – glukozid jasmonoyl-izoleucínu, 11 – metyljasmonoyl-izoleucín, 12 – metyljasmonát, 13 – 12-hydroxymetyljasmonát

Hydroxylácia a karboxylácia

Dlhý čas neboli dostupné dôkazy o priamej hydroxylácii JK na kyselinu 12-hydroxyjasmonovú, no nedávno boli z *A. thaliana* (arábkovka) izolované štyri gény pre tzv. jasmonátom indukované 2-oxoglutarát oxygenázy, ktoré hydroxyláciou rastlinných hormónov prispievajú k zníženiu ich aktivity, teda aj expresie jasmonát-dependentných génov²⁶. Hydroxylácie konjugovaných jasmonátov katalyzujú tri enzýmy CYP P450 patriace do podrodiny CYP94: CYP94B1, CYP94B3 a CYP94C1, ktoré hydroxylujú posledný uhlík pentenylového bočného reťazca (+)-7-*izo*-Ja-Ile za vzniku 12-hydroxyjasmonoyl-L-izoleucínu, ktorého hydroxyskupinu je schopný ďalej oxidovať len CYP94C1 až na neaktívny 12-karboxyjasmonoyl-izoleucín. Tento sled reakcií tzv. ω -oxidácie je prevažujúcou vetvou katabolizmu JK. Pokračovaním týchto procesov je hydrolýza, teda odštiepenie aminokyselinových zvyškov amidohydrolázami^{27,28}. Zaujímavým derivátom, vznikajúcim z 12-hydroxyjasmonoyl-L-izoleucínu, je bioaktívny jasmón (ketolaktón), čo dokazuje, že aj neaktívne zlúčeniny môžu byť konvertované na aktívne deriváty, laktóny²⁹.

O-glukozylácia

Glykolyzácia, najmä glukozylácia, je základnou modifikáciou sekundárnych metabolitov a hormónov. V prípade jasmonátov bola kyselina 12-hydroxyjasmonová a jej O-glukozylovaný derivát popísané ako faktory indukujúce tvorbu hlúz *Solanum tuberosum* L. (ľuľok zemiakový)²⁰.

Sulfatácia

Jasmonáty vzniknuté hydroxyláciou a karboxyláciou podliehajú okrem O-glukozylácie v menšej miere aj sulfatácii sprostredkovananej sulfotransferázami, ktoré ako donora sulfurylovej skupiny používajú 3'-fosfoadenozín-5'-fosfosulfát³⁰. Najčastejšie prebieha sulfatácia jasmonátov enzýmom hydroxyjasmonát:sulfotransferáza 2, ktorá vykazuje striktnú afinitu len k hydroxyderivátom JK (cit.³¹).

Metylácia a esterifikácia

Prvý izolovaný derivát JK, metyljasmonát, bol pred objasnením jasmonátovej signálnej dráhy považovaný za aktívnu formu JK. V súčasnosti je už známe, že metyljasmonát nemá afinitu k jasmonátovému receptoru, no jeho zvýšená koncentrácia pri raste či strese sú tzv. rezervoárom pre syntézu JK, ktorá sa vytvára účinkom nešpecifických esteráz, a následnou konjugáciou vzniká aktívny stereoizomér (+)-7-*izo*-Ja-Ile (cit.³²). V prípade, že nie je prebytok JK nevyhnutný, nastáva metylácia karboxylovej skupiny katalyzovaná karboxylmetyltransferázou³³.

Dekarboxylácia

Posledným dôležitým procesom metabolizmu JK je odstránenie karboxylovej skupiny za vzniku prchavého ketónu *cis*-jasmónu. Okrem priamej cesty dekarboxylácie JK vzniká *cis*-jasmón aj alternatívne z *cis*-(+)-OPDA, izomerizáciou na *izo*-OPDA, nasledovanou β -oxidáciou na kyselinu 3,7-didehydrojasmonovú a dekarboxyláciou až na *cis*-jasmón. Aj keď sa *cis*-jasmón aktívne neviaže na jasmonátový receptor, podieľa sa na expresii génov odlišných od tých, ktoré sú aktivované jasmonátovou signálnou dráhou a jeho biologická aktivita spočíva v lákaní opelovačov a obrane rastliny po napadnutí hmyzom²⁰.

