

VZTAH METABOLISMU A SIGNÁLNÍCH FUNKCÍ OXIDU DUSNATÉHO A POLYAMINŮ V ROSTLINÁCH

ŠÁRKA ADÁMKOVÁ a MAREK PETŘIVÁLSKÝ

Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc
sarka.adamkova@upol.cz

Došlo 1.12.10, přepracováno 31.8.11, přijato 15.9.11.

Klíčová slova: polyaminy, oxid dusnatý, L-arginin, L-ornithin, hypersensitivní reakce, nitrátreduktasa, NO synthasa

Obsah

1. Úvod
2. Charakteristika polyaminů u rostlin
 - 2.1. Biosyntéza a degradace polyaminů
 - 2.2. Kontrola hladiny polyaminů
 - 2.3. Fyziologické funkce polyaminů
3. Oxid dusnatý v metabolismu rostlin
 - 3.1. Biosyntéza NO u rostlin
 - 3.2. Metody kvantifikace NO
4. Role polyaminů a NO při odezvě na patogeny a na abiotický stres
5. Funkce arginasy v signální dráze vývoje kořenů
6. Závěr

1. Úvod

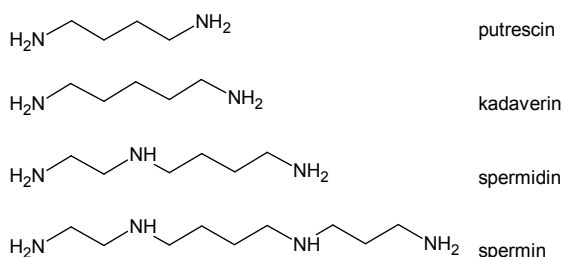
Polyaminy (PA) se účastní širokého spektra fyziologických procesů odehrávajících se v rostlinném organismu, jako je např. buněčné dělení, růst, diferenciaci, embryogeneze, vývoj orgánů, stárnutí listů a v neposlední řadě jsou rovněž zapojeny v obranné reakci odezvy rostlin na biotický a abiotický stres¹⁻³. Bazické vlastnosti umožňují PA vázat se na negativně nabitě makromolekuly, jako jsou nukleové kyseliny a proteiny a podílet se tak na regulaci jejich funkce. Interakce polyaminů s fosfolipidy má významnou roli při regulaci fyzikálních a chemických vlastností buněčných membrán.

PA také ovlivňují aktivitu některých enzymů, interagují s rostlinnými hormony, fytochromem a jsou zapojeny v biosyntéze ethylénu. Poslední výzkumy prokázaly schopnost PA indukovat produkci oxidu dusnatého⁴.

Významná úloha NO jako vnitrobuněčného a mezibuněčného posla se širokým spektrem regulačních funkcí mnoha fyziologických i patologických procesů u rostlin byla již v mnoha studiích prokázána^{5,6}.

2. Charakteristika polyaminů u rostlin

PA jsou nízkomolekulární polykationty vyskytující se u všech organismů včetně živočichů, rostlin, hub a bakterií. Putrescin (butan-1,4-diamin), kadaverin (pentan-1,4-diamin), spermidin ([N-(3-aminopropyl)butan-1,4-diamin]) a spermin ([N,N'-bis(3-aminopropyl)butan-1,4-diamin]) patří mezi hlavní PA nacházející se v organismech² (obr. 1). U rostlin jsou PA lokalizovány zejména v cytoplasmě, ale také ve vakuolách, mitochondriích a chloroplastech².

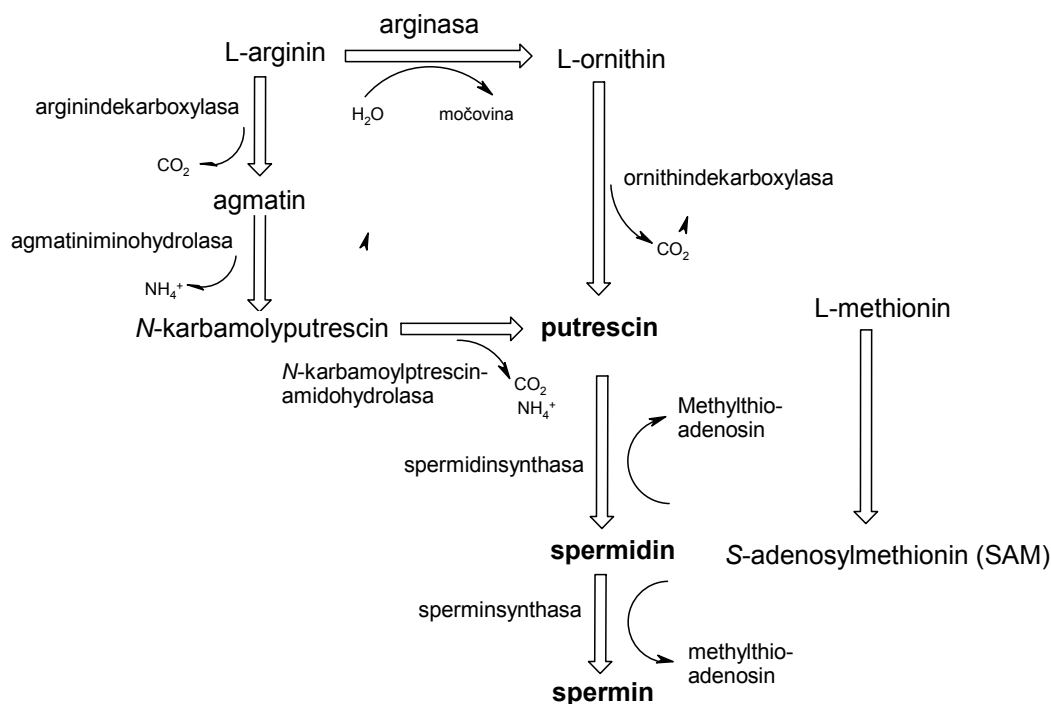


Obr. 1. Nejvýznamnější polyaminy vyskytující se v rostlinách

2.1. Biosyntéza a degradace polyaminů

Prekursor syntézy polyaminů jsou aminokyseliny L-arginin a L-methionin. Byly popsány dvě alternativní cesty biosyntézy putrescinu a dalších PA (cit.⁷, obr. 2). Syntéza putrescinu probíhá přes ornithin produkovaný z argininu za katalýzy enzymem arginase (EC 3.5.3.1) a ornithindekarboxylasou (ODC, EC 4.1.1.17). Druhou alternativní cestou je syntéza putrescinu z agmatinu třemi následnými reakcemi katalyzovanými arginindekarboxylasou (ADC, EC 4.1.1.19), agmatiniminohydrolasou (AIH, EC 3.5.3.12) a N-karbamoylputrescinamidohydrolasou (CPA, EC 3.5.1.53). Přeměna putrescinu na spermidin probíhá za účasti enzymu spermidinsynthasy (SPDS, EC 2.5.1.16). Dekarboxylovaný S-adenosylmethionin syntetizovaný z methioninu ve dvou následných reakcích katalyzovaných methioninadenosyltransferasou (EC 2.5.1.6) a S-adenosylmethionindekarboxylasou (SAMDC, EC 4.1.1.50) je donorem aminopropylové skupiny. Syntéza sperminu se účastní enzym sperminsynthasa (SPMS, EC 2.5.1.22). Diamin kadaverin je syntetizován z L-lysinu za účasti enzymu lysindekarboxylasy (LDC, EC 4.1.1.18).

Degradace polyaminů se účastní enzym polyaminoxidasa (PAO, EC 1.5.3.11-17) s kofaktorem flavinadenindinukleotidem (FAD)⁸. Rostlinná PAO katalyzuje přeměnu spermidinu a sperminu na 4-aminobutanal nebo N-(3-aminopropyl)-4-aminobutanal za současné tvorby propan-

Obr. 2. Schéma biosyntézy polyaminů v rostlinách⁸³

-1,3-diaminu a H_2O_2 (cit.⁹⁻¹¹, obr. 3). Na katabolismu PA se podílí i Cu^{2+} diaminoxidasa (DAO, EC 1.4.3.6)^{12,13}. DAO upřednostňuje odbourávání diaminů, katalyzuje oxidaci putrescinu na 4-aminobutanal za současné tvorby NH_3 a H_2O_2 . Vzniklý aminoaldehyd je následně metabolizován na γ -aminomáselnou kyselinu přes Δ^1 -pyrrolin¹⁴. DAO analogicky odbourává i diamin kadaverin.

2.2. Kontrola hladiny polyaminů

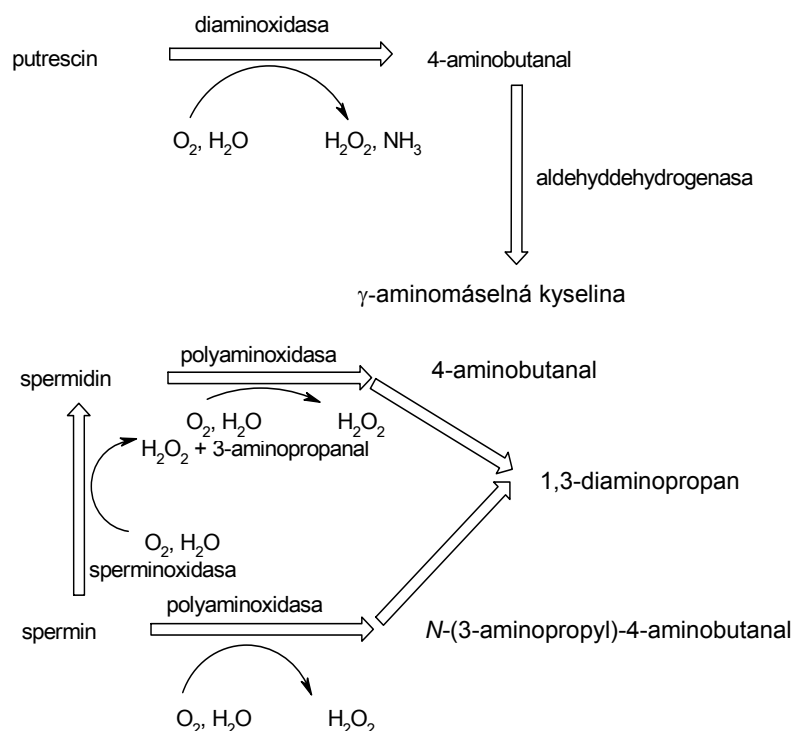
Celková intracelulární koncentrace PA se pohybuje v milimolárních množstvích a je přísně regulována. Vyšší hladiny PA jsou toxické a vedou k usmrcení buňky. Klíčovým enzymem podílejícím se na regulaci hladiny sperminu a spermidinu je *S*-adenosylmethionidekarboxylasa (SAMDC). SAMDC patří do skupiny enzymů, které jsou aktivní po navázání pyruvátu. Tyto typy enzymů se tvoří jako proenzymy, které jsou intramolekulárně rozštěpeny za vytvoření dvou podjednotek. Na serinový zbytek se naváže pyruvoylová skupina, která je nezbytná pro aktivitu enzymu¹⁵.

SAMDC je ireverzibilně deaktivována na cysteinovém vedlejším řetězci α -podjednotky produktem enzymové reakce, dekarboxylovaným *S*-adenosylmethioninem¹⁶. Další možností regulace hladiny polyaminů přes SAMDC je na úrovni transkripce a translace. Vyšší hladiny polyaminů blokují translaci, nízké naopak aktivují¹⁷.