5. Jasmonátová signálna dráha

Adaptácia rastlín na neustále zmeny v prostredí vyžaduje komplexnú integráciu vonkajších faktorov a rastlinných vnútorných vývojových a obranných procesov. Táto integrácia závisí na zložitých, vzájomne prepojených signálnych dráhach, ktoré aktivujú adaptačné mechanizmy. Jasmonáty patria k najvýznamnejším signálnym molekulám zapojeným v týchto dráhach. Podieľajú sa na adaptácii na biotický aj abiotický stres, a koordinujú niekoľko významných procesov rastu a vývoja rastlín (rast koreňov, plodnosť a iné)³⁴.

Pilierom jasmonátovej signálnej dráhy je vytvorenie aktívnej formy JK ako odpoveď na signál z vonkajšieho alebo vnútorného prostredia. Aktívnou formou je konjugát (+)-7-*izo*-JA-Ile (cit.^{24,25}), ktorý sa viaže na koreceptorový komplex pozostávajúci z F-box proteínu coronatine-insensitive 1 (COI1) a jasmonate-ZIM-domain proteínu (JAZ)³⁵. COI1, ako F-box proteín, je súčasťou multiproteínového komplexu ubikvitín-proteín ligázy (SCF komplex), teda enzýmu ubikvitín-proteázomového systému, ktorý je centrálnym regulátorom rastlinných signálnych dráh³⁶. Ubikvitinácia je posttranslačnou modifikáciou zahŕňajúcou naviazanie ubikvitínu, kovalentnou väzbou na proteíny, ktoré sa takto označujú pre degradáciu 26S proteázómom. Celý proces prebieha systémom troch enzýmov: ubikvitín-aktivujúci enzým aktivuje ubikvitín, prenesie ho na ubikvitín konjugujúci enzým, ten ho prenesie na vyššie spomínanú ubikvitín-proteín ligázu (SCF-komplex), ktorá sa priamo viaže na proteín. SCF-komplex, ako viaczložková ubikvitín-proteín ligáza, je zložený zo štyroch podjednotiek – SKP1-like proteínu1 (supresor kinetochorového proteínu1), Cullin1, RING-box1 proteínu a F-box proteínu, čo je práve COI1. F-box proteín je zložený z 50 aminokyselín, jeho C-koniec má tvar podkovy a obsahuje veľké množstvo leucínových zvyškov tvoriacich slučky, ktorými sa viaže na (+)-7-*izo*-JA-Ile (cit.^{37–39}). Cieľovými molekulami pre väzbu SCF-komplexu, po naviazaní (+)-7-*izo*-JA-Ile, sú tzv. JAZ proteíny. JAZ proteíny sú naviazané na množstvo transkripčných faktorov (TF), ktorých funkciu pri expresii génov blokujú^{40,41}. JAZ proteíny pozostávajú z troch domén s odlišnými funkciami: málo preskúmaná N-koncová doména s pravde-

podobným zapojením do spojenia proteín-proteín, ZIM doména zložená z 30 aminokyselín tvoriaca centrálnu časť JAZ proteínu zodpovedná za jeho dimerizáciu a za spojenie s TOPLESS korepresorom cez špecifický proteín zvaný NINJA, treťou najdôležitejšou doménou je C-koncová Jas (jasmonic acid-associated) doména zapojená do interakcií s inými proteínmi, najmä s TF, ktorých aktivitu potláča. Všetky tri domény sú nevyhnutné pre správnu funkciu JAZ proteínov, teda pre potláčanie jasmonátmi regulovanej expície génov. (+)-7-*izo*-JA-Ile tvorí tzv. most medzi COI1 a JAZ proteínmi, pri jeho absencii sú JAZ proteíny stabilne viazané na TF blokujú ich funkciu. Po naviazaní (+)-7-*izo*-JA-Ile, COI1 ako súčasť SCF-komplexu modifikuje JAZ proteín ubiquitináciou pre jeho následnú degradáciu 26S proteazómom^{42,43}. Po rozklade JAZ proteínu sa uvoľní naň naviazaný TF, nasleduje proces transkripcie génov riadenej RNA-polymerázou II. Väčšina JAZ proteínov je naviazaná konkrétne na MYC2 (myelocytchromatóza onkogén) TF, ktorý sa dlhé roky považoval za jediný TF v jasmonátovej signálnej dráhe. Neskôr bola zistená taktiež väzba na podobné faktory z rovnakej skupiny TF, a to MYC3, MYC4 a MYC5 (cit.⁴⁴). MYC2 obsahuje N-koncovú doménu, tou sa pripája na JAZ proteín a doménu aktivujúcu transkripciu, ktorou sa viaže na podjednotku mediátora 25 RNA-polymerázy II (MED25)¹³. Mediátor ako multiproteínový komplex slúži na prenos informácie z TF na RNA-polymerázu II zabezpečujúcu transkripciu. Podjednotka MED25 funkčne spolupracuje s MYC2 a tiež RNA-polymerázou pri naviazaní iniciačného transkripčného komplexu. Zaujímavým je zistenie, že kovalentnou väzbou je MED25 podjednotka spojená s F-box proteínom COI1, ktorý sa pripája na neaktívny MYC2 transkripčný faktor spojený s JAZ proteínmi, čím umožní vzájomne prepojenie COI1 s JAZ proteínom a za účasti (+)-7-*izo*-JA-Ile je spustený proces ubiquitinácie a degradácie JAZ proteínu^{45,46}. MYC2 pozitívne reguluje väčšinu od JK závislých odpovedí, ako je expresia génov závislá od poranenia, celková odpoveď na poranenie, inhibícia rastu koreňov, syntéza seskviterpénov a obrana proti hmyzu. Ďalšou skupinou TF sú MYB (myeloblastóza onkogén) faktory, napr. MYB21 a MYB24, ktoré sú kľúčovými v dozrievaní tyčínok a peľových zrníek *A. thaliana* (arábkovka)³⁶. V obranných reakciách majú významnú úlohu aj gény exprimované prostredníctvom TF zo skupiny WRKY (podľa heptapeptidu na N-konci WRKYGQK), z ktorých sú niektoré regulované jasmonátovou signalizáciou a väčšina z nich sprostredkuje spoluprácu jasmonátov s ostatnými signálnymi molekulami a rastlinnými hormónmi ako etylénom, auxínom či kyselinou salicylovou^{43,47}.

6. Význam jasmonátovej signálnej dráhy pri vývoji a obrane rastlín

V priebehu posledných desaťročí sa detailným štúdiom jasmonátov a ich vplyvu na rast a vývoj rastlín zaoberalo mnoho výskumov. Aplikovaním exogénnej JK sa

dokázal jej vplyv na inhibíciu rastu zárodka (inhibícia rastu primárneho koreňa, rast klíčného lístka)⁴⁸. Vytvorením genetických krížencov s chýbajúcou biosyntézou JK v *A. thaliana* (arábkovka) sa zistilo, že títo mutanti vykazujú samčiu sterilitu vzniknutú zastavením rastu tyčínok. Aplikácia JK však dokáže rast tyčínok obnoviť⁴⁹.