Putrescín, spermidin a spermin indukují syntézu proteinu o molekulové hmotnosti 26 kDa, který se váže na klíčový enzym syntézy polyaminů ornithindekarboxylasu (ODC), vzniklý komplex je neaktivní. Tento typ nekompetitivních inhibitorů ODC patří mezi tzv. antizymy, jedná se o proteiny, jejichž biosyntéza je indukována produktem enzymu, který inhibují¹⁸.

U rostlin přispívají k regulaci hladiny polyaminů¹⁰ aktivity PAO a DAO tím, že se podílejí na jejich degradaci oxidativní deaminací, jak již bylo uvedeno v kapitole 2.1.

Za normálních okolností jsou buňky schopné syntetizovat tolik PA, kolik potřebují¹⁹. V případě nutnosti jsou také vybavené schopností přijímat exogenní PA mezibuněčným transportem, o kterém je dosud známo jen málo informací. Není doloženo, zda existuje individuální transportní systém pro různé PA nebo jsou všechny molekuly PA přenášeny stejným způsobem. U vyšších rostlin je transport PA aktivním mechanismem, který je stimulován auxinem a absorbované PA jsou většinou zachyceny ve vakuolách²⁰. Aktivní transport PA závislý na membránovém potenciálu byl studován při transportu PA do matrix mitochondrií²⁰. Výsledky s kukuřičnými kořínky, na které bylo působeno nadbytkem putrescinu, prokázaly, že putrescín je transportován přes plasmalemu díky transmembránovému elektrickému potenciálu²¹.

Obr. 3. Odbourávání polyaminů v rostlinách⁸⁴

2.3. Fyziologické funkce polyaminů

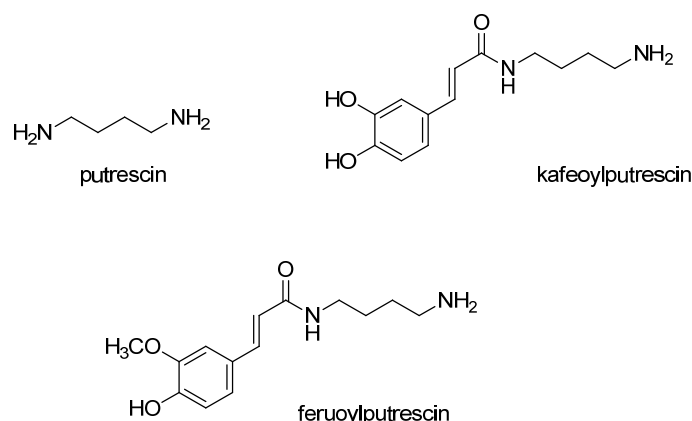
Polyaminy jsou obecně považovány za velmi významné sloučeniny pro život, neboť inhibice jejich tvorby vede k zastavení buněčného růstu²². PA hrají důležitou roli v řadě vývojových procesů, mezi kterými jsou i růst kořenů, somatická embryogeneze, iniciace kvetení nebo vývoj květů a plodů. Spousta studií se v současné době zabývá vztahem mezi změnami v koncentraci polyaminů a fyziologickou odezvou^{23,24}. Jednou z fyziologických funkcí PA je vliv na membránové kanály. Bylo zjištěno, že intracelulární polyaminy blokují vakuolární kationtový kanál u ječmene^{25,26}. Cytoplasmatické polyaminy blokují napětím řízené kanálky pro draselné ionty na plasmatické membráně²⁷. Příkladem je blokáda, která vede k zastavení efluxu iontů K^+ z hrachových mezofylových buněk²⁸. Ne-selektivní kationtové kanály, které jsou regulované cyklickými nukleotidy²⁹, jsou také blokovány polyaminy. Studie vlivu polyaminů na iontové kanály vedla ke zjištění, že spermin blokuje aktivitu H^+ -ATPasy plasmové membrány³⁰.

Pokusy provedené Uranem a spol.³¹ s mutanty *Arabidopsis thaliana*, které měly nedostatek genů pro tvorbu ADC a vykazovaly tedy nízkou aktivitu tohoto enzymu, vedly k letálním defektům ve vývoji embrya. Význam spermidinu, který je esenciální PA u eukaryot pro přežití embrya, spočívá pravděpodobně v jeho funkci jako prekursoru zvláštní aminokyseliny hypusinu. Hypusin se uplat-

ňuje při posttranslační modifikaci koncové aminoskupiny jednoho specifického lysinu eukaryotního translačního faktoru³².

Polyaminy se rychle akumulují v rostlinách jako odezva na biotický a abiotický stres^{1,33}. Existuje řada forem abiotického stresu vedoucích ke zvýšené biosyntéze polyaminů¹. Zvýšená hladina polyaminů jako následek solného nebo osmotického stresu byla zjištěna v čiroku, kukuřici, rýži a rajčeti³⁴. Kromě volných PA jsou rostliny schopné v období stresových podmínek vytvářet konjugáty PA. Syntéza konjugátů je založena na posttranslačním navázání se na proteiny katalyzovaném specifickými enzymy – transglutaminasami (EC 2.3.2.13.), které jsou přítomny uvnitř buněk nebo v mezibuněčném prostoru. Bylo zjištěno, že transglutaminasy mohou být aktivované za stresových podmínek¹⁹.

Velkou pozornost si zaslouží konjugáty PA s kyselinou hydroxyskořicovou (obr. 4). Tyto konjugáty jsou důležité pro kontrolu vnitrobuněčné koncentrace PA. Nejdůležitější vlastností konjugátů jsou jejich antioxidační aktivity a schopnost vázat se na reaktivní formy kyslíku. To znamená, že rostliny vystavené stresu jsou schopné produkovat konjugáty PA ke zlepšení antioxidačního obranného mechanismu a zmírnit tím poškození organismu. Závisí to ovšem také na druhu rostliny, obsahu PA a fenolických sloučenin jako substrátů pro produkci PA konjugátů³⁵.