Jasmonáty, endogénne signálne molekuly, sú okrem rastu a vývoja zapojené v rozmanitých mechanizmoch adaptácie na stresové podmienky. Jasmonátova signalizácia sa zapája do regulácie morfológických zmien v stavbe rastlín v reakcii na svetelný stres (vplyvom UV-B žiarenia), pri čom dochádza k zvýšeniu produkcie JK napr. vo *Vigna radiata* (L.) R.Wilczek (fazuľa mungo) z čeľade Fabaceae a *Brassica oleracea* L. (kapusta obyčajná) z čeľade Brassicaceae⁵⁰. Nedávne pokusy odhalili zapojenie jasmonátov v pozitívnej regulácii chladovej aklimatizácie. Vystavenie rastlín chladu viedlo k rapidnému zvýšeniu hladiny JK indukovaním génov kódujúcich enzýmy jej biosyntézy (LOX, AOS, AOC) u *A. thaliana* (arábkovka) a *Oryza sativa* L. (ryža siata) z čeľade Poaceae. Exogénna aplikácia JK posilnila toleranciu *A. thaliana* (arábkovka) voči mrazu a mutanti so zastavenou syntézou JK vykazujú vyššiu citlivosť voči mrazu ako rastliny vo voľnej prírode. Vonkajšia aplikácia JK znižila škody plynúce z vysokého obsahu solí v pôde u viacerých rastlín pomocou zlepšenia fotosyntézy, antioxidačných aktivít a redukcie sodných iónov vo výhonkoch⁵². V praxi sa v posledné roky využíva taktiež zapojenie jasmonátovej signálnej dráhy v tvorbe rozličných sekundárnych metabolitov. Pokusmi sa zistilo, že najmä externe aplikovaný metyljasmonát je schopný zvýšiť produkciu viacerých skupín metabolitov⁵³, napr. fenolových kyselín v rastlinách čeľade Lamiaceae – kyseliny salvionolovej B a kyseliny rozmarínovej v *Salvia miltiorrhiza* Bunge (šalvia červenokorená) z čeľade Lamiaceae⁵⁴.

7. Záver

Jasmonáty, deriváty kyseliny jasmónovej, ako produkty oxidácie mastných kyselín rastlinných membrán, sú zaujímavým objektom výskumu po chemickej, ale aj po molekulárno-biologickej stránke. Zapojenie jasmonátov a ich signálnej dráhy do procesov rastu, vývoja a obranných reakcií je známe už niekoľko rokov. Progres v genetike a rastlinných biotechnológiách osvetlil viaceré mechanizmy, ktorými sú jasmonáty do týchto procesov zapojené. Neustále sa meniace životné prostredie a zhoršujúce sa životné podmienky môžu byť v priebehu rokov pre viaceré druhy rastlín fatálnymi. Podrobné štúdium prepojenia fyziologických funkcií s obrannými mechanizmami, ako sú tie vyvolané jasmonátmi a ich signálnou dráhou, je preto stále opodstatnené.

Táto práca bola podporená grantom Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR VEGA 1/0284/20 a grantom Farmaceutickej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave FaF/32/2022.

Zoznam skratiek

(+)-7-izo-Ja-Ile	(3 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-jasmonoyl-izoleucín
AMP	adenozínmonofosfát
AOC	allénoxicykláza
AOS	allénoxicykláza
<i>cis</i> -(+)-OPDA	kyselina 12-oxo-10,15(<i>Z</i>)-fytodiénohá
COI1	coronatín-insensitive 1
JAR1	jasmonoyl-L-izoleucínsyntetáza
JAZ proteíny	jasmonát-ZIM-doménové proteíny
JK	jasmonová kyselina
LOX	lipoxygenáza
MED25	podjednotka 25 mediátora RNA-polymerázy II
MYC	myocytomatóza onkogén transkripčný faktor
OPC:CoA ligáza I	kyselina 3-oxo-2(2' <i>Z</i>)-pentenyl)- -cyklopentán-1-oktánová:koenzým A ligáza I
SCF-komplex	supresor kinetochorový proteín1/ Cullin1/F-box komplex
TF	transkripčný faktor/y