Obr. 4. Konjugáty polyaminů

Ještě není dostatek experimentálních výsledků na vyslovení obecných závěrů. V současné době však můžeme konstatovat, že exogenně přidané polyaminy chrání rostlinu před abiotickým stresem³⁶ a ke zvýšení tolerance rostliny vůči stresu dochází zvýšenou expresí genů souvisejících s tvorbou polyaminů^{37,38}. Transgenní rostlina *Arabidopsis thaliana*, na kterou byla přenesena klonovaná cDNA spermidinsynthasy vykazuje větší aktivitu SPDMS a zvýšenou hladinu spermidinu v listech společně se zvýšenou odolností vůči chladu, salinitě, osmóze a suchu v porovnání s divokými typy rostlin.

Zatímco mutant *Arabidopsis* (acl5/spms), který má zablokovanou syntézu sperminu, je hypersensitivní vůči salinitnímu stresu a suchu^{39,40}. Nepřítomnost sperminu vede k deregulaci transportu Ca^{2+} , což má za následek ztrátu adaptace na vyšší hladiny NaCl a stres vyvolaný suchem^{41,42}.

Jednou z variant obranného mechanismu vůči biotickému stresu je hypersensitivní odezva spočívající v rychlé smrti buněk. Při pokusech na rostlině tabáku (*Nicotiana tabacum*) infikované virem tabákové mozaiky byla zaznamenána zvýšená produkce polyaminů^{43,44}, která vedla ke změnám buněčných komponentů, které mohou indukovat programovanou smrt buněk. Existují reálné důkazy, že existuje tzv. „sperminová signální dráha“. Spermin přenáší signál aktivující obrannou reakci vůči patogenům⁴⁵. Spermin stimuluje expresi obranného genu a dvou důležitých MAP kinas (SIPK a WIPK) uplatňujících se při obranné reakci na listech tabáku už po šesti hodinách působení patogenu⁵. Působení polyaminů na MAP kinasy posiluje přítomnost aktivních forem kyslíku (ROS) a zvýšená hladina Ca^{2+} .

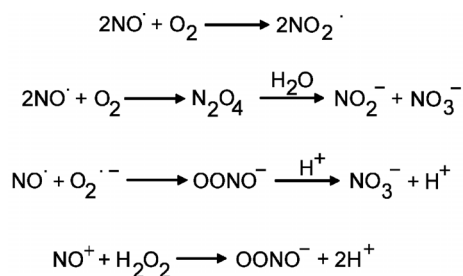
Přežití a růst rostlinných buněk je spojen s katabolismem PA. Rostlinné aminooxidas katalyzují oxidativní deaminaci PA a tím se podílejí na regulaci hladiny PA a dále participují svými reakčními produkty na důležitých fyziologických procesech. Peroxid vodíku jako produkt oxidace PA se podílí na lignifikaci buněčné stěny a jejím

zpevnění po invazi patogenů. Jako signální molekula peroxid vodíku zprostředkovává buněčnou smrt, hypersensitivní reakci a expresi obranných genů^{10,46}. Způsob obrany rostlin před patogenem peroxidem vodíku produkovaným oxidasovou reakcí katalyzovanou polyaminoxidasou je popsán v přehledných článcích^{46–48}.

3. Oxid dusnatý v metabolismu rostlin

V posledním desetiletí je studium přenosu signálů u rostlin zaměřen také na oxid dusnatý. Výsledky výzkumu potvrzují úlohu NO jako důležité signální molekuly podílející se na regulaci řady rostlinných fyziologických procesů i obranných reakcí při stresových podmínkách⁴⁹.

Obr. 5 prezentuje některé reakce oxidu dusnatého. NO reakcí s kyslíkem ve vodných roztocích vytváří dusitan a dusičnan. NO, jako radikál nebo ion NO^+ , může reagovat se superoxidem a peroxidem vodíku za tvorby peroxynitritu. NO může dále poskytovat řadu dalších interakcí s biomolekulami, které nejsou ve schématu uvedeny⁴⁹. Významnou signální dráhou NO v rostlinných buňkách je aktivace kaskády proteinkinasy aktivované mitogenem (MAPK). Externí aplikace NO stimuluje MAPK v listech tabáku a *A. Thaliana*⁵⁰. Stejně MAP kinasy mohou být



Obr. 5. Stěžejní reakce NO v aerobním prostředí

také v tabáku aktivovány jinými chemickými signály, např. kyselinou salicylovou nebo peroxidem vodíku. Aktivace MAPK kaskády v rostlinách tak pravděpodobně představuje společný bod signálních drah aktivovaných v reakci na různé druhy stresu. NO může také nitrosylovat thiolové skupiny proteinových cysteinů a tak reverzibilně regulovat strukturu proteinů a enzymovou aktivitu. Tato posttranslační modifikace proteinů hraje stěžejní úlohu v obranných reakcích rostlin při napadení patogeny⁵¹.

3.1. Biosyntéza NO u rostlin

U živočišných buněk dochází k syntéze NO oxidací guanidinového dusíku L-argininu na NO a L-citrulin. Tato reakce je katalyzována enzymy nazývanými NO synthasy (NOS, EC 1.14.13.39). Naproti tomu syntéza NO v rostlinných buňkách je stále předmětem diskuse.