LITERATÚRA

- Griffiths G.: *Free Radic. Res.* 49, 565 (2015).
- Goossens J., Fernández-Calvo P., Schweizer F., Goossens A.: *Plant. Mol. Biol.* 91, 673 (2016).
- Larrieu A., Vernoux T.: *BMC Biol.* 16, 79 (2016).
- Wasternack C., Feussner I.: *Annu. Rev. Plant Biol.* 69, 363 (2018).
- Wang X., Zhu B., Jiang Z., Wang S.: *Plant Sci.* 287, 110192 (2019).
- Thomas B., Murray B. G., Murphy D. J. (ed.): *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*. Academic Press, Cambridge 2017.
- Kombrink E.: *Planta* 236, 1351 (2012).
- Wasternack C.: *Ann. Bot.* 100, 681 (2007).
- Babenko L. M., Shcherbatiuk M. M., Skaterna T. D., Kosakivska I. V.: *Ukr. Biochem. J.* 89, 5 (2017).
- Holková I., Rauová D., Mergová M., Bezáková L., Mikuš P.: *Molecules* 24, 4268 (2019).
- Andreou A., Feussner I.: *Phytochemistry* 70, 1504 (2009).
- Newcomer M. E., Brash A. R.: *Protein Sci.* 24, 298 (2015).
- Wasternack C., Song S.: *J. Exp. Bot.* 68, 1303 (2017).
- Rustgi S., Springer A., Kang Ch., Wittstein D., Reinbothe Ch., Reinbothe S., Pollmann S.: *Int. J. Mol. Sci.* 20, 3064 (2019).
- Park J. H., Halitschke R., Kim H., Baldwin I., Feldmann K., Feyereisen R.: *Plant J.* 31, 1 (2002).
- Wasternack C., Feussner I.: *Annu. Rev. Plant Biol.* 53, 275 (2002).
- González-Pérez A. B., Grechkin A., de Lera A. R.: *Org. Biomol. Chem.* 15, 2846 (2017).
- Koo A. J.: *Phytochem. Rev.* 17, 51 (2018).
- Schaller F., Zerbe P., Reinbothe S., Reinbothe C., Hofmann E., Pollmann S.: *FEBS J.* 275, 2428 (2008).
- Wasternack C., Strnad M.: *Int. J. Mol. Sci.* 19, 2539 (2018).
- Schaller A., Stintzi A.: *Phytochemistry* 70, 1532 (2009).
- Stintzi A., Browse J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 10625 (2000).
- Nakamura Y., Li-Beisson Y. (ed.): *Lipids in Plant and Algae Development*. Springer International Publishing, Cham 2016.
- Yan J., Li S., Gu M., Yao R., Li Y., Chen J., Yang M., Nan F.: *Plant Physiol.* 172, 2154 (2016).
- Fonseca S., Chini A., Hamberg M., Adie B., Porzel A.: *Nat. Chem. Biol.* 5, 344 (2009).
- Caarls L., Elberse J., Awwanah M., Ludwig N. R., de Vries M., Zeilmaker T., Van Wees S. C. M., Schuurink R. C., Van den Ackerveken G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114, 6388 (2017).
- Koo A. J., Thireault C., Zemelis S., Poudel A. N., Zhang T., Kitaoka N., Brandizzi F., Matsuura H., Howe G. A.: *J. Biol. Chem.* 289, 29728 (2014).
- Wasternack C., Strnad M.: *New Biotechnol.* 33, 604 (2016).
- Jimenez-Aleman G. H., Machado R., Gorlz H., Baldwin I. T., Boland W.: *Org. Biomol. Chem.* 13, 5885 (2015).
- Hirschmann F., Krause F., Papenbrock J.: *Front. Plant Sci.* 5, 556 (2016).
- Gidda S., Miersch O., Levitin A., Schmidt J., Wasternack C., Varin L.: *J. Biol. Chem.* 278, 17895 (2003).
- Stitz M., Gase K., Baldwin I. T., Gaquerel E.: *Plant Physiol.* 157, 341 (2011).
- Preuß A., Augustin C., Figueroa C. R., Hoffmann T., Valpuesta V., Sevilla J. F.: *J. Plant Physiol.* 171, 1315 (2014).
- Chini A., Gimez-Ibanez S., Goossens A., Solano R.: *Curr. Opin. Plant Biol.* 33, 147 (2016).
- Zhang L., Zhang F., Melotto M., Yao J., He S.Y.: *J. Exp. Bot.* 68, 1371 (2017).
- Ali M. S., Baek K-H.: *Int. J. Mol. Sci.* 21, 621 (2020).
- Williams C., Fernández-Calvo P., Colinas M., Pauwels L., Goossens A.: *J. Exp. Bot.* 70, 3401 (2019).
- Iglesias M. J., Terrile M. C., Correa-Aragunde N.: *Redox Biol.* 18, 200 (2018).
- Durand A. N., Pauwels L., Goossens A.: *Plant* 5, 6 (2016).
- Howe G. A., Yosida Y.: *Mol. Plant.* 12, 153 (2019).
- Farmer E. E., Goossens A.: *J. Exp. Bot.* 70, 3373 (2019).
- Larrieu A., Vernoux T.: *BMC Biol.* 14, 79 (2016).
- Ruan J., Zhou Y., Zhou M., Yan J., Khurshid W. W., Cheng J., Zhang K.: *Int. J. Mol. Sci.* 20, 2479 (2019).
- Schmiesing A., Emonet A., Gouhier-Darimont C., Raymond P.: *Plant Physiol.* 170, 2432 (2016).
- Zhai Q., Li Ch.: *J. Exp. Bot.* 70, 3415 (2019).
- Chen J., Yang S., Fan B., Zhu Ch., Chen Z.: *Int. J. Mol. Sci.* 23, 6170 (2022).

47. Jiang Y., Liang G., Yang S., Yu D.: *Plant Cell* 26, 230 (2014).
48. Huang H., Liu B., Liu L., Song S.: *J. Exp. Bot.* 68, 1349 (2017).
49. Wasternack C., Forner S., Strnad M., Hause B.: *Biochimie* 95, 79 (2013).
50. Per T. S., Khan M. I. R., Anjum N. A., Masood A., Hussain S. J.: *Env. Exp. Bot.* 145, 104 (2018).
51. Sharma M., Laxmi A.: *Front. Plant Sci.* 6, 1129 (2016).
52. Wang J., Song L., Gong X., Xu J., Li M.: *J. Mol. Sci.* 21, 1446 (2020).
53. Wasternack C., Strnad M.: *New Biotechnol.* 48, 1 (2019).
54. Xing B., Yang D., Liu L., Han R., Sun Y., Liang Z.: *Plant Cell. Tiss. Organ. Cult.* 134, 119 (2018).

M. Mergová^a, A. Balažová^b, M. Obložinský^b, I. Holková^b, P. Mučaji^a, and S. Bittner Fialová^a (^a *Department of Pharmacognosy and Botany, Faculty of Pharmacy, Comenius University Bratislava* ^b *Department of Cell and Molecular Biology of Drugs, Faculty of Pharmacy, Comenius University Bratislava, Slovakia*): **Jasmonates, Their Biosynthesis, Metabolism and Signalling Pathway in Plant Organisms**

Jasmonates, derivatives of jasmonic acid, are lipid-derived oxylipins with cyclopentanone ring, produced as a result of dioxygenation mediated by lipoxygenases. The biosynthesis of jasmonic acid is catalysed by a series of different enzymes, starting from lipoxygenase, allene oxide synthase, allene oxide cyclase and 12-oxophytodienoic acid reductase to the final three rounds of β -oxidation. Consequently, a few metabolites known as jasmonates are formed from the resulting jasmonic acid. Some of these metabolites are active and able to work on the jasmonate receptor and thus start the jasmonate signalling pathway. Products of gene expression resulting from this pathway have a great significance in plant growth, development, reproduction, senescence and also in defence and adaptation to various adverse environmental conditions.

Keywords: jasmonic acid, biosynthesis of jasmonates, jasmonate signalling pathway

Acknowledgements

This study was supported by a grant from the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic and the Slovak Scientific Grant Agency VEGA 1/0284/20 and a grant from the Faculty of Pharmacy Comenius University Bratislava FAF/32/2022.