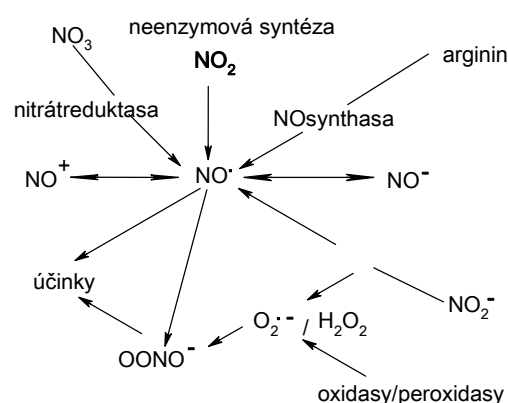
Prvním jednoznačně identifikovaným enzymovým zdrojem NO v rostlinách byla nitrátreduktasa (NR, EC 1.7.1.1.)⁵²

Hlavní rolí NR v rostlinách je katalýza NAD(P)H-dependentní dvouelektronové redukce dusičnanu na dusitan. Dusičnany jako substrát syntézy NO za účasti NR jsou obvykle akumulovány ve stavu anoxie.

U mutantů *Arabidopsis thaliana nial* a *nial2*, které vykazují nízkou aktivitu NR, byla zjištěna produkce NO i při nedostatku dusičnanů a snížením hladiny L-argininu se současně snížila i schopnost produkce NO. Tyto výsledky poukazují na přednostní syntézu NO aktivitou NOS podobně jako u živočišných buněk⁵³. Existence tohoto enzymu u rostlin však stále nebyla doposud přesvědčivě prokázána. Nedávno byl identifikován protein NOA1 (nitric oxide associated)⁵⁴, který byl nalezen v mitochondriích kořenů *Arabidopsis thaliana*. Vztah *AtNOA1* k biosyntéze a signální roli NO v rostlinách je předmětem aktuálního výzkumu s využitím mutantů *atnoa1* u *A. thaliana*. Nitrit:NOreduktasa je dalším specifickým rostlinným enzymem podílejícím se na syntéze NO. Tento enzym katalyzuje redukci dusitanu na NO a byl doposud popsán pouze v plasmatické membráně kořenových buněk tabáku společně s kořenově-specifickou formou NR. Předpokládá se, že NO hraje důležitou roli jako signální molekula během vývoje kořenového systému a rozvoje symbiotických interakcí s půdními bakteriemi na povrchu kořenů⁵⁵. Dále byly popsány neenzymové zdroje NO u rostlin, jakým je rozklad dusitanů v prostředí se sníženým pH, detailně popsány např. v apoplastu aleuronové vrstvy během klíčení rostlinných semen^{56,57} (obr. 6).

Vytvořený NO je reaktivní volný radikál, který velmi rychle reaguje s jinými radikály zejména s reaktivními formami kyslíku (ROS) za vzniku peroxynitritů. Nejvýznamnější je reakce se superoxidovým anionradikálem za vzniku peroxodusitanu. Peroxodusitan jako silné nitrační činidlo dále reaguje s proteiny, lipidy a DNA za vzniku příslušných nitroso a nitro derivátů⁵⁸.

K nejznámějším inhibitorům biosyntézy NO patří AET (2-(2-aminoethyl)-2-thiopseudomočovina)^{59,60}. Dále byla popsána snížená produkce NO analogy argininu, jako je aminoguanidin^{61,62}, *N*^G-nitro-L-Arg-methylester (L-



Obr. 6. Schéma produkce oxidu dusnatého u rostlin⁸⁵

NAME) a *N*^G-monomethyl-L-arginin (NMMA), které inhibují NO synthasu v savčích buňkách. Tyto sloučeniny blokují v různém rozsahu také syntézu NO u rostlin pravděpodobně následkem inhibice hypotetického enzymu podobného savčí NOS (cit.⁶³). K zablokování signálních drah NO dochází také působením specifického lapače⁶⁴ NO 2-fenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazolinu (PTIO).

3.2. Metody kvantifikace NO

Specifický účinek NO spočívá v tom, že je rychle produkován a posléze rychle oxidován. Jeho zachycení, detekce a kvantifikace vyžaduje speciální metodiku. V aerobních podmínkách buněčného prostředí má NO poločas rozpadu 5 s a difuzní vzdálenost je pravděpodobně do 500 μm (cit.⁶⁴). Metody pro stanovení využívají vazbu NO na hemoglobin⁶⁵, NO mikroelektrody⁶⁶, chemiluminiscenci⁶⁷, metodu EPR (elektron paramagnetic resonance) s vazbou NO na spinovou пробу a kvantifikaci^{59,68,69} fotoakustickou metodu^{70,71}, hmotnostní spektroskopii⁷², využití fluorescenčních barviv DAF-2 (4,5-diaminofluorescein) nebo derivátů DAR-4M (acetoxymethylester diaminorhodaminu 4M)^{5,6,56}. Jedním z nejvhodnějších postupů kvantifikace NO bylo doposud považováno využití fluorescenčních barviv DAF-2 a DAR-4M. Tyto metody ale nejsou příliš specifické, protože reagují s řadou dalších reaktivních metabolitů NO (cit.^{61,73}).

Fluorescenční barviva se využívají při mikroskopii, kde je možnost lokalizovat vznik NO v rostlinné tkáni.

4. Role polyaminů a NO při odezvě na patogeny a na abiotický stres

Všeobecně je známo, že procesy spojené s tvorbou NO jako druhým poslem jsou projevem obranné reakce rostlin na působení patogenů^{69,74}. Zvýšená syntéza PA jako reakce na patogeny a jejich schopnost zvyšovat odolnost proti virovým infekcím byla pozorována již dříve⁷⁵.

Fyziologické odezvy na různé druhy biotických a abiotických stresů využívají NO jako mediátora v procesech, ve kterých jsou přítomny i PA. Publikace⁵⁹ předkládá důkaz, že PA indukují produkci NO v tkáních semen *Arabidopsis thaliana*. Efekt je velice výrazný a rychlý, není zde žádná prodleva mezi přidáním sperminu a zvýšenou fluorescencí při použití barviv DAR-4M. Stimulaci NO vyvolávají spermidin a spermin, zatímco ostatní PA a arginin vliv nemají.

Tato odezva je zastavena přidáním PTIO, který je nejznámějším lapačem NO. Výsledky prokazují přítomnost zatím nedefinované biochemické syntézy NO indukované PA.

Velmi rychlé zvýšení koncentrace NO indukované PA poukazuje na to, že NO je hlavním aktivátorem působení PA na obranné MAP kinasy. Dochází zde také ke dvěma vlnám biosyntézy NO v obranné reakci na patogena. První velice rychlá syntéza, která produkuje NO jako druhého posla a druhá pozdější vlna syntézy, kdy NO působí jako chemická zbraň, tedy fyziologická odezva na biotický stres⁵⁹.

Ukazuje se, že hormon kyselina abscisová, mediátor osmotického a částečně i solného stresu, využívá jako druhého posla NO (cit.⁷⁶), přitom akumulace polyaminů při nedostatku K^+ je známa již delší dobu^{77,78}. Hypoxie u rýže, pšenice a cukety⁷⁹ zvyšuje akumulaci NO (cit.⁸⁰) a zdrojem NO tvořeného při hypoxii mohou být částečně akumulující se polyaminy.

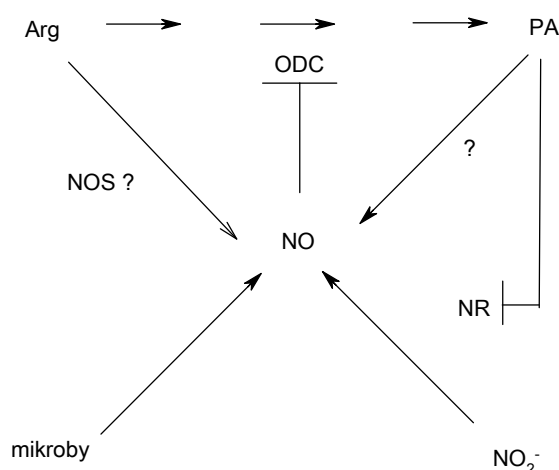
Z těchto příkladů plyne, že NO může být spojnicí mezi polyaminy produkovanými stresem a dalšími stresovými mediátory využívajícími NO jako druhého posla.

5. Funkce arginasy v signální dráze vývoje kořenů

PA jsou syntetizovány z argininu, NO může být zatím neznámou drahou z argininu syntetizován také (obr. 7).

V publikaci Floresové⁸¹ byl zkoumán vliv mutací arginasového strukturního genu ARG1 nebo ARG2, které kódují sníženou aktivitu enzymu arginasy, který se podílí na degradaci argininu. Mutace se projevovaly zvýšenou tvorbou laterálních a adventních kořenů u *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*). U mutantů arg1 a arg2 byla také výrazně zvýšena akumulace NO ve srovnání s divokým typem. Na klíčence bylo působeno syntetickým auxinem naftalenoctovou kyselinou. Závěr práce vyústil v konstatování, že Arg nebo jeho deriváty jsou potenciálním zdrojem NO, protože snížená arginasová aktivita mutantů vede k vyšší koncentraci Arg a tedy i k vyšší konverzi Arg na NO, který podporuje působení auxinu v kořenech. U mutantů potom docházelo k vyšší tvorbě adventních a laterálních kořenů.

Podobné závěry učinil další výzkumný tým na kořenech a listech tříletých jablek. Výsledky ukazují, že různé metabolické dráhy Arg (tvorba polyaminů a NO) jsou pozitivně korelovány. Vyšší hladiny Arg, polyaminů a NO,



Obr. 7. Vztah biosyntézy NO a polyaminů⁸⁶

stejně tak aktivita arginasy, arginindekarboxylasy, ornithindekarboxylasy a NO synthasy jsou v kořenech vyšší ve srovnání s listy⁸².

6. Závěr

Funkce a význam metabolismu polyaminů související s reakcí na stres nejsou ještě přesně popsány.

Pokusy na mutantech ale ukazují, že polyaminy mají významnou roli v utváření tolerance rostliny proti stresu a otevírají tedy nové možnosti ke zlepšení odolnosti rostlin. Další studie týkající se působení polyaminů v rostlinném organismu nepochybně budou mít velký přínos pro porozumění mechanismu regulace rostlinného růstu a reakce na stres. Polyaminy mohou být také přímým nebo nepřímým zdrojem NO. Vzhledem k tomu, že kromě polyaminů vyvolávají tvorbu NO i jiné látky, jako např. cytokininy, je nasnadě, že NO může být společným jmenovatelem těchto signálních a regulačních pochodů a zde se otevírá nová kapitola na poli bádání biologie NO.

Tato práce byla podpořena grantem MSM 6198959215.

Seznam zkratk

DAF-2	4,5-diaminofluorescein
DAO	diaminoxidasa
DAR-4M	acetoxymethylester diaminorhodaminu-4M
NOS	NO synthasa
NR	nitrátreduktasa
ODC	ornithindekarboxylasa
PA	polyaminy
PAO	polyaminoxidasa
SAMDC	S-adenosylmethionindekarboxylasa

LITERATURA

1. Bouchereau A., Aziz A., Larher F., Martin-Tanguy J.: *Plant Sci.* 140, 103 (1999).
2. Kumar A., Altabella T., Taylor M., Tiburcio A. F.: *Trends Plant Sci.* 2, 124 (1997).
3. Kusano T., Berberich T., Tateda C., Takahashi Y.: *Planta* 228, 367 (2008).
4. Vamasaki H., Cohen F. M.: *Trends Plant Sci.* 11, 522 (2006).
5. Wendehenne D., Pugin A., Klessig D. F., Durner J.: *Trends Plant Sci.* 4, 177 (2001).
6. Lamattina L., Garcia-Mata C., Graziano M., Pagnussat G.: *Annu. Rev. Plant Biol.* 54, 109 (2003).
7. Liu J.-H., Kitashiba H., Wang J., Ban Y., Moriguchi T.: *Plant Biotechnol.* 24, 117 (2007).
8. Bolenius F. N., Seiler N.: *Int. J. Biochem.* 13, 287 (1981).
9. Federico R., Cona A., Angelini R., Schininà M. E., Giartosio A.: *Phytochemistry* 29, 2411 (1990).
10. Šebela M., Radová A., Angelini R., Tavladoraki P., Frébort I., Peč P.: *Plant Sci.* 160, 197 (2001).
11. Cona A., Rea G., Angelini R., Federico R., Tavladoraki P.: *Trends Plant Sci.* 11, 80 (2006).
12. Zeller E. A.: *Chim. Acta* 21, 1645 (1938).
13. Brazeau B. J., Johnson B. J., Wilmot C. M.: *Arch. Biochem. Biophys.* 428, 22 (2004).
14. Bagni N., Tassoni A.: *Amino Acids* 20, 301 (2001).
15. Kashiwagi K., Taneja S. K., Liu T. Y., Tabor C. W., Tabor H.: *J. Biol. Chem.* 265, 22321 (1990).
16. Li Y.-F., Hess S., Pannell L. K., Tabor C. W., Tabor H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 10578 (2001).
17. Hanfrey C., Elliot K. A., Franceschetti M., Mayer M. J., Illingworth C., Michael A. J.: *J. Biol. Chem.* 280, 39229 (2005).
18. Pegg A. E.: *J. Biol. Chem.* 281, 14529 (2006).
19. Tanguy M.: *Plant Growth Regul.* 34, 135 (2001).
20. Bagni R., Pistocchi N.: *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*, str. 105. CRC press, Boca Raton 1991.
21. DiTomaso J. M., Hart J. J., Kochian L. V.: *Plant Physiol.* 98, 611 (1992).
22. Igarqashi K., Kashiwagi K.: *J. Biochem. (Tokyo)* 139, 11 (2006).
23. Groppa M. D., Benavides M. P.: *Amino Acids* 34, 35 (2007).
24. Liu J.-H., Kitashiba H., Wang J., Ban Y., Moriguchi T.: *Plant Biotechnol.* 24, 117 (2007).
25. Brüggemann L., Pottosin I., Schönknecht G.: *Plant J.* 16, 101 (1998).
26. Brüggemann L., Pottosin I., Schönknecht G.: *J. Exp. Bot.* 50, 873 (1999).
27. Liu K., Fu H., Bei Q., Luan S.: *Plant Physiol.* 124, 1315 (2000).
28. Shabala S., Cuin T. A., Pottosin I.: *FEBS Lett.* 581, 1993 (2007).
29. Davenport R.: *Ann. Bot.* 90, 549 (2002).
30. Garufi A., Visconti S., Camoni L., Aducci P.: *Plant Cell Physiol.* 48, 434 (2007).
31. Urano K., Hobo T., Shinozaki K.: *FEBS Lett.* 579, 1557 (2005).
32. Park M. H.: *J. Biochem. (Tokyo)* 139, 161 (2006).
33. Urano K., Yoshida Y., Nanjo T., Igarashi Y., Seki M., Sekiguchi F., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K.: *Plant Cell Environ.* 26, 1917 (2003).
34. Santa Cruz A., Perez-Alfocea M. A., Bojarin C.: *Physiol. Plant.* 101, 341 (1997).
35. Kuznetsov V. V., Radyukina N. L., Shevyakova N. I.: *Russ. J. Plant Physiol.* 5, 583 (2006).
36. Chattopadhyay M. K., Tiwari B. S., Chattopadhyay G., Bose A., Sengupta D. N., Ghosh B.: *Physiol. Plant.* 116, 192 (2002).
37. Kasukabe Y., He L., Nada K., Misawa S., Ihara I., Tachibana S.: *Plant Cell Physiol.* 45, 712 (2004).
38. Kasukabe Y., He L., Watakabe Y., Otani M., Shimada T., Tachibana S.: *Plant Biotechnol.* 23, 75 (2006).
39. Yamaguchi K., Takahashi Y., Berberich T., Imai A., Miyazaki A., Takahashi T., Michael A., Kusano T.: *FEBS Lett.* 580, 783 (2006).
40. Yamaguchi K., Takahashi Y., Berberich T., Imai A., Takahashi T., Kusano T.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 352, 86 (2007).
41. Kusano T., Yamaguchi K., Berberich T., Takahashi Y.: *Plant Signaling Behav.* 2, 250 (2007b).
42. Kusano T., Yamaguchi K., Berberich T., Takahashi Y.: *J. Plant Res.* 120, 345 (2007).
43. Torrigiani P., Rabiti A.L., Bortolotti C., Betti L., Marani F., Canova A., Bagni N.: *New Phytol.* 135, 467 (1997).
44. Marini F., Betti L., Scaramagli S., Bodi S., Torrigiani P.: *New Phytol.* 149, 301 (2001).
45. Takahashi Y., Berberich T., Miyazaki A., Seo S., Ohashi Y., Kusano T.: *Plant J.* 36, 820 (2003).
46. Cona A., Rea G., Angelini R., Federico R., Tavladoraki P.: *Trends Plant Sci.* 11, 80 (2006).
47. Walters D. R.: *New Phytol.* 159, 109 (2003a).
48. Walters D. R.: *Phytochemistry* 64, 97 (2003b).
49. Sherer G. E. E., v knize: *Plant Cell Monography* (Lamattina E., Polacco J. C., ed.), str. 131. Springer Verlag, Berlin 2006.
50. Capone R., Tiwari B. S., Levine A.: *Plant Physiol. Biochem.* 42, 425 (2004).
51. Lyndermayer C., Saalbach G., Durner J., Noad R., Klessig D. F.: *Plant Physiol.* 122, 573 (2000).
52. Yamasaki H., Sakihama Y., Takahashi S.: *Trends Plant Sci.* 4, 128 (1999).
53. Gas E., Florés-Pérez U., Sauret-Güeto S., Rodríguez-Concepción M.: *Plant Cell* 21, 18 (2009).
54. Crawford N. M., Galli M., Tischner R., Heimer Y. M., Okamoto M., Mack A.: *Trends Plant Sci.* 11, 526 (2006).
55. Stohr C., Stremlau S.: *J. Exp. Bot.* 57, 463 (2006).
56. Neil S. J., Desican R., Hancock J.: *New Phytol.* 159, 11 (2003).
57. Bethke P. C., Badger M. R., Jones R. L.: *Plant Cell* 16, 332 (2004).

58. Szabo C., Ischiropoulos H., Radi R.: *Nat. Rev. Drug Discovery* 6, 662 (2007).
59. Tun N. N., Santa-Catarina C., Begum T., Silveira V., Handro W., Floh E. I. S., Scherer G. P. E.: *Plant Cell Physiol.* 47, 346 (2005).
60. Tun N. N., Holk A., Scherer G. P. E.: *FEBS Lett.* 509, 174 (2001).
61. Corpas F. J., Barroso J. B., Carreras A., Valderrama R., Palma J. M., León A. M., Sandalio L. M., del Río L. A.: *Planta* 224, 246 (2006).
62. Carimi F., Zottimi M., Costa A., Cattalani I., De Michele M., Terzi M., Lo Schiavo F.: *Plant Cell Environ.* 28, 1171 (2005).
63. Barroso J. B., Corpas F. J., Carreras A., Sandalio M. L., Valderrama R., Palma J. M., Lupiánéz J. A., del Río L. A.: *J. Biol. Chem.* 274, 36729 (1999).
64. Yamasaki H.: *Plant Cell Environ.* 28, 78 (2005).
65. Delledone M., Xia Y., Dixon R.A., Lamb C.: *Nature* 394, 585 (1998).
66. Sakihama Y., Nakamura S., Yamasaki H.: *Plant Cell Physiol.* 43, 290 (2002).
67. Tischner R., Planchet E., Kaiser W. M.: *FEBS Lett.* 576, 151 (2004).
68. Huang X., Stettmaier K., Michel C., Hutzler P., Mueller M. J., Turner J.: *Planta* 218, 938 (2004).
69. Zeidler D., Zähringer U., Gerber I., Dubery I., Hartung T., Bors W., Hutzler P., Durner J.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 15811 (2004).
70. Leshem Y. Y., Pinchasov Y.: *J. Exp. Bot.* 51, 1471 (2000).
71. Mur L. A., Santosa I. E., Laarhoven L. J., Molton N. J., Harrem F. J., Smith A. R.: *Plant Physiol.* 138, 1247 (2005).
72. Conrath U., Amoroso G., Köhle H., Sültemeier D. F.: *Plant J.* 38, 1015 (2004).
73. Foissner I., Wendehenne D., Langebartels C., Durner J.: *Plant J.* 23, 817 (2000).
74. Wendehenne D., Pugin A., Klessig D. F., Durner J.: *Trends Plant Sci.* 4, 177 (2001).
75. Mo H., Pua E. C.: *Physiol. Plant.* 114, 439 (2002).
76. Neill S. J., Desikan R., Hancock J.: *New Phytol.* 159, 11 (2003).
77. Lamotte O., Gould K., Lecourieux D., Segueira-Legrand A., Lebrun-Garcia A., Durner J., Pugin A., Wendehenne D.: *Plant Physiol.* 135, 516 (2004).
78. Geny L., Broquedis M., Martin-Tanguy J., Soyer J. P., Bouard J.: *Am. J. Enol. Vitic.* 48, 85 (1997).
79. Murgia I., Delledone M., Soave C.: *Plant J.* 30, 521 (2002).
80. Dordas C., Hasinoff B. B., Igamberdiev A. U., Manac'h N., al Rivo J., Hill R. D.: *Plant J.* 35, 763 (2003).
81. Flores T., Todd C.D., Tovar-Mendez A., Dhanoa P. K., Correa-Aragunde N., Hoyos M. E., Brownfield D. M., Mullen R. T., Lamattina L., Polacco J. C.: *Plant Physiol.* 147, 1936 (2008).
82. Gao H. J., Yang H. Q., Wang J. X.: *Sci. Hort.* 119, 147 (2009).
83. Tiburcio A. F., Altabella F., Borell A., Masgrau C.: *Physiol. Plant.* 100, 664 (1997).
84. Angelini R., Cona A., Federico R., Fincato P., Tavladoraki P., Tisi A.: *Plant Physiol. Biochem.* 48, 560 (2010).
85. Piterková J., Luhová L., Petřivalský M.: *Chem. Listy* 102, 410 (2008).
86. Yamasaki H., Cohen F. M.: *Trends Plant Sci.* 11, 522 (2006).

Š. Adámková and M. Petřivalský (*Department of Biochemistry, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc*): **Interactions between Metabolism and Signal Functions of Polyamines and Nitric Oxide in Plants**

This review summarizes the current knowledge of metabolism and function of polyamines and signalling molecules of NO in plants. Polyamines (PA) interact with polyanionic biomolecules such as DNA or some proteins and appear to be involved in a wide range of plant processes. Despite their significance, the polyamine-dependent signal transducer system has not yet been found. It has been shown that PA induce NO biosynthesis in plants. PA seem to be mediators in pathogen defence, abiotic stresses and senescence